

Universidade Católica de Brasília

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
STRICTO SENSU EM EDUCAÇÃO FÍSICA

Mestrado

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DO ÁCIDO LINOLÉICO
CONJUGADO (CLA) NA COMPOSIÇÃO CORPORAL EM RATOS
WISTAR SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO FÍSICO.

Autor: Carolina Amâncio Louly Sasaki
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Jacó de Oliveira

BRASÍLIA

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Carolina Amâncio Louly Sasaki

Efeito da suplementação oral do ácido linoléico conjugado (CLA) na composição corporal em Ratos Wistar submetidos ao Exercício Físico.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação “Stricto Sensui” em Educação Física da Universidade Católica de Brasília, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Dr. Prof. Ricardo Jacó de Oliveira

Brasília
2008

Trabalho de autoria de Carolina Amâncio Louly Sasaki, intitulado, “Efeito da suplementação oral do ácido linoléico conjugado (CLA) na composição corporal, em Ratos Wistar submetidos ao Exercício Físico”, requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física, defendida e aprovada, em 16 de setembro de 2008, pela banca examinadora constituída por:

Dr. Prof. Ricardo Jacó de Oliveira
Orientador

Prof^a. Dra^a. Marileusa D. Chiarello
Examinadora

Prof^a. Dr^a. Carmen Sílvia Grubert Campbell

Brasília
2008

A minha família pela dedicação e o apoio em todas as horas e ao meu marido pelo companheirismo e paciência. Ao meu co-orientador Profº Dr. Paulo Fernando Araújo de Souza pelo incentivo e dedicação e ao meu orientador Profº Dr. Ricardo Jacó pela confiança depositada em mim e pela sua excelente competência na orientação do meu trabalho.

“O valor das coisas não esta no tempo que elas
duram, mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas
inexplicáveis e pessoas incomparáveis”
(Fernando Pessoa)

RESUMO

A natureza e as causas da obesidade são temas de estudos extensivos e contínuos. A epidemia da obesidade que assola a maioria dos países desenvolvidos atentou a saúde pública para dietas com baixa gordura. Nos últimos anos vêm surgindo vários estudos sobre a suplementação de ácido linoléico conjugado que é um ácido graxo poliinsaturado. O presente estudo foi motivado tendo em vista a utilização do CLA, que ganhou popularidade com promessas de apresentar efeitos na redução da massa corporal magra. Neste estudo foram utilizados 24 ratos machos saudáveis, da linhagem Wistar, os ratos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos (placebo e experimentais) e suplementados por 62 dias. Os grupos suplementados (CLA e CLAEX) receberam ácido linoléico conjugado nas concentrações de 1% sobre o consumo diário de dieta, já os ratos do grupo placebo (PLA) receberam óleo de milho 1% do consumo diário da dieta, ambos introduzidos em um pélete da ração. A alimentação e água foram fornecidas *ad libitum*, a ração oferecida diariamente era pesada e a sobra do dia seguinte novamente quantificada, analisado assim o consumo alimentar. Os animais do grupo CLAEX realizaram um programa de treinamento físico, que consistia na realização de 30 minutos de natação numa frequência de 3 vezes por semana. Após o período de 62 dias os ratos foram sacrificados e foi realizado a retirada do fígado, baço e rim, para análise da quantidade de gordura dos tecidos. O restante da carcaça do rato foi homogeneizado para realização da análise do percentual de gordura dos ratos. Com base no perfil de composição corporal observado na amostra estudada, foi possível identificar que os ratos suplementados com o ácido linoléico conjugado tiveram uma redução significativa no percentual de gordura quando comparadas ao grupo PLA ($51,52 \pm 0,03$). E quando correlacionamos o percentual de gordura do grupo CLAEX ($34,14 \pm 0,01$) com o grupo CLA ($42,26 \pm 0,007$), notou-se uma redução ainda maior no percentual de gordura dos ratos, mostrando que o exercício associado à suplementação provocou uma maior redução da massa gorda do que a suplementação isoladamente. Adicionalmente, foi verificado que a suplementação foi benéfica no que diz respeito à redução de gordura visceral, pois os grupos suplementados tiveram a quantidade de gordura reduzida em fígado e baço.

Palavras Chaves: CLA. Suplementação. Exercício físico. Nutrição.

ABSTRACT

The nature and causes of obesity are subjects of ongoing and extensive studies. The epidemic of obesity that plague the majority of developed countries strove to public health low fat diets. In recent years various studies have emerged on the supplementation of conjugated linoleic acid is a polyunsaturated fatty acids. This study was motivated in order to use the CLA, which gained popularity with promises to produce effects in the reduction of lean body mass. Used in this study were 24 healthy male rats, Wistar strain of the rats were randomly divided into 3 groups (experimental and placebo) and supplemented by 62 days. The groups supplemented (CLA and CLAEX) received conjugated linoleic acid in concentrations of 1% on the daily consumption of diet, as the rats in the placebo group (PLA) received corn oil 1% of the daily diet, both introduced in a pellets the diet. Food and water were provided ad libitum, the daily ration offered was heavy and left the next day again quantified, analyzed so food consumption. Animals CLAEX the group performed a physical training program, which consisted of 30 minutes of swimming at a frequency of 3 times per week. After a period of 62 days, the rat were sacrificed and was withdrawing the liver, spleen and kidney, to analyze the amount of fat tissue. The rest of the carcass was homogenized mouse to perform the analysis of the percentage of fat in rats. Based on the profile of body composition observed in the sample studied, it was possible to identify that the rats supplemented with conjugated linoleic acid had a significant reduction in percentage of fat when compared to the PLA group ($51,52 \pm 0,03$). When with the CLA ($42,26 \pm 0,007$) correlate the percentage of fat in the group CLAEX ($34,14 \pm 0,01$), it was noted a further decrease in the percentage of fat group in rats, demonstrating that the exercise involved supplementation led to greater reduction of body fat than supplementation alone. Additionally, it was found that supplementation was beneficial in regard to the reduction of visceral fat, as supplemented groups had reduced the amount of fat in liver and spleen.

Key words: CLA. Supplementation. Exercise. Nutrition

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Conteúdo de ácido linoléico conjugado em alguns alimentos.....	27
Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão do consumo alimentar dos ratos dos grupos placebo e experimentais.....	54
Tabela 3 – Relação do ganho de peso dos ratos suplementos e exercitados durante o estudo.....	55
Tabela 4 – Efeito da suplementação do ácido linoléico conjugado (CLA) e do exercício físico no percentual de gordura dos ratos após 62 dias	55
Tabela 5 – Efeito da suplementação do ácido linoléico conjugado (CLA) e do exercício físico na quantidade de gordura extraída da carcaça dos ratos após 62 dias.....	56
Tabela 6 – Efeitos da suplementação do ácido linoléico conjugado (CLA) e o exercício físico na quantidade de gordura extraída de diferentes tecidos nos ratos.	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura dos isômeros do ácido linoléico (9- <i>cis</i> -12- <i>cis</i>) e de um dos isômeros do ácido linoléico conjugado (9- <i>cis</i> -11- <i>trans</i>)	24
Figura 2 – Modelo dos possíveis mecanismos de ação do ácido linoléico conjugado isômero <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 CLA no adipócitos e preadipócitos	29
Figura 3 – Possíveis mecanismos de ação do ácido linoléico conjugado (CLA) relacionados à composição corporal, em adipócitos e músculo esquelético	31
Figura 4 – Distribuição dos ratos em suas gaiolas na estante climatizada	45
Figura 5 – Treinamento dos ratos no tanque	47
Figura 6 – Carga de 5% do peso acrescido nos ratos fixadas por uma tira de velcro colocadas logo abaixo das patas dianteiras.	48
Figura 7 – Incisão realizada no abdômen dos ratos para a retirada dos órgãos.....	49
Figura 8 – Baço do rato	49
Figura 9 – Rins do rato	50
Figura 10 – Retirada do fígado do rato.....	50
Figura 11 - Extração de gordura - Soxhlet	52

LISTA DE ABREVIATURAS

IMC – Índice de massa Corporal
CLA – ácido linoléico conjugado
RDA – recomendação nutricional adequada
OMS – organização mundial de saúde
VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade
LDL – lipoproteína de baixa densidade
IDL – lipoproteína de densidade intermediária
HDL – lipoproteína de alta densidade
AGL – ácidos graxos livres
SCD – esteroil-CoA dessaturase
UCP – proteínas desacopladoras
IMC – índice de massa corporal
VAT – tecido adiposo visceral
CLAFFA – ácidos graxos livres com ácido linoléico conjugado
CLA-TG – triglicerídeos com ácidos linoléico
DEXA – radioabsorciometria de feixes duplos
cAMP – adenosina monofosfato cíclico
CO₂ – dióxido de carbono
CPT – carnitina palmitoiltransferase
LHS - lipase hormônio sensível
ATP – adenosina trifosfato
mRNA – ácido ribonucleico mensageiro
FO - óleo de peixe
SO - óleo de soja
PO - óleo de palma
EX - exercício
SD – sedentário
PLA - grupo sem atividade física e sem ácido linoléico conjugado
CLA - grupo sem atividade física e com ácido linoléico conjugado
CLAEX - grupo com atividade física e com ácido linoléico conjugado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO GERAL	14
2.1 Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Epidemiologia do Excesso de Gordura Corporal.....	15
3.2 Digestão e Absorção de lipídios	17
3.3 Importância e os tipos de lipídios.....	20
3.4 Metabolismo dos lipídios durante o exercício físico	22
3.5 O que é o Ácido linoléico conjugado	24
3.6 Origem e histórico do CLA.....	26
3.7 Fontes alimentares do CLA	26
3.8 Mecanismo de Ação do CLA na composição corporal.....	28
3.8.1 Estudos em seres humanos.....	32
3.8.2 Estudos em animais.....	38
3.9 Importância do Exercício Físico na perda de peso.....	42
4. METODOLOGIA.....	45
4.1 Delineamento da pesquisa.....	45
4.3 Protocolo do Estudo	46
4.3.1 Descrição do Estudo	46
4.3.2 Protocolo de Treinamento	47
4.3.3 Suplementação.....	48
4.3.4 Determinação da composição de gordura dos órgãos.....	48
4.3.5 Determinação da composição corporal	51
5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	53
6. RESULTADOS	54
7. DISCUSSÃO	57
8. CONCLUSÃO.....	60
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	61
10. ANEXOS	72
Anexo A: Ficha de pesagem/ingestão.....	72
Anexo B: Ficha de pesagem / órgão	74
Anexo C: Ficha de Pesagem Carcaça	76

1. INTRODUÇÃO

A natureza e as causas da obesidade e a massa corporal são temas de estudos extensivos e contínuos. As teorias que sugerem desequilíbrio de entrada de energia estão geralmente relacionadas a fatores que influenciam a fome e apetite (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005).

A epidemia da obesidade que assola a maioria dos países desenvolvidos atentou a saúde pública para dietas com baixa gordura. Assim, as dietas de baixa caloria têm estimulado o desenvolvimento de produtos de baixa gordura e de substitutos de gordura. Entretanto, conforme estudos recentes há de se considerar a quantidade, assim como a qualidade de gordura na dieta da população do ocidente (WILLIAMS, 2000).

Nos Estados Unidos quase 1/3 da população estão obesos (Índice de massa Corporal - IMC - acima de 30). A prevalência tem aumentado regularmente ao longo dos anos entre ambos os sexos, todas as idades, todos os grupos raciais e étnicos e todos os níveis educacionais (MOKADAD, 2003). De 1960 a 2004, a prevalência da obesidade aumentou de 44,8% para 66% nos Estados Unidos em adultos com idades entre 20 a 74 anos. A prevalência da obesidade durante este mesmo período de tempo mais do que duplicou entre estes adultos de 13,3% para 32,1%, com a maior parte deste aumento ocorrendo desde 1980 (CDC/NCHS, United States, 2006).

No Brasil a Pesquisa de Orçamentos Familiares de 2002-2003, verificou que 41% dos homens e 40% das mulheres adultas encontram-se com excesso de massa corporal e 8,9% dos homens e 13,1% das mulheres adultas encontram-se obesas. Estes dados levam nos a preocupar com o crescimento da obesidade e nos faz querer estudar mais sobre o assunto e descobrir artifícios que possam reverter este quadro. Para um controle da massa corporal o estado de equilíbrio é eventualmente atingido quando a ingestão de energia é igual ao gasto de energia. A menos que seja feita uma mudança na dieta ou na atividade física, a perda de massa corporal se estagna neste ponto (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005).

Nos consultórios nutricionais tem se visto uma grande demanda de pessoas com o principal objetivo de perda de gordura corporal. Também tem se visto que muitas delas já foram de alguma forma submetidas a alguma tentativa de perda de gordura e que a grande parte delas acaba procurando pelo uso de medicamentos ou dietas milagrosas numa tentativa rápida e prática para a perda de massa corporal. Hoje elas notam não surtir efeito a longo prazo o uso destes

medicamentos ou a tentativa destas dietas, milagrosas, pois os mesmos relataram adquirir a massa corporal perdida muito rapidamente após o abandono dos medicamentos ou ao retorno a alimentação anterior, e que o uso de alguns medicamentos produziram efeitos colaterais indesejáveis.

Devido a crescente procura nos consultórios nutricionais por estes pacientes, vários estudiosos tentam descobrir artifícios que façam com que estas pessoas possam alcançar seus objetivos, sem as conseqüências de apresentarem efeitos colaterais indesejáveis e ainda por cima não voltarem a adquirir suas massas corporais perdidas.

Ao pensarmos em uma dieta balanceada, de imediato nos vêm à mente quais são os alimentos que devemos ingerir para atingi-la e como deverá ser a composição de macronutrientes nesta dieta (LANCHA, 2002). Classicamente, a distribuição ideal de nutrientes em uma dieta para as pessoas fisicamente ativas e aquelas envolvidas em um treinamento com exercícios, deveria apresentar uma composição de 50 a 60% das calorias vindas dos carboidratos, menos que 30% das calorias vindas dos lipídios e 10 a 15% das calorias vindas das proteínas para a manutenção da massa magra (MCARDLE, 2003).

Por outro lado, existem evidências que mostram que o acúmulo de gordura está intimamente associado à ingestão de gordura total, assim como, certos ácidos graxos estão correlacionados com doenças cardiovasculares. Atualmente, numerosas associações científicas recomendam que o total de gordura a ser consumido ao dia deverá ser menor que 30% do total de energia da dieta, sendo que estes 30% deverão estar distribuídos em menos que 10% de gorduras vindas dos ácidos graxos saturados, menos que 10% de gordura vindas dos ácidos graxos poliinsaturados e 10% de gordura vindas dos ácidos monoinsaturados (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005). Podem-se citar como fonte de ácidos graxos saturados, os alimentos de origem animal como: carne vermelha, leite e derivados integrais. Os ácidos graxos monoinsaturados são encontrados nos alimentos vegetais especialmente no azeite de oliva extra -virgem. Já os ácidos graxos poliinsaturados podem ser encontrados em alguns alimentos animais como: peixe, especialmente salmão e atum, e em alguns alimentos vegetais como: oleaginosas.

Os aspectos da qualidade de gordura têm se concentrado no potencial efeito adverso do ácido graxo saturado e ácido graxo insaturado trans, no que se diz respeito à concentração do colesterol circulante, e isso é importante quando se trata de nutrição em saúde pública. Embora existam muitas evidências que sugerem que os ácidos graxos específicos têm efeitos benéficos na

saúde humana, isto poderá contribuir na prevenção de muitas doenças crônicas em humanos (WILLIAMS, 2000).

Nos Estados Unidos às pessoas consomem cerca de 15% das calorias totais em ácidos graxos saturados (equivalentes a mais de 23 kg de gordura saturada por ano). Isso contrasta com os índios Tarahumara do México, cuja dieta rica em carboidratos complexos não-refinados contém apenas 2% das calorias totais de gordura saturada. Desta forma, os americanos apresentam uma quantidade de gordura corporal mais elevada quando comparados aos índios. Isto devido às diferenças alimentares entre os americanos e índios.

A relação entre ingestão de ácidos graxos saturados e o risco de doença cardíaca coronariana induziu os profissionais de saúde a recomendar:

- 1- Substituição de parte dos ácidos graxos saturados e trans por óleos monoinsaturados e poliinsaturados não-hidrogenados;
- 2- O balanceamento da ingestão energética com a atividade física regular a fim de prevenir o aumento de massa corporal e obter os benefícios de saúde do exercício regular.

As estimativas indicam que a substituição de 5% da energia proporcionadas pela ingestão de ácidos graxos saturados pela energia proveniente dos ácidos graxos mono e poliinsaturados reduzem em 42% o risco de doença cardíaca coronariana nas mulheres (MCARDLE, 2003).

Atualmente tem sido observado um grande interesse sobre os benefícios do efeito fisiológico dos ácidos graxos de cadeia longa (ômega 3) ou ácido graxo poliinsaturado. Esses ácidos graxos estão presentes em pouca quantidade nas dietas dos países com maior desenvolvimento, devido ao baixo consumo de peixe e outros produtos deste tipo. Isso sugere que a dieta típica do ocidente pode não suprir apropriadamente o balanço de ácido linoléico (ômega 6) e ácido linolênico (ômega 3) e este desbalanço está associado ao risco de doença coronariana (WILLIAMS, 2000).

Ainda que nenhuma recomendação nutricional (RDA) tenha sido estabelecida, a necessidade humana de ácido linoléico tem sido estimada em aproximadamente entre 2 a 7g/dia, ou 1 a 3% do total de ingestão energética. (MCARDLE, 2003).

