

O EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA INSTILAÇÃO DE RESÍDUO DE ÓLEO DIESEL - ROFA SOBRE O METABOLISMO DE CAMUNDONGOS¹

Yohanna Hannah Donato², Analu Bender Dos Santos³, Eloisa Gabriela De Pelegrin Basso⁴, Renan Daniel Bueno Basso⁵, Thiago Gomes Heck⁶, Mirna Stela Ludwig⁷.

¹ Projeto de Iniciação Científica.

² Graduanda do curso de Enfermagem da Unijuí. Bolsista PIBIC-UNIJUI. Integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí-GPeF. E-mail: yohannadonato260@gmail.com

³ Graduanda do curso de Educação Física da Unijuí. Bolsista PROBIC-FAPERGS. Integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí – GPeF.

⁴ Graduanda do curso de Biologia da Unijuí. Bolsista PIBIC-UNIJUI. Integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí – GPeF.

⁵ Graduando do curso de Educação Física da Unijuí. Bolsista PROBIC-FAPERGS. Integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí – GPeF.

⁶ Professor do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da Unijuí. Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS). Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí – GPeF. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI.

⁷ Professora do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da Unijuí. Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS). Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí – GPeF. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI.

Introdução

A obesidade vem sendo considerada uma pandemia e fatores comportamentais relacionados ao estilo de vida, como o consumo excessivo de alimentos e o sedentarismo, são os principais elementos da gênese da doença (OMS, 2005). Hábitos de cultura moderna, como as dietas ocidentalizadas com alto teor energético, calórico e lipídico estão associados ao elevado consumo de ácidos graxos saturados e poli-insaturados e contribuem no desenvolvimento do sobrepeso, obesidade e do diabetes (ROBERTS & BARNARD, 2005).

O diabetes mellitus é uma desordem metabólica de etiologia múltipla caracterizada por uma hiperglicemia crônica (maior ou igual a 126mg/dl em jejum e maior ou igual a 200mg/dl no estado alimentado) que acarreta distúrbios no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras. O tecido adiposo, aumentado em indivíduos obesos, produz adipocitocinas inflamatórias que exercem ações parácrinas perpetuando a inflamação local no tecido adiposo, e induzem resistência à ação da insulina (LEFTEROVA & LAZAR 2009; DE PAUW et al., 2009).

Além dos agravos causados pelo estilo de vida atual, o comprometimento da qualidade do ar também se constitui num problema de saúde pública. A industrialização e o aumento no número de automóveis nas grandes cidades são responsáveis, em grande parte pela produção de materiais

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

tóxicos resultantes da queima de óleo diesel, como o residual oil fly-ash – ROFA (Belfosse, et al, 2012). Para defesa ao dano causado pelos resíduos tóxicos, o organismo possui sistemas de defesas antioxidantes como as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (BARREIROS, et al, 2006).

Condições patológicas como a inflamação crônica da obesidade, em que a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ultrapassa a capacidade do sistema de defesa antioxidante, podem acarretar o desenvolvimento de estresse oxidativo, modificando irreversivelmente macromoléculas biológicas como o DNA, proteínas e lipídios, alterando a homeostase celular e sistêmica (O'NEILL et al., 2005). A exposição crônica a poluição atmosférica induz intolerância a glicose, estresse oxidativo, inflamação e alteração mitocondrial nas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas e, portanto, constitui-se em um fator de risco para o desenvolvimento do diabetes mellitus (XU et al, 2011).

A relação entre a ingesta lipídica e o desenvolvimento da obesidade, bem como as consequências causadas pela poluição atmosférica, são bastante conhecidas, contudo, são poucos os estudos acerca das consequências da combinação do consumo de dietas hiperlipídicas e exposição a poluentes atmosféricos, sobre o metabolismo. Neste sentido, o estudo ora apresentado objetivou conhecer o efeito da dieta hiperlipídica e da inalação de resíduos de óleo diesel sobre o consumo calórico e a resposta metabólica (glicêmica) de camundongos B6.

Metodologia

Animais: Foram utilizados 50 camundongos da linhagem B6129SF2/J (B6), mantidos em gaiolas semi-metabólicas provenientes do Biotério da UNIJUI, em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa do ar entre 50% e 60% e iluminação artificial com ciclos de 12 horas claro/escuro. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIJUI (NO 0.11/2013).

