

SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO EM PARÂMETROS MORFOFUNCIONAIS DE RATOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA

SUPPLEMENTATION OF CONJUGATED LINOLEIC ACID COMBINED WITH EXERCISE ON MORPHOFUNCTIONAL PARAMETERS OF RATS SUBMITTED TO CAFETERIA DIET

Queila Turchetto^{*}
Leonardo Vidal Andreato^{**}
Felipe Natali Almeida^{***}
João Victor Del Conti Esteves^{****}
Solange Marta Franzói de Moraes^{*****}

RESUMO

O estudo investigou as alterações morfofuncionais da suplementação do Ácido Linoleico Congugado CLA em animais obesos treinados e sedentários alimentados com dieta de cafeteria. Foram utilizados ratos Wistar, aleatoriamente divididos em quatro grupos: sedentário controle (SCON), sedentário tratado com CLA (SCLA), treinado controle (TCON) e treinado tratado com CLA (TCLA). Todos os grupos receberam dieta de cafeteria e os grupos SCLA e TCLA foram tratados com CLA a 0,5% da dieta, cinco vezes/semana durante dois meses via gavagem. Os grupos TCLA e TCON foram submetidos a treinamento aeróbio, cinco vezes/semana, durante dois meses. A suplementação de CLA, isolada ou combinada ao treinamento físico, não resultou em diminuição da massa corporal dos animais, embora ambas as intervenções propiciassem diminuição dos coxins subcutâneos de gordura (SCLA, TCON e TCLA vs SCON, $p < 0,05$). O grupo TCLA melhorou a resposta à insulina ainda que a glicemia em jejum não tenha apresentado diferença entre os grupos. Os níveis de triglicérides mostraram-se aumentados nos animais suplementados com CLA (SCLA e TCLA vs SCON e TCON, $p < 0,05$) e as concentrações plasmáticas de colesterol e marcadores de lesões hepática não diferiram entre os grupos. Contudo, os animais que fizeram uso de CLA apresentaram maior infiltração de lipídeos no fígado. O estudo contribui para o entendimento da ação do CLA combinado ou não ao exercício físico associado à dieta de cafeteria no controle da obesidade. No entanto, a extrapolação dos resultados para seres humanos ainda deve ser visto com cautela.

Palavras-chave: Ácido linoleico conjugado. Exercício físico. Obesidade.

INTRODUÇÃO

Atualmente, a manifestação da obesidade pode ser observada em diferentes segmentos populacionais (LIM et al., 2011; PERSELL et al., 2011), sendo considerada um fator que aumenta as chances de mortalidade (GONZALEZ et al., 2010) e associa-se com o desenvolvimento de enfermidades como hipertensão (PERSELL et al., 2011; STEINBERG et al., 2000), dislipidemias

(BAMBA; RADER, 2007), resistência insulínica (BODEN et al., 2005), diabetes tipo 2 (BODEN, 2005), esteatose hepática (PILZ; MARZ, 2008), aterosclerose (MESHKANI; ADELI, 2009), dentre outras (JENSEN, 2008). Por esses malefícios associados ao número crescente de indivíduos obesos, estima-se que de 2% a 8% dos gastos na área da saúde, em vários países do mundo, sejam destinados ao tratamento de doenças desencadeadas pela obesidade (FANDINO et al., 2004).

* Especialista. Professora do Centro Universitário de Maringá, Maringá-PR, Brasil.

** Mestrando da Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil.

*** Doutorando do Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil.

**** Mestrando do Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, Brasil.

***** Doutora. Professora do Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, Brasil.

No sentido de controle da obesidade, tem sido recomendada a adoção de estilo de vida saudável, com inclusão de exercícios e dieta balanceada (FOSTER-SCHUBERT et al., 2011) e em alguns casos, medicação (DAVI et al., 2010) ou intervenções cirúrgicas (ARNER; SPALDING, 2010). Desse modo, nos últimos tempos, tem-se verificado um interesse crescente dos consumidores em determinados alimentos que contenham componentes com atividade fisiológica/biológica, além de nutricional, denominados de alimentos funcionais, alimentos desenhados ou nutracêuticos (HASLER, 1998). Dentre os alimentos usados no tratamento da obesidade consta o ácido linoleico conjugado (CLA), o qual se refere a uma mistura de isômeros de posição geométrica com duplas ligações conjugadas do ácido octadecadienoico, principalmente os isômeros 9-cis, 11-trans- e 10-trans, 12-cis (BOTELHO et al., 2005; MOURÃO; MONTEIRO; STRINGHETA, 2005; MOON; LEE; KIM, 2003).

O CLA é considerado um potente agente antiobesidade, pelas suas possíveis propriedades moduladoras no metabolismo lipídico. De fato, o uso de CLA tem se mostrado eficaz para diminuição de gordura corporal em modelo animal (PARK et al., 1997; AZAIN et al., 2000; COOK; DRAKE; PARIZA, 2000; DELANY et al., 1999) e humano (BLANKSON et al., 2000; RISERUS; BERGLUND; VESSBY, 2001). Contudo, a interação de dieta hipercalórica, exercício físico e suplementação de CLA pode trazer informações importantes para melhor entendimento da ação desse composto.

Deste modo, este trabalho tem por objetivo avaliar as alterações morfofuncionais da suplementação do CLA em animais obesos treinados e sedentários que fizeram uso de dieta de cafeteria.

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 32 ratos machos de linhagem Wistar, com 60 dias de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, alojados quatro animais por gaiola, à temperatura de 22°C, com ciclo de iluminação claro/escuro normal de 12/12h, alimentados ad libitum com dieta de cafeteria durante todo período do experimento. Todos os experimentos foram conduzidos em acordo com os princípios e procedimentos de cuidado com o uso de animais experimentais e foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais em experimentação da Universidade Estadual de Maringá (Parecer nº 048/2006).

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O protocolo experimental ocorreu de acordo com o apresentado na Figura 1. Durante os 30 dias iniciais, todos os animais somente consumiram dieta de cafeteria. Após esse período, inserimos exercício físico aeróbio e/ou ácido linoleico conjugado (CLA), seguindo o protocolo por mais 60 dias. Desta forma, os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de acordo com a medida de intervenção selecionada (exercício físico e/ou ácido linoleico conjugado): sedentário controle (SCON) (n=8), sedentário CLA (SCLA) (n=8), treinado controle (TCON) (n=8), treinado CLA (TCLA) (n=8). Foram verificados semanalmente peso corporal (duas vezes/semana), consumo alimentar (5 vezes/semana) e consumo de líquidos (5 vezes/semana).