O ácido linoléico também chamado de ômega 6 é um precursor de bioatividade do ácido araquidônico, já o ácido linolênico chamado de ômega 3 é o precursor de bioatividade do ácido eicosapentaenóico e ácido docosaexaenóico. Ambos precursores, e ao serem metabolizados são

convertidos em cadeias longas metabólicas por uma série de dessaturação e etapas de alongação que compartilham enzimas em comum para essa transformação (WILLIAMS, 2000).

Nos últimos anos vêm surgindo vários estudos sobre a suplementação de ácido linoléico conjugado que é um ácido graxo poliinsaturado. Sua denominação CLA é um termo coletivo de uma mistura geométrica de isômeros posicionais do ácido octadecadienóico (18:2), nos quais as duplas ligações são conjugadas, diferentemente das apresentadas no ácido linoléico as quais não apresentam conjugadas as duplas ligações (WILLIAMS, 2000).

Os estudos científicos relataram vários benefícios da utilização do CLA, por exemplo, a ação anti-carcinogênica, efeito anti-aterogênico, melhora na função imune, efeito anti-diabetogênico e efeitos na composição corporal (WILLIAMS, 2000; BELURY, 2002).

O presente estudo foi motivado tendo em vista a utilização do CLA, que ganhou popularidade com promessas de apresentar efeitos benéficos à saúde sem apresentar efeitos colaterais. Assim, o ácido linoléico conjugado tem sido uma nova alternativa para perda de gordura para aquelas pessoas que tem uma certa dificuldade na perda de massa corporal gorda, utilizando-o como mais um artifício benéfico a ser usado no tratamento da obesidade.

Cabe ressaltar que nos rótulos dos produtos comercializados no Brasil, os fabricantes sugerem dosagens diferentes das apresentadas nos estudos. E as dosagens relatadas pelos fabricantes são quase sempre bem superiores quando comparadas aos achados na literatura, deixando-nos em dúvida de qual seria a real dosagem recomendada para ter seu efeito. Dessa forma, não se sabe o quê estas diferentes dosagens recomendadas pelos fabricantes dos produtos poderá acarretar à saúde de seus consumidores.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da suplementação oral do Ácido Linoléico Conjugado (CLA) associado ao Exercício Físico na composição corporal de Ratos Wistar.

2.1 Objetivos Específicos

- Verificar as quantidades de gordura apresentadas nos órgãos dos diferentes grupos.
- Analisar a influência exercida pela suplementação e o exercício físico nas quantidades de gordura da carcaça e dos órgãos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Epidemiologia do Excesso de Gordura Corporal.

A obesidade é uma enfermidade acomete homens e mulheres, entre todas as alterações do nosso corpo, talvez seja a situação mais complexa e de difícil entendimento, tanto no meio científico como entre os leigos. Além disso, das patologias nutricionais é a que mais tem apresentado aumento na incidência, não apenas nos países ricos, mas também nos países em desenvolvimento (DAMASO, 2001).

Podemos dizer que a incidência de obesidade dobrou nos últimos 30 anos. Quinze a vinte e cinco por cento das crianças adolescentes nos EUA são obesas. Nos últimos 10 anos, tem havido aumento de 50% nessas cifras. Se avaliarmos dados de prevalência de obesidade na América Latina, verificamos que, conforme aumenta a prevalência de obesidade, aumentam às mortes por doença cardiovascular e câncer (BERNARDI *et al.*, 2005).

O termo obesidade é usado para descrever um excesso de gordura corpórea. Embora, o peso sozinho não indique o grau de gordura corpóreo, um indivíduo ainda é classificado por vários profissionais da saúde como obeso, se pesar 20% ou mais que o padrão de peso por altura (PECKENPAUGH, 1997, DAMASO, 2001). Este excesso de gordura pode ser desencadeado por uma série de fatores (ambientais, endócrinos-metabólicos e genéticos). A obesidade exógena reflete o excesso de gordura decorrente do desequilíbrio energético entre ingestão e gasto calórico, e equivale a 90% dos casos da obesidade. Por outro lado, o restante dos casos são de obesidade endógena, decorrente de causas hormonais, provenientes de alterações do metabolismo tireoidiano, gonadal, hipotálamo-hipofisário, de tumores e de síndromes genéticas (GUEDES & GUEDES, 1998).

A partir de 1985, a obesidade foi considerada pelo National Institutes of Health como doença multifatorial. Isto é, a obesidade é desenvolvida e mantida a partir de diferentes fatores de risco mórbidos, dentre eles a hipertensão, o diabetes, o câncer, problemas cardiovasculares entre outros. Deste modo, fica claro que a obesidade representa um problema epidemiológico multifatorial e deve ser encarado e tratado como uma doença (DAMASO, 2001).

A Organização Mundial de Saúde – OMS (1995) utiliza o IMC (peso corporal em kilos dividido pela estatura em metros ao quadrado) para mensurar o grau de obesidade e risco de saúde, principalmente em estudos populacionais. Este método usa como classificação de

sobrepeso para adultos que apresentam IMC entre 25 e 29,9 kg/m², já para aqueles com IMC igual ou superior a 30 kg/m² são classificados como obesos (DAMASO, 2001; OLIVEIRA, 2005).

Nos Estados Unidos há uma preocupação com os ricos de epidemia da obesidade. Isto se deve ao fato de que 54% da população adulta está classificada com sobrepeso, ou seja, IMC superior ou igual a 25 kg/m², e 22% quase 30 milhões de pessoas, com obesidade, IMC superior ou igual a 30 kg/m². De acordo com estes dados, há uma preocupação com o crescimento alarmante da obesidade nos EUA e no mundo, prevendo que toda a população americana estará com sobrepeso em 2230 (ANDERSEN, 2003).

Mcardle *et al* 2003, mostrou os resultados de um levantamento nacional acerca da prevalência do peso excessivo (definido nesta publicação como IMC superior a 27 kg/m²) entre os adultos nos Estados Unidos, em comparação com o objetivo previsto pelo governo para o ano de 2000. No período de 1976 a 1980 a incidência de obesidade na população adulta entre 20 a 74 anos era de 25,4%, enquanto entre 1988 e 1991 aumentou para 33,3%, representando quase um terço dos adultos com 20 e 74 anos de idade. Atualmente apesar dos investimentos de 33 milhões de dólares na indústria para a produção de medicamentos e alimentos visando à redução e o controle de peso, mais de 50% da população americana têm sobrepeso ou obesidade, neste sentido torna-se importante salientar que a obesidade nos EUA é a causa de 280000 a 325000 mil mortes por ano (DAMASO, 2001).

Conforme a OMS (1997), o mundo apresenta 300 milhões de obesos e 1 bilhão de sobrepesados. No Brasil 40% da população adulta tem sobrepeso, com aproximadamente 80 mil mortes por ano causadas pelo excesso de gordura corporal.

Existem vários fatores que acometem os indivíduos e predispõem a obesidade, dentre eles podemos citar a inatividade física, um consumo excessivo de calorias (principalmente ao alto teor de gordura e açúcares simples), estado psicológico, condição financeira e o próprio estilo de vida do indivíduo. Deste modo, salvo em casos patológicos, o sobrepeso e obesidade somente poderão desenvolver-se quando existir situações ambientais favoráveis ao equilíbrio energético positivo e, portanto, devem ser encarados como possível disfunção comportamental (GUEDES & GUEDES, 1998).

3.2 Digestão e Absorção de lipídios

Um homem adulto ingere cerca de 60-150 g de lipídios por dia. Os triacilgliceróis constituem mais de 90% da gordura da dieta. O resto é constituído por fosfolipídios, colesterol, ésteres de colesterol e ácidos graxos (CURI, 2002; DEVLIN, 2007). Os ácidos graxos de cadeia curta representam a maior parte dos triacilgliceróis da dieta (LANCHA, 2002).

Os lipídios são definidos por sua boa solubilidade em solventes orgânicos e sua pouca ou nenhuma solubilidade em soluções aquosas. A má solubilidade em água traz problemas para a digestão porque os substratos não ficam facilmente acessíveis a enzimas digestivas na fase aquosa (DEVLIN, 2007).

Para que a energia contida nos triacilgliceróis ingeridos esteja disponível para o organismo, são necessárias várias etapas que abrangem absorção, digestão, transporte, e metabolização. O tamanho dos triacilgliceróis e dos ácidos graxos determina a rapidez da digestão (LANCHA, 2002).

Na digestão e absorção dos lipídios há pelo menos cinco fases que podem se distinguir:

- 1 – hidrólise de triacilgliceróis a ácidos graxos livres e monoacilgliceróis;
- 2 – solubilização por detergentes (ácidos biliares) e transporte do lúmen intestinal para a superfície celular;
- 3 – captação de ácidos graxos livres e monoacilgliceróis pela célula e ressíntese de triacilgliceróis;
- 4 – acondicionamento de triacilgliceróis recém sintetizados em glóbulos especiais ricos em lipídios, chamados quilomícrons;
- 5 – exocitose dos quilomícrons pelas células e liberação na linfa (CURI, 2002; DEVLIN, 2007).

A digestão da gordura é iniciada no estômago com a ação da lipase gástrica, que hidrolisa alguns ou parte dos triglicerídeos de cadeia curta (como a manteiga) em ácidos graxos e glicerol. Entretanto, a parte principal da digestão de gorduras acontece no intestino delgado. A ação do peristaltismo do intestino delgado quebra os glóbulos maiores de gordura em partículas menores e a ação emulsificante da bile as mantém separadas e, portanto, mais acessível para a digestão pela lipase pancreática (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005). A lipase pancreática forma um complexo com a colipase que é muito ativo na clivagem dos ácidos graxos e dos triglicerídeos.

Os sais biliares, como o ácido taurocólico, são sintetizados no fígado a partir do colesterol, estocados na vesícula biliar e, depois da ingestão de uma refeição gordurosa, liberados

no intestino delgado. Estes compostos agem como detergentes biológicos, convertendo as gorduras alimentares em micelas mistas de sais biliares e triacilgliceróis (CURI, 2002; LENINGHER, 2006).

Estas micelas (ácidos biliares ligados a produtos da digestão das gorduras) facilitam a passagem dos ácidos graxos e monoglicerídeos, através do meio aquoso do lúmen intestinal para a borda em escova (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005).

Os monoglicerídeos e ácidos graxos produzidos pela lipólise dos triglicerídeos no lúmen intestinal penetram nos enterócitos por difusão passiva. Nas células da mucosa intestinal, os monoglicerídeos e ácidos graxos de cadeia longa sofrem reesterificação formando os triglicerídeos, os quais são incorporados aos quilomícrons, e estes são secretados na linfa (DAMASO, 2001).

Os quilomícrons são carregados para o fígado onde os triglicerídeos são reagrupados em lipoproteínas e transportados principalmente para serem metabolizados ou armazenados no tecido adiposo (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005). Os quilomícrons são lipoproteínas grandes, em cujo núcleo predominam os triglicerídeos (CURI, 2002; DAMASO, 2001; LENINGHER, 2006).

As lipoproteínas são partículas ricas em lipídios que possuem uma capa superficial de proteínas (apoproteínas), lipídios polares (fosfolipídios e colesterol não-esterificado) e um núcleo de lipídios apolares formado por triglicerídeos e ésteres de colesterol (DAMASO, 2001). As apolipoproteínas são proteínas existentes no sangue e que se ligam aos lipídios; elas são responsáveis pelo transporte dos triacilgliceróis, fosfolipídios, colesterol e ésteres do colesterol, entre os vários órgãos (CURI, 2002; LENINGHER, 2006).

As porções protéicas das lipoproteínas agem como pontos de reconhecimento específico por receptores existentes na superfície de alguns tipos celulares. Na captação dos lipídios do intestino, os quilomícrons que contêm a apoproteína C-II movem-se da mucosa intestinal para o sistema linfático, de onde eles entram na corrente sangüínea e são transportados para os músculos e para o tecido adiposo (CURI, 2002).

Os quilomícrons na circulação entram em contato com a lipase de lipoproteína, enzima localizada no endotélio dos capilares dos tecidos extra-hepáticos. Essa enzima hidrolisa os triglicerídeos dos quilomícrons, liberando seus ácidos graxos. A maioria desses ácidos graxos liberados no leito vascular do tecido adiposo é captada pelos adipócitos, onde sofrem

reesterificação e é armazenada na forma de triglicerídeos. Grande parte dos triglicerídeos estocados do tecido adiposo é procedente da dieta.

Os ácidos graxos liberados no leito dos capilares do músculo esquelético são captados e utilizados, principalmente, como fonte de energia. Alguns dos ácidos graxos livres se unem à albumina e voltam para a circulação geral. A presença de apo C-II nos quilomícrons é importante para a ativação da enzima lipase de lipoproteína.

Após a hidrólise dos triglicerídeos dos quilomícrons, pela ação da lipase lipoprotéica, as lipoproteínas permanecem na circulação, numa forma menor, são denominadas quilomícrons remanescentes. No fígado os ácidos graxos provenientes da lipólise dos quilomícrons remanescentes ou da síntese no próprio tecido podem ser exportados na forma de triglicerídeos incorporados às lipoproteínas de muito baixa densidade - VLDL (CURI, 2002).

A degradação dos triglicerídeos converte as VLDL em lipoproteínas de densidade baixa (LDL), muito rica em colesterol e ésteres de colesterol (CURI, 2002; LENINGHER, 2006). A interação ente VLDL e a enzima lipase de lipoproteína promove a lipólise dos triglicerídeos e forma remanescentes de LDL no plasma, as quais são chamadas de proteínas de densidade intermediária – IDL (DAMASO, 2001).

No fígado, o aumento da disponibilidade de AGL (ácidos graxos livres) e de quilomícrons parcialmente hidrolisados pode resultar na produção aumentada de lipoproteínas ricas em triglicerídeos. Como consequência, há um aumento na produção de VLDL e LDL e, portanto, um risco aumentado de aterosclerose.(CURI, 2002).

O quarto tipo principal de lipoproteínas, a lipoproteína de alta intensidade (HDL), é sintetizado no fígado como partículas ricas em proteína e contendo relativamente pouco colesterol e ésteres de colesterol (CURI, 2002 CURI, 2002; LENINGHER, 2006). As HDL exercem papel fundamental no transporte reverso do colesterol, removendo o excesso deste nos tecidos periféricos e transportando-o para o fígado, onde é metabolizado e eliminado na forma de ácidos e sais biliares (CURI, 2002).

Modificações na qualidade e quantidade de lipídios da dieta podem alterar o metabolismo das lipoproteínas (DAMASO, 2001).

3.3 Importância e os tipos de lipídios

Os lipídios são constituintes importantes da dieta, não só pelo elevado valor energético que possuem, como também pela importância na absorção de vitaminas lipossolúveis, do colesterol como precursor hormonal e de ácidos graxos essenciais encontrados na gordura dos alimentos naturais (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005).

Os lipídios são biomoléculas orgânicas insolúveis em água, mas que se dissolvem perfeitamente em solventes orgânicos não-polares como, por exemplo, o benzeno, o clorofórmio ou o éter. Compreendem resumidamente as gorduras, os óleos, as ceras e os compostos relacionados (LENINGHER, 2006).

Óleos são líquidos em temperatura ambiente, enquanto as gorduras são sólidas. Aproximadamente 98% da gordura dietética estão na forma de triacilgliceróis e cerca de 90% da gordura corporal estão estocados no tecido adiposo, mais especificamente nos tecidos subcutâneos (CURI, 2002; McARDLE *et al.*, 1998).

O colesterol, por exemplo, além de ser um componente estrutural de membranas, é precursor de ácidos biliares, alguns hormônios e vitamina D. A respeito de desempenhar funções biliares vitais, o colesterol que é constituído por várias frações, e tem sido considerado, quando em excesso, maléfico à saúde, devido aos níveis elevados da lipoproteína de baixa densidade conhecida como LDL-colesterol. A correlação existente entre seus níveis plasmáticos aumentados de LDL e ocorrência de aterosclerose, atualmente deve-se principalmente ao patrimônio genético, sem, contudo negar que fatores ambientais como a alimentação também interfira nas concentrações plasmáticas das diversas frações do colesterol (MARZZOCO e TORRES, 2007).

As proteínas de alta densidade HDL contêm mais proteínas de que qualquer uma das outras lipoproteínas, o que dá razão ao seu papel metabólico como reservatório de apolipoproteínas que dirigem o metabolismo de lipídios. A apo A-I, a principal apolipoproteína está envolvida na remoção de colesterol tecidual. O mecanismo exato do efeito anti-aterogênico da HDL é desconhecido. A teoria mais amplamente aceita é que a HDL está envolvida no transporte do colesterol em excesso das membranas para as lipoproteínas ricas em triglicérides, que são então removidas por receptores no fígado. Através da alimentação podemos estar auxiliando os valores destas frações lipídicas no sangue. Quando em uma dieta fazemos a substituição do conteúdo calórico vindo dos carboidratos pelo lipídio, em especial o ácido linoléico (ômega 6), as

concentrações de LDL-colesterol tendem a diminuir e a do HDL-colesterol aumentar (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005).

As prostaglandinas são uma família de derivados de ácidos graxos que possui uma variedade de potentes atividades biológicas de natureza hormonal ou regulatória, são derivadas biologicamente pela ciclização de ácidos graxos insaturados de 20 carbonos, tal como o ácido araquidônico, que é formado a partir do ácido graxo essencial, o ácido linoléico (LENINGHER, 2006).

