

Ácido linoleico conjugado e exercício físico: efeitos na aterosclerose de camundongos apo e^(-/-)

Conjugated linoleic acid and exercise: effects on atherosclerosis of apo e^(-/-) mice

Silvio Anderson Toledo Fernandes¹

Antônio José Natali²

Bruno Gonzaga Teodoro³

Frederico S. Caldoncelli Franco⁴

Sérgio Luis Pinto da Matta⁵

Mateus Camaroti Laterza⁶

Maria do Carmo Gouveia Peluzio⁷

1 Núcleo de Educação Física, Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

2 Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais – Brasil

3 Departamento de Educação Física, Instituto Federal de São Paulo, Sertãozinho, São Paulo, Brasil

4 Departamento de Esporte e Lazer, Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba, Minas Gerais – Brasil

5 Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais – Brasil

6 Faculdade de Educação Física e Desportos, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais - Brasil

7 Departamento de Nutrição e Saúde, Viçosa, Minas Gerais – Brasil

Endereço para Correspondência

Silvio Anderson Toledo Fernandes

Rua Doutor Alvino de Paula, 95

Bairro Carlos Chagas

Juiz de Fora, Minas Gerais

CEP 36081-280

e-mail: silvio.fernandes@ifsudestemg.edu.br

- Recebido: 30/12/2010
- Re-submissão: 22/02/2011
11/04/2011
- Aceito: 18/04/2011

Resumo

Fundamento: Nenhum estudo foi encontrado em relação aos efeitos da combinação de ácido linoleico conjugado (CLA) e exercício físico na progressão de aterosclerose de camundongos APO E (-/-). **Objetivo:** Avaliar os efeitos da combinação de exercício físico e ácido linoleico conjugado (CLA) na progressão de aterosclerose de camundongos knockout para o gene da Apo E alimentados com dietas normo e hiperlipídica. **Métodos:** Camundongos *knockout* para Apo E foram alocados em quatro grupos/dieta: NS – dieta normolipídica e sedentário (n=5), HS – dieta hiperlipídica e sedentário (n=5), NECLA – dieta normolipídica com CLA e exercitado (n=8) e HECLA – dieta hiperlipídica com CLA e exercitado (n=8). O colesterol total e o HDL-C foram determinados através do método enzimático-colorimétrico. O LDL-C foi calculado pela fórmula de Friedewald. O fígado foi pesado e as lesões ateroscleróticas foram analisadas por fotomicrografia representativa da aorta. Utilizou-se ANOVA e Tukey ao nível de significância de 5%. **Resultados:** O grupo HECLA apresentou maiores valores de colesterol total e LDL-c que os grupos NECLA e NS (p<0,05). Em relação ao HDL-c, o grupo HS apresentou maior concentração que o grupo HECLA (p=0,019). O peso do fígado foi maior no grupo HECLA comparado com o NECLA (p=0,003). Em relação à progressão da aterosclerose, não foi encontrado diferenças significativas entre os grupos (p>0,05). **Conclusões:** A combinação exercício físico e CLA, independente do tipo de dieta, não foi eficiente na redução da progressão de aterosclerose de camundongos *Knockout* para o gene que expressa a apolipoproteína E.

Palavras-chave: Sedentarismo, composição corporal, lipoproteínas plasmáticas, dieta hiperlipídica.

Abstract

Background: No studies were found regarding the effects of the combination of conjugated linoleic acid (CLA) and physical exercise in the progression of atherosclerosis in mice APO E (-/-). **Objective:** To evaluate the effects of the combination of exercise and conjugated linoleic acid (CLA) on the progression of atherosclerosis in mice knockout for the gene Apo E fed diets with normal and hyperlipidemic. **Methods:** Apo E knockout mice were divided into four groups / diet: NS - normolipidic diet and sedentary (n = 5), HS - high fat diet and sedentary (n = 5), NECLA – normolipidic diet with CLA and exercised (n = 8) and HECLA – High fat diet with CLA and exercised (n = 8). Total cholesterol and HDL-C were determined by enzymatic-colorimetric method. LDL-C was calculated using the Friedewald formula. The liver was weighed and atherosclerotic lesions were analyzed by representative photomicrographs of aorta. We used ANOVA and Tukey tests at a significance level of 5%. **Results:** The HECLA group had higher total cholesterol and LDL-C than groups NECLA and NS (p <0,05). In relation to HDL-C, the HS group had a higher concentration than the group HECLA (p = 0,019). Liver weight was higher in the group HECLA compared with NECLA (p = 0,003). Regarding the progression of atherosclerosis, was not found significant differences between groups (p> 0.05). **Conclusions:** The combination of exercise and CLA, regardless of the diet was not effective in reducing the progression of atherosclerosis Knockout mice for the gene that expresses the apolipoprotein E.

