


Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

Rayana Loch Gomes



**Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.)
combinada ao treinamento aeróbio como estratégia no combate à
obesidade em ratos alimentados com dieta hiperlipídica**

Presidente Prudente

2019

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

Rayana Loch Gomes

**Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.) combinada
ao treinamento aeróbio como estratégia no combate à obesidade em ratos
alimentados com dieta hiperlipídica**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-graduação em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Sabrina Alves Lenquiste

Presidente Prudente

2019

G633e

Gomes, Rayana Loch

Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.) combinada ao treinamento aeróbio como estratégia no combate à obesidade em ratos alimentados com dieta hiperlipídica / Rayana Loch Gomes. -- Presidente Prudente, 2019

85 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente

Orientador: Luiz Carlos Marques Vanderlei

Coorientadora: Sabrina Alves Lenquiste

1. Obesidade. 2. Ácidos graxos Ômega-3. 3. Dieta. 4. Exercício. 5.

Antioxidantes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Fac Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.) combinada ao treinamento aeróbio como estratégia no combate à obesidade em ratos alimentados com dieta hiperlipídica

AUTORA: RAYANA LOCH GOMES

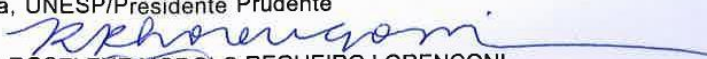
ORIENTADOR: LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI

COORIENTADORA: SABRINA ALVES LENQUISTE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em FISIOTERAPIA, área: Avaliação e Intervenção em Fisioterapia pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI
Departamento de Fisioterapia e Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia, UNESP/Presidente Prudente



Profa. Dra. ROSELENE MODOLO REGUEIRO LORENCONI
Departamento de Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente



Prof. Dr. JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO
Departamento de Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente



Profa. Dra. SANDRA CRISTINA GENARO
UNOESTE

VIDEOCONFERÊNCIA

Prof. Dr. ROBSON CHACON CASTOLDI
Pesquisador

Presidente Prudente, 03 de dezembro de 2019

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus amados pais Ivete e Luiz, aos meus queridos irmãos Rayara e Ruither, ao meu amado noivo Rafael, à minha incrível família, amigos e orientadores. Tê-los em minha vida é um presente valioso de Deus. Agradeço todo o apoio, compreensão e amor incondicional dados a mim, ao longo dessa jornada.

Agradecimientos

Cheguei na parte mais difícil da tese! Não porque não tenha a quem agradecer, pelo contrário, são tantas as pessoas que me ajudaram a chegar até aqui que palavras não seriam o suficiente pra demonstrar o quanto sou grata!

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus por me guiar e iluminar em toda minha caminhada, sempre me levantando nos momentos difíceis e se fazendo presente em minha vida pelas mais diversas formas. Agradeço também Nossa Senhora, que me ampara em cada pedido que faço, desde o mais tolo até o mais “impossível”, minha fé é enorme graças a você!

Agradeço a Deus pela mãe incrível que me deu. Mãe você é minha maior força, minha maior apoiadora, não sei o que faria da vida sem ter você ao meu lado. Tudo que sou, e tudo o que conquistei é graças a você! Obrigada por cuidar tanto de mim e me apoiar em qualquer decisão que eu tome. Te amo demais!!

Agradeço também ao meu Pai por todo o amor e confiança que deposita em mim. Agradeço aos meus irmãos que mesmo tão longe se fazem presentes em todos os momentos da minha vida! Agradeço por confiarem tanto no meu potencial e me fazerem rir de tudo. Com certeza sou muito abençoada por ter vocês como irmãos! Amo vocês gordinhos.

Agradeço ao meu Baby por tudo o que é na minha vida, por ser tão incrível comigo, por me fazer crescer, por me apoiar, por acreditar mais em mim do que eu mesma. Agradeço por aguentar meus estresses, por aguentar meus choros e minhas reclamações (e olha que ultimamente esses tem sido constantes). Sem você a minha vida não faria tanto sentido. Deus caprichou na hora de escolher um companheiro pra mim, você é além do que eu sonhei. Amo você meu amor.

Agradeço a toda minha Família, pelo apoio e amor. Penso em vocês todos os dias.

Agradeço imensamente a você professor Luiz! Como já disse em minha qualificação você é paz! Você acalma nosso coração quando tudo parece tempestade. Em todos os momentos que precisei você esteve ali por mim. Você confia e acredita em mim de um jeito que talvez eu nunca acredite e eu agradeço muito por isso. Obrigada por me orientar em todos esses anos, obrigada por toda a paciência! Você é uma grande inspiração em minha vida. Você é muito além do que um orientador! Sou grata a Deus por sua vida!