Algumas generalizações podem ser feitas sobre os diferentes tipos de ácidos graxos de animais ou plantas superiores. Os mais abundantes têm um número par de átomos de cadeias entre 14 e 22 átomos de carbono de comprimento, mas aqueles com 16 ou 18 carbonos predominam, como é o caso do ácido oléico com 18 carbonos e 1 dupla ligação entre os carbonos 9 e 10. Existem também muitos tipos de ácidos poliinsaturados caracterizados por certas peculiaridades, como por exemplo, em muitos deles as duplas ligações são separadas por um grupo metileno, apresentando ligações conjugadas, isto é, quando as duplas ficam separadas alternadamente por ligações simples (LENINGHER, 2006).

Os ácidos graxos essenciais são os ácidos graxos que o organismo não sintetiza e por isso são estritamente necessários na dieta dos mamíferos. Entre eles está o ácido linoléico, que é um precursor necessário para a biossíntese de ácido araquidônico, que não é encontrado em plantas. O ácido araquidônico é precursor, como todos os outros ácidos graxos essenciais, na biossíntese das prostaglandinas. Eles são parecidos aos hormônios, que em quantidades mínimas, possuem efeitos imprescindíveis sobre um certo número de importantes atividades fisiológicas, tais como contrações do músculo liso do útero, o ciclo sono-vigília e as sensibilidades de certos tecidos a hormônios (LENINGHER, 2006).

Alguns dos processos envolvidos na metabolização dos ácidos graxos para torná-los mais longo ou mais insaturados são os chamados processo de alongamento e desaturação. No alongamento, os sistemas enzimáticos promovem adições sucessivas de unidades de 2 carbonos, através de uma reação de condensação, seguida por redução e desidratação. Na desaturação, a maioria dos mamíferos dispõe de dessaturases que produzem insaturações em determinadas posições (MARZZOCO & TORRES, 2007).

Já os triacilgliceróis, que são estruturas que tem uma molécula de glicerol e 3 de ácidos graxos, desempenham um papel extremamente importante como fornecedor de energia nos

animais. Entre os principais nutrientes, eles produzem o maior conteúdo energético; são depositados nas células do tecido gorduroso como gotículas quase puras de gordura e podem ser estocadas em grandes quantidades neste tecido. Cerca de 95% da energia biologicamente obtida dos triacilgliceróis residem nos seus três ácidos graxos de cadeia longa, enquanto que apenas 5% desta energia são fornecidos pelo glicerol. Por vias metabólicas, como a β -oxidação, esses ácidos graxos ricos em energia são oxidados até dióxido de carbono e água (LENINGHER, 2006).

3.4 Metabolismo dos lipídios durante o exercício físico

Os lipídios armazenados representam a fonte corporal mais abundante de energia potencial. No homem, o peso aproximado de 9000 g de lipídios é suficiente para fornecer 81000 kcal. Esse estoque seria facilmente utilizado durante uma atividade física leve e moderada, como, por exemplo caminhar, durante 259 horas, ou correr, durante 67 horas. Por outro lado, o estoque de glicogênio muscular 350 g fornece 1400 Kcal, permitindo caminhar apenas 4,8 horas ou até mesmo correr durante 1,2 horas (CURI, 2002; McARDLE *et al.*, 1998).

O armazenamento de triacilglicerol é ilimitado e seus ácidos graxos possuem uma eficiência energética bem maior que a do glicogênio. Por esses motivos e, de acordo com a lei da termodinâmica, todo excesso de energia consumida na alimentação, incluindo gorduras, carboidratos e proteínas, é armazenado na forma de triacilglicerol (LENINGHER, 2006; McARDLE *et al.*, 1998).

A mobilização dos ácidos graxos a partir do tecido adiposo é dependente da taxa de lipólise, da capacidade de transporte dos ácidos graxos pelo plasma e da taxa de reesterificação desses pelos adipócitos (CURI, 2002).

A mobilização da reserva de triacilgliceróis depende, primariamente da atividade da lipase dos adipócitos, uma enzima regulada por modificação covalente e, portanto, submetida à ação hormonal (MARZZOCO & TORRES, 2007).

Em condições de baixa ingestão calórica, há liberação de glucagon e, em atividade física intensa, de adrenalina que estimulam a degradação de triacilgliceróis, a lipase dos adipócitos é ativada por fosforilação pela proteína quinase dependente de cAMP (AMP-cíclico), determinando a hidrólise dos triacilgliceróis e liberando ácidos graxos para a corrente sanguínea, que suprirão a demanda energética de tecidos como o músculo e o fígado. O glicerol liberado não

pode ser reaproveitado pelos adipócitos, participando então, como um intermediário da glicólise ou da gliconeogênese (LENINGHER, 2006; MARZZOCO & TORRES, 2007).

Os ácidos graxos liberados dos adipócitos são transportados pelo sangue ligados à albumina e utilizados pelos tecidos, como fonte de energia. Quando mobilizados do tecido adiposo ou provenientes da dieta, estes ácidos graxos, são degradados através de uma via especial que se processa no interior das mitocôndrias.

Para serem oxidados, são primeiramente convertidos em uma forma ativada, uma acil-CoA. Esta etapa é catalisada pela enzima acil-CoA sintetase, que está associada a membrana externa da mitocôndria (LENINGHER, 2006; MARZZOCO & TORRES, 2007; McARDLE *et al.*, 1998).

A membrana interna da mitocôndria é impermeável a acil-CoA, e somente os radicais acila são introduzidos na mitocôndria, ligados à carnitina. Este composto, sintetizados a partir de aminoácidos, é amplamente distribuído nos tecidos animais e vegetais, sendo especialmente abundante em músculos. Na face externa da membrana interna, a carnitina-acil transferase I transfere o radical acila da coenzima A para a carnitina, a acil-carnitina resultante é transportada através da membrana interna por uma translocase específica. Na face interna, a carnitina-acil transferase II doa o grupo acila da acil-carnitina para uma coenzima A da matriz mitocondrial, liberando a carnitina, que retorna ao citossol pela mesma translocase. Deste modo, o radical acila dos ácidos graxos atinge o interior da mitocôndria, onde ocorre a sua oxidação (MARZZOCO & TORRES, 2007).

A acil-CoA presente na matriz mitocondrial é oxidada por uma via denominada β -oxidação. Esta via consta uma série cíclica de quatro reações, ao final das quais a acil-CoA é encurtada de dois carbonos, liberados sob a forma de acetil-CoA, onde assim pode ser encaminhada para o ciclo de krebs e posteriormente para a cadeia transportadora de elétrons e fosforilação oxidativa (MARZZOCO & TORRES, 2007)

A degradação de ácidos graxos ocorre em outras organelas citoplasmáticas também, através de vias metabólicas que guardam semelhança e diferenças com a β -oxidação mitocondrial, catalisadas, naturalmente, por enzimas específicas (CURI, 2002; LENINGHER, 2006; MARZZOCO & TORRES, 2007).

Nos animais, a via de oxidação peroxissômica promove o encurtamento de ácidos graxos muito longos (com mais de 20 carbonos). Os ácidos graxos de cadeia longa penetram nos

peroxissomos sem auxílio da carnitina e são convertidos nas respectivas acil-CoA. A oxidação das acil-CoA longas é catalisada por uma acil-CoA oxidase, que reduz oxigênio a água oxigenada, e esta é decomposta em água e oxigênio por ação da catalase presente nessas organelas (LENINGHER, 2006; MARZZOCO & TORRES, 2007).

A oxidação completa de um ácido graxo exige a cooperação entre a β -oxidação, que converte o ácido graxo a acetil-CoA, e o ciclo de krebs, que oxida o radical acetil a CO_2 (CURI, 2002; McARDLE *et al.*, 1998).

3.5 O que é o Ácido linoléico conjugado

O CLA é um termo coletivo usado para descrever uma mistura geométrica de isômeros posicionais, derivados do ácido essencial linoléico, da série ômega 6. Sua nomenclatura bioquímica, octadecadeinóide, o designa como tendo 18 carbonos e 2 duplas ligações, separadas por uma única ligação simples (Figura 1).

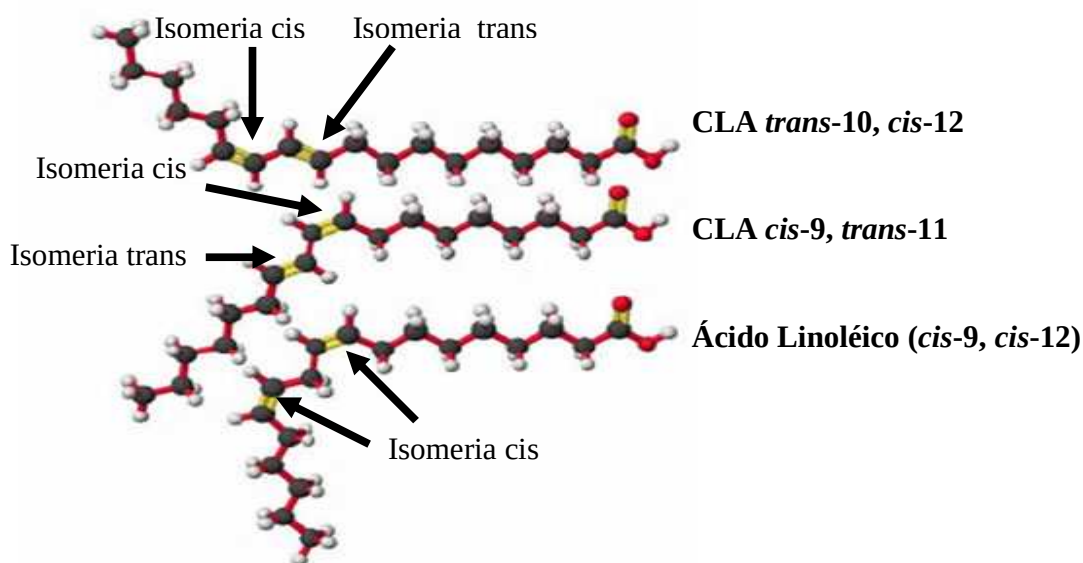


Figura 1 – Estrutura dos isômeros do ácido linoléico (9-*cis*-12-*cis*) e de um dos isômeros do ácido linoléico conjugado (9-*cis*-11-*trans*). Adaptado de PARIZA *et al* (2001) e SANHUELA *et al* (2002).

A configuração do ácido é de tal maneira que ele é formado a partir da relocação das duplas ligações, que terão que estar sempre localizadas entre uma ligação simples. Ao contrário do ácido linoléico que é uma molécula que tem entre suas duas duplas ligações duas simples.

Vários isômeros diferentes de CLA são possíveis esta conformação, vai depender da relação das duplas ligações e do resultado da reconfiguração deles (BELURY, 2002).

As configurações desses ácidos graxos estão muitas vezes na forma geométrica *cis* e *trans*. Configurações *cis* indicam que os átomos de hidrogênio se dispõem do mesmo lado da dupla ligação produzindo assim, uma dobra rígida na cadeia, o que determina a formação de agregados menos compactos e, portanto, menos estáveis. Já a configuração *trans*, os hidrogênios se encontram transversalmente uns aos outros conferindo mais estabilidade à cadeia (MARZZOCO e TORRES, 2007).

Uma importante diferença é que o CLA pode ser construído a partir de uma mistura de isômeros, em outras palavras, o CLA é uma categoria, enquanto o isômero c-9 t-11, por exemplo, refere-se a uma única molécula (Figura 1). Essa distinção é importante a partir do fato que existem vários isômeros diferentes que, provavelmente, têm distintas atividades em vivo (KELLY, 2001).

Na maioria das pesquisas em animais ou mesmo em humanos foram utilizadas misturas sintéticas de CLA, em que os isômeros predominantes são o c-9 t-11 e o t-10 c-12. Esses isômeros são usualmente utilizados em concentrações parecidas que variam de 40,89 a 41,1% de c-9 t-11 e 43,5 a 44,9% de t-10 c-12 juntamente com mais aproximadamente 10 outros tipos de isômeros com percentual entre 4,6 a 10% do total de CLA (BELURY, 2002).

O CLA pode ser formado no rúmen pela bio-hidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados da dieta, mas também, endogenamente, através da desnaturação do ácido graxo C18:1 trans-11 por uma enzima presente na glândula mamária e tecido adiposo (CORL *et al.*, 2001) chamada estearoil-CoA dessaturase ou Delta 9-dessaturase (SCD). Como o C18:1 trans-11 (ácido vacênico) é produzido principalmente através da biohidrogenação ruminal, este processo é o grande responsável pelo fato de que as maiores fontes de CLA são produtos derivados de ruminantes (BANNI, 2002; POIRIER, *et al.*, 2005)

Esses ácidos graxos conjugados são formados normalmente pela ação específica de bactérias denominadas *Butyrivibrio fibrisolven*, como um intermediário do processo de biohidrogenação do ácido linoléico (BAUMAN & GRIINARI, 2001). Normalmente, a biohidrogenação acontece de forma completa, porém alguns produtos intermediários podem atravessar o rúmen e serem utilizados na síntese de lipídios no tecido mamário e adiposo. Além

disso, o CLA, tem sido encontrado também em animais não ruminantes como porcos, galinha, perus e peixe (IP *et al.*, 1994).

Não é conhecido se a capacidade de converter ácido graxo poliinsaturado em CLA está presente também na microflora do intestino humano (WILLIAMS, 2000).

3.6 Origem e histórico do CLA

A história do ácido linoléico conjugado é conhecida desde meados de 1930, quando a presença de ácidos graxos, extraídos a partir da manteiga, exibiu uma absorção espectrofotométrica de 230µm, indicando assim a presença de duas ligações conjugadas. Somente depois do advento da cromatografia gasosa Peter Parodi e outros foram capazes de fracionar ésteres de metil da gordura do leite, e conseqüentemente, capazes de determinar quantitativamente alguns isômeros de CLA, incluindo o isômero octadecadeinóide *cis*-9 *trans*-11, que na época foi chamado de ácido rumênico (SCIMECA *et al.*, 2000).

PARIZA e colaboradores em 1979 publicaram um estudo pela Universidade de Wisconsin-Madson no qual eles investigaram os efeitos do tempo de cocção e temperatura na geração de atividade mutagênica na carne. Em adição a essa atividade mutagênica, eles perceberam uma atividade que inibia a mutagenicidade tanto em carnes cozidas como em carnes não cozidas. A partir de então, estudos mais detalhados foram feitos e mostraram que aplicando o extrato cru e sinteticamente preparado de CLA nas costas de ratos inibiu a indução epidermal de papilomas e diminuiu a incidência do tumor. A substância foi identificada como isômero conjugado derivado do ácido linoléico (WHIGHAM *et al.*, 2000).

3.7 Fontes alimentares do CLA

Podemos encontrar o CLA em diversos alimentos. As principais fontes da dieta humana são os produtos lácteos e derivados, como manteiga, iogurte e particularmente o queijo (LAWSON *et al.*, 2001). O CLA pode também ser encontrado nas carnes de cordeiro, de vitela e em menor quantidade nas carnes de suíno, frango e peru e em algumas fontes vegetais (KRITCHEVSKY, 2000).

Nos produtos lácteos, a soma de CLA presente varia de acordo com a raça, condições de alimentação e subsequente processo. Na gordura do leite, o CLA obtido tem mostrado variar entre 2,9 e 8,92 mg/g de gordura, na qual o isômero *cis*-9 *trans*-11 totaliza 73 a 93% do CLA

(KRITCHEVSKY, 2000). Os queijos tipo blue, brie, edam e suíço possuem uma quantidade mais significativa de CLA do que os outros queijos. Os teores de CLA dos derivados do leite variam de 3,59 a 7,96 mg/g de gordura (Tabela 1). O teor de CLA do leite de vaca varia de 3,38 a 3,39 mg/g de gordura, porém ocorrem variações significativas no teor de CLA dos produtos lácteos. Essa grande variação no teor de CLA foi atribuída primeiramente às diferentes práticas de alimentação e processamento destes produtos. A quantidade de CLA encontrada nos derivados de leite e na carne é reflexo direto da alimentação que foi oferecida aos animais. Evidências mostram que o CLA aumenta linearmente quando os animais são alimentados de pastos e diminui quando essa ingestão diminui (KELLY, 2001).

Tabela 1 – Conteúdo de ácido linoléico conjugado em alguns alimentos. Adaptado de RAINER *et al.* 2004.

Alimentos	mg/g gordura
Manteiga	6,1
Leite condensado	7,0
Cheddar	4,1
Carne bovina	4,3
Carne de cordeiro	5,8
Porco	0,6
Galinha	0,9
Salmão	0,4
Gema do ovo	0,6
Girassol	0,4

KELLY (2001), em um experimento observou que as vacas que não recebiam suplemento e que tinham todo seu requerimento energético suprido pelos pastos possuíam 500% mais quantidades de CLA no seu leite do que as vacas que foram alimentadas exclusivamente com suplemento dietéticos.

Os teores de CLA das vacas variam de acordo com os anos em que se alimentam naturalmente do pasto. O leite produzido na primavera perto de cachoeiras, região na qual a grama cresce mais rápida, terá duas vezes mais teor de CLA do que o leite produzido nos meses de inverno. Porém não há variação no teor dos produtos lácteos quando as vacas possuem a mesma dieta durante o ano (KELLY, 2001).