Keywords: Sedentary, body composition, plasma lipoproteins, high fat diet.

INTRODUÇÃO

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre. A formação da placa aterosclerótica inicia-se com uma agressão ao endotélio vascular devido a diversos fatores de risco como elevação de lipoproteínas aterogênicas, sendo elas: lipoproteína de baixa densidade (LDL), de densidade intermediária (IDL), de densidade muito baixa (VLDL) e remanescentes de quilomícrons, hipertensão arterial e/ou tabagismo^{1,2}.

O consumo de ácido linoleico conjugado (CLA) tem demonstrado efeito positivo sobre o perfil lipídico do plasma e anti-aterogênico em coelhos³. CLA é a denominação dada a um grupo heterogêneo de ácidos graxos com 18 carbonos, com duas duplas ligações, formadas através de biohidrogenação e oxidação por processos naturais⁴.

Exercícios físicos aeróbios moderados, também tem sido utilizado como forma de prevenir ou reverter a formação de placas ateromatosas nas artérias, podendo alterar o perfil lipídico plasmático, diminuindo o colesterol total^{5,2}. Entretanto, o impacto da prática habitual de exercícios físicos no colesterol pode não se confirmar com a mesma intensidade dependendo da qualidade da alimentação, ou seja, da ingestão calórica e de gordura além da necessidade diária de cada indivíduo⁶.

Além de adotar uma dieta com baixo consumo de gorduras, a prática regular de atividades físicas está também associada à menor predisposição aos fatores de risco para doenças cardiovasculares⁷. Porém, nem todos esses resultados encontrados são confirmados em indivíduos com alterações genéticas, especificamente, no gene que expressa a apolipoproteína E (apoE). Estudos tem demonstrado que indivíduos deficientes em apoE, ou até mesmo, com polimorfismo dessa apolipoproteína podem desenvolver aterosclerose^{8,9}.

A apoE é uma proteína integrante das lipoproteínas de alta densidade (HDL), proteína de densidade muito baixa (VLDL) e quilomícrons, além dos produtos de degradação lipolítica, como remanescentes de quilomícrons e lipoproteína de densidade intermediária (IDL). Essa apolipoproteína tem sido extensivamente estudada principalmente por sua função no metabolismo dos lipídios e pelo envolvimento no transporte de colesterol em vários tecidos⁹.

O acompanhamento de indivíduos praticantes de exercícios físicos em academias tem demonstrado que a prática deste tem sido uma estratégia para prevenção ou reversão da doença arterial coronariana (DAC) e dislipidemias. Estes indivíduos também fazem uso de recursos ergogênicos como o CLA, tentando a maximização dos efeitos no organismo, porém não se atentando para o controle da dieta, com isso consumindo muita gordura e excesso de calorias. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da combinação de exercício físico e ácido linoleico conjugado na progressão de aterosclerose em camundongos knockout para o gene da Apo E alimentados com dietas normo e hiperlipídica.

METODOLOGIA

Animais de Experimentação

Foram utilizados 26 camundongos *knockout* para o gene que expressa a Apo E, com doze semanas de vida. Os animais distribuídos em quatro grupos, pesando em média $19,62 \pm 2,62$ gramas: NS (dieta normolipídica e sedentário) (n=5), HS (dieta hiperlipídica e sedentário) (n=5), NECLA (dieta normolipídica, exercício e suplementação com 1% de CLA) (n=8), e

HECLA (dieta hiperlipídica, exercício e suplementação com 1% de CLA) (n=8).

Cada grupo foi alocado em gaiolas coletivas de polipropileno e mantido em ambiente com temperatura média de 21°C, com alternância de período de 12 horas claro/escuro. Todos receberam água e dieta *ad libitum* durante todo experimento. O período do estudo foi de doze semanas e antes da eutanásia todos foram colocados em jejum por 12 horas.

Após a eutanásia em ambiente de CO₂, o sangue foi coletado por punção na região abdominal, sendo imediatamente centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos. O soro foi congelado e mantido em freezer a -20°C até a análise. Todas as vísceras foram retiradas, separando o fígado para determinação do peso e o coração junto com a aorta para análise da aterosclerose.