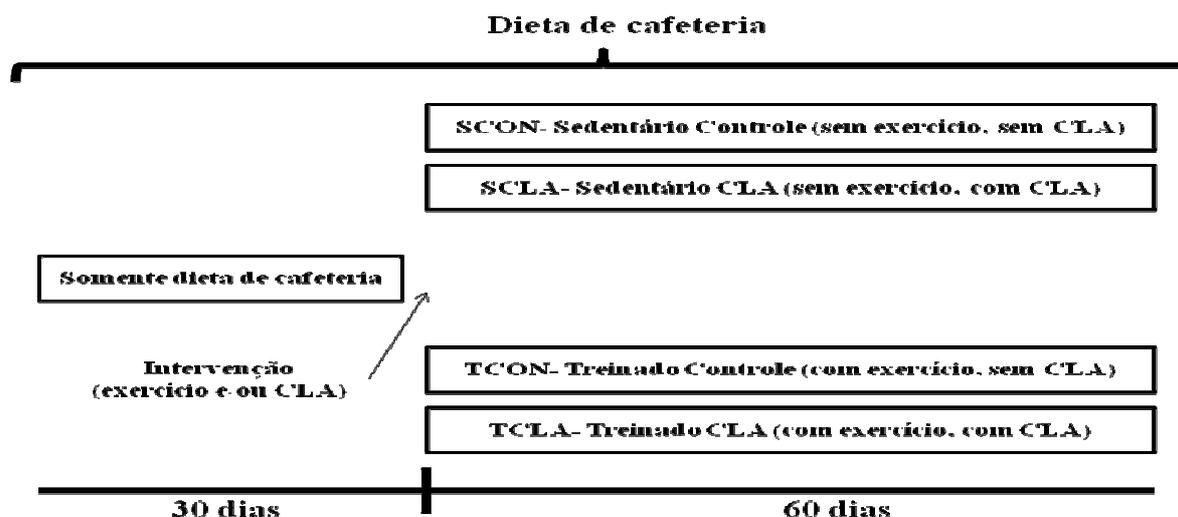


Figura 1 - Protocolo experimental. Organização dos grupos ao longo do experimento.

A dieta de cafeteria corresponde um modelo experimental de indução de acúmulo de adiposidade e compreende a substituição da ração padrão por diversos alimentos (CESARETTI; KOLHMANN JUNIOR, 2006). Entre os alimentos consumidos, incluímos: chips queijo e bacon, chocolate, ovos, marshmallow, geleia de mocotó, salsichas, mortadela, refrigerante, pão francês, bacon e bolachas recheadas, ofertados de acordo com quantidade consumida. Os grupos SCLA e TCLA receberam o ácido linoleico conjugado (fornecido pela Integralmédica®), na proporção de 0.5% da dieta, administrado cinco vezes por semana, durante dois meses, por meio de entubação orogástrica.

Treinamento físico

Os animais foram submetidos inicialmente a uma semana de adaptação constituída de 10 min/dia de corridas em esteira ergométrica programável (Inbrasport®), adaptada para treinar oito animais simultaneamente, à velocidade oscilando de 0.3 km/h a 0.6 km/h. Após o período de adaptação, os animais passaram a realizar um protocolo de treinamento aeróbio estabelecido por Negrão et al. (1992) e adaptado por Dufloth, Morris e Michelini (1997). O treinamento físico ocorreu entre 5h30min e 8h. Este protocolo consiste em cinco sessões de corrida semanais, volume e intensidade de treinamento oscilando ao longo do período, com duração de até 1h com zona de esforço

caracterizada como moderada (60 a 75% do $VO_{2máx}$).

Coleta dos tecidos

Após os 90 dias de protocolo experimental, 48h da última sessão de treinamento físico, jejum de 12h e entre 7h e 10h, os animais foram anestesiados com administração de pentobarbital sódico (Hypinol® 3%, 4 mg/100g p.c., i.p.) e a perda dos reflexos pedal e corneano foi usada como controle da anestesia. Em seguida, os animais foram submetidos à laparotomia mediana para a coleta de sangue (4 mL) da veia cava inferior e remoção dos tecidos adiposos (subcutâneo, retroperitoneal, periepididimal e mesentérico). As amostras sanguíneas foram centrifugadas (2000 rpm, 4°C, 15 min) e o sobrenadante foi armazenado em freezer a -80°C até as análises.

Isolamento de Adipócitos

O tecido adiposo periepididimal foi retirado, fragmentado com tesoura de ponta fina e colocado em 4 mL de tampão digestivo (DMEM/HEPES 25 mM, soro albumina bovina fração V (BSA) a 4%, colagenase II 1.25 mg/mL, pH 7.4 a 37°C) por cerca de 20 min (37°C), sob agitação constante (150 rpm em banho-maria de agitação orbital). Em seguida, o tecido digerido foi filtrado, colocado em tubo cônico e lavado três vezes com 25 mL de tampão EHB (EARLE/HEPES) 20 mM contendo BSA a 1%, piruvato de sódio 1 mM,

sem glicose, pH 7.4 a 37°C (tampão EARLE/HEPES/BSA – EHB). Após a terceira lavagem, foram confeccionadas lâminas histológicas e imagens das mesmas foram capturadas através de uma microcâmara digital acoplada a um microscópio óptico (OLYMPUS BX40, objetiva 10x, Tokyo, Japão), e nessas imagens, o diâmetro de cada adipócito (100 células por animal) foi mensurado utilizando um sistema computadorizado de análise de imagens (IMAGE PRÓ-PLUS 4.1, Springfield, Estados Unidos).

Dosagens Bioquímicas

A determinação das concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total, colesterol de alta densidade (HDL-C), triglicerídeos, transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) foi realizada utilizando kits de métodos enzimáticos colorimétricos Gold Analisa Diagnósticos® (Belo Horizonte, Brasil) em espectrofotômetro BIOPLUS UV 2000® (São Paulo, Brasil).

Teste de tolerância à insulina intraperitoneal (i.p.ITT)

Os animais em jejum (12h) receberam uma solução de insulina diluída em salina (1U/mL, aplicado 1 mL/Kg de peso corporal, i.p.) para realização do teste de tolerância à insulina intraperitoneal.

Nos animais acordados, a glicemia foi mensurada com tiras reativas e aparato de leitura Accu-check Active® (Roche, Mannheim, Alemanha). Para o teste de tolerância à insulina, a glicemia foi mensurada nos tempos 0 (basal) e 4, 8, 12, 16 e 20 min, após administração da solução. Foi calculada a constante de decaimento da glicose (K_{itt}) pela fórmula $0.693/t^{1/2}$, em que $t^{1/2}$ é o tempo de meia vida da glicose plasmática calculada pela inclinação da curva obtida durante a fase linear de decaimento da glicose plasmática detectada nos tempos 4 a 20 min após infusão de insulina (BONARA et al., 1989). Quanto mais rápida e intensa for a queda da glicose no teste, maior é o K_{itt} e maior a sensibilidade insulínica (GELONEZE; TAMBASCIA, 2006).

Análise Histológica Hepática

Para evidenciação de inclusões lipídicas no tecido hepático, amostras do lobo esquerdo foram fixadas em nitrogênio líquido e submetidas à microtomia (criostato Tissue Tek®), com cortes histológicos de 10µm de espessura, associada à coloração histoquímica Sudan III, que cora os lipídeos em laranja.

Para análise morfométrica do material evidenciado pela histoquímica Sudan III, foi realizada captura das imagens através de uma Câmera digital de alta resolução Pro-Series da Media Cibertecnicos®, acoplada ao microscópio Olympus Bx 40® (Tokyo, Japão), sendo que, para leitura das imagens foi utilizado o programa Image Pro-Plus 4.1® (Springfield, Estados Unidos). Para avaliar o percentual da área lipídica ocupada, foi realizada análise qualitativa por um único avaliador com experiência em tal procedimento.