O teor de CLA da gordura do leite pode ser influenciado pelo tipo de manipulação dos suplementos dietéticos oferecidos aos animais (SANTOS *et al.*, 2001). Suplementando a dieta

com óleos poliinsaturados, que tenham tanto ácido linoléico proveniente de óleos de peixes, aumenta-se substancialmente o teor de CLA na gordura do leite. Semelhante com o que é encontrado em relação à pastagem, o isômero c-9 t-11 predomina quando vacas leiteiras são suplementadas dieteticamente com estes óleos poliinsaturados. A gordura do leite de vacas, que se alimentavam de algas marinhas, também mostravam ótimas concentrações de CLA (KELLY, 2001).

Estudo realizado por Fremann *et al.* (2002), que avaliou o consumo do ácido linoléico conjugado (isômero C18:2 c9t11) comparando com diferentes biomarcadores, mostrou que a correlação entre os resultados obtidos com o registro alimentar de 7 dias e o conteúdo de fosfolipídios de C18:2 c9t11 foi estatisticamente significativa. Isto também foi verdade para os valores de C18:2 c9t11 nos triglicerídeos plasmático comparados com os resultados de consumo de um ou dois dias antes da coleta de sangue. Em relação ao consumo do ácido ruménico, o questionário de frequência alimentar revelou dados. No que diz respeito ao consumo do ácido ruménico, os dados do questionário de frequência alimentar revelaram um grau aceitável de correspondência com os dados do registro alimentar de 7 dias, mas não conseguiram mostrar correlações significativas nos biomarcadores potenciais. No entanto, com relação aos resultados do registro alimentar de 7 dias o conteúdo de ácido ruménico nos fosfolipídios e triglicerídeos plasmáticos são possíveis biomarcadores de consumo de curto a médio prazo, respectivamente.

3.8 Mecanismo de Ação do CLA na composição corporal

Numerosas propriedades fisiológicas têm sido retribuídas ao CLA, que se apresenta hoje com um espectro muito amplo de potenciais benéficos que incluem efeitos na alteração da composição corporal pela diminuição da gordura corporal; melhora do perfil lipídico; estimulação da secreção de insulina, implicando um fator preventivo nos casos de diabetes tipo II. (BELURY, 2002).

Um dos aspectos mais interessantes do CLA é a habilidade em reduzir gordura corporal que está associada ao isômero t-10 c-12 que parece ser bem mais efetivo do que t-9 c-10 nos estudos analisados (PARIZA *et al.* 2000; PARIZA, 2004).

Um mecanismo pelo qual o CLA reduz gordura corporal deve-se pelo aumento do gasto de energia, observado dentro de uma semana de suplementação, que este gasto mantém-se por pelo menos 6 semanas após a suplementação. O aumento do gasto energético é suficiente para

contar com a diminuição do acúmulo de gordura. Também observa-se aumento da oxidação de gordura, mas não redução na biossíntese de gordura com a suplementação de CLA nos animais experimentais (DELANY e WEST, 2000).

Dois outros possíveis mecanismos têm sido propostos por Park *et al.* (1997) para justificar as alterações na composição corporal. No primeiro mecanismo proposto, CLA parece diminuir o armazenamento de gordura celular, e aumentar a liberação de gordura dos adipócitos. No segundo, o CLA parece aumentar a β -oxidação de ácidos graxos nos músculos (Figura 2).

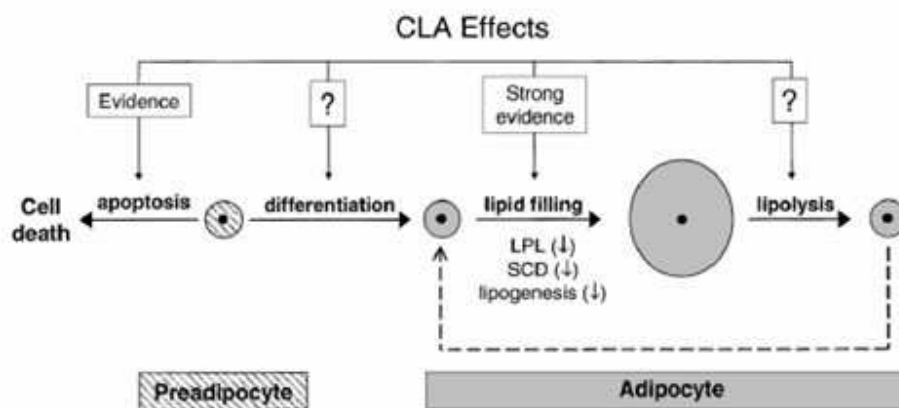


Figura 2 – Modelo dos possíveis mecanismos de ação do ácido linoléico conjugado isômero *trans*-10, *cis*-12 CLA no adipócitos e preadipócitos Adaptado de PARIZA *et al* 2001.

A primeira conclusão foi baseada a partir de experimentos usando células 3T3-L1 adipócitos de modelos experimentais, a partir da observação de que a suplementação com CLA diminuiu as concentrações de triacilglicerol e glicerol intracelular e principalmente, inibiu a atividade da lipase de lipoproteína nestes tipos de células, sendo que a lipase de lipoproteína é a principal enzima responsável pelo armazenamento de gordura nas células adipócitas (PARK *et al.*, 1997).

O CLA parece também estimular a lipólise, pois a grande quantidade de glicerol liberada pelas células 3T3-L1, no período de suplementação de CLA, é um indicador de que está ocorrendo um aumento na quebra de gordura das células (PARK *et al.*, 1997; WANGER e PETER, 2004). Os estudos *in vitro* utilizando isômeros purificados c-9t-11 e t-10c-12 em culturas de adipócitos 3T3-L1 forneceram mais evidências que apoiem que o isômero t-10c-12 foi o responsável pela diminuição de gordura demonstrando os efeitos do uso de CLA (BRODIE *et al.*, 1999; BHATTACHARYA *et al.*, 2006).

Evidências para o segundo mecanismo foram baseadas em experimentos nos quais a suplementação com CLA aumentou a atividade da enzima carnitina palmitoiltransferase-1 (CPT-1) no músculo. Esta enzima é a reguladora da β -oxidação. Significativo aumento da atividade de CPT-1 no músculo, a partir do consumo de CLA, indica que animais suplementados com ele utilizam mais gordura como fonte de energia comparada com outros grupos (PARIZA, 2004; PARK *et al.*, 1997).

Em adição, CLA parece alterar a composição de ácidos graxos da membrana celular pela redução das concentrações de ácidos graxos insaturados, (a partir da diminuição da taxa de dessaturação da Δ -9 levada por uma diminuição da atividade da enzima estearoil-CoA desaturase. A adequada proporção de saturação e insaturação de ácidos graxos é importante na manutenção da fluidez da membrana e a alteração desta proporção pode influenciar uma variedade de respostas fisiológicas incluindo: taxa metabólica, sensibilidade a insulina, obesidade; ou seja, aquelas mesmas respostas influenciadas pela suplementação de CLA. O que indica que a alteração da expressão gênica do adipócitos, por meio da diminuição da atividade da enzima estearoil-CoA desaturase, pode ser uma explicação para alguns dos principais efeitos do CLA (PARK *et al.*, 1997; POIRIER *et al.*, 2005).

A expressão gênica da estearoil-CoA desaturase é altamente regulada e pode ser influenciada por uma dieta lipídica, hormônios, proliferadores de peroxissomos e etc (NTAMBI, *et al.*, 2002)

A figura 3 representa um esquema dos possíveis efeitos da suplementação de CLA na composição corporal, propostos por vários autores.

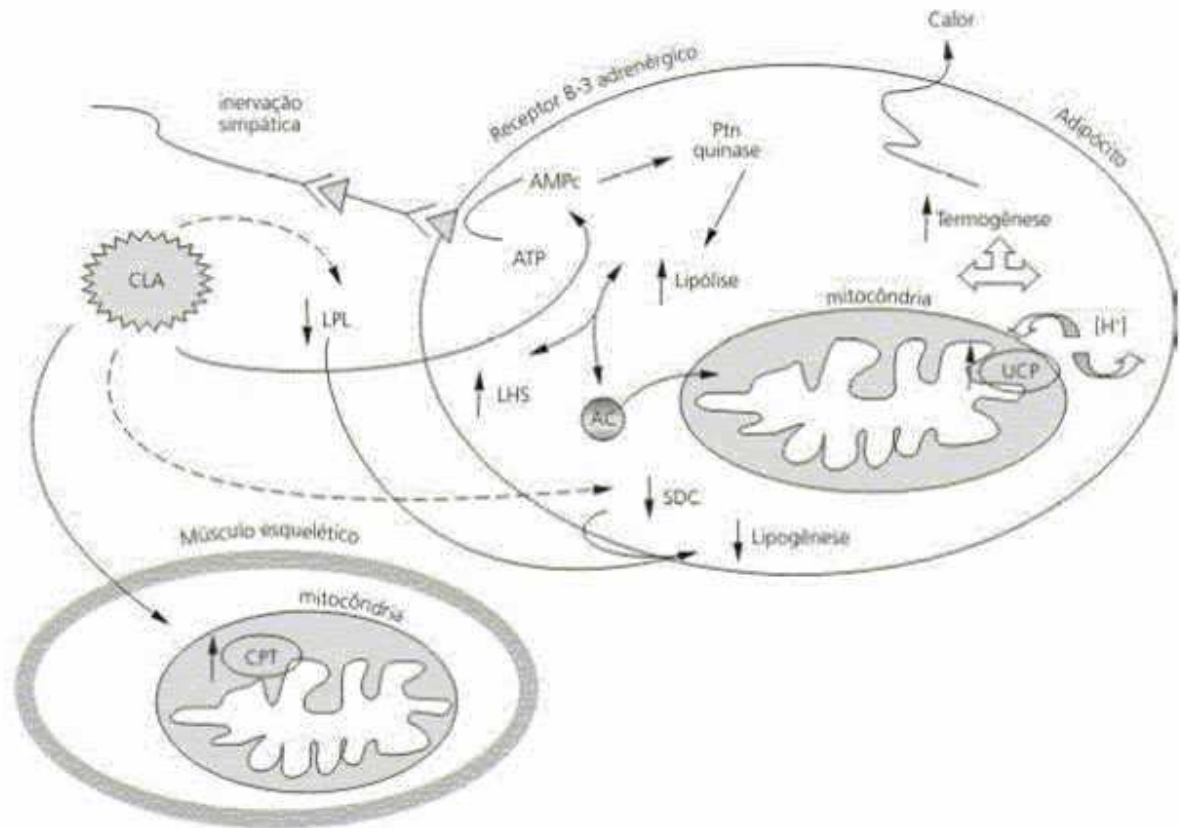


Figura 3 – Possíveis mecanismos de ação do ácido linoléico conjugado (CLA) relacionados à composição corporal, em adipócitos e músculo esquelético. LPL= lipase de lipoproteína; LHS=lípase hormônio sensível; SCD=esteril CoA desaturase; CPT=carnitina palmitoiltransferase; AMPc=adenosina monofosfato cíclico; ATP=adenosina trifosfato; AG=ácido graxo. ____ativação, -----inibição. Adaptado de MOURÃO e cols, 2005.

Alguns mecanismos sugeridos envolvendo a redução de gordura com o consumo de CLA são o aumento do gasto energético (OHNUKI, *et al.*2001), aumento na oxidação (MARTIN e VALLEILLE, 2002; WEST, *et al.*1998), redução do tamanho do adipócito (KASAOKA, *et al.*2000), redução no consumo calórico e inibição das enzimas envolvidas no metabolismo dos ácidos graxos e lipogênese (BROWN, *et al.*, 2001; ZAMBELL, *et al.*2000). As proteínas desacopladoras (UCP-2 e UCP-3) são fundamentais reguladoras do gasto energético e de dietas que induzem a termogênese. A proteína desacopladora 2 é altamente expressa no músculo esquelético e tecido adiposo enquanto a UCP-3 é expressa principalmente na musculatura esquelética. O CLA mediado regula a expressão da UCP-2 nos tecidos adiposos brancos e isto tem sido proposto como um dos mecanismos que aumenta o gasto energético. O aumento de

catecolaminas pode ser um dos mecanismos mais potenciais pelo qual o CLA aumenta o gasto energético. Estudos simultâneos com isômeros purificados, tanto *in vitro* quanto *vivo*, têm demonstrado consistentemente que t-10c-12 e não c-9t-11 é o isômero de CLA chave envolvido na redução da gordura através da redução da dimensão do adipócito, aumento da oxidação de gordura e a inibição de enzimas envolvidas na lipogênese (EVANS, *et al.*, 2000; 2001)

3.8.1 Estudos em seres humanos

Estudos realizados em seres humanos avaliando os efeitos do ácido linoléico conjugado sobre obesidade abdominal acompanharam durante 4 semanas, 24 homens obesos com síndrome metabólica. Quatorze deles receberam 4,2 g/d e 10 receberam placebo. Ao término do estudo, verificou-se uma significativa redução no perímetro abdominal com a suplementação de CLA, porém outras medidas antropométricas não mostraram nenhuma diferença significativa entre os grupos. Os resultados indicaram que a suplementação de CLA por 4 semanas, em homens obesos com síndrome metabólica, pode diminuir a gordura abdominal sem outros efeitos concomitantes relacionados com a obesidade (RISERUS *et al.*, 2002b; 2003).

Um outro estudo desenvolvido por RISERUS *et al.* (2004) indicou que o CLA pode diminuir um pouco a gordura corporal em seres humanos, particularmente gordura abdominal, mas não há qualquer efeito sobre o peso corporal ou índice de massa corporal (BERVERN, *et al.*, 2002). Não houve nenhuma melhora simultânea no metabolismo lipídico ou da glicose. Em vez disso, o isômero CLA *trans*-10, *cis*-12 inesperadamente causou aumento significativo na sensibilidade à ação periférica da insulina, bem como redução nas concentrações glicêmicas e de lipídios séricos. Além disso, o CLA marcadamente elevou a peroxidação lipídica. Assim, os efeitos metabólicos do CLA em seres humanos parecem complexos, e mais estudos, especialmente com isômeros específicos e de maior duração, são necessários.

Em um estudo, com 20 indivíduos de peso normal que se exercitavam regularmente, a suplementação com 1,8 g/d de CLA, por 12 semanas, se mostrou eficaz na redução da gordura, mas sem alteração significativa de peso corporal (THOM *et al.*, 2001).

Já em outro estudo, de Zambell *et al.* (2000), realizado com 17 voluntários do sexo feminino, suplementados com 3g/d de CLA durante 64 dias, não foram registrados nenhum tipo de alteração importante em nenhum dos parâmetros medidos, tais como gasto de energia, oxidação de gordura e taxa de quociente respiratório.

Foram examinados também os efeitos da suplementação de CLA sobre os ácidos graxos e a cinética do glicerol em 17 mulheres adultas suplementadas com 3,9 g/d de CLA durante 64 dias consecutivos. Os indivíduos foram confinados e tiveram suas dietas e atividades controladas. As taxas de aparição do glicerol, que indicam taxas lipolíticas, foram similares durante todo o estudo e depois de 4 semanas pos suplementação. A taxa de aparição de ácidos graxos livres também não apresentou alterações. Segundo o estudo, não foram apresentadas alterações no metabolismo do glicerol em mulheres adultas saudáveis (ZAMBELL *et al.*, 2000; 2001).

Ainda em humanos, um estudo realizado por Smedman e Vessby (2001), com o objetivo de avaliar os efeitos sobre antropometria, composição corporal, lipídios séricos e composição de ácidos graxos dos lipídios séricos, foram selecionados 53 indivíduos saudáveis, entre 23 e 63 anos, que foram aleatoriamente suplementados com 4,2 g/d de CLA ou com a mesma soma de óleo de oliva, durante 12 semanas, em um estudo duplo cego, foi demonstrado que a proporção de gordura corporal diminuiu no grupo suplementado com CLA, com uma significativa diferença comparada ao grupo controle. Peso, índice de massa corporal e diâmetro abdominal não sofreram alterações. Não existiu nenhuma diferença entre os grupos para as lipoproteínas séricas, ácidos graxos não esterificados, insulina plasmática ou glicose sanguínea. No grupo suplementado, as proporções de ácido esteárico, ácidos docosatetraenóico e docosapentaenóico aumentaram, enquanto proporções de ácido palmítico, ácido oléico e ácidos dihomô alfa linoléico diminuíram, causando uma diminuição da estimativa nas atividades de Δ -6 e Δ -9 e aumento de Δ -5 desaturase. Esses resultados sugeriram que a suplementação com CLA pode reduzir a proporção de gordura corporal em humanos, e que o CLA afeta o metabolismo de ácido graxo (BASU, *et al.*, 2000a). Nenhum efeito no peso corporal, lipídios séricos ou metabolismo de glicose foi observado.

Blankson *et al* (2000) investigaram a relação dose-resposta do ácido linoléico conjugado com relação ao IMC em humanos, um estudo randomizado, duplo cego, incluindo 60 voluntários com sobrepeso ou obesidade (índice de massa corporal 25-35 kg/m²). Os sujeitos foram divididos em cinco grupos que recebendo o grupo placebo (9 g azeite), 1,7, 3,4, 5,1 ou 6,8g do ácido linoléico conjugado por dia durante 12 semanas, respectivamente. Ao final das 12 semanas, todos os grupos que receberam CLA apresentaram redução significativa do percentual de gordura em comparação com o grupo placebo e, dentre os grupos que receberam CLA, a redução de gordura corporal foi significativamente maior nos grupos que receberam 3,4 e 6,8 g por dia, sugerindo que doses diárias acima de 3,4 g de CLA sejam desnecessárias (IP *et al.*, 1994).