Os camundongos foram procedentes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal de Viçosa. Os procedimentos empregados no estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética do Departamento de Veterinária desta universidade (processo nº. 13/2008), estando de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Dietas

A dieta hiperlipídica foi elaborada baseando-se na proposta da *Association of Official Analytical Chemistry* - AOAC¹⁰, e a dieta normal seguindo a proposta da AIN-93M¹¹, sendo confeccionadas manualmente e mantidas congeladas e protegidas da luz até o momento da utilização. O CLA foi adquirido no comércio local da cidade de Viçosa, Minas Gerais. A concentração de CLA (mistura de isômeros) na dieta foi de 1% do total desta^{12,13}. Substituiu-se dez gramas de óleo de soja por dez gramas de CLA em cada quilo de dieta nos grupos: NECLA e HECLA (Tabela 1).

Protocolo de atividade física

Todos os camundongos foram submetidos a um programa progressivo de corrida na esteira (*INSITH*, Equipamentos Científicos, Ribeirão Preto – SP, Brasil), cinco dias por semana, 30 min/dia, a uma velocidade de 15 metros por minutos, por 12 semanas consecutivas⁵. A progressão da carga do exercício está demonstrada na tabela 2.

Concentração de Colesterol total, HDL e LDL

As determinações de colesterol total e o HDL-c foram realizadas baseando-se no método enzimático colorimétrico, utilizando kit enzimático KATAL¹⁴. A concentração de LDL-c no plasma foi calculada baseando-se na fórmula de Friedewald¹⁵.

$$LDL = (\text{colesterol total} - \text{HDL}) - (\text{TG} \times 0,20)$$

Peso do fígado

O fígado extraído foi imerso, imediatamente, em solução fisiológica para a remoção do excesso de sangue, em seguida foi secado e pesado. Após a aferição do peso o fígado foi descartado.

Análise Histopatológica e Morfométrica

O coração foi retirado em bloco com os vasos da base e a aorta; que foi seccionada na sua porção torácica descendente até a bifurcação renal e, em seguida imerso em solução fisiológica. Para fixação em parafina, o coração foi secado e seccionado transversalmente na base, tendo como referên-

cia macroscópica a válvula aórtica. Foram feitos, em média, dez cortes histológicos semi-consecutivos medindo 5 µm de espessura e separados entre si por 5 µm, completando uma amostra de aproximadamente 0,2 mm da raiz aorta, a partir da sua saída. Os cortes histopatológicos foram corados com hematoxilina e eosina (HE).

A análise morfométrica foi desenvolvida usando uma média da área das cinco maiores lesões de cada animal. As secções de artéria foram selecionadas a partir da observação em microscópio óptico Zeiss acoplado a vídeo-câmera, sendo as imagens congeladas utilizando-se um computador.

Foi utilizada a subtração da área entre a luz provável e a luz real da artéria lesada. A luz real foi medida manualmente contornando-se o endotélio e eventuais protuberâncias, como placas ou estrias gordurosas. Já a luz provável da artéria foi obtida através de medida feita manualmente no contorno do limite entre a camada muscular e a camada íntima das artérias. Este resultado é representativo da obstrução para cada caso. Cada medida foi feita com duas repetições, trabalhando-se com a média das mesmas medidas.

Análise estatística

Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) para comparações entre grupos. A análise de variância foi adotada, devido os dados apresentarem normalidade (Kolmogorov-Smirnov). O teste de Tukey foi empregado para análise de múltipla comparação *post-hoc*, quando necessário. Utilizou-se o *software* Sigma Stat versão 3.0 para as análises estatísticas, empregando o nível de significância estatística de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Colesterol total, HDL e LDL

Foi identificada modificação significativa ($p < 0,05$) para as variáveis colesterol total e LDL, com o grupo HECLA apresentando maiores valores que o grupo NECLA e NS. Em relação ao HDL, a diferença estatística só foi apresentada entre o grupo HS e HECLA, sendo o valor do primeiro maior que o segundo ($p = 0,019$). O resumo da análise de variância para essas variáveis estão expostos na Tabela 3.

Peso do fígado

Os fígados dos diferentes grupos não apresentaram pesos semelhantes, pois o peso do fígado dos animais do grupo HECLA foi significativamente maior que o do NECLA ($p = 0,003$). A análise de variância para essas variáveis estão expostas na Tabela 4.

Tabela 1 Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta)

Ingredientes	NS	NECLA	HS	HECLA
Caseína	140	140	200	200
Maltodextrina	155	155	-	-
Sacarose	100	100	500	500
Óleo de soja	40	30	10	-
Celulose	50	50	50	50
Mistura mineral	35	35	50	50
Mistura vitamínica	10	10	10	10
L-cistina	1,8	1,8	-	-
Bitartrato de colina	2,5	2,5	10	10
Colesterol	-	-	10	10
Gordura hidrogenada	-	-	150	150
Amido de milho	465,692	465,692	-	-
CLA	-	10	-	10
Total (cal/kg dieta)	4002,8	4002,8	4530	4530

Legenda: NS – dieta normolipídica sem CLA e sedentário; NECLA – dieta normolipídica com CLA e exercício; HS – dieta hiperlipídica sem CLA e sedentário; HECLA – dieta hiperlipídica com CLA e exercício. Grupo NS e NECLA (dieta preparada segundo AIN-93M¹¹); grupo HS e HECLA (dieta preparada segundo a Association of Official Analytical Chemistry¹⁰).