Análise estatística

Os resultados estão expressos em média ± erro-padrão da média (EPM). Quando comparado os grupos, foi utilizada a análise de variância (*Anova one-way*) com pós-teste de *Tukey* quando apropriados, prefixando-se o nível de significância em 5%. Os testes estatísticos foram realizados mediante o programa *Prism 2.1*® e *Microsoft Excel*®.

RESULTADOS

Na Tabela 1 são apresentados os dados referentes ao consumo alimentar dos diferentes grupos. Observamos que não ocorreu alteração na ingestão calórica e em gramas nos diferentes grupos. Ao realizarmos uma análise dos micronutrientes consumidos, notamos que os grupos treinados apresentaram maior ingestão de fibras e cálcio em relação aos grupos sedentários (SCON e SCLA vs. TCON e TCLA, $p < 0,05$). Em relação à ingestão de líquidos, dentro de cada grupo, a ingestão de água foi inferior a de refrigerante. Porém, isoladamente, quanto ao consumo hídrico não foram identificados alterações na ingestão de água. Entretanto, a ingestão de refrigerante tipo cola dos grupos SCON, TCON e TCLA foi maior que a ingestão do grupo SCLA ($p < 0,001$, $p < 0,05$ e $p < 0,05$, respectivamente).

Tabela 1 - Consumo diário de nutrientes presentes nos alimentos ingeridos durante o período experimental (análise por gaiola). (Valores expressos em média ± EPM).

	SCON (n=8)	SCLA (n=8)	TCON (n=8)	TCLA (n=8)
Consumo (kcal)	97.33 ± 1.65	95.52 ± 1.53	95.45 ± 1.74	96.61 ± 1.62
Consumo (g)	88.55 ± 32.96	90.04 ± 37.80	86.48 ± 34.00	87.14 ± 32.21
Água (mL)	14.07 ± 1.29	14.55 ± 1.19	14.61 ± 1.22	13.15 ± 1.34
Refrigerante (mL)	53.31 ± 2.09#	40.89 ± 1.76	49.13 ± 1.64†	52.20 ± 2.39†
Carboidratos (g)	11.52 ± 0.27	10.73 ± 0.24	11.55 ± 0.26	11.93 ± 0.25
Proteínas (g)	2.36 ± 0.05	2.34 ± 0.05	2.42 ± 0.05	2.46 ± 0.05
Sódio (mg)	200.76 ± 7.29	203.15 ± 7.41	204.14 ± 13.73	180.56 ± 6.87
Ferro (mg)	1.94 ± 0.06	1.82 ± 0.06	2.00 ± 0.09	1.99 ± 0.06
Cálcio (mg)	52.90 ± 3.08	45.21 ± 3.20	68.85 ± 5.85*	62.80 ± 3.25*
Fibras (g)	0.54 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.70 ± 0.06*	0.64 ± 0.03*
Gordura total (g)	4.51 ± 0.13	4.67 ± 0.13	4.23 ± 0.12	4.22 ± 0.12
Gordura saturada (g)	1.47 ± 0.05	1.47 ± 0.05	1.50 ± 0.09	1.35 ± 0.05
Gordura trans (g)	0.48 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.52 ± 0.03	0.50 ± 0.03
Colesterol (mg)	7.56 ± 0.83	7.73 ± 0.83	7.48 ± 0.89	6.76 ± 0.83

* p < 0,05 em relação ao grupo SCON e SCLA, # p < 0,001 em relação ao grupo SCLA, † p < 0,05 em relação ao SCLA.

O peso corporal inicial e final, ganho de peso total, ganho de peso pré e pós-introdução da dieta e/ou suplementação de CLA ao final de três meses está apresentado na Tabela 2. Não foram observadas diferenças em nenhum aspecto relacionado ao peso corporal. No entanto, podemos relatar que os grupos

treinados (TCON e TCLA) apresentaram uma tendência a menor ganho de peso após a inserção do exercício físico, resultando, embora estatisticamente não observado, num menor ganho de peso ao final do protocolo experimental.

Tabela 2 - Peso corporal inicial e final, ganho de peso total e ganho de peso antes e após introdução da intervenção nos animais ao final de três meses sob dieta de cafeteria. (Valores expressos em média ± EPM).

	SCON (n=8)	SCLA (n=8)	TCON (n=8)	TCLA (n=8)
Peso inicial (g)	291.25 ± 9.34	296.13 ± 6.56	299.13 ± 6.97	297.50 ± 4.69
Peso final (g)	476.14 ± 14.01	517.57 ± 13.43	457.42 ± 20.26	500.57 ± 16.94
Ganho de peso (pré)	121.88 ± 8.08	112.62 ± 7.21	105.50 ± 23.43	97.50 ± 16.03
Ganho de peso (pós)	81.63 ± 7.09	80.37 ± 4.28	64.00 ± 9.66	67.50 ± 16.25
Ganho de peso (total)	203.50 ± 12.14	193.00 ± 9.08	169.50 ± 22.96	165.00 ± 15.21

Em contrapartida, conforme observado na Figura 2, a associação entre treinamento físico e CLA resultou numa diminuição no somatório dos diferentes tecidos adiposos (p < 0,05) em relação aos grupos SCON e SCLA. Se realizarmos uma análise isolada dos diferentes depósitos, observamos que no tecido

subcutâneo, tanto o exercício físico quanto o CLA, foram efetivos em sua redução. No entanto, a análise dos três tecidos adiposos viscerais (periepídidimo, retroperitônio e mesentérico) demonstrou um efeito redutor apenas com a associação do exercício físico e CLA (TCLA).

Adicionalmente à massa dos diferentes tecidos adiposos, realizamos o isolamento de adipócitos no tecido adiposo periepídidimo para identificação dos efeitos das medidas de intervenção sobre o diâmetro dos mesmos (Figura 3).

Adicionalmente à massa dos diferentes tecidos adiposos, realizamos o isolamento de adipócitos no tecido adiposo periepídidimo para identificação dos efeitos das medidas de intervenção sobre o diâmetro dos mesmos (Figura 3).