Em humanos os efeitos do tratamento com CLA não são claros. Por exemplo, o tratamento com CLA (3,4g-6,8g) durante 3 meses reduziu a massa de tecido adiposo em adultos obesos e adultos acima do peso (BLANKSON, *et al.*, 2000).

O objetivo do estudo realizado por Adams *et al.*, (2006) foi determinar se em quatro semanas de suplementação de CLA, a duração aproximada de um pacote comercial, pode resultar em uma mudança positiva no tecido adiposo visceral em homens de meia idade em treinamento de resistência. Trinta indivíduos sobrepesados e moderadamente obesos, mas saudáveis do sexo masculino foram distribuídos aleatoriamente em grupos placebo e CLA duplo cego. O estudo durou 12 semanas e constou de três períodos de quatro semanas. Durante as primeiras quatro semanas, cada voluntário recebeu a solução placebo (4 g óleo de cártamo). Ao longo de todas as próximas quatro semanas (período suplementação), o grupo placebo continuou recebendo a solução placebo, enquanto o CLA grupo recebeu 3,2 g/dia de CLA. Durante as últimas quatro semanas (período run-out), todos os indivíduos voltaram a receber a solução placebo. Escaners de tomografia computadorizada foram utilizadas para mensurar o tecido adiposo visceral (VAT) nas 4, 8 e 12 semanas. Não houve redução significativa no VAT na área transversal nos grupos CLA durante o estudo. Pelo contrário, uma redução significativa na área transversal do VAT de 23,12 cm² durante o período de suplementação foi mensurado no grupo placebo. Nossos resultados sugerem que a suplementação de CLA de 3,2g/d durante quatro semanas não promoveu reduções da taxa do VAT em homens de meia-idade que participaram de um programa de treinamento de resistência.

No entanto, a partir de dois estudos da Noruega com humanos saudáveis e praticantes de exercício físico (CLA, 1,8g/dia) e homens com sobrepeso e obesidade (CLA, 1,7, 3,4, 5,1, e 6,8 g /dia) durante 12 semanas, mostraram que o CLA pode diminuir massa gorda, sem significativamente afetar o peso corporal (THOM, *et al.*, 2001). Os resultados do primeiro estudo em atletas foram muito encorajadores, considerando que a menor dose de CLA (1,8 g/dia) produziu resultados significativos em comparação com o segundo estudo em que os autores concluíram que uma dose de 3,4 g/dia de CLA foi suficiente para provocar redução da gordura corporal.

Outro estudo, em 2001 avaliou os efeitos da ingestão de 4,2g CLA/dia, durante 4 semanas, nas alterações do tecido adiposo e fatores de risco cardiovasculares em homens obesos

de meia idade com sinais de síndrome metabólica (BLANKSON, *et al.*, 2000; RISÉRUS, *et al.*, 2002)

No que diz respeito à síndrome metabólica Mougios e colaboradores (2001) não verificaram nenhuma alteração, exceto o diâmetro abdominal sagital (como uma medida de obesidade abdominal), que diminuiu com a ingestão de CLA. O estudo concluiu que CLA poderia diminuir apenas massa de gordura abdominal sem afetar a obesidade como um todo e sem reduzir os fatores de risco cardiovascular.

No mesmo ano, um estudo da Grécia informou que a primeira administração de CLA 0,7 g/dia durante 4 semanas e, posteriormente, a 1,4 g/dia para as próximas 4 semanas diminuiu massa gorda em voluntários saudáveis (MOUGIOS, *et al.*, 2001)

Brown *et al.* (2001) conduziram experimentos utilizando culturas primárias de células de estroma vascular de humanos para entre outros objetivos; verificar a resposta das células ao tratamento crônico com o isômero *trans*-10, *cis*-12 no conteúdo de triglicerídeos. Tentou-se verificar se o efeito causado pelo CLA *trans*-10, *cis*-12 poderia ser revertido pelo ácido linoléico. E se a possível redução de triglicerídeos nas células seria devido a uma redução na lipogênese ou a um aumento na lipólise. No primeiro experimento eles verificaram que o conteúdo de triglicerídeos diminuía com doses de CLA de 1 a 10 $\mu\text{mol/L}$. No segundo experimento, as culturas tratadas com *trans*-10, *cis*-12 tinham 60% menos triglicerídeos que as do grupo controle. Curiosamente, quando as culturas tratadas com 10 $\mu\text{mol/L}$ de *trans*-10, *cis*-12 eram adicionadas com mais 10, 30 ou 100 $\mu\text{mol/L}$ de ácido linoléico elas apresentaram mais triglicerídeos que aquelas células tratadas com 10 $\mu\text{mol/L}$ de *trans*-10, *cis*-12 apenas. Assim, o ácido linoléico mostrou-se capaz de reverter os efeitos causados pelo isômero *trans*-10, *cis*-12, restaurando o conteúdo de triglicerídeos das culturas. Isto mostra claramente que os efeitos do CLA são reversíveis. No último experimento, eles verificaram que ocorreu uma redução na incorporação de glicose (C14) nas células dos lipídios totais a medida que o nível de *trans*-10, *cis*-12 era aumentado nas culturas. As culturas tratadas com 30 $\mu\text{mol/L}$ de *trans*-10, *cis*-12 tinham 80% menos moléculas de glicose integradas dentro das células lipídicas em comparação as células do grupo controle. Em contrapartida, nenhuma influência o isômero *cis*-9 *trans*-11 sofreu na integração de glicose nas células lipídicas.

Estes dados sugerem que o efeito anti - obesidade reportados em seres humanos recebendo uma mistura de isômeros do CLA seria devido a uma inibição da lipogênese pelo isômero *trans*-10, *cis*-12.

Até agora, houve apenas dois relatos de estudos a longo prazo com intervenção de CLA em seres humanos saudáveis com sobrepeso. No primeiro estudo, os sujeitos (masculino e feminino); com média de índice de massa corporal de 25-30 kg/m² foram acompanhados por 12 meses. O CLA foi suplementado, sob a forma de CLA-ácidos graxos livres (CLAFFA) ou CLA-triacilglicerol (CLA-TG), e o placebo com azeite. Tanto CLA-FFA e CLA-TG reduziram a massa corporal gorda significativamente. Os sujeitos alimentados com CLA-FFA tinham maior massa corporal magra quando comparado ao grupo placebo. No segundo estudo, os sujeitos foram suplementados com 3,4g CLA-TG por dia por mais 12 meses, e houve uma diminuição na massa gorda. A massa gorda foi mantida durante um período de 24 meses, sugerindo que CLA pode ajudar a manter as reduções iniciais da massa corporal gorda e peso por um longo período (GALLIER, *et al* 2004; NOONE, *et al.*, 2002).

Além disso, há indícios de que em estudos com animais o CLA pode ter efeitos sobre os lipídios plasmáticos. No entanto, poucos estudos em seres humanos apresentaram um significativo efeito da suplementação do CLA nas concentrações de HDL-colesterol. Já em outros estudos, não houve efeitos significativos sobre lipídios plasmáticos totais, concentrações de LDL, HDL e da concentração plasmática de triacilglicerol. Desta forma, os resultados dos estudos em seres humanos indicam que o efeito da suplementação de CLA na gordura corporal é consideravelmente menor do que os relatados em estudos com ratos, que verificaram que a suplementação do CLA mostrou um efeito importante sobre as concentrações de lipídios plasmáticos (TERPSTRA, 2004).

A ingestão de 3 g de um mix de isômeros de CLA por dia (c-9t-11 à 50% e t-10c-12 à 50%) diminuiu as concentrações de TG, enquanto que c-9t-11 à 80% e 20% de t-10c-12 diminuiu as concentrações de VLDL-C em sujeitos normolipidêmicos. No entanto, não houve qualquer efeito sobre o LDL-C e HDL-C (NOONE, *et al.*, 2008).

Em um recente estudo em homens saudáveis, suplementados com CLA enriquecidos de c-9t-11 e t-10c-12 mostrou um aumento significativo no plasma de TG, LDL-C/HDL-C e CT/HDL-C com CLA t-10c-12 e diminuiu com o CLA c-9t-11 (TRICON, *et al.*, 2004).

Benito *et al.* (2001) relatou que não houve qualquer alteração nas concentrações plasmáticas de lipoproteína LDL e HDL após a ingestão de 3,9 g CLA/dia contendo 11,4% do isômero c-9t-11 e 14,7% isômero t-10c-12. Smedman e Vessby (2001) mostraram que a ingestão de 4,2 g CLA/dia durante 12 semanas não afetou as concentrações séricas de lipídios ou lipoproteínas.

O CLA também tem sido fortemente utilizado por atletas de resistência como suplemento que pode ajudar no aumento do catabolismo, reduzir a gordura corporal e promover uma maior ganho de força e massa muscular durante o treinamento. Embora as pesquisas básicas sejam promissoras, poucos estudos têm analisado se a suplementação de CLA durante treinamento, melhora a adaptação ao treinamento e/ou influência nos marcadores de saúde. Este estudo avaliou se a suplementação de CLA durante treinamento de resistência afeta a composição corporal, a força, e/ou marcadores gerais de catabolismo e imunidade. Em um estudo duplo-cego e randomizado, 23 sujeitos com treinamento de resistência foram avaliados a massa corporal e o volume de treinamento. O estudo foi randomizado e oferecido uma dieta com 9 g/dia de azeite ao grupo placebo e 6 g/dia de CLA com 3 g/dia de ácidos graxos por 28 dias. Antes e após a suplementação, amostras de sangue foram coletadas em jejum, a massa corporal, e a avaliação no radioabsorciometria de feixes duplos (DEXA) foi usada para determinar a composição corporal. Os resultados revelaram que, a suplementação com CLA não afetou significativamente ($p > 0,05$) nas mudanças na massa corporal total, na massa livre de gordura, na massa gorda e no percentual de gordura corporal. Estes resultados indicam que a CLA parece não possuir efeito ergogênico significativo para experimentos em atletas com treinamento de resistência (BRUGÉRE, *et al.*, 2004; KREIDER, *et al.*, 2002).

Em um estudo duplo-cego, 60 homens com síndrome metabólica foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos. O primeiro grupo recebeu o isômero t-10c-12 CLA, o segundo grupo uma mistura de isômeros de CLA e terceiro grupo placebo, suplementados durante 12 semanas. A sensibilidade insulínica, lipídios no soro, peroxidação lipídica in vivo (determinado a partir da quantidade urinária de 8-iso-PGF₂ α (F2-isoprostano), 15-ketodihidro PGF₂ α , vitamina E plasmática, proteína C reativa plasmática, fator de necrose tumoral e interleucina-6 foram avaliadas antes e após o tratamento. A suplementação com t-10c-12 CLA aumentou acentuadamente o conteúdo de 8-iso-PGF₂ α (578%) e proteína C-reativa (110%) em comparação com placebo ($P < 0.0001$ e $P < 0.01$, respectivamente) e independente das alterações verificadas na

hiperglicemia ou dislipidemia. Os aumentos de 8-iso-PGF 2α , mas não na proteína C reativa foram significativamente, e independentemente da relação com o agravamento da resistência à insulina. O estresse oxidativo foi relacionado a um aumento nos níveis de vitamina E, sugerindo um mecanismo compensatório (BASU, *et al.*, 2000b). O CLA t-10c-12 suplementado aumentou o estresse oxidativo e biomarcadores inflamatórios em homens obesos. O estresse oxidativo parece estar intimamente correlacionado com a resistência à insulina, sugerindo uma ligação entre os aumentos nas concentrações de ácidos graxos e aumento na peroxidação lipídica apresentadas neste estudo. Estes efeitos desfavoráveis de t-10c-12 CLA poderia ser de importância clínica no que diz respeito às doenças cardiovasculares, tendo em consideração a generalização da utilização de suplementos alimentares que contenham este tipo de ácido graxo (RISÉRUS, *et al.*, 2002).

3.8.2 Estudos em animais

O CLA tem demonstrado uma redução no acúmulo de gordura corporal em vários modelos animais. Especialmente na redução de gordura corporal de ratos, camundongos e frango. A avaliação dos efeitos metabólicos da suplementação do CLA, em animais e cultura adipócita, tem sugerido que o CLA afeta diretamente enzimas e processos envolvidos na mobilização lipídica e armazenamento lipídico. (DELANY e WEST, 2000).

De fato, a idéia de que o mecanismo de ação do CLA, para reduzir adiposidade em tecidos animais, estar envolvido com a regulação do gasto energético, é a mais freqüente em vários estudos. Um exemplo disso é um estudo em que uma dieta contendo isômeros de CLA a 1 % foi oferecida a ratos machos AKR/J, por 6 semanas, que resultou num significativo aumento das taxas metabólicas e redução do quociente respiratório no período noturno (DELANY *et al.* 2000).

Outro exemplo de estudo envolvendo ratos, desta vez do tipo Std ddY, no qual os animais foram alimentados com 5 ml/kg de peso de CLA, ocorreu um aumento no consumo de oxigênio, que foi associado ao aumento na oxidação de gordura e não na oxidação de carboidratos. Os hormônios noradrenalina e adrenalina também tiveram suas concentrações significativamente elevadas, sugerindo uma acentuação da atividade de nervos simpáticos, o que contribuiu para o aumento da taxa metabólica causando uma redução de tecido adiposo (BUISSON, *et al.*, 2000).

Um estudo feito por Park *et al.* (1997) analisou a composição corporal de camundongos que foram suplementados com óleo de milho e CLA. Os resultados mostraram que os ratos

suplementados com CLA exibiram 57% e 60% menos gordura corporal e 5 a 14 % mais massa corporal magra do que o grupo controle.

Botelho *et al* (2005), analisaram 40 ratos machos da linhagem *Wistar*. Os ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (controle e experimental) e suplementados por 21 dias. Os grupos receberam ácido linoléico conjugado nas concentrações 1%, 2% e 4% sobre o consumo diário de dieta. Foi avaliada a composição corporal centésima, que constatou que os grupos suplementados com 2% e 4% apresentaram teores de gordura corporal de $11,17 \pm 0,79\%$ e $11,62 \pm 0,93\%$, respectivamente, e o grupo placebo $13,9 \pm 1,23\%$, o que corresponde, em relação ao grupo suplementado com 2%, a uma redução de aproximadamente 20% da gordura corporal. As suplementações com ácido linoléico conjugado nas concentrações de 2% e 4% sobre o consumo diário de dieta reduziram a gordura corporal em ratos *Wistar* saudáveis, indicando que a suplementação com 2% é economicamente mais viável.

Em outro estudo, realizado em camundongos machos eles ofereceram uma alimentação rica em gordura (45 kcal%) e outra baixa em gordura (15 kcal%) na dieta com e sem CLA (2,46 mg/kcal; 1,2 e 1,0 % do peso nas dietas altas e baixas de gordura, respectivamente) por 6 semanas. Eles observaram uma redução nos depósitos dos adipócitos que variou de 43 a 88 %, mostrando que o depósito do adipócito retroperitoneal ter sido mais sensível a ação do CLA, independente da composição da dieta recebida (WEST *et al.*, 1998).

Um estudo investigou a dose-efeito em longo prazo da ingestão de ácido linoléico conjugado (CLA) sobre o metabolismo energético e acúmulo de gordura em ratos. Com cinco semanas de vida os ratos do sexo masculino Std ddY foram alimentados com uma dieta contendo nenhum (controle), 0,25%, 0,5% ou 1,0% de CLA por 4 a 8 semanas. O peso corporal foi menor nos grupos CLA do que no grupo controle, e foram detectadas diferenças significativas entre os grupos com 1,0% de CLA e o grupo controle nas 4 e 8 semanas. Os pesos do epidídimo e do tecido adiposo retroperitoneal foram significativamente menores nos grupos CLA do que no grupo controle. O peso do fígado e o conteúdo de triglicerídeos nos hepatócitos foram superiores nos grupos com 1,0% de CLA do que nos outros grupos. A taxa metabólica foi medida após 8 semanas, usando um analisador de gás. O consumo de oxigênio dos ratos do grupo CLA foi significativamente mais elevado do que no grupo controle. Uma vez que notou-se um efeito significativo no peso corporal e na taxa metabólica dos ratos suplementação com 0,25% de CLA,

a baixa concentração do CLA é sugerida para reduzir o acúmulo de gordura corporal e aumentar o metabolismo energético (OHNUKI *et al.*, 2001).