Tabela 2 Programa de corrida utilizado nos camundongos ApoE (-/-)

Semanas	Velocidade (metros/minuto)	Tempo (minutos/dia)	Frequência (dias/semana)
1 a 2 (progressão diária)	10 a 15	10 a 30	5
3 a 12	15	30	5

Lesões Ateroscleróticas

As análises histológicas e morfométricas da aorta após 12 semanas de experimento mostraram lesões ateroscleróticas em todos os grupos (em destaque, Figura 1), porém nenhum deles apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as áreas lesadas (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Como forma de constatar os efeitos de uma dieta rica em gordura e da efetividade do CLA nas doenças cardiovasculares, modelos animais, como camundongos *knockout* para o gene da Apo E, apolipoproteína responsável pela remoção da LDL-c no plasma, são utilizados em estudos envolvendo a gênese da aterosclerose e dislipidemias^{3,13}. Este tipo de ca-

Tabela 3 Conteúdo de colesterol total, HDL e LDL nos camundongos Apo E (-/-)

Grupos	Colesterol Total (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)
NS (n=5)	367,6±88,21	329,6±86,69	25,4±3,64
HS (n=5)	503,5±133,71	453±132,35	36,75±14,99 †
NECLA (n=8)	433,06±155,2	388,23±142,03	28,31±9,59
HECLA (n=8)	932,68±456,01 *	905,37±460,37 *	17,75±8,81

Legenda: NS – grupo com dieta normolipídica sedentário; HS – grupo com dieta hiperlipídica sedentário; NECLA – grupo com dieta normolipídica suplementada com CLA e exercitado; HECLA – grupo com dieta hiperlipídica suplementada com CLA e exercitado. Dados: médias ± DP. Significância ($p < 0,05$) * vs. NECLA e NS, † vs. HECLA.

mundongos e seres humanos possui, com poucas exceções, o mesmo conjunto de genes que controlam o metabolismo de lipoproteínas¹⁶. Segundo Neuzil *et al.*¹⁷, existe uma semelhança entre a composição lipídica de VLDL-c extraída do plasma de camundongos deficientes do gene responsável pela expressão da Apo E, comparado com a VLDL-c extraída do plasma de humanos com placas ateroscleróticas avançadas. Este fato reforça a validade do modelo de camundongos deficiente em Apo E para o estudo experimental de doenças coronarianas. Sendo assim, modelos animais como camundongos *knockout* para o gene da Apo E, são utilizados para experimentos^{16,18}, pois estes animais, assim como humanos, transportam a maior parte do colesterol em LDL e possuem baixos níveis de colesterol em VLDL^{16,17}.

Está bem estabelecido que o exercício físico favorece o aumento dos níveis da HDL. Isso se faz importante, pois a HDL é a única lipoproteína capaz de realizar o transporte reverso do colesterol, ou o excesso de colesterol livre não só de membranas celulares como do próprio subendotélio e transportando até o fígado para ser degradado¹⁹. Estudos têm sido feitos para a comprovação dos efeitos benéficos do exercício físico aeróbico na redução e prevenção de doenças coronarianas. Cal e Figueiredo²⁰ prescreveram caminhadas de 30 minutos por dia em um grupo de indivíduos e verificaram uma redução no risco da ocorrência de doenças cardiovasculares em até 18%. Em um estudo feito com mulheres pedalando em um ciclo ergômetro durante 3 meses, 5 vezes por semana, durante 30 minutos a uma intensidade de 80% da frequência cardíaca máxima, também foi verificado efeitos benéficos no sistema cardiovascular²¹. Napoli *et al.*²², submeteram camundongos *knockout* para o receptor da LDL, a 60 minutos de natação, duas vezes ao dia, 5 dias por semana e, verificaram, também, que o exercício físico protege contra os efeitos do excesso de colesterol e outros fatores envolvidos no desenvolvimento da aterosclerose.