Os animais foram divididos em 4 grupos, como demonstrado na tabela 01.

Tabela 1. Grupos experimentais.

GRUPOS	ALIMENTAÇÃO	INSTILAÇÃO	n
CONTROLE (C)	Ração padrão 4% de gordura	Solução fisiológica 0,9% (volume de 10µL)	11
ROFA (R)	Ração padrão 4% de gordura	20µg de Rofa (diluído em 10µL de solução salina 0,9%)	12
DHL(D)	Ração hiperlipídica 60% de gordura	Solução fisiológica 0,9% (volume de 10µL)	14
DHL+ROFA (DR)	Ração hiperlipídica 60% de gordura	20µg de Rofa (diluído em 10µL de solução salina 0,9%)	13

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

Alimentação: A ração padrão é padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1) composta por 4% gordura e 3,9 kcal. A dieta hiperlipídica – composta por 60% de gordura - foi preparada com 40,4% de ração padrão, 37,4% de banha de porco, 13,7% de albumina, 7,4% de aminomix e 1,1% de farinha de osso e ostra, no nosso laboratório. Todos os grupos receberam água potável ad libitum.

Poluente Residual Oil Fly-ash: O poluente Residual Oil Fly-ash – ROFA foi adquirido da Faculdade de Medicina USP e obtido através de partículas retiradas de um precipitador eletrostático instalado em uma das chaminés de uma fábrica de aço de grandes dimensões localizado na cidade de São Paulo, Brasil.

Níveis Glicêmicos: A glicemia de jejum foi verificada, após 12 horas de jejum, com o Glicosímetro Optium Xceed por punção da parte distal da cauda dos camundongos.

O teste de tolerância à glicose (GTT) foi realizado após jejum de 12 horas. Após verificação da glicemia de jejum (tempo zero) foi administrado glicose, por via intraperitoneal, na dose de 1g/Kg de peso. Foram aferidos novamente os níveis glicêmicos 30 e 120 minutos após a administração de glicose, visando observar a resposta dos animais à sobrecarga de glicose ao longo do tempo. O GTT foi analisado através do cálculo da área sob a curva (ASC) do gráfico, da relação glicemia x tempo. Foi realizado o GTT a cada 6 semanas até completar 12 semanas de tratamento.

Consumo de Água e Ração: A verificação do consumo de ração e de água foi realizada 3 vezes por semana na razão do peso da ração ofertada (150g) pelo peso da ração recolhida/residual. A ração para tratamento de dieta hiperlipídica foi disposta, para o consumo dos animais, no formato cilíndrico, semelhante ao da ração padrão, pesada com balança digital (Marte). O consumo de água foi analisado tendo na razão da quantidade de água ofertada (250ml) pela quantidade de água recolhida, com auxílio de proveta de vidro.

Parâmetros biométricos: O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela razão do peso (g) e o comprimento (cm²) dos animais, com balança e régua, respectivamente, realizado a cada 6 semanas, até completar 12 semanas.

Consumo Calórico: O cálculo do consumo calórico para os animais que receberam ração padrão foi realizado pelas gramas consumidas multiplicadas por 3,9 kcal e, a dos animais que receberam dieta hiperlipídica, foi realizado da mesma maneira, porém multiplicado por 5,4kcal (valor referencial obtido das Kcal dos nutrientes compositores da dieta hiperlipídica).

Análise estatística: Os resultados foram expressos como médias + DP e analisados por ANOVA de uma via, seguido de teste post-hoc de TUKEY, considerando nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

Animais alimentados com dieta padrão, porém expostos à poluição atmosférica (grupo R), consumiram mais ração por semana, em comparação aos demais grupos (C, D e DR) (figura 1A), o que também se observa em relação ao consumo de calorias (figura 1B). Os animais consumidores de dieta hiperlipídica e expostos ao ROFA (grupo DR) apresentaram maior consumo calórico em relação ao grupo que recebeu somente a dieta hiperlipídica, indicando a influência deste poluente atmosférico sobre este parâmetro.