Em um estudo aplicando vários tratamentos mostrou que o tratamento 1 os ratos MH, ML e C57BL/6J foram alimentados com uma dieta AIN-93G por uma semana antes da coleta dos dados. Os ratos foram aleatoriamente separados para uma das três dietas experimentais e foram alimentados por 12 dias. O estudo verificou 10 repetições de nove tipos de dietas. A dieta experimental foi oferecida para 9 ratos primeira repetição no primeiro dia do estudo. No segundo dia iniciou a segunda replicação do consumo da dieta experimental e assim por diante, por volta do décimo dia todos os 90 ratos já estavam consumindo as dietas experimentais. No tratamento 2, os ratos 20 M16 foram randomizados aleatoriamente e distribuídos em três tratamentos e alimentados com 0% de CLA por 14 dias ($n = 7$), 0% de CLA por 9 dias e em seguida 2% de CLA durante 5 dias ou 2% por 14 dias. Parte da gordura retroperitoneal foi analisada por apoptose para determinação da fragmentação de DNA. A dieta com o CLA reduziu o consumo em 10% a 12% ($p < 0,01$), mas não sofreu influências no aumento dos gastos energéticos podendo indicar uma perda de calor. O peso corporal não sofreu influências pelo consumo de CLA no Tratamento 1, mas houve aumento ($p < 0,01$) pelo no Tratamento 2. Os pesos das gorduras retroperitoneal, epididimal e de tecido adiposo marrom foram menores ($p < 0,01$) em animais alimentados com CLA, apesar do peso do fígado ter aumentado ($p < 0,10$; Tratamento 1) ou não ter alterado (Tratamento 2). Análise das partes do DNA e da gordura retroperitoneal para ambos os tratamentos clínicos indicaram que a apoptose foi aumentada ($p < 0,01$) pelo consumo de CLA. Estes resultados são interpretados e indicam que o consumo CLA causa apoptose em tecido adiposo branco. Este efeito ocorre dentro de 5 dias após o consumo de uma dieta contendo CLA (MINER *et al.*, 2001)

Terpstra *et al.* (2001), realizaram um estudo que avaliou o gasto energético em camundongos na fase de crescimento, submetidos ou não a uma dieta restrita e suplementados ou não com uma mistura de isômeros de CLA, por 39 dias. A energia presente na carcaça, na comida e fezes foi medida através de uma bomba calorimétrica. A suplementação de CLA diminuiu a porcentual de energia ingerida e armazenada na carcaça. Os autores verificaram um aumento na energia nos animais que receberam a suplementação de CLA. A menor quantidade de energia estocada na carcaça foi um reflexo do aumento de 74% no gasto energético e um aumento da energia perdida nas fezes (26%).

Recentemente, um estudo mostrou que a combinação de 0,4% de CLA (50:50 c-9t-11 + t-10c-12) combinados a exercícios de treinamento moderado por 14 semanas diminuiu a gordura corporal e aumentou a massa magra de ratos machos do tipo BALB/C. Os ratos que foram alimentados com uma dieta alta de gordura e associada com CLA verificaram uma redução nos níveis séricos de leptina, uma menor expressão da mRNA da leptina presente na gordura retroperitoneal e a presença do exercício aumentou o consumo de oxigênio e o gasto energético (BELURY, *et al.*; 2003; BHATTACHARYA, *et al.*, 2005; 2006). Em contraste, um estudo em ratos machos adultos Wistar alimentados com rações contendo 1% do isômero c-9t-11, 1,0% do isômero t-10c-12 associados à atividade física moderada durante 6 semanas, não observaram nenhum efeito sobre a composição corporal ou peso corporal (BHATTACHARYA *et al.*, 2006; MIRAND, *et al.*, 2004).

Ratos Wistar machos alimentados com rações HF contendo (40% w/w) seja com óleo de peixe (FO), óleo de soja (SO), ou óleo de palma (PO) foram divididos aleatoriamente em um grupo com exercício (EX, natação) e o grupo controle sedentário (SD). Os ratos dos grupos tinham 9 semanas de vida. O exercício durou 6 semanas. Vinte e quatro após o fim do último exercício os ratos foram sacrificados por decapitação. Os resultados demonstraram que diferentes ácidos graxos tem efeitos diferentes sobre o peso corporal, composição corporal e o metabolismo energético. Os ratos alimentados com SO ganharam o maior peso e gordura. O exercício reduziu o peso corporal dos ratos alimentados com FO e PO, mas os ratos alimentados com SO ainda estavam mais pesados, tornando este dado bem significativo quando comparados aos demais grupos alimentados. Os resultados mostrados nos ratos alimentados com SO e PO sugeriram-se que eles apresentavam resistência à insulina, porém o exercício físico normalizou esta alteração. Das três rações HF utilizadas, a com FO produziu menor efeito adverso quando comparada com a PO e SO. Não é só a quantidade de gordura alimentar, mas também o tipo de gordura utilizada que poderá produzir efeitos diferentes sobre o peso corporal e metabolismo corporal. O exercício físico sugeriu uma melhora na resistência à insulina induzida em ratos, quando alimentados com ácidos graxos saturados ou ácidos graxos polinsaturados. Os ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (ômega 3), como encontrado em óleo de peixe, produzem efeitos mais vantajosos em ratos do que os ácidos graxos poliinsaturados (ômega 6) (PELLIZZON, *et al.*, 2002).

3.9 Importância do Exercício Físico na perda de peso

A saúde é o completo bem estar físico, mental e social. Mas a maioria das pessoas só pensa em manter ou melhorar a saúde quando esta se acha ameaçada ou mais seriamente se os sintomas de doenças tornam-se evidentes (MCARDLE, 2003).

O nosso organismo foi constituído para ser ativo. Nossos ancestrais eram muito ativos por necessidade, na caça, pesca, busca de refúgio etc., e por falta de opções tecnológicas que lhes permitissem poupar esforços. Mas nos dias de hoje, com as variedades tecnológicas que temos, não podemos negar a importância destes recursos que nos propiciam conforto, segurança e rapidez. Mas o grande desafio que nos deparamos é justamente tirar proveito desses avanços, sem que percamos, a médio e longo prazo, a qualidade de vida que se pode conseguir. Entretanto, a curto prazo esses equipamentos e facilidades nos tornam menos ativos e favorecem a obesidade

Podemos citar como exemplo o uso de automóveis constante em todas as situações, muitas horas diárias assistindo televisão ou diante do computador, tanto entre adultos como em crianças. E é claro que este quadro é agravado pelos hábitos alimentares da população, que tem melhorado com as campanhas de saúde pública, mas permanecem inadequados, pelo alto teor de gordura, baixo consumo de frutas e verduras e grande dependência de produtos refinados ou processados industrialmente. Infelizmente, esse estilo “*fast food*” e sedentarismo de viver chegaram aos centros urbanos dos países em desenvolvimento, levando os indivíduos à obesidade (NAHANS, 2003; MCARDLE, 2003).

Os exercícios físicos revelaram-se componentes importantes do comportamento nos programas de controle de peso. Experimentos randomizados indicaram que a combinação de dieta mais exercícios acarretam perda de peso mais eficientes, a curto e longo prazo, do que qualquer destas intervenções aplicada isoladamente (BOUCHARD, 2002).

O sedentarismo é uma causa importante do sobrepeso e da obesidade, podendo ser, de fato, um fator importante no desenvolvimento de alterações no peso corporal do que a alimentação em excesso. Por esta razão, o exercício físico deve ser reconhecido como componente essencial de qualquer programa de redução ou de controle de peso (WILMORE & COSTILL, 2001).

Um dos objetivos fundamentais no tratamento da obesidade é criar um balanço energético negativo. Embora a atividade física possa influenciar este balanço pelo aumento do gasto calórico, é improvável que seja um mecanismo fundamental na perda ou na manutenção do peso.

Os indivíduos obesos, freqüentemente não são capazes de gastar um número de calorias significativo em uma determinada sessão de exercícios, particularmente no início de um programa, porque seu nível de condicionamento e o excesso de peso limitam tanto a duração quanto à intensidade da atividade (BOUCHARD, 2002).

McArdle *et al.* (2003) relataram que a equação de equilíbrio energético estabelece que o peso corporal se mantém constante quando a ingestão calórica é igual ao gasto calórico. Por outro lado, ao se consumir quantidade excessiva de alimentos, aumenta-se o peso corporal, isto é, quando se entra no que se denomina equilíbrio positivo. Porém, se nossa necessidade energética ultrapassa àquelas produzidas pelos alimentos que se ingere, ocorre equilíbrio energético negativo (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 1998; DAMASO, 2001).

Pesquisadores têm descoberto uma forte associação entre controle de peso em longos períodos de atividade física e exercício físico. Ambos são opções de tratamento para sobrepeso e pessoas obesas, que buscam reduzir seu peso corporal para melhorar a saúde. Frequentemente, as pessoas com sobrepeso procuram recomendações de exercícios em clínicas trabalham no campo de exercícios, saúde e nutrição.

Os exercícios físicos revelaram-se componentes importantes do comportamento nos programas de controle de peso. Experimentos randomizados indicaram que a combinação de dieta mais exercícios acarreta perdas de peso mais eficientes, a curto e longo prazo, do que qualquer destas intervenções aplicadas isoladamente. Estudos recentes verificaram que baixos níveis de atividade física são preditores de ganho de peso. Logo, o aumento da carga de exercícios pode ser importante tanto na prevenção como no tratamento da obesidade (BOUCHARD, 2002).

Há uma especulação considerável sobre os mecanismos que ligam os exercícios ao controle de peso. Se o exercício promove o emagrecimento por um mecanismo específico (por exemplo, pelo aumento da taxa metabólica), haverá um ímpeto forte na busca de outros maiôs (por exemplo, a farmacoterapia) para produzir a mesma ação. Se preservar ou aumentar massa magra for um mecanismo, seria lógico utilizar um treinamento de força; se o gasto energético aumentado pela própria atividade física for o mecanismo, então as atividades aeróbicas devem ser as mais adequadas. Portanto, duas prescrições completamente diferentes podem ser adequadas, com base apenas nesses dois mecanismos. Além destes mecanismos citados podemos para atribuir à prática de exercício físico, o aumento no gasto energético, redução do apetite, seleção

de macronutrientes e preservação do declínio da taxa metabólica de repouso (BOUCHARD, 2002).

Os objetivos das prescrições de exercícios têm envolvido a otimização da aptidão física por todos os adultos. O Colégio Americano de Medicina do Esporte (1990) através de regimes tradicionais preconiza de 3 a 5 dias por semana de exercícios aeróbicos, em uma intensidade de 60% a 90% da frequência cardíaca máxima, para o desenvolvimento e confecção de programas, objetivando o nível adequado de aptidão física ao indivíduo (ANDERSEN, 2003).

Seja qual for a abordagem para conseguir uma redução ponderal para prevenção e tratamento da obesidade, uma declaração da força-tarefa nacional resume melhor a dificuldade em solucionar a longo prazo a condição caracterizada por gordura excessiva. Os indivíduos obesos que se esforçam para perder peso deverão estar preparados para aceitar mudanças vitalícias em seus padrões comportamentais, em sua dieta e em sua atividade física (MCARDLE, 2003).

4. METODOLOGIA

4.1 Delineamento da pesquisa

Este estudo foi caracterizado como uma pesquisa experimental, com grupo controle e experimental e duplo cego. A variável dependente do estudo foi à suplementação do ácido linoléico conjugado e as variáveis independentes foram os percentuais de gordura da carcaça e dos órgãos (THOMAS e NELSON, 2002). Foram analisados dados observativos para uma melhor discussão dos dados apresentados.

4.2 Amostra

Foram utilizados 24 ratos machos saudáveis, da linhagem *Wistar*, com 87 dias de vida, provenientes do BIOAGRI – Laboratórios LTDA. Ao serem recebidos no laboratório de educação física experimental da Universidade Católica de Brasília, os mesmos permaneceram alojados em gaiolas de crescimento individuais consumindo água e dieta *ad libitum* Labina da PURINA®. A temperatura do biotério foi mantida a 22°C e a umidade do ar entre 60% e 70%, em ciclo de fotoperíodo 12h claro e 12 h escuro (período claro iniciando às 7 h). Após um período de 7 dias de adaptação, os ratos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos (placebo e experimentais) e suplementados por 62 dias.



Figura 4 – Distribuição dos ratos em suas gaiolas na estante climatizada.

O acompanhamento do ganho de peso foi realizado a cada 2 (dois) dias e o consumo alimentar realizado diariamente e anotados em uma ficha (anexo A).

Os grupos suplementados receberam ácido linoléico conjugado AdvantEdge® CLA (EAS) nas concentrações de 1% sobre o consumo diário de dieta, já os ratos do grupo controle receberam óleo de milho também a 1% do consumo diário da dieta. Os óleos foram acrescidos na ração, para que com isso não houvesse nenhuma alteração nos percentuais de ingestão de lipídios. Os ratos suplementados com CLA foram divididos em dois grupos, um grupo que não praticou exercício físico e outro que praticou exercício físico, constituindo assim os seguintes grupos no estudo: PLA, grupo controle, CLA, grupo experimental suplementado sem atividade física e CLAEX, grupo experimental suplementado com atividade física.

Descrição dos grupos experimentais

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

- (PLA) grupo sem atividade física e sem CLA (1% de óleo de milho)
- (CLA) grupo sem atividade física e com CLA (1% de CLA)
- (CLAEX) grupo com atividade física e com CLA (1% de CLA)

4.3 Protocolo do Estudo

4.3.1 Descrição do Estudo

A alimentação foi fornecida *ad libitum* diariamente. Toda oferta do dia e a sobra do dia seguinte eram pesadas para que pudéssemos realizar uma análise do consumo alimentar dos ratos (anexo A). Os ratos foram pesados a cada dois dias. Os ratos com treinamento fizeram suas atividades conforme descrito no protocolo de treinamento. Após as 8 semanas e 6 dias os ratos foram sacrificados por asfixia com dióxido de carbono (CO₂) no laboratório de Zoologia, e em seguida levados ao laboratório de cirurgia para a retirada de fígado, baço e rim. Os órgãos foram armazenados em sacos autoclavados e em seguida congelados à -18°C. O restante da carcaça também foi armazenada em sacos autoclavados e congelados. Antes da extração, as carcaças foram liofilizadas para a retirada da umidade para que fosse possível fazer a análise quantitativa do teor de gordura. Em seguida, foram submetidos à análise quantitativa de gordura pelo método de Soxhlet, tanto os órgãos como o restante da carcaça, conforme descrito no método de extração de gordura de órgão e da carcaça.

4.3.2 Protocolo de Treinamento

A atividade física do grupo CLAEX foi realizada no laboratório do Projeto de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Educação Física da Universidade Católica de Brasília, onde os ratos foram colocados em um tanque individual para executarem o treinamento físico. Antes de iniciar o treinamento os ratos foram submetidos a um período de adaptação ao meio líquido (uma hora de natação por dia durante sete dias, sem utilização de sobrecarga), com o propósito de reduzir o estresse dos animais frente ao exercício físico realizado na água (Figura 5).



Figura 5 – Treinamento dos ratos no tanque

Os animais do grupo CLAEX realizaram um programa de treinamento físico em um tanque com água, que consistia na realização de 30 minutos de natação numa frequência de 3 vezes por semana, suportando sobrecarga equivalente a 5% (PRADA *et al.*, 2004) do peso corporal de cada animal acoplada ao tórax. A carga que consistia de pequenos chumbos, eram envolvidos em uma tira de velcro e o mesmo preço no tórax logo abaixo das patas dianteira dos ratos. (Figura 6).



Figura 6 – Carga de 5% do peso acrescido nos ratos fixadas por uma tira de velcro colocadas logo abaixo das patas dianteiras.

A temperatura da água foi mantida entre 30°C e 32°C por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura corporal do rato.

4.3.3 Suplementação

A administração do suplemento foi realizada por meio da introdução do ácido linoléico nos péletes da ração dos ratos. Cada rato recebia um pélete de ração com óleo de milho ou com CLA, todos ofertados diariamente e no mesmo horário. Quando era observado que o rato havia consumido todo aquele pélete ofertado, era oferecido o restante da ração que deveria ser consumida nas próximas 24 horas.

4.3.4 Determinação da composição de gordura dos órgãos

No momento do sacrifício os ratos eram colocados em sacos plásticos vedados, com um cano dentro que saia o dióxido de carbono, o tempo de morte dos ratos era de aproximadamente 30 segundos. Após o sacrifício nos ratos, foi realizada uma incisão no abdômen (Figura 7). Em seguida foi retirado o fígado, baço e rim. Foram utilizados uma pinça e um bisturi para a realização dos procedimentos, primeiramente foi retirado o baço (Figura 8), em seguida os rins (Figura 9) e por último o fígado (Figura 10), por ser um tecido menos consistente.



Figura 7 – Incisão realizada no abdômen dos ratos para a retirada dos órgãos.



Figura 8 – Baço do rato



Figura 9 – Rins do rato



Figura 10 – Retirada do fígado do rato

Para realização da análise de gordura dos órgãos foi utilizado o método de Soxhlet, conforme JEN *et al.* (1981). Inicialmente foi confeccionado um funil de papel filtro que foi colocado em um béquer de 25 ml, ambos foram pesados e tarados em balança de precisão. Logo depois da balança estar tarada foi acrescentado o órgão, um de cada vez, para obtenção do peso inicial. Após a pesagem o filtro de papel já com o órgão era colocado no extrator, e em seguida o mesmo levado à capela para que assim fosse iniciada a extração. Em um balão de fundo chato foi

colocado éter e álcool etílico na proporção de 2:1 como solvente, que ficava posicionado abaixo do extrator e em cima de uma placa de cerâmica onde produzia o calor para a realização da extração.

A extração foi realizada durante a noite (*overnight*), iniciando às 17 horas do dia e retirando às 9 horas da manhã do dia posterior. Ao serem retirados dos extratores os órgãos eram colocados em uma estufa à 70° C, onde permaneciam por lá até a evaporação de todo o líquido ainda contido no balão de fundo chato. Após 2 horas na estufa os balões eram retirados colocados no dissecador por mais 20 minutos e em seguida pesados, este procedimento era repetido até que os pesos dos balões mantivessem constantes. Ao estabilizar o peso, o mesmo era anotado na tabela de extração de gordura dos órgãos (anexo B), onde foi realizado o cálculo da quantidade de gordura e o percentual de gordura extraído de cada órgão.