Atualmente, o consumo de CLA, tem sido utilizado como suplemento, pois eleva a atividade da lipase hormônio-sensível e, conseqüentemente, da lipólise em adipócitos, o que eleva a oxidação de ácidos graxos, tanto no músculo esquelético quanto no tecido adiposo²³. É importante ressaltar ainda

que alguns efeitos indesejáveis relacionados ao uso do ácido linoleico conjugado foram encontrados, tanto em estudos com humanos quanto em animais. Há relatos de aumento da resistência à insulina e aumento da glicose e insulina de jejum²⁴, elevação da peroxidação lipídica²⁵ e, redução do HDL-colesterol em humanos obesos tratados com CLA¹³.

No presente estudo, a dieta hiperlipídica foi um fator prejudicial para a saúde dos camundongos, independentemente da prática de exercícios físicos e suplementação com CLA. Comparando o grupo HECLA com os grupos NECLA e NS observa-se que os níveis de colesterol total e LDL foram aumentados significativamente no grupo HECLA. Este fato pode ser explicado pela alta densidade calórica da dieta hiperlipídica, assim como, pela alta quantidade de gorduras saturadas, comparada com a dieta normolipídica. Estes resultados corroboram com os estudos de Bernardes *et al.*²⁶, que verificaram aumento da concentração de colesterol total nos ratos treinados com natação em relação aos sedentários, ambos alimentados com dieta hiperlipídica. Estes relatam que a constante utilização de gordura como substrato energético pode acelerar a biossíntese do colesterol. Entretanto, Quiles *et al.*²⁷ mostraram que o exercício físico concomitante ao consumo de dieta composta de fonte lipídica monoinsaturada, como óleo de oliva, reduz os níveis de colesterol plasmáticos em ratos wistar machos.

Em relação à combinação do exercício com a suplementação de CLA, o grupo HS, apesar de sedentário, demonstrou maiores valores ($p < 0,05$) da HDL que o grupo HECLA. O aumento da concentração da HDL pode não ter sido observado em função da frequência e intensidade do exercício aeróbio e, também da interação do exercício e do ácido linoleico conjugado. O papel do exercício físico sobre a elevação da concentração plasmática da HDL parece estar condicionado a fatores como melhora na resistência à insulina, redução de peso corporal e trigliceridemia, perfil lipídico prévio e polimorfismos genéticos de enzimas e proteínas envolvidas no metabolismo da HDL. Tais fatores são responsáveis pela grande variabilidade da resposta do HDL frente ao exercício físico²⁸. Resultado semelhante a este estudo foi relatado por Steck *et al.*¹³, que verificaram diminuição da HDL em humanos obesos suple-

Tabela 4

Efeitos da dieta hiperlipídica e da combinação exercício e CLA sobre o peso dos fígados dos camundongos apoE (-/-) ao fim de 12 semanas de experimento

Órgão	Grupos			
	NS	HS	NECLA	HECLA
Fígado (g)	1,04±0,04	1,13±0,24	0,95±0,15	1,29±0,17 *

Legenda: NS – grupo com dieta normolipídica sedentário; HS – grupo com dieta hiperlipídica sedentário; NECLA – grupo com dieta normolipídica suplementada com CLA e exercitado; HECLA – grupo com dieta hiperlipídica suplementada com CLA e exercitado. Dados: médias ± DP. Significância ($p < 0,05$) * vs. NECLA.

Tabela 5

Área da lesão da aorta (mm²) dos camundongos Apo E (-/-) ao fim de 12 semanas de experimento

Órgão	Grupos			
	NS	HS	NECLA	HECLA
Coração/Aorta	2,9±2,26	9,81±8,46	3,94±3,12	6,63±3,51

Legenda: NS – grupo com dieta normolipídica sedentário; HS – grupo com dieta hiperlipídica sedentário; NECLA – grupo com dieta normolipídica suplementada com CLA e exercitado; HECLA – grupo com dieta hiperlipídica suplementada com CLA e exercitado. Dados: médias ± DP. Significância ($P > 0,05$).