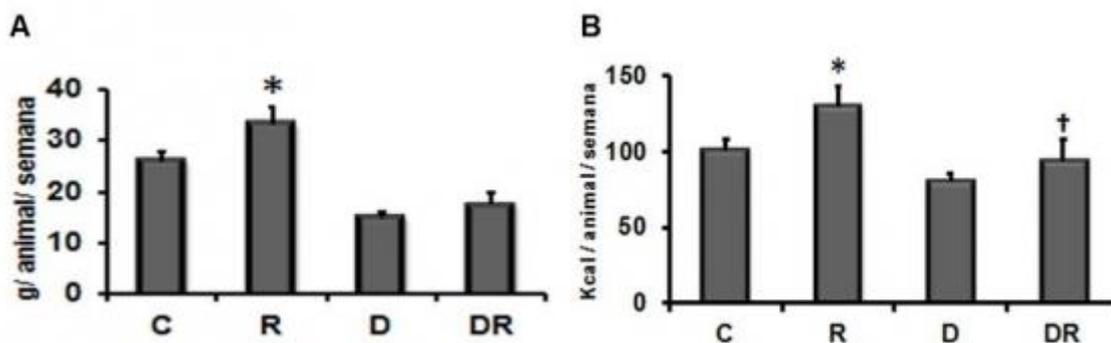


Figura 1. (A) Consumo de ração por semana. Dados expressos em média+DP. $P < 0,001$ (*). *R vs C, D e DR. (B) Consumo de Kcal de ração por semana. Dados expressos em média+DP. $P < 0,001$ (*, †). *R vs C, D e DR. †DR vs D. n=11-14.

Em relação ao peso e IMC não foi observado diferença entre os grupos, apesar do maior consumo de ração e consumo calórico pelos animais expostos ao poluente atmosférico (figuras 2A e 2B, respectivamente).

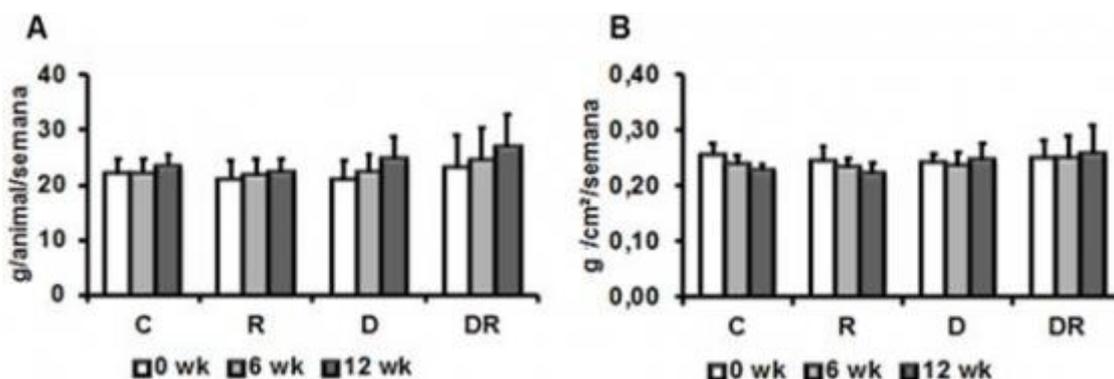


Figura 2. (A) Peso dos camundongos por semana. Dados expressos em média+DP. (B) Índice de massa corporal dos camundongos. Dados expressos em média+DP. n=11-14.

Após 12 semanas de tratamento, constata-se que a glicemia de jejum apresenta-se elevada nos animais dos grupos expostos a dieta hiperlipídica (D) (131,0+22,4 mg/dl) combinado ou não a exposição ao ROFA (DR) (126,0 +18,2 mg/dl) (Figura 3A). Contudo, observa-se que os animais submetidos à combinação de dieta hiperlipídica e poluente ambiental apresentaram concentração média de glicose em jejum em um faixa superior (100mg/dl - 126mg/dl) ao intervalo de normalidade para nível glicêmico de jejum (60 a 99mg/dl). Tal resultado já pode ser observado após a sexta semana de exposição a DHL + ROFA, com tendência ascendente confirmada na 12ª semana de tratamento, evidenciando o processo de alteração na tolerância glicose, compatível com um quadro pré-diabético (Figura 3A).