Agradeço a professora Sabrina por ter topado minhas ideias e me ajudado a fazer esse projeto combinando minhas duas profissões. Por me ensinar a trabalhar com respeito com os animais e aprender ainda mais como pesquisadora. Além disso, agradeço pela amizade, sei que posso confiar em você.

Gostaria de agradecer imensamente aos meus professores! Vocês são grandes exemplos que pretendo seguir, levando um pouco de cada um comigo. Sorte a minha ter encontrado pessoas como vocês em minha caminhada. Em especial aos membros da minha banca que são professores extraordinários.

Rose e Sandra, vocês sempre foram mais do que professoras em minha vida, foram grandes amigas. E eu agradeço muito por isso.

Agradeço também aos meus amigos por sempre estarem ao meu lado. Agradeço ao meu laboratório de fisiologia do estresse, um ambiente de trabalho como o nosso torna essa caminhada mais fácil.

Agradeço a todos que colaboraram em meu projeto Thaissa, Simone, Felipe, Carol, Camila, Andréia, Gui, Tiago, Robson, Wiliam, Grazi e os meninos do biotério. Vocês foram essenciais no andamento da minha pesquisa.

Escrevo meus agradecimentos chorando e escutando a música que nosso querido orientador escolheu pra nos mostrar o quanto nossa vida é “trem bala”. E realmente é! Vocês com certeza são os presentes que a vida trouxe pra perto de mim!

Todo o meu crescimento e evolução se deve a vocês!

AGRADEÇO A DEUS POR TER COLOCADO VOCÊS EM MEU CAMINHO!

Amo vocês!

Agradeço à Universidade do Oeste Paulista – Unoeste pelo fornecimento dos animais, além dos materiais e espaço físico cedidos para realização da presente tese.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Epigrafe

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

Sumário

SUMÁRIO

Apresentação	11
Resumo	13
Abstract.....	15
Introdução	17
Objetivo.....	23
Manuscrito I	25
Manuscrito II.....	53
Conclusão	77
Referências	79
Anexo.....	84

Apresentação

Este é um modelo alternativo de tese e contempla a pesquisa intitulada: **Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.) combinada ao treinamento aeróbio como estratégia no combate à obesidade em ratos alimentados com dieta hiperlipídica** realizada no Laboratório de Fisiologia do Estresse da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP.

Em concordância com as normas do modelo alternativo do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, a presente tese está dividida da seguinte forma:

- * Introdução, contendo a contextualização do tema pesquisado;
- * Artigo I: Rayana Loch Gomes, Sabrina Alves Lenquiste e Luiz Carlos Marques Vanderlei. Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.) combinada ao treinamento aeróbio no perfil lipídico, tecido adiposo e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.
- * Artigo II: Rayana Loch Gomes, Sabrina Alves Lenquiste e Luiz Carlos Marques Vanderlei. Impacto da suplementação de óleo de chia associada a treinamento aeróbio na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.
- * Conclusões, obtidas por meio da pesquisa realizada; e
- * Referências, cujo formato é recomendado pelo Comitê Internacional de Editores de Jornais Médicos (ICMJE – *International Committee of Medical Journal Editors*), para apresentação das fontes utilizadas na redação de todo o conteúdo da tese.

Ressalta-se que os artigos estão formatados e apresentados conforme as normas para apresentação da tese.