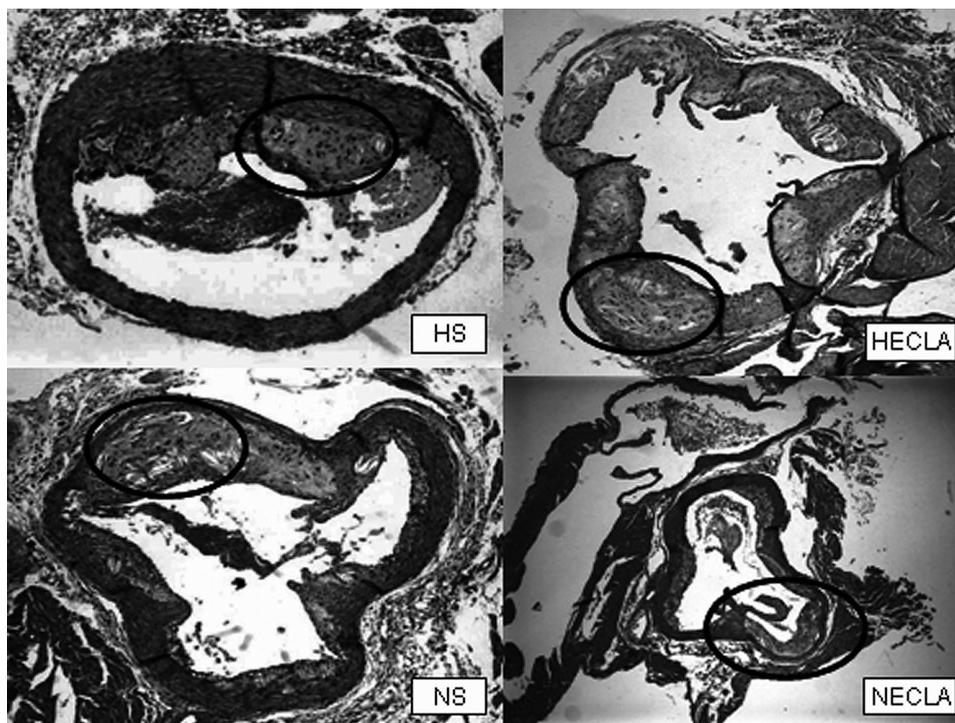


Figura 1

Fotomicrografia representativa da aorta proximal de camundongos Apo E (-/-).

Legenda: NS – grupo com dieta normolipídica sedentário; HS – grupo com dieta hiperlipídica sedentário; NECLA – grupo com dieta normolipídica suplementada com CLA e exercitado; HECLA – grupo com dieta hiperlipídica suplementada com CLA e exercitado. Em destaque, aspecto das lesões com capa fibrosa, cristais de colesterol, alterações degenerativo-necróticas e células xantomizadas

mentados com 3,4 ou 6,4 g/dia de CLA por um período de 12 semanas. Contudo, Gavino et al²⁹ trabalharam com hamsters alimentados com dieta rica em gordura e suplementados com 1% de CLA durante seis semanas, não verificando diferenças significantes na HDL. Assim como Botelho et al¹², estudando humanos jovens, todos suplementados com 5,5 g/dia de CLA durante 5 semanas, também não relataram diferenças significantes nesta lipoproteína. Em relação ao consumo de CLA, Botelho et al¹² verificaram diminuição do colesterol total quando ratos foram suplementados com 4% de CLA na dieta, aumento do colesterol com suplementação de 1% de CLA e manutenção dos níveis de colesterol quando os animais foram suplementados com 2% de CLA, sendo todas as suplementações ocorridas num período de 21 dias.

O peso relativo do fígado também sofreu alteração entre os grupos. Os animais do grupo HECLA apresentaram maior peso no fígado ($p < 0,05$) que o grupo NECLA. Estes resultados podem estar diretamente relacionados ao consumo de dieta hiperlipídica, pois ambos fizeram atividade física e consumiram CLA. No entanto, não foi encontrado na literatura um desenho experimental semelhante a este estudo para a análise do peso do fígado. Porém, Gaíva et al³⁰, utilizando ratos alimentados com dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados advindos da combinação de óleo de soja e óleo de peixe, apresentaram maior peso do fígado que ratos alimentados com dietas que tinham como fonte lipídica apenas o óleo de soja ou o óleo de peixe. Este aumento no peso do fígado dos animais podem estar relacionados a incorporação de ácidos graxos no fígado (esteatose hepática).

Outro fato a ser destacado é a ocorrência e gravidade das lesões ateroscleróticas, apesar de não termos encontrado di-

ferenças significativas na progressão da aterosclerose em nosso estudo (Figura 1). Observa-se que o CLA pode diminuir a extensão da aterosclerose, como foi demonstrado em outros modelos experimentais, como coelhos e camundongos BALB/C^{3,31}. Segundo o estudo de Toomey et al³⁴, a administração de CLA em camundongos *knockout* para o gene da Apo E, com lesões ateroscleróticas pré-estabelecidas, não só retardou a progressão, como também induziu à regressão de lesões na aorta. O mecanismo potencial para explicar este efeito do CLA na aterosclerose é a habilidade em alterar o metabolismo hepático dos lipídios e lipoproteínas³². De acordo com Toomey et al³⁴ e Raff et al³⁵, o CLA induz a redução da aterosclerose por regular negativamente a expressão de genes pró-inflamatórios, como o PPAR alfa e o PPAR gama, e induzir apoptose nas lesões ateroscleróticas. Controvérsias são ainda encontradas na literatura científica na relação composição lipídica da dieta e aterosclerose em diferentes espécies animais. Há evidências, em humanos e em roedores, de que dietas com grandes quantidades de ácidos graxos saturados promovem maior acúmulo de gordura quando comparadas àquelas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados^{36,2}.