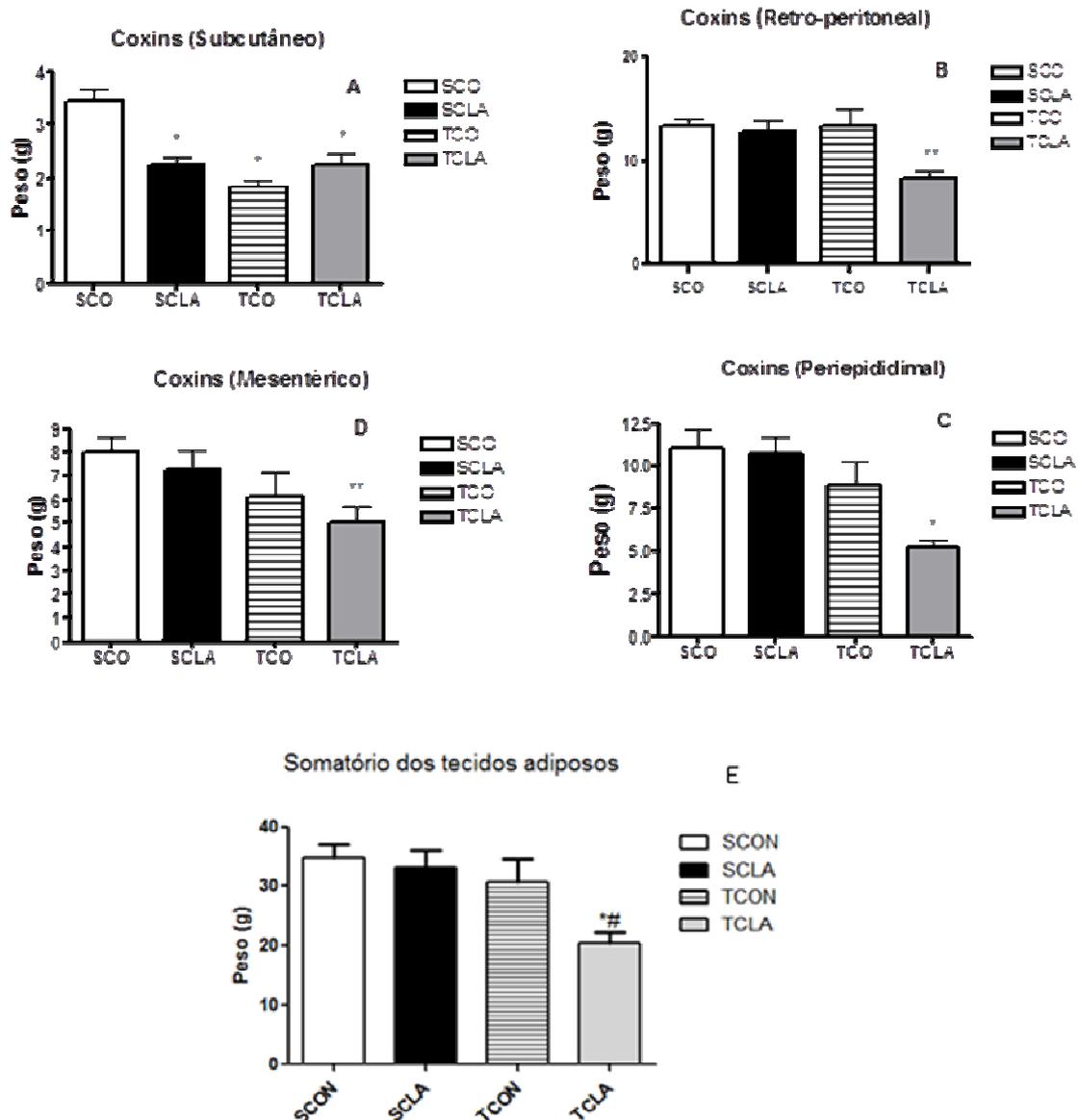


Figura 2 - Peso (g) dos coxins (A) Subcutâneo, (B) Retro-peritoneal, (C) Periepídidimo, (D) Mesentérico e, (E) somatório dos coxins entre os grupos dos animais sedentários (SCON) (n=8), sedentários tratados com CLA (SCLA) (n=8), treinados (TCON) (n=8) e treinados tratados com CLA (TCLA) (n=8). **p < 0,05 em relação ao SCON; # p<0,05 em relação ao SCLA, *p<0,01 em relação SCON. Valores expressam média ± EPM.

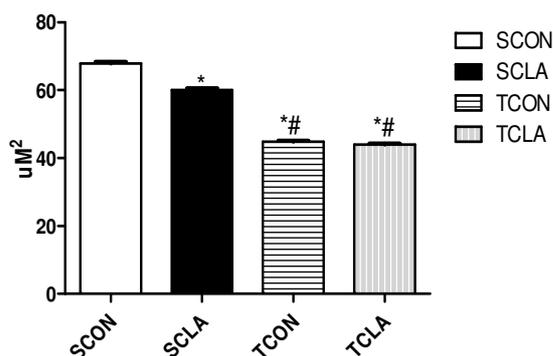


Figura 3 - Diâmetros de adipócitos isolados do tecido periepídídimo. * $p < 0,001$ em relação ao SCON, # $p < 0,001$ em relação ao SCLA. Valores expressam média \pm EPM.

Ao observar o diâmetro dos adipócitos, constatou-se que o treinamento físico aeróbico (TCON), a suplementação de CLA (SCLA) ou a associação das medidas de intervenção (TCLA) apresentaram efeito benéfico na redução do volume dos adipócitos periepídídimo ($p < 0,001$). Porém, o treinamento físico isolado (TCON) ou associado à suplementação (TCLA) foi superior à ação isolada do CLA (SCLA) ($p < 0,001$), indicando uma ação positiva do treinamento físico aeróbico sobre o equilíbrio entre lipólise e lipogênese.

A análise de parâmetros bioquímicos dos grupos experimentais avaliados em jejum de 12h na condição de repouso é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Análise de parâmetros bioquímicos dos grupos experimentais avaliados em jejum de 12h na condição de repouso. (Valores expressos em média \pm EPM).

	SCON (n=8)	SCLA (n=8)	TCON (n=8)	TCLA (n=8)
Glicemia (mg/dL)	182.81 \pm 8.66	183.57 \pm 10.02	174.11 \pm 5.59	183.30 \pm 6.69
K_{itt} (% min⁻¹)	5.60 \pm 1.52	3.87 \pm 0.39	5.71 \pm 2.05	8.93 \pm 1.03 [#]
Triglicerídeos (mg/dL)	151.40 \pm 6.82	221.40 \pm 21.57*	179.00 \pm 16.93	221.00 \pm 18.29*
Colesterol total (mg/dL)	111.47 \pm 5.32	122.41 \pm 8.07	121.33 \pm 11.48	120.27 \pm 8.62
Colesterol HDL (mg/dL)	44.70 \pm 5.55	49.63 \pm 14.62	44.50 \pm 8.00	40.25 \pm 6.98
Colesterol LDL (mg/dL)	36.49 \pm 7.20	36.60 \pm 14.42	36.83 \pm 12.33	34.53 \pm 9.01
Colesterol Total/HDL (mg/dL)	2.63 \pm 0.26	3.15 \pm 0.60	2.60 \pm 0.33	3.05 \pm 0.30
TGO (U/L)	11.47 \pm 1.29	12.82 \pm 1.32	9.44 \pm 0.60	10.75 \pm 1.04
TGP (U/L)	3.28 \pm 0.18	4.11 \pm 1.25	2.42 \pm 0.33	4.56 \pm 0.71
TGO/TGP (U/L)	3.64 \pm 0.66	3.79 \pm 0.59	4.12 \pm 0.43	2.49 \pm 0.29

K_{itt}: constante de decaimento da glicose em teste de tolerância à insulina. * $p < 0,05$ em relação ao SCON; # $p < 0,05$ em relação ao SCLA.