Comparando os resultados obtidos na resposta ao GTT, observa-se que os animais dos grupos submetidos à dieta hiperlipídica, expostos ou não ao ROFA (DR e D, respectivamente) apresentam piora na resposta a sobrecarga de glicose em relação aos grupos R e C, evidenciando um quadro de diminuição na tolerância a glicose (Figura 3B).

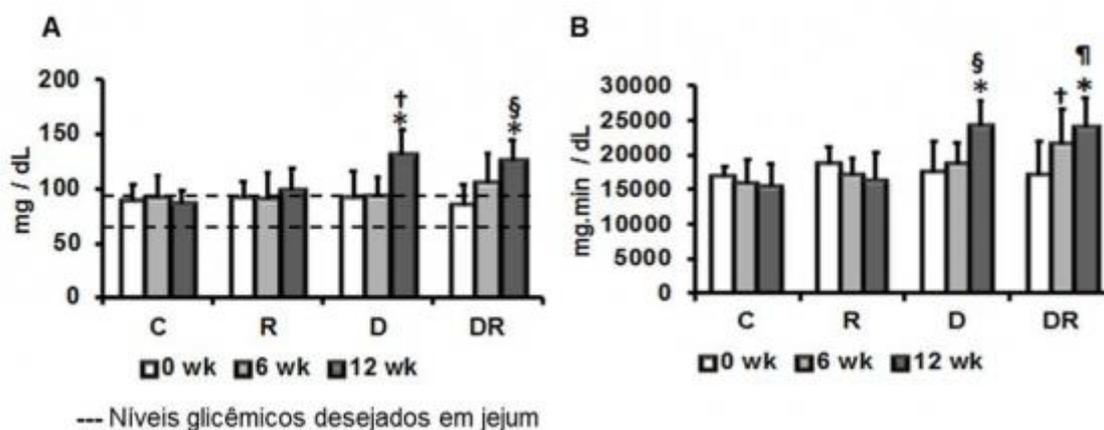


Figura 3. (A) Glicemia de Jejum dos camundongos. Dados expressos em média+DP. $P < 0,001$ (*, †, §). *D e DR vs C e R. †D 12a semana vs D 6a semana e tempo zero. §DR vs 12a semana DR tempo zero. (B) Área sob a curva do GTT dos camundongos. Dados expressos em média+DP. $P < 0,001$ (*, †, §, ¶). *D e DR vs C e R. †DR 6a semana vs C e R 6a semana. §D 12a semana vs D 6a semana e D tempo zero. ¶DR 12a semana vs. D tempo zero. n=11-14.

Conclusão

Os resultados preliminares deste trabalho indicam que a exposição à combinação de dieta hiperlipídica e instilação de resíduos de óleo diesel (poluente atmosférico) produz maior consumo calórico e influencia a glicemia de jejum. A alteração na tolerância a glicose, produzida por dieta

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

hiperlipídica, é compatível com quadro de pré-diabetes e tem evolução diferenciada e precoce na presença de poluição ambiental.

Palavras-chave: ROFA. Glicemia. Dieta hiperlipídica.

Referências

ROBERTS, C.K.; BARNARD, .R.J. Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol.*, v.98, n.1, p.3-30, 2005.

WELLEN, K. E.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, stress, and diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 115, p. 1111–9, 2005.

LEFTEROVA, M.I.; LAZAR, M.A. New developments in adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab.*, v.20, n.3, p. 107-114. 2009.

BELFOSSE, V. C.; Low levels of residual oil fly ash (ROFA) impair innate immune response against environmental mycobacteria infection in vitro. *Toxicology in Vitro* p. 1001–1006, 2012.

BARREIROS, A. L. B. S.; Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism`s defense.

O`NEILL, M.S. et al. Diabetes Enhances Vulnerability to Particulate Air Pollution–Associated Impairment in Vascular Reactivity and Endothelial Function. *Circulation*, v.111, p.2913-2920, 2005.

XU, X. et al. Long-Term Exposure to Ambient Fine Particulate Pollution Induces Insulin Resistance and Mitochondrial Alteration in Adipose Tissue. *Toxicological Sciences*, 2011.