Concluiu-se que, a combinação do exercício físico e dieta hiperlipídica suplementada com CLA aumentam as concentrações de colesterol total e LDL plasmático e o peso do fígado e, diminuíram as concentrações de HDL sérica em camundongos apo E^(-/-). Ainda, esta combinação, independente do tipo de dieta, não é eficiente na redução da progressão da aterosclerose de camundongos *Knockout* para o gene que expressa a apolipoproteína E. Sugere-se que outros estudos possam ser feitos utilizando os grupos *sedentário dieta normolipídica + CLA*, *sedentário dieta hiperlipídica + CLA*, *dieta normal e exerci-*

cio, dieta hipercalórica e exercício, pois desta forma amplia-se a discussão a respeito dos efeitos do exercício e do CLA separadamente, assim como os efeitos da dieta hiperlipídica.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela Universidade Federal de Viçosa e CAPES.

Vinculação Acadêmica

Este estudo possui vinculação acadêmica com o programa de pós-graduação a nível de Mestrado em Educação Física da Universidade Federal de Viçosa.

Contribuições dos autores

Silvio Anderson Toledo Fernandes: Participou efetivamente do trabalho, supervisionando, padronizando os protocolos e atuando na execução do experimento e da escrita do manuscrito; Antônio José Natali: Participou efetivamente do trabalho, supervisionando e aplicando o protocolo da atividade física e, revisando e contribuindo com escrita do artigo; Bruno Gonzaga Teodoro: Participou da execução do protocolo da atividade física e das análises bioquímicas e sacrifício dos animais; Frederico Souzalima Caldoncelli Franco: Participou da separação dos grupos, da execução do protocolo de atividade física, da elaboração das dietas e realizou as análises estatísticas; Sérgio Luis Pinto da Matta: Participou das análises histológicas e contribuiu com a escrita do artigo; Mateus Camaroti Laterza: Participou da revisão dos dados estatísticos e contribuiu com a escrita do manuscrito; Maria do Carmo Gouveia Peluzio: Orientou o trabalho num todo, participou do sacrifício dos animais, participou das análises bioquímicas e escrita do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol 2007;88: 2-19, s1.
2. Campos W, Neto AS, Bozza R, Ulbrich AZ, Bertin RL, Mascarenhas LPG et al. Atividade Física, Consumo de Lipídios e Fatores de Risco para Aterosclerose em Adolescentes. Arq Bras Cardiol 2010;94(5):601-607.
3. Kritchevsky DST, Tepper SA, Wright S, Czarnechi SK. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. Nutr Res. 2002;22:1275-9.
4. Bocca C, Bozzo F, Gabriel L, Miglietta A. Conjugated linoleic acid inhibits Caco-2 cell growth via ERK-MAPK signaling pathway. J Nutr Biochem. 2007 May;18(5):332-40.
5. Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, Santanam N, Parthasarathy S. Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice. Arterioscl Thromb Vasc Bio. 2001 Oct;21(10):1681-8.
6. Teodoro GB, Natali AJ, Fernandes SAT, Peluzio MCG. A Influência da Intensidade do Exercício Físico Aeróbico no Processo Aterosclerótico. Rev Bras Med Esporte. 2010; 16(5): 382-387.
7. Guedes DP, Guedes JERP, Barbosa DS, Oliveira JA, Stanganelli LCR. Fatores de risco cardiovasculares em adolescentes: indicadores biológicos e comportamentais. Arq Bras Cardiol. 2006; 86 (6): 439-50.
8. Schwanke CHA, Cruz IBM, Leal, NF, Scheibe R, Moriguchi Y, Moriguchi EH. Análise da Associação entre Polimorfismo do Gene da Apolipoproteína E e Fatores de Risco Cardiovasculares em Idosos Longevos. Arq Bras Cardiol. 2002; 78 (6): 561-70.
9. Brandão AC, Pinheiro Junior S, Pinhel MA, Anacleto AM, De Godoy JMP, De Godoy MF et al. Polimorfismo genético da apolipoproteína E na doença arterial periférica. J Vasc Br 2004; 3 (4): 317-22.