Em relação aos parâmetros plasmáticos, todos os grupos apresentaram valores elevados de glicemia (porém sem diferença significativa entre eles) demonstrando efeito negativo do consumo da dieta de cafeteria. Em relação aos níveis de lipoproteínas e indicadores de lesão hepática (TGO e TGP), não foram observadas diferenças entre os grupos. Em contrapartida, foi identificado aumento nos níveis circulantes de triglicerídeos nos dois grupos que fizeram uso da administração de CLA (SCLA e TCLA vs SCON, $p < 0,05$). Embora os grupos não tenham apresentado diferenças nos valores glicêmicos, foi possível observar pelos resultados obtidos pelo coeficiente de

decaimento da concentração da glicemia em teste de tolerância à insulina intraperitoneal (KITT), que o grupo TCLA melhorou a resposta à insulina em relação ao grupo SCLA ($p < 0,05$).

Na Figura 4 são apresentadas as análises histológicas de fígado para identificação de infiltração lipídica.

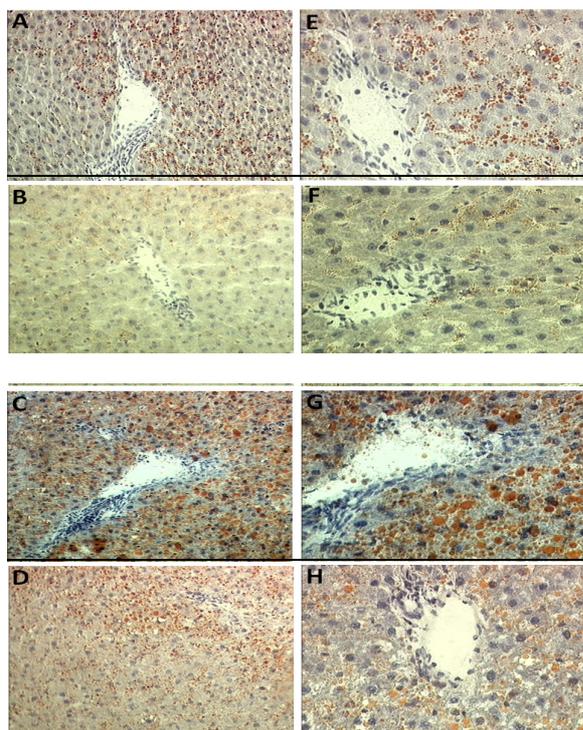


Figura 4 - Fotomicrografia do tecido hepático dos grupos: (A) sedentário controle (SCON), (B) treinado controle (TCON), (C) sedentário CLA (SCLA) e (D) treinado CLA (TCLA) em aumento de 10x realizado em microscópio Olympus Bx40, e fotomicrografia do tecido hepático dos grupos: (E) sedentário controle (SCON), (F) treinado controle (TCON), (G) sedentário CLA (SCLA) e (H) treinado CLA (TCLA) em aumento de 20x realizado em microscópio Olympus Bx40.

A partir da análise hepática histológica qualitativa, evidenciou-se que o grupo SCLA foi o que apresentou maior infiltração lipídica hepática, seguido pelo grupo TCLA, SCON e TCON.

DISCUSSÃO

A suplementação de CLA, isolada ou combinada ao treinamento físico, não resultou em diminuição da massa corporal dos animais, embora ambas as intervenções propiciaram diminuição dos coxins subcutâneos de gordura. Para a gordura visceral, a suplementação de CLA potencializou a ação do treinamento físico a fim de diminuição dos tecidos adiposos. Os animais não diferiram em relação à glicemia,

contudo, a combinação de treinamento físico e ingestão de CLA proporcionou melhora na sensibilidade à insulina. Os níveis de triglicérides mostraram-se aumentados nos grupos suplementados com CLA e os valores de colesterol e marcadores de lesões hepática não se mostraram sensíveis nem ao treinamento físico nem à suplementação, embora análise qualitativa histológica hepática demonstrou que os grupos usuários de CLA apresentaram maior infiltração lipídica.

Atualmente, a obesidade é considerada fator importante no desenvolvimento de diversas enfermidades (PERSELL, 2011; MESHKANI; ADELI, 2009; PILZ; MARZ, 2008; BAMBA; RADER, 2007; BODEN, 2005), aumentando a chance de mortalidade (GONZALEZ et al., 2010). Entre os fatores que se encontram na gênese da mesma, pode-se destacar os fatores ambientais, como o sedentarismo e os maus hábitos alimentares (JEBB, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990; ROLLS; SHIDE, 1992). Desta forma, foi feito uso de um modelo experimental denominado de “dieta de cafeteria”, para a mimetização dos maus hábitos alimentares, o qual se tem mostrado eficaz para tal fim (CESARETTI; KOLHMANN JUNIOR, 2006; KRETSCHMER et al., 2005).

Embora todos os grupos receberam a mesma oferta de alimentos, os animais que realizaram treinamento físico (TCO e TCLA) autosselecionaram alimentos que desencadearam em diferenças no consumo de fibras e cálcio quando confrontados aos animais sedentários. Nesse sentido, sabe-se que apesar das fibras serem resistentes à hidrólise das enzimas digestivas, a microbiota do intestino grosso é capaz de fermentar parcialmente seus constituintes, resultando em produtos que podem alterar o metabolismo da flora intestinal, alguns processos metabólicos do intestino grosso e, principalmente, a absorção de ácidos graxos de cadeia curta, contribuindo, assim, para elevar o metabolismo energético (MARTINS BION et al., 1997). Entretanto, vale ressaltar que no presente estudo foi mensurado apenas o conteúdo total das fibras ingeridas e não as suas frações (solúveis e insolúveis). Assim, sugere-se que esta diferença no consumo final de fibras possa ter auxiliado na melhora da sensibilidade à

insulina e no menor acúmulo de gordura nos animais que realizaram treinamento físico, combinado ou não à suplementação de CLA, uma vez que alguns estudos já demonstraram efeitos positivos das fibras sobre a adiposidade e resistência insulínica (MELLO; LAAKSONEN, 2009; WANG; JONES, 2004).

Em relação ao déficit do consumo de cálcio, alguns estudos evidenciaram que este é considerado um fator negativo relacionado à massa corpórea. Ensaio clínico e experimentais demonstram que o mecanismo provável é que a maior disponibilidade do cálcio intracelular é capaz de promover aumento da lipogênese, inibição da lipólise e hiperinsulinemia (SANTOS, 2006).

Em relação ao consumo de líquidos, os resultados deste estudo apontaram maior consumo de refrigerantes à água, fato este, já evidenciado anteriormente (PROENÇA et al., 2006), o qual foi creditado à palatabilidade agradável do mesmo (NIEUWENHOVEN; BRUMMER; BROUNS, 2000). Porém, a consequência desse consumo está principalmente ligada à ingestão maior de calorias.