4.3.5 Determinação da composição corporal

Os ratos foram retirados do congelador e autoclavados para esterilização e o amolecimento da carcaça em uma temperatura de 121°C durante 2 horas. Em seguida foram encaminhados novamente para o congelador a -18°C por 24 horas, para que os mesmos pudessem ser submetidos ao liofilizador, onde era retirada toda a umidade contida na carcaça. Eles permaneceram durante 72 horas no liofilizador e em seguida pesados para verificar suas perdas de água. Logo depois da liofilização foram moídos no moinho Tecnal – 631, e feito um pó da carcaça, para que a mesma ficasse homogeneia e pesados novamente.

Foi retirada 3 amostras do pó da carcaça já homogeneizada de cada rato. As 3 amostras retiradas eram colocadas no funil de filtro de papel já pesado e tarados na balança de precisão. Em seguida as amostras eram pesadas, todas mantiveram uma média 6,5g cada uma, em seguida eram colocadas no extrator.

No preparo que antecedeu a extração, três balões de fundo chato de 250ml com pérolas foram preparados e colocados na estufa durante 2 horas na temperatura de 105°C para a esterilização dos balões. Depois eram retirados da estufa e pesados após ficarem 20 min dentro do dissecador Vidrolabor 250 m.m, para que os mesmos fossem esfriados. Em seguida foi adicionado no balão de fundo chato 170ml de solvente de éter de petróleo e colocados abaixo do extrator que já continha a amostra da carcaça para a iniciar a extração (figura 11), método proposto por Jen *et al* (1981), por 15 horas. Para a eliminação do solvente ainda contido no balão

ao fim da extração, os mesmos foram levados à estufa em uma temperatura de 105°C permanecendo durante 2 horas. Na saída da estufa foram levados para dentro do dessecador por mais 20min e realizada uma nova pesagem para quantificar a quantidade de gordura extraída da amostra e ser anotado na ficha (anexo C).

O presente estudo descreve um método pelo qual os lipídios de matérias biológicas podem ser extraídos e purificados em uma única operação utilizando éter etílico de petróleo. O procedimento pode ser executado em qualquer escala que seja tecnicamente viável, a quantidade de solvente adicionado, deve ser o suficiente para que o mesmo seja purificado no extrator e retire toda a gordura da amostra analisada.



Figura 11 - Extração de gordura - Soxhlet

5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para a análise estatística do estudo foi empregado o Programa SPSS 10.0. Já para as medidas como massa corporal, massa gorda, percentual de gordura e ingestão alimentar foram usados média e desvio padrão. Os métodos estatísticos NPAR TESTS do tipo MANN-WITNEY TEST. Nas análises de percentual de gordura foi utilizado o nível de significância de $p \leq 0,001$, já para as análises da quantidade de gordura nos órgãos foi utilizado o nível de significância de $p \leq 0,05$.

6. RESULTADOS

Os resultados da caracterização da amostra são apresentados de forma descritiva, considerando-se média e desvio-padrão de todas as variáveis. Os ratos iniciaram o estudo com um peso corporal de $401,42 \pm 22,66\text{g}$ e terminaram o estudo após 62 dias com o peso corporal de $481,13 \pm 30,43\text{g}$. Foi realizado um controle alimentar para detectar o consumo calórico dos ratos. Os ratos de todos os grupos do estudo consumiam em média 21 ± 4 gramas por dia de ração no início do experimento e, ao final, o consumo aumentou para 23 ± 5 gramas, não sendo significativa esta diferença.

A Tabela 2 apresenta o controle no consumo alimentar de todos os grupos analisados durante o experimento. Não verificou-se nenhuma diferença significativa nos grupos no que diz respeito ao consumo calórico.

Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão do consumo alimentar dos ratos dos grupos placebo e experimentais.

Grupos	Consumo (g) - 1º Dia do estudo	Consumo (g) - 31º Dia do estudo	Consumo (g) - 62º Dia do estudo
PLA n = 8	23 ± 3	22 ± 4	22 ± 5
CLA n = 8	20 ± 3	21 ± 3	25 ± 4
CLAEX n = 8	21 ± 4	22 ± 2	22 ± 6

A massa corporal dos ratos nos grupos Placebo, CLA e CLAEX apresentaram diferenças significativas no trigésimo primeiro dia do estudo, mostrando que todos os grupos aumentaram seus pesos durante todo o período do experimento (Tabela 3). Verificamos também que esta diferença significativa entre os grupos com relação a massa corporal permaneceu ao final do estudo (62º dia).

Tabela 3 – Relação do ganho de peso dos ratos suplementos e exercitados durante o estudo.

Grupos	Peso (g) - 1º Dia do estudo	Peso (g) - 31º Dia do estudo	Peso (g) - 62º Dia do estudo
PLA n = 8	407, 25 ± 22,5	456,5 ± 24,4*	476,5 ± 20,3 ^Δ °
CLA n = 8	397,25 ± 19,4	452,00 ± 27,1*	484,63 ± 37,4 ^Δ °
CLAEX n = 8	399,75 ± 27,22	445,25 ± 22,1*	482,25 ± 34,4 ^Δ °

* P ≤ 0,001 1º dia x 31º dia ; ^Δ P ≤ 0,001 1º dia x 62º dia, °P ≤ 0,001 31º dia x 62º dia

Quando fomos avaliar o percentual de gordura dos animais, percebemos que houve uma redução do percentual de gordura nos grupos CLA e CLAEX, quando comparado ao grupo PLA, mostrando que esta diferença foi significativa $p \leq 0,001$ (Tabela 4). Sendo isto verificado após 62 dias de suplementação e exercício físico. Ainda verificamos na tabela 4, que houve uma redução significativa nos percentuais de gordura nos animais do grupo CLAEX quando comparados aos do grupo CLA, confirmando o benefício do exercício físico na redução da gordura corporal.

Tabela 4 – Efeito da suplementação do ácido linoléico conjugado (CLA) e do exercício físico no percentual de gordura dos ratos após 62 dias

	PLA n = 8	CLA n = 8	CLAEX n = 8
Percentual de Gordura (%)	51,52 ± 0,03	42,26 ± 0,007*	34,14 ± 0,01 ^Δ °

* P ≤ 0,001 PLA X CLA, ^Δ P ≤ 0,001 CLA X CLAEX , °P ≤ 0,001 PLA X CLAEX

Ao avaliarmos a quantidade de gordura extraída da carcaça dos ratos verificamos os mesmos resultados vistos nos percentuais de gordura analisados nos grupos. Mais uma vez notamos uma redução significativa na quantidade de gordura nos animais dos grupos experimentais, quando comparados com o grupo Placebo. Percebemos ainda uma redução mais significativa no percentual de gordura do grupo CLAEX quando comparado ao grupo CLA (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito da suplementação do ácido linoléico conjugado (CLA) e do exercício físico na quantidade de gordura extraída da carcaça dos ratos após 62 dias.

Quantidade de Gordura (g/100g)^a	PLA n = 8	CLA n = 8	CLAEX n = 8
Carcaça	3,33 ± 0,16	2,72 ± 0,08*	2,18 ± 0,11 ^{Δ °}

* $P \leq 0,001$ PLA X CLA, ^Δ $P \leq 0,001$ CLA X CLAEX, [°] $P \leq 0,001$ PLA X CLAEX

^a Resultado em peso seco.

Analisando o efeito da suplementação sobre a quantidade de gordura que alguns órgãos poderiam reter, foi verificada uma redução significativa na quantidade de gordura extraída do fígado e baço, nos grupos CLA e CLAEX quando comparados com o grupo PLA (Tabela 6). Já quando fomos avaliar as diferenças da quantidade de gordura extraída dos grupos experimentais não houve nenhuma diferença significativa para estes tecidos analisados. As quantidades de gordura extraída dos rins não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos grupos.

Tabela 6 – Efeitos da suplementação do ácido linoléico conjugado (CLA) e do exercício físico na quantidade de gordura extraída de diferentes órgãos nos ratos após 62 dias.

Quantidade de Gordura (g/100g)^b	PLA n = 8	CLA n = 8	CLAEX n = 8
Fígado	0,42 ± 0,08	0,31 ± 0,07*	0,29 ± 0,09 ^Δ
Baço	0,026 ± 0,005	0,031 ± 0,004*	0,031 ± 0,006 ^Δ
Rins	0,17 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,01

* $P \leq 0,05$ PLA X CLA, ^Δ $P \leq 0,05$ PLA X CLAEX, Não houve diferença significativa entre os grupos CLA e CLAEX

^b Resultado em peso úmido.

7. DISCUSSÃO

Percebemos com os dados obtidos que os ratos submetidos a este estudo tiveram um alto controle no consumo alimentar e que todos os grupos não sofreram influências da alimentação. Mahan e Escott-Stump (1998) constataram que o consumo alimentar influencia no ganho ou na perda de peso corporal. Por este motivo podemos afirmar que a suplementação com CLA e a não suplementação, não influenciou no apetite dos ratos.

Um fato muito positivo durante todo o estudo é que os ratos durante os 62 dias de experimento não sofreram nenhuma intercorrência, não houve perda de amostra e todos através de uma análise observacional não sofreram nenhum dado.

Notou-se também que todos os ratos tiveram seus pesos aumentados, possivelmente por estarem em fase de crescimento e porque todos comiam o que lhes era suficiente. O peso não foi uma variável tão essencial, sendo que o nosso principal objetivo era avaliar mudanças na composição corporal. Quando avaliamos os dados apresentados do percentual de gordura e quantidade de gordura extraída dos órgãos dos animais, verificou-se que os dados eram semelhantes aos obtidos por Delany *et al.* (2000), Park *et al.* (1997), cuja suplementação de CLA demonstrou influência positiva na composição corporal. O que estes estudos não investigaram foi a influência da suplementação quando associada a um programa de treinamento físico. Estes dados mostrados no estudo podem confirmar as hipóteses dos mecanismos de ação do CLA, que estão envolvidos no aumento do gasto energético e a diminuição da biossíntese de gordura, justificando com isso a redução do percentual de gordura (DELANY *et al.* 2000).

O presente estudo demonstrou que quando associada à suplementação de CLA ao exercício físico, a redução do percentual de gordura e da quantidade de gordura tornou-se mais significativa do que a suplementação isoladamente. O percentual de gordura foi significativamente maior no grupo PLA quando comparado aos demais e o percentual de gordura do grupo CLA foi significativamente superior a do grupo CLAEEX.

Sabemos que o exercício físico é um grande influenciador na modificação da composição corporal (WILMORE & COSTILL, 2001). Mas quando realizado sozinho não é tão eficaz quando associado a uma dieta equilibrada (BOUCHARD, 2002). De acordo com a literatura, podemos afirmar que a suplementação de CLA, associada a uma dieta equilibrada e a um programa de treinamento físico auxilia na redução do percentual de gordura, sendo então o CLA

mais um artifício que pode ser usado na melhora da composição corporal ao reduzir o percentual de gordura (PELLIZZON, *et al* 2002).

Alguns estudos em humanos realizado por Riserus *et al.* (2002b; 2003), demonstraram alterações no IMC dos indivíduos analisados. Nestes estudos há controvérsias sobre qual seria a melhor dosagem a ser suplementada (ZAMBELL *et al.*, 2000). E nem todos os estudos estão em consenso, sobre a suplementação em seres humanos influenciar na redução da composição corporal (BASU, *et al.*, 2000a).

Neste estudo tentamos avaliar como as alterações sofridas na composição corporal dos ratos poderiam ser extrapoladas para os seres humanos. A literatura mostra uma quantidade considerável de estudos, mas os mesmos foram realizados em curto prazo e há varias controvérsias nas suas conclusões. Este tipo de estudo deveria ser realizado longitudinalmente, que os torna mais complicado na compilação dos dados. Podemos então tentar extrapolar os dados obtidos neste estudo para os seres humanos, já que os dados apresentados mostraram reduções nos percentuais e na quantidade (em gramas) de gordura, nos grupos suplementados com CLA.

Este estudo também teve um caráter observacional, pois quando foi realizado a incisão no abdômen para a retirada dos órgãos nos ratos com o objetivo de verificar a quantidade de gordura tanto da carcaça quanto dos órgãos. Pode-se notar que os ratos que não foram suplementados haviam uma quantidade de gordura abdominal superior aos ratos suplementados. Já os ratos suplementados e que participaram do programa de treinamento tiveram uma quantidade ainda menor de gordura abdominal quando comparados ao grupo que não participou do programa de treinamento. Enfatizamos que estes dados foram observacionais e que no momento do sacrifício o experimentador não sabia qual grupo pertencia cada rato. As anotações foram feitas durante o procedimento cirúrgico e as análises observacionais cruzadas ao final do estudo.

Ao analisarmos as quantidades de gordura retiradas dos órgãos: fígado e baço, notamos que a suplementação com o CLA provocou uma redução da gordura destes órgãos, mostrando que o CLA tornou-se benéfico no que diz respeito à redução de gordura visceral. Confirmamos estes dados com outros estudos que relataram os benefícios da suplementação deste tipo de óleo na redução de riscos cardiovasculares (RISÉRUS, *et al.*, 2002). Não verificamos reduções significativas na quantidade de gordura apresentadas no fígado e baço, quando comparamos o grupo CLA com o grupo CLAEEX. Podemos então perceber o benefício na suplementação na

redução de gordura visceral, e que a presença do exercício no grupo suplementado não potencializou a redução da gordura abdominal.

Em resumo, o presente estudo realizou esforços para a determinar a influência que a suplementação com o CLA associado ao treinamento físico, pode desempenhar na composição corporal de ratos. E como os dados apresentados poderiam ser extrapolados para seres humanos, com o objetivo de descobrir mais um artifício nutricional que possa contribuir no controle da obesidade.

8. CONCLUSÃO

Tendo como base a composição corporal das amostras estudadas, foi possível identificar que os ratos suplementados com o ácido linoléico conjugado apresentaram percentuais de gordura inferiores aos daqueles que não foram suplementados. Como já era esperado, o grupo que foi suplementado e participou do programa de treinamento teve um percentual de gordura ainda mais inferior quando comparados aos demais grupos. Ficou evidente que a suplementação de CLA influenciou a composição corporal em ratos e que seu uso com o objetivo de reduzir gordura corporal torna-se positivo. Sugerimos mais estudo em seres humanos para determinar as suas reais influências na composição corporal destes indivíduos. Adicionalmente, foi verificado que a suplementação foi benéfica no que diz respeito à redução de gordura visceral, pois os grupos suplementados tiveram a quantidade de gordura reduzida em fígado e baço. Isto pode ser mais um benefício do seu uso em seres humanos na prevenção de doenças cardiovasculares. Corroborando para uma melhor qualidade de vida para aquelas pessoas com quantidade de gordura corporal elevada.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLOF, R. O.; DUVAL, S.; EMKEN, E. A. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. **Lipids**, v. 35, p. 131-135, February, 2000.

ANDERSEN, R. E. **Obesity: Etiology Assessment Treatment and Prevention**. Ed. Human Kinetics, Champaign, IL, 356-360p. 2003.

BANNI, S. Conjugated linoleic acid metabolism. **Curr Opin Lipidol**, v. 13, p. 261-266, 2002.

BASU, S.; SMEDMAN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. **FEBS Letters**, v. 468, p. 33-36, 2000.

BASU, S.; RISÉRUS, U.; TURPEINEN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. **Clinical Science**, v. 99, p. 511-516, 2000.

BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, v.70, p.15-29, 2001.

BELURY, M. A., Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. **Annu. Rev. Nutr**, v. 22, p. 505-531, 2002.

BELURY, M, A.; MAHON, A.; BANNI, S. The conjugated linoleic acid (CLA) isomer, t10c12-CLA, is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus. **J. Nutr**, v. 133, p. 257S-260S, 2003.

BENITO, P.; NELSON, G. J.; KELLEY, D. S.; BARTOLINI, G.; SCHMIDT, P. C.; SIMON, V. The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. **Lipids**, v. 36, p. 229-236, march, 2001.

BERNARDI, F., CICHELERO, C., VITOLO, M.R. Comportamento de restrição alimentar e obesidade. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 18, n. 1, p. 85-93, 2005.

BERVEN, G.; BYE, A.; HALS, O.; BLANKSON, H.; FAGERTUN, H.; ERLING, T.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. **Eur. J. Lipid. Sci. Technol**, v. 102, p. 455-462, 2000.

BHATTACHARY, RAHMAN, M.; SUN, D.; LAWRENCE, R.; MEJIA, W.; MCCARTER, R.; O'SHEA, M.; FERNANDES, G. The combination of dietary conjugated linoléico acid and treadmill exercise lowers gain in body fat mass and enhances lean body mass in high fat-fed male Bald/C mice. **J Nutr**, v. 135, p. 1124-1130, 2005.

BHATTACHARY, A.; BANU, J.; RAHMAN, M.; CAUSEY, J.; FERNANDES, G. Biological effects of conjugated linoléico acids in health and disease. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 17, p. 789-810, 2006.

BLANKSON, H. STAKKESTAD J.A; FAGERTUN, H. THOM. E; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **J. Nutr**, v. 130, n. 12, p. 2943-8, dec. 2000.

BLIGH, E. G.; DVER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can J, Biochem. Physiol**, v. 37, n. 8, p. 911-917, august, 1959.

BOTELHO, A. P.; SANTOS-ZAGO, L. F.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. A suplementação com ácido linoléico conjugado reduziu a gordura corporal em ratos Wistar. **Rev. Nutr Campinas**, v. 18, n. 4, p. 561-565, jul/ago, 2005.

BOUCHARD, C. **Physical Activity and Obesity**. Ed Human Kinetics. Champaign, IL, 435–507p. 2000.

BRASIL, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil**. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2004.

BRODIE, A. E.; MANNING, V. A.; FERGUSON, K. R.; JEWELL, D. E.; HU, C. Y. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post- confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in confluent cells. **J. Nutr**, v. 129, p. 602-606, 1999.