10. AOAC. Official methods of analysis. . AOAC – Association of Official Analytical Chemists ed. Washington, D.C. 1998.
11. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr. 1993 Nov;123(11):1939-51.
12. Botelho AP, Santos-Zago LF, Reis SMPM, Oliveira AC. O efeito da suplementação com ácido linoléico conjugado sobre o perfil lipídico sérico em ratos. Rev Bras Tecnol Agroind. 2007;1(1):1-7.
13. Steck SE, Chalecki AM, Miller P, Conway J, Austin GL, Hardin JW, et al. Conjugated linoleic acid supplementation for twelve weeks increases lean body mass in obese humans. J Nutr. 2007 May;137(5):1188-93.
14. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clin Chem. 1982 Oct;28(10):2077-80.
15. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972; 18: 499-502.
16. Hofker MH, van Vlijmen BJ, Havekes LM. Transgenic mouse models to study the role of APOE in hyperlipidemia and atherosclerosis. Atherosclerosis. 1998 Mar;137(1):1-11.
17. Neuzil J, Christison JK, Iheanacho E, Fragonas JC, Zammit V, Hunt NH, et al. Radical-induced lipoprotein and plasma lipid oxidation in normal and apolipoprotein E gene knockout (apoE^{-/-}) mice: apoE^{-/-} mouse as a model for testing the role of tocopherol-mediated peroxidation in atherogenesis. Journal of lipid research. 1998 Feb;39(2):354-68.
18. Kowala MC, Recce R, Beyer S, Gu C, Valentine M. Characterization of atherosclerosis in LDL receptor knockout mice: macrophage accumulation correlates with rapid and sustained expression of aortic MCP-1/JE. Atherosclerosis. 2000 Apr;149(2):323-30.
19. Shils ME, Shike M, Olson JA. Modern Nutrition In Health and Disease. 10 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
20. Cal RGR, Figueiredo LFP. Tipo e intensidade de exercício em relação a doença coronariana. Rev Assoc Med Bras.2002;48(4):275-96.
21. Maeda S et al. Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. J Appl Physiol. 2003;95:336-341.
22. Napoli C, Sharon WI, Filomena N, Lilach OL, Loredana R, Carmen G, Gelsomina M, Francesco T, Orlando P, Gaetano R, Vincenzo S, Louis JI. Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. PNAS. 2004;101:8797 – 8802.
23. Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. Lipids. 1997 Aug;32(8):853-8.
24. Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans—metabolic effects. Lipids. 2001 Aug;36(8):773-81.
25. Riserus U, Berglund L, Vessby B. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. Int J Obes Relat Metab Disord. 2001 Aug;25(8):1129-35.
26. Bernardes D, Manzoni MSJ, Sousa CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. Rev Bras Educ Fis Esp. 2004; 18:191-200.
27. Quiles JL, Huertas JR, Ochoa JJ, Battino M, Mataix J, Manà M. Dietary Fat (Virgin Olive Oil or Sunflower Oil) and Physical Training Interactions on Blood Lipids in the Rat. Nutrition. 2003; 19(4):363-68.
28. Ardern CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, Leon AS, Wilmore JH, Skinner JS, et al. Race and sex similarities in exercise-induced changes in blood lipids and fatness. Med Sci Sports Exerc. 2004; 36(9):1610-5.
29. Gavino VC, Gavino G, Leblanc MJ, Tuchweber B. An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9, trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters. J Nutr. 2000 Jan;130(1):27-9.
30. Gaíva MH, Couto RC, Oyama LM, Couto GEC, Silveira VLF, Ribeiro EB, et al. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. Nutrition. 2003; 19(2):144-9.
31. Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. The Journal of nutritional biochemistry. 2006;17(12):789-810.
32. Mitchell PL, Langille MA, Currie DL, McLeod RS. Effect of conjugated linoleic acid isomers on lipoproteins and atherosclerosis in the Syrian Golden hamster. Biochim Biophys Acta 2005;1734: 269-76.
33. Toomey S, Harhen B, Roche HM, Fitzgerald D, Belton O. Profound resolution of early atherosclerosis with conjugated linoleic acid. Atherosclerosis. 2006.
34. Raff M, Tholstrup T, Basu S, Nonboe P, Sorensen MT, Straarup EM. A diet rich in conjugated linoleic acid and butter increases lipid peroxidation but does not affect atherosclerotic, inflammatory, or diabetic risk markers in healthy young men. The Journal of nutrition. 2008 Mar;138(3):509-14.
35. Ellis J, Lake A, Hoover-Plow J. Monounsaturated canola oil reduces fat deposition in growing female rats fed a high or low fat diet. Nutr Res. 2002; 22:609-21.