Mesmo com a ingestão de dieta de cafeteria, tanto a suplementação (SCLA) quanto o treinamento (TCON), ou associação das duas intervenções (TCLA), induziram menores coxins de gordura subcutânea quando comparados ao grupo controle (SCO). Porém, para os coxins de gordura viscerais (retroperitoneal, periepídidimo e mesentérico) apenas a associação de suplementação e treinamento proporcionaram reduções de acúmulo de gordura quando comparados ao grupo controle (SCON), evidenciando efetividade do CLA para tais fins. Este resultado obtido é importante para controle da obesidade, uma vez que estoques elevados de gordura corporal (especialmente a gordura visceral) aumentam chance de desenvolvimento de patologias como diabetes *mellitus* tipo 2 (BODEN, 2005), esteatose hepática (PILZ; MARZ, 2008), distúrbios cardiovasculares (REAVEN; ABBASI; MCLAUGHLIN, 2004), síndrome metabólica (FURUKAWA et al., 2004), dentre outros. Além disso, sabe-se que o aumento da adiposidade está associado à secreção de citocinas e adipocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa

(TNF- α), interleucinas (IL-1 β e IL-6), inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1), dentre outros, que além de estar associados a diversas patologias metabólicas, induzem ao estresse oxidativo (NOEMAN; HAMOODA; BAALASH, 2011; RASOULI; KERN, 2008).

Além disso, neste estudo ao analisar o diâmetro dos adipócitos, constatou-se que tanto o treinamento (TCON) quanto a suplementação de CLA (SCLA), ou ambas as intervenções (TCLA), apresentaram efeito benéfico protetor em relação ao volume dos adipócitos periepídidimais. Esses resultados são importantes para controle da obesidade, visto que em humanos o número de adipócitos na fase adulta permanece estável e o tecido adiposo aumenta a custo da hipertrofia das células adiposas (ARNER; SPALDING, 2010; SPALDING et al., 2008).

Diversos trabalhos têm demonstrado que o CLA tem efeito positivo na melhora da composição corporal em diversos modelos animais. Resultados benéficos da suplementação de CLA foram verificados em estudo realizado com ratos Wistar durante as fases iniciais do desenvolvimento, no qual foi constatado que a suplementação de 2% e 4% de CLA sobre o consumo diário de dieta foi capaz de reduzir aproximadamente 18% da gordura corporal quando comparado ao grupo controle (BOTELHO et al., 2005).

A efetividade da suplementação de CLA sobre a redução de gordura corporal também foi obtida quando associada à dieta hiperlipídica, sendo que Delany et al. (1999), em estudo dose-resposta, verificaram que a gordura corporal foi significativamente menor nos grupos que utilizaram 0,5%, 0,75%, e 1,0% de CLA por peso corporal em comparação com os controles. Além disso, os mesmos autores relatam que a suplementação de CLA a 1% apresentou redução rápida dos coxins adiposos, visto que diferenças dentro de duas semanas e manutenção desta redução durante 12 semanas com manutenção da suplementação. Uma vez que reduções nas duas semanas iniciais e a manutenção desta redução de massa adiposa por 12 semanas foram observadas com a suplementação de CLA.

Park et al. (1997) demonstraram redução na deposição de gordura em camundongos tratados

com CLA 0,5% acrescido na dieta, apontando diminuição de 60% da gordura corporal após 32 dias de suplementação. Os mesmos autores observam também uma inibição direta da lipase lipoproteica em cultura de linhagem 3T3-L1 de adipócitos (-66%), diminuição das concentrações intracelulares de triglicerídeos (-8%) e glicerol (-15%) e um aumento significativo na concentração de glicerol livre no meio da cultura (+22%), que pode ser considerado como um indicativo de aumento da lipólise. Nesse sentido, foi descrito que o mecanismo pelo qual o CLA reduz a massa gorda é promovendo lipólise nos adipócitos e aumento da oxidação de ácidos graxos nos adipócitos e células do músculo esquelético (PARIZA et al., 1997).

Embora o tempo de suplementação e concentração de CLA adotado pelos pesquisadores tenham diferenças, torna-se evidente a efetividade do uso de CLA sobre a redução de gordura corporal em modelo animal (KIM et al., 2010; BOTELHO et al., 2005; AZAIN et al., 2000; DELANY et al., 1999; PARK et al., 1997). Além disso, as reduções de gordura corporal nem sempre acompanham diminuição do peso corporal e diminuição da ingestão alimentar (AZAIN et al., 2000), fato evidenciado neste estudo, uma vez que o peso corporal e a ingestão alimentar não diferiram entre os grupos.

Os efeitos do uso de CLA em humanos também são investigados. Em estudo com humanos obesos para investigar o efeito dose-resposta da suplementação de CLA, no qual 60 homens obesos receberam diferentes doses de CLA, (1,7; 3,4; 5,1 ou 6,8 g por dia durante 12 semanas, os resultados dessa suplementação mostraram-se positivos, visto que o tratamento com CLA (3,4g – 6,8 g) durante três meses foi capaz de reduzir a massa de tecido adiposo em adultos obesos e adultos acima do peso. Além disso, doses superiores a 3,4g/dia parecem não ter vantagem adicional (BLANKSON et al., 2000). Contudo, a dosagem ideal para ser adotada em diferentes populações ainda não está bem descrito na literatura.

Em estudo realizado por Riserus, Berglund e Vessby (2001), os efeitos do ácido linoleico conjugado, em humanos com obesidade abdominal e síndrome metabólica, foi prescrita a

suplementação de 4,2 g CLA/dia, durante quatro semanas, e como resultado os autores indicaram que a suplementação de CLA foi efetiva em diminuir a gordura abdominal.

Face aos estudos analisados acima, fica evidente que a ingestão de CLA tem efeito positivo na redução da adiposidade, tanto em modelos animais quanto em humanos. Todavia, mais estudos são necessários para identificar possíveis efeitos adversos, e estabelecer dose e tempo de uso para diferentes populações.

Como todos os animais estavam hiperglicêmicos e a resposta ao teste de tolerância à insulina foi melhorada nos animais TCLA e prejudicada nos SCLA (TCLA vs SCLA, $p < 0,05$), pode-se inferir que pela demanda de energia para a contração muscular a captação de ácidos graxos foi intensificada nos treinados, em detrimento da dificuldade em captar glicose dos sedentários. Isso explica a melhor resposta ao teste de tolerância à insulina (KITT) dos animais treinados, uma vez que existem vias intracelulares de translocação de transportadores de glicose ativadas pelo exercício físico que independem da ação deste hormônio (JESSEN; GOODYEAR, 2005), assim reforçando a hipótese que o exercício físico é conhecido por melhorar a tolerância à glicose e por aumento da sensibilidade periférica à insulina (OLIVEIRA et al., 2011; DELA et al., 1994). Ainda, a avaliação dos níveis insulinêmicos e de proteínas intracelulares relacionadas à contração muscular e/ou à sinalização do hormônio em questão, contribuiriam para o melhor entendimento dessa resposta.

Nem o treinamento físico nem o tratamento com CLA foram capazes de promover melhora nos níveis de colesterol total, HDL ou LDL. Estes dados podem ser atribuídos à dieta de cafeteria, visto que em outros estudos que não adotaram dieta de cafeteria a suplementação de CLA parece ter efeito positivo nos níveis de colesterol, como o estudo de Akahoshi et al., (2005), administrando CLA (1.0%) com uma dieta rica em proteína de soja no qual foi observada redução significativa nos níveis de colesterol em ratos Sprague-Dawley. Assim como em estudo de Faulconnier et al. (2004) em que foi ministrada dieta padrão com CLA (1.0%) em ratos Wistar, durante seis meses e

como produto foi relatado redução nos níveis de colesterol.