BROWN, J. M.; HALVORSEN, Y. D.; LEAA-CURRIE, Y. R.; GEIGERMAN, C.; MCLINTOSH, M. *Trans*-10, *cis*-12, but not *cis*-9, *trans*-11, conjugated linoleic acid attenuates lipogenesis in primary cultures of stromal vascular cells from human adipose tissue. **J. Nutr**, v. 131, p. 2316-2321, 2001.

BRUGÉRE, C. M.; VENNE, V.; MENSINK, R. P.; ARNAL, M. A.; MORIO, B.; BRANDOLINI, M.; SAEBO, A.; LASSEL, T. S.; CHARDIGNY, J. M.; SÉBÉDIO, J. L.; BEAUFRÉRE, B. Effects of two conjugated linoleic acid isomers on body fat mass in overweight humans. **Obes Res**. v. 12, p. 591-598, 2004.

BUISON, A.; ORDIZ, Jr.; PELLIZZON, M; JEN, C. Conjugated linoleic acid does not impair fat regain but alters IGF-1 levels in weight-reduced rats. **Nutrition Research**, v. 20, n. 11, p. 1591-1601, 2000.

CORL, B.A.; BAUMGARD L.H.; DWYER D.A.; GRIINARI, J.M.; PHILIPS, B.S.;BAUMAN, D.E. The role of delta-9-desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.12, p.622-630, 2001.

CURI, R.; POMPEÍÁ, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura – Os ácidos graxos**. 1º ed. São Paulo: Ed. Manole, 321- 418p. 2002.

DAMASO, A. **Nutrição e Exercício na Prevenção de Doenças**. 1º ed. São Paulo: Ed. Medsi, 202 – 320p. 2001.

DELANY, J.P.; WEST, D.B. Changes in body composition with conjugated linoleic acid. **J. Am. Coll. Nutr**, v. 19, p. 487S-493S, 2000

DEMIZIEUX, L.; DEGRACE, P.; GRETI, J.; LOREAU, O.; NOEL, J.P.; CHARDIGNY, J.M.; SÉBÉDIO, J.L.; CLOUET, P. Conjugated linoleic acid isomers in mitochondria: evidence for an alteration of fatty acid oxidation. **Journal of Lipid Research**, v. 43, july. 2002.

DEVLIN, M. T., **Manual de Bioquímica com correlações Clínicas**. 6º edição americana traduzida. São Paulo: Ed. Edgard Bluchy, 200 – 310p. 2007.

EVANS, M.; GEIGERMAN, C.; COOK, J.; CURTIS, L.; KUEBLER, B.; MCLNTOSH, M. Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. **Lipidis**, v. 35, p. 899-910, august, 2000.

EVANS, M.; PARK, Y.; PARIZA, M.; CURTIS, L.; KUEBLER, B.; MCLNTOSH, M. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid reduces triglyceride content while differentially affecting peroxisome proliferators activated receptor γ 2 and aP2 expression in 3T3-L1 preadipocytes. **Lipids**, v. 36, p. 1223-1232, November, 2001.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 23, p. 497-509, august, 1956.

FREMAN, D.; LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) intake assessment and possible biomarkers of CLA intake in young women. **Public Health Nutrition**, v. 5, n. 1, p. 73-80, 2002.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HOYE, K.; KRISTIANSEN, K.; FAGERTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p. 1118-25, 2004.

GUEDES, D. P.; GUEDES, J. E. R. P. **Controle de Peso Corporal. Composição Corporal, Atividade Física e Nutrição**. 1º ed. Londrina: Ed. Midiograf. 1998.

IP, C.; SINGH, M; THOMPSON, H.J; SCIMECA, J.A. **Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat**. Cancer Res. 1994. 54:1212-1215.

JEN, K. C.; GREENWOOD, M. R. C.; BRASEL, J. A. Sex differences in the effects of high-fat feeding on behavior and carcass composition. **Physiology & Behavior**, v. 27 p. 161-166, 1981.

KASAOKA, N. T.; TAKAHASHI, M.; TANEMURA, K.; KIM, H. J.; TANGE, T.; OKUYAMA, H.; KASAI, M.; IKEMOTO, S.; EZAKI, O. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipos tissue by apoptosis and develops. **Diabetes**, v. 49, p. 1534-1542, 2000.

KELLY, G.S. Conjugated linoleic acid: a review. **Altern. Med. Ver.**,v. 6, n. 4, p. 367-382, aug, 2001.

KREIDER, R.; FERREIRA, M.; GREENWOOD, M.; WILSON, M.; ALMADA, A. L. Effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training on body composition, bone density, strength, and selected hematological markers. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 13, n. 3, p. 325-334, 2002.

KRITCHEVSKY, D. Conjugated linoleic acid: Review. **Nutrition Bulletin**, v. 25, p. 25-27, 2000.

LANCHA, A. H. J., **Nutrição e Metabolismo Aplicada à Atividade Física Motora**. 1º ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 76p. 2002.

LAWSON, R.E.; MOSS A. R.; GIVENS, D.J. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. **Nutrition Research Reviews**, v. 14, p. 153-172, 2001

LENINGHER, A.L., **Princípios de Bioquímica**. 4ª ed. São Paulo: Ed. Sarvier, 839p. 2006.

MAHAN, L.K; ESCOTT-STUMP, S., **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 11ª ed. São Paulo: Ed. Roca, 1179p. 2005.

MARTIN, J. C.; VALEILLE, K. Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? **Reprod. Nutr. Dev**, v. 42, p. 525-536, 2002.

MARZZOCO & TORRES. **Bioquímica Básica**. 3ª ed. São Paulo: Ed. Guanabara Koogan, 2007.

McARCLE, W.D; KATCH, F.I; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 4º ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 695p. 1998.

McARCLE, W.D; KATCH, F.I; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 5º ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 843-860p. 2003.

MINER, J. L.; CEDERBERG, C. A.; NIELSEN, M. K.; CHEN, X.; BAILE C. A. Conjugated linoleic acid (CLA), body fat, and apoptosis. **Obesity Research**, v. 9, n. 2, p. 129-134, February, 2001.

MOUGIOS, V.; MATSAKAS, A.; PETRIDOU, A.; RING, S.; SAGREDOS, A.; MELISSOPOULOU, A.; TSIGILIS, N.; NIKOLAIDIS, M. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 12, n. 10 p. 585-594, June, 2001.

MIRAND, P. P.; ARNAL-BAGNARD, M.; MOSONI, L.; FAULCONNIER, Y.; CHARDIGNY, J. M.; CHILLIARD, Y. *Cis-9, trans-11 and trans-0, cis-12 conjugated linoleic acid isomers do not modify body composition in adult sedentary or exercised rats.* **J. Nutr**, v. 134, p. 2263-2269, 2004.

MOKDAD, A.H.; FORD, E.S.; BOWMAN, B.A.; DIETZ, W.H.; VINICOR, F.; BALES, V.S.; MARKS, J.S. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors.. **Journal of the American Medical Associatio**., v. 289, n. 1 p. 76–79, 2003.

MOURÃO, D. M.; MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; STRINGHETA, P. C.; MINIM, V. P. R.; DIAS, C. M. G. C. Ácido Linoléico conjugado e perda de peso. **Rev. Nutr. Campinas**, v. 18, n. 3, p. 391-399, 2005.

NAHAS, M. V. **Atividade Física, Saúde e Qualidade de Vida: Conceitos e seus gestos para um Estilo de Vida Ativo**. 3 ed. Londrina: Ed. Midiograf. 53-55p. 2003.

NOONE, E. J.; ROCHE, H. M.; NUGENT, A. P.; GIBNEY, M. J. The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 243-251, 2002.

NTAMBI, J. M.; CHOI, Y.; PARK, Y.; PETERS, J. M.; PARIZA, M. W. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) on immune responses, body composition and stearyl-CoA desaturase. **Can. J. Appl. Physiol**, v. 27, n. 6, p. 617-627, 2002.

OLIVEIRA, R. J. **Saúde e Atividade Física**. 1º ed. Rio de Janeiro: Ed. Shape. 25-32p. 2005.

OHNUKI, K.; HARAMIZU, S.; ISHIHARA, K, FUSHIKI, T. Increased energy metabolism and suppressed body fat accumulation in mice by a low concentration of conjugated linoleic acid. **Biosc Biotechnol Biochem**, v. 65, n. 10, p.2200-2204, may. 2001.

PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. **The Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 223, p 8–13, 2000.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40 p. 283-298, 2001

PARIZA, M. W. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p. 1132S-6S, 2004.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K.J.; LIU, W.; STROKSON, J. M.; COOK, M.E.; PARIZA, M.W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v. 32, n. 8, p. 853-858, 1997.

PECKENPAUGH, J. N.; POLEMAN, M. C. **Nutrição Essencial e Dietoterapia**. 7º ed. São Paulo: Ed. Roca. 59-63p. 1997.

PELLIZZON, M.; BUISSON, A.; ORDIZ, F.; ANA, L. S.; JEN, K. L. C. Effects of dietary fatty acids and exercise on body-weight regulation and metabolism in rats. **Obesity Research**, v. 10 n. 9, p. 947-955, September, 2002.

POIRIER, H.; NIOT, L.; CLÉMENT, L.; GUERRE-MILLO, M.; BESNARD, P. Development of conjugated linoleic acid (CLA)-mediated lipoatrophic syndrome in the mouse. **Biochimie**, v. 87, p. 73-79, 2005.

PRADA, F. J. A.; VOLTARELLI, F. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; GOBATTO, C. A.; MACEDO, D. V.; MELLO, M. A. R. Condicionamento aeróbico e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbico. **Revista. Brasileira Ciências e Movimento**, v, 12, n. 2, p. 29-34, junho, 2004.

RAINER, L.; HEISS, C. J. Conjugated linoleic acid: health implications and effects on body composition. **J. Am Diet Assoc**, v. 104, p. 963-968, 2004.

RISÉRUS, U.; S.; BASU, S.; JOVINGE, S.; FREDRIKSON, G. N.; ÄRNLÖV, J.; VESSBY, B. Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated C-reactive protein. **Circulation**, v. 106, p. 1925-1929, 2002a.

RISÉRUS, U.; S.; ARNER, P.; BRISMAR, K.; VESSBY, B. Treatment with dietary *trans*¹⁰*cis*¹² conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. **Diabetes Care**, v. 25, n. 9, p. 1516-1521, 2002b.

RISÉRUS, U.; SMEDMAN, A.; BASU, S.; VESSBY, B. CLA and body weight regulation in humans. **Lipids**, v. 38, n. 2, p. 133-137, 2003.

RISÉRUS, U.; SMEDMAN, A.; BASU, S.; VESSBY, B. Metabolic effects of conjugated linoleic acid in humans: the Swedish experience. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p. 1146S-8S, 2004.

RODRIGUEZ, E.; RIBOT, J.; PALOU, A. *trans*-10, *cis*-12, but not *cis*-9, *trans*-11 CLA isomer, inhibits Brown adipocyte thermogenic capacity. **Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol**, v. 282, p. R1789-R1797, february, 2002

SANHUEZA, J. C., NIETO, S., VALENZUELA, A. B. Acido linoléico conjugado: un acido graso con isomeri trans potencialmente beneficioso. **Rev. Chil. Nutr.** 2002. Ago v.29 n.2.

SANTOS, F. L.; SILVA, M. T. C.; LANA, R. P.; BRANDÃO, S. C. C.; VARGAS, L. H.; ABREU, L. R. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. **Rev. bras. zootec**, v. 30, n. 6, p. 1931-1938, 2001.

SCIMECA, J.A.; MILLER, G.D. Potencial health benefits of conjugated linoleic acid. **J. Am. Coll. Nutr**, v. 19, p. 470S-471S, 2000.

SISK, M. B.; HAUSMAN, D. B.; MARTIN, R. J.; AZAIN, M.J. Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese zucker rats. **J. Nutr**, v. 131, p. 1668-1674, 2001.

SMEDMAN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects. **Lipids**. V. 36, n. 8, p. 773-81, aug, 2001.

TERPSTRA, A.H.M. Differences between humans and mice in efficacy of the body fat lowering effect of conjugated linoleic acid: Role of metabolic rate. **J. Nutr**, v. 13, p. 2067-2068, april. 2001.

TERPSTRA, A. H. M. Effect of conjugated linoléico acid on body composition and plasma lipids in humans: a overview of the literature. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p. 352-61, 2004.

THOM, E; WADSTEIN, J; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. **J. Int. Med Res**, v. 29, n. 5, p. 392-6, sep/oct, 2001.

TRICON, S.; BURDGE, G. C.; KEW, S.; BANERJEE, T.; RUSSELL, J. J.; JONES, E. L.; GRIMBLE, R. F.; WILLIAMS, C. M.; YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Opposing effects of *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. **Am J Clin Nutr**, v. 80, p. 614-20, 2004.

UNITED STATES. National Center for Health Statistics. **Chartbook on Trends in the Health of Americans**. Hyattsville, MD: Public Health Service. 2006.

ZAMBELL, K.L.; KEIM, N.L.; LOAN, M. D.; GALE, B.; BENITO, P.; KELLEY, D. S.; NELSON, G. J. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on body composition and energy expenditure. **Lipids**, v. 35, n. 7, p. 777-782, july, 2000.

ZAMBELL, K.L; HORN, W.F.; KEIM, N.L. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on fatty acid and glycerol kinetics. **Lipids**, v. 36, n. 8, p. 767-72, aug; 2001

WANG, Y.; JONES, P.J.H. Dietary conjugated linoleic acid and body composition. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p.1153S-8S, 2004.

WEST, D.B; DELANY, J.P; CAMET, P.M; BLOHM, F.Y; TRUETT A. A; SCIMECAJ. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. **Am. J. Physiolol**, v. 275, p. 667-672, 1998.

WHIGHAM,L.D; COOK, M.E; ATKINSON, R.L. Conjugated linoleic acid: implications for human health. **Pharmacological Research**, v. 42, n. 6, p. 511-516, 2002.

WILLIAMS, C.M. Dietary fatty acids and human health. **Annal. Zootech**, v. 49, p. 165-180, 2000.

WILMORE, J.H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício**. 1º ed. São Paulo: Ed. Manole. 662-683p. 2001.

WHO, World Health Organization Obesity. **Antropometry as an indicator of nutritional and health physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Genebra, 1995.

WHO, World Health Organization Obesity. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Genebra, 1997.

WHO, World Health Organization Obesity. **Global strategy in nutrition, physical activity and health**. Genebra, 2005.

10. ANEXOS

Anexo A: Ficha de pesagem/ingestão

DIA DO EXPERIMENTO:

1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°
16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	24°	25°	26°	27°	28°	29°	30°
31°	32°	33°	34°	35°	36°	37°	38°	39°	40°	41°	42°	43°	44°	45°
46°	47°	48°	49°	50°	51°	52°	53°	54°	55°	56°	57°	58°	59°	60°

Ratos / Data	Peso 1 (g)	Oferta – ração (g)	Sobra – ração (g)	Ingesta (g)	Peso 2 (g)
PLA 1					
CLA 1					
CLAEX 1					
PLA 2					
CLA 2					
CLAEX 2					
PLA 3					
CLA 3					
CLAEX 3					
PLA 4					
CLA 4					
CLAEX 4					
PLA 5					
CLA 5					
CLAEX 5					
PLA 6					
CLA 6					
CLAEX 6					

PLA 7					
CLA 7					
CLAEX 7					
PLA 8					
CLA 8					
CLAEX 8					

Anexo B: Ficha de pesagem / órgão

Ratos /	Órgãos	PESO Órgão	Balão com pérolas Antes da extração	Balão 1ª pesagem	Balão 2ª pesagem	Balão 3ª pesagem	Diferença (g) Quant. Gord	% G
Data								
PLA 1	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 2	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 3	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 4	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 5	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 6	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 7	Fígado							
	Baço							
	Rins							
PLA 8	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 1	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 2	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 3	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 4	Fígado							
	Baço							

	Rins							
CLA 5	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 6	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 7	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLA 8	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 1	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 2	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 3	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 4	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 5	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 6	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 7	Fígado							
	Baço							
	Rins							
CLAEX 8	Fígado							
	Baço							
	Rins							

Anexo C: Ficha de Pesagem Carcaça

Rato	Peso Vivo	Peso Descongelado	%G DEXA	Peso antes da liofilização	Peso após a liofilização	Peso do Total no pó	Amostras Triplicadas Pesos		Peso Balão com pérolas	Peso balão após estufa	Gordura em gramas	% de gordura
PLA 1							1º					
							2º					
							3º					
PLA 2							1º					
							2º					
							3º					
PLA 3							1º					
							2º					
							3º					
PLA 4							1º					
							2º					
							3º					
PLA 5							1º					
							2º					
							3º					
PLA 6							1º					
							2º					
							3º					
PLA 7							1º					
							2º					
							3º					
PLA 8							1º					
							2º					
							3º					
CLA 1							1º					
							2º					
							3º					
CLA 2							1º					
							2º					
							3º					
CLA 3							1º					
							2º					
							3º					
CLA 4							1º					
							2º					
							3º					

CLA 5							1º					
							2º					
							3º					
CLA 6							1º					
							2º					
							3º					
CLA 7							1º					
							2º					
							3º					
CLA 8							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 1							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 2							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 3							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 4							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 5							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 6							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 7							1º					
							2º					
							3º					
CLAEX 8							1º					
							2º					
							3º					

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)