Quando avaliado efeito antiaterogênico, uma vez que se levarmos em conta o índice aterogênico (Colesterol total/HDL), que pode ser considerado um bom marcador de doença coronariana (CHEIK et al., 2006; RAVI-KARIN et al., 2006), não foram evidenciadas diferenças entre os grupos analisados neste estudo. Deste modo, embora alguns estudos apresentem evidências de que o CLA melhora a composição corporal de animais e seres humanos, para melhora de parâmetros de colesterol a adoção de dieta balanceada se faz fundamental.

Ao analisar os valores de triglicerídeos, observa-se que os animais tratados com CLA (SCLA e TCLA) tiveram seus níveis aumentados em comparação aos grupos controles (SCON e TCON). Isto pode ser um indicativo de que o uso do CLA provavelmente acentuou a atividade lipolítica (conforme observado pela redução no diâmetro dos adipócitos), porém, sugere-se que não ocorreu uma oxidação adequada dos AGLs, sendo, portanto, direcionados ao fígado, metabolizados e re-esterificados a triglicerídeos, aumentando a concentração dos mesmos na circulação e gerando um acúmulo mais acentuado de gorduras no fígado (conforme visualizado nas fotomicrografias marcadas imuno-histoquimicamente com Sudan III). Porém, mais experimentos são necessários para comprovar este mecanismo de ação.

Aproximadamente 20 a 30% dos adultos da população geral do ocidente tem doença não alcoólica do fígado, e esta prevalência aumenta 70 a 90% entre pessoas obesas ou que têm diabetes (TARGHER; DAY; BONORA, 2010). Assim, para controle da deposição de gordura no fígado modificações na ingestão alimentar e inclusão de atividade física têm sido recomendados (VASQUES et al., 2012; JOHNSON; GEORGE, 2010). Neste estudo, os marcadores de lesão hepática (TGO, TGP e TGO/TGP) não se mostraram alterados em nenhuma intervenção. Contudo, na análise histológica ficou evidente que os grupos que receberam CLA aumentaram a infiltração lipídica no tecido hepático, ao passo que o grupo que realizou exercício e não recebeu CLA foi o

grupo que menos apresentou vacualizações lipídicas hepáticas.

Apesar de o estudo apresentar algumas limitações como a não determinação dos níveis insulinêmicos e de ácidos graxos livres e a falta de avaliação de parâmetros moleculares que poderiam auxiliar na compreensão das mudanças ocorridas no metabolismo da glicose, os resultados obtidos neste estudo contribuem para o entendimento da ação do ácido linoleico conjugado combinado ou não ao exercício físico associado à dieta de cafeteria no controle da obesidade. Contudo, esses resultados devem ser interpretados com cautela, para que não ocorra extrapolação para seres humanos antes de futuras pesquisas confirmarem os resultados. Ademais, a pureza do suplemento não foi testada, uma vez que o composto utilizado foi de uso comercial, comumente usado pela população.

AGRADECIMENTOS

Leonardo Vidal Andreato, Felipe Natali Almeida e João Victor Del Conti Esteves agradecem ao CNPq e à Capes pela bolsa de estudo.

SUPPLEMENTATION OF CONJUGATED LINOLEIC ACID COMBINED WITH EXERCISE ON MORPHOFUNCTIONAL PARAMETERS OF RATS SUBMITTED TO CAFETERIA DIET
ABSTRACT

This study investigated the morphofunctional changes of CLA supplementation in trained and sedentary obese animals fed a cafeteria diet. Wistar rats were randomly divided into four groups: sedentary control (SCON), sedentary treated with CLA (SCLA), trained control (TCON) and trained treated with CLA (TCLA). All groups received the cafeteria diet and SCLA and TCLA groups were treated at a proportion of 0.5% from intake food, 5 times a week for 2 months via gavage. TCON and TCLA groups were subjected to an aerobic exercise training program, 5 times a week for 2 months. CLA supplementation, alone or combined with physical training did not lead to reduced body weight of animals, although both interventions have led to reduction of subcutaneous fat pads (SCLA, TCLA vs SCON and TCON, $p < 0.05$). The TCLA group showed an enhanced insulin response even when fasting blood glucose remained unchanged between the groups. Triglyceride levels were higher in animals supplemented with CLA (SCLA and TCLA vs SCON, $p < 0.05$) but total cholesterol and markers of liver injury were not different between the groups. However, animals that were treated with CLA showed increased lipid infiltration in the liver. The present study contributes to the understanding of CLA action combined or not to exercises associated with the cafeteria diet to control obesity. However, the extrapolations of results to human need to be confirmed in future studies.

Keywords: Conjugated linoleic acid. Physical exercise. Obesity.

REFERÊNCIAS

- AKAHOSHI, A. et al. Combined effects of dietary protein type and fat level on the body fat-reducing activity of conjugated linoleic acid (CLA) in rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 69, no. 12, p. 2409-2415, 2005.
- ARNER, P.; SPALDING, K. L. Fat cell turnover in humans. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 396, no. 1, p. 101-104, 2010.
- AZAIN M. J. et al. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, no. 6, p. 1548-1554, 2000.
- BAMBA, V.; RADER, D. J. Obesity and atherogenic dyslipidemia. **Gastroenterology**, v. 132, p. 2181-2190, 2007.
- BLANKSON, H. et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, no. 12, p. 2943-2948, 2000.
- BONORA, E. et al. Estimates of in vivo insulin action in man: Comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 68, no. 2, p. 374-378, 1989.
- BODEN, G. et al. Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor- κ B pathway in rat liver. **Diabetes**, Alexandria, v. 54, no. 12, p. 3458-3465, 2005.
- BODEN, G. Free fatty acids and insulin secretion in humans. **Current Diabetes Reports**, v. 5, p. 167-270, 2005.
- BOTELHO, A. P. et al. A suplementação com ácido linoleico conjugado reduziu a gordura corporal em ratos Wistar. **Revista de Nutrição**, Campinas, SP, v. 18, no. 4, p. 561-565, 2005.
- CESARETTI, M. L. R.; KOLHMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 190-197, 2006.
- CHEIK, N. C. et al. Efeitos de diferentes frequências de exercício físico na prevenção da dislipidemia e da obesidade em ratos normo e hipercolesterolêmicos. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 121-129, 2006.
- COOK, B. A.; DRAKE, B. M.; PARIZA, M. W. Derivatives of conjugated linoleic acid (CLA) and fat reduction. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 14, no. 3, p. A525-A525, 2000.
- DAVÌ, G.; SANTILLI, F.; PATRONO, C. Nutraceuticals in diabetes and metabolic syndrome. **Cardiovascular Therapeutics**, Indianapolis, v. 28, no. 4, p. 216-226, 2010.
- DELA, F. et al. Physical training increases muscle GLUT 4 protein and mRNA in patients with NIDDM. **Diabetes**, Alexandria, v. 43, no. 7, p. 862-865, 1994.
- DELANY, J. P. et al. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. **Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 276, no. 4, p. 1172-1179, 1999.
- DUFLOTH, D. L.; MORRIS, M.; MICHELINI, L. C. Modulation of exercise tachycardia by vasopressin in the nucleus tractus solitarius. **Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 273, no. 4, p. R1271-R1282, 1997.
- FANDIÑO, J. et al. Cirurgia bariátrica: aspectos clínico-cirúrgicos e psiquiátricos. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 26, n. 1, p. 47-51, 2004.
- FAULCONNIER, Y. et al. Isomers of conjugated linoleic acid decreased plasma lipids and stimulate adipose tissue lipogenesis without changing adipose weight in post-prandial adult sedentary or trained Wistar rat. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Lexington, v. 15, no. 12, p. 741-748, 2004.
- FOSTER-SCHUBERT, K. E. et al. Effect of Diet and Exercise, Alone or Combined, on Weight and Body Composition in Overweight-to-Obese Postmenopausal Women. **Obesity**, Silver Spring, v. 14, p. 1628-1638, 2011.
- FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 114, no. 12, p. 1752-1761, 2004.

- GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 208-215, 2006.
- GONZALEZ, A. B. et al. Body-Mass Index and Mortality among 1.46 Million White Adults. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 363, no. 23, p. 2211-2219, 2010.
- HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, Chicago, v. 52, p. 57-62, 1998.
- JEBB, S. A. Obesity: from molecules to man. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 58, no.1, p. 1-14, 1999.
- JENSEN, M. D. Role of Body Fat Distribution and the Metabolic Complications of Obesity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 93, no. 11, p. 57-63, 2008.
- JESSEN, N.; GOODYEAR, L. J. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 99, no. 1, p. 330-337, 2005.
- JOHNSON, N. A.; GEORGE, J. Fitness versus fatness: moving beyond weight in nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, Malden, v. 52, no. 1, p. 370-381, 2010.
- KIM, J. H. et al. Dietary conjugated linoleic acid increases endurance capacity of mice during treadmill exercise. **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle, v. 13, n. 5, p.1057-1060, 2010.
- KRETSCHMER, B. D. et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Sciences**, Tucson, v. 76, no. 14, p. 1553-1571, 2005.
- LIM, S. et al. Increasing Prevalence of Metabolic Syndrome in Korea: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey for 1998-2007. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 34, no. 6, p. 1323-8, 2011.
- MARTINS BION, F. et al. Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 47, no. 3, p. 242-247, 1997.
- MELLO, V. D.; LAAKSONEN, D. E. Dietary fibers: current trends and health benefits in the metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolgia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 509-518, 2009.
- MESHKANI, R.; ADELI, K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v. 42, no. 13-14, p. 1331-1346, 2009.
- MOON, E. J.; LEE, Y. M.; KIM, K. W. Anti-angiogenic activity of conjugated linoleic acid on basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis. **Oncology Reports**, Athens, v. 10, no. 3, p. 617-621, 2003.
- MOURÃO, D. M.; MONTEIRO, J. B. R.; STRINGHETA, P. C. Conjugated linoleic acid and weight loss. **Revista de Nutrição**, Campinas, SP, v. 18, n. 3, p. 391-399, 2005.
- NEGRÃO, C. E. et al. Vagal function impairment after exercise training. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 72, no. 5, p. 1749-1753, 1992.
- NIEUWENHOVEN, M. A.; BRUMMER, R. J. M.; BROUNS, F. Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sports drink and sports drink with caffeine. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, v. 89, no. 3, p. 1079-1085, 2000.
- NOEMAN, S. A.; HAMOODA, H. E.; BAALASH, A. A. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, London, v. 3, no. 1, p. 1-8, 2011.
- OLIVEIRA, A. G.; CARVALHO, B. M.; TOBAR, N.; ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; BAGAROLLI, R. A. et al. Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. **Diabetes**, Alexandria, v. 60, no. 3, p. 784-796, 2011.
- PARIZA, M. et al. Mechanism of body fat reduction by conjugated linoleic acid. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 11, A139, 1997. Abstract.
- PARK, Y. et al. Effect of conjugated acid linoleic in body composition in mice. **Lipids**, Ney York, v. 32, no. 8, p. 853-885, 1997.
- PERSELL, S. D. Prevalence of Resistant Hypertension in the United States, 2003-2008. **Hypertension**, Jackson, v. 57, no. 6, p. 1076-1080, 2011.
- PILZ, S.; MARZ, W. Free fatty acids as a cardiovascular risk factor. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, Berlin, v. 46, no. 4, p. 429-434, 2008.
- PRORENÇA, A. R. G. **Influência do treinamento físico sob a massa adipose e resposta glicêmica de animais submetidos á dieta de cafeteria**. 2006. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização)-Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.
- RASOULI, M.; KERN, P. A. Adipocytokines and the Metabolic Complications of Obesity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 93, no. 11, S64-S73, 2008.
- RAVI-KARIN, T. et al. Blood lipid profile and myocardial superoxide dismutase in swim-trained young and middle-aged rats: comparison between left and right ventricular adaptations to oxidative stress. **Journal of Comparative Physiology B**, New York, v. 176, no. 8, p. 749-762, 2006.
- REAVEN, G.; ABBASI, F.; MCLAUGHLIN, T. Obesity, insulin resistance, and cardiovascular disease. **Recent Progress in Hormone Research**, New York, v. 59, p. 207-207, 2004.
- RISERUS, U.; BERGLUND, L.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, London, v. 25, no. 8, p. 1129-1135, 2001.
- ROLLS, B. J.; SHIDE, D. J. The influence of dietary fat on food intake and body weight. **Nutrition Reviews**, Malden, v. 50, no. 10, p. 283-290, 1992.
- SANTOS, L. C. **Relação da ingestão de cálcio com a obesidade e alterações metabólicas em adolescentes pós-púberes**. 2006. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2006.

SPALDING, K. L. et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**, London, v. 453, no. 7196, p. 783-787, 2008.

STEINBERG, H. O. et al. Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated vasodilation and nitric oxide production. **Diabetes**, Alexandria, v. 49, p. 1231-1238, 2000.

TARGHER, G.; DAY, C. P.; BONORA, E. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 363, p. 1341-1350, 2010.

VASQUES, M. O. et al. Strength training improves plasma parameters, body composition and liver morphology in ovariectomized rats. **Science & Sports**, London, v. 27, p. 94-100, 2012.

WANG, Y. M.; JONES, P. J. H. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. **International Journal of Obesity**, London, v. 28, p. 941-955, 2004

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva, 1990. Technical Report Series, n. 797.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva, 1998. Technical Report Series, n. 894

Recebido em 24/02/2012

Revisado em 28/09/2012

Aceito em 03/10/2012

Endereço para correspondência: Solange Marta Franzói de Moraes, Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Fisiológicas, Laboratório de Fisiologia do Esforço, Av: Colombo, 5790, bloco H-79, sala 109, CEP: 87020-900. Maringá-PR. E-mail: smfmoraes@gmail.com