Resumo

RESUMO

INTRODUÇÃO: A obesidade é uma doença complexa e multifatorial caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, que acarreta prejuízos à saúde dos indivíduos. Nesse contexto, prevenir e tratar essa doença e suas complicações metabólicas é fundamental e a primeira opção para seu manejo é a mudança no estilo de vida composta pela prática de atividade física e dieta. Alguns alimentos específicos podem promover benefícios contra a obesidade, como é o caso da chia fonte de ácido α -linolênico, o qual apresenta efeito hepatoprotetor e cardioprotetor. Entretanto, não são conhecidos pelo nosso grupo estudos que associem a suplementação do óleo de chia com o exercício físico. **OBJETIVO:** Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de chia aplicada isoladamente e associada ao treinamento aeróbio (TA), sobre composição corporal, perfil lipídico, acúmulo de gordura hepática, função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. **MÉTODOS:** A pesquisa foi realizada com ratos machos Wistar, divididos em quatro grupos: Controle normocalórico (CN) – alimentados com dieta comercial por 14 semanas; Controle obesogênico (CO) – alimentado com dieta obesogênica hiperlipídica; Dieta obesogênica e suplementado com óleo de chia (OOChia) e Dieta obesogênica suplementada com óleo de chia e associada a treinamento aeróbio (OTOChia). Os grupos obesogênicos foram alimentados com dieta de cafeteria sendo que o ganho de peso foi monitorado uma vez na semana e a ingestão de dieta a cada dois dias. O protocolo durou 14 semanas e as intervenções foram iniciadas após a 6ª semana, totalizando 8 semanas de intervenção. O óleo de chia foi suplementado por meio de gavagem diária (1mL) e o TA foi por meio de natação com duração de 30 minutos e frequência de 3 vezes na semana. Cinco dias antes da eutanásia foi realizado o exame de ecocardiografia para avaliação funcional do coração. Ao final das 14 semanas os animais tiveram o sangue coletado em jejum e, após a exsanguinação, o fígado, coração e os tecidos adiposos epididimal (TAE), mesentérico (TAM) e retroperitonal (TAR) foram retirados para as análises de quantidade de gordura no fígado, estrutura cardíaca e composição corporal. Os lipídios nos fígados foram mensurados por Bligh & Dyer, alíquotas do tecido hepático foram fixadas em formalina tamponada e encaminhadas para análise histológica, perfil lipídico foi analisado por meio de método colorimétrico, lâminas histológicas do coração foram confeccionadas, coradas com hematoxilina/eosina para mensuração das áreas de secção transversa dos cardiomiócitos e análise da dimensão fractal. As comparações entre os grupos foram realizadas pela análise de variância ANOVA - One Way com pós teste de Tukey para dados normais ou Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn para dados não normais. O nível de significância adotado foi de 5%. **RESULTADOS:** Os resultados estatísticos demonstram que o óleo de chia, quando administrado por 8 semanas de maneira isolada, induziu menor ganho de TAE, diminuiu triglicérides e colesterol total, e aumentou HDL colesterol. Ainda menor área dos cardiomiócitos e menor valores de dimensão fractal foram observados para o grupo OOChia. Já a associação do óleo de chia com o TA levou a menor ganho de peso cumulativo, menor aumento de TAE, TAM e TAR, assim como diminuiu triglicérides e aumentou HDL colesterol. Além disso, também apresentou menores valores de dimensão fractal. **CONCLUSÃO:** O consumo de óleo de chia de maneira isolada ou associado com o TA, durante 8 semanas, produz efeitos positivos no perfil lipídico, tecido adiposo, acúmulo de gordura hepática e estrutura cardíaca em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Palavras-chave: Obesidade; Ácidos graxos, ômega-3; Dieta; Exercício; Antioxidantes.

Abstract

ABSTRACT

BACKGROUND: Obesity is a complex and multifactorial disease characterized by abnormal or excessive accumulation of body fat, which causes damage to the health of individuals. In this context, preventing and treating this disease and its metabolic complications is fundamental and the first option for its management is the change in lifestyle composed by the practice of physical activity and diet. Some specific foods may promote benefits against obesity, such as the chia source of α -linolenic acid, which has a hepatoprotective and cardioprotective effect. However, are not known by our group studies that associate chia oil supplementation with physical exercise. **AIM:** To evaluate the effects of chia oil supplementation applied alone and associated with aerobic training, on body composition, lipid profile, liver fat accumulation, function and cardiac structure of rats fed a high fat diet. **METHODS:** The research was conducted with male Wistar rats, divided into four groups: Normocaloric Control (CN) - fed commercial diet for 14 weeks; Obesogenic control (CO) - fed a hyperlipidic obesogenic diet; Dietary supplementation with chia oil (OOChia) and Obesogenic diet supplemented with chia oil and aerobic training (OTOChia). Obesogenic groups were fed a cafeteria diet and weight gain was monitored once a week and dietary intake every two days. The protocol lasted 14 weeks and the interventions started after week 6, totaling 8 weeks of intervention. The chia oil was supplemented by daily gavage (1mL) and the aerobic training was through swimming lasting 30 minutes and frequency of 3 times a week. Five days before euthanasia, the echocardiography was performed for functional assessment of the heart. At the end of 14 weeks the animals had their blood collected fasting and after exsanguination, the liver, heart and epididymal (TAE), mesenteric (TAM) and retroperitoneal adipose tissues (TAR) were removed for fat content analysis in the liver, cardiac structure and body composition. Lipids in livers were measured by Bligh & Dyer, aliquots of liver tissue were fixed in buffered formalin and sent for histological analysis, lipid profile was analyzed by colorimetric method, heart histological slides were made, hematoxylin/eosin stained for measurement of cardiomyocyte cross-sectional areas and fractal dimension analysis. Comparisons between groups were performed by analysis of variance ANOVA - One Way with Tukey post-test for normal data or Kruskal-Wallis with Dunn post-test for non-normal data. The adopted significance level was 5%. **RESULTS:** Statistical results show that chia oil, when administered for 8 weeks in isolation, induced lower gain in TAE, decreased triglycerides and total cholesterol, and increased HDL cholesterol. Even smaller area of cardiomyocytes and smaller values of fractal dimension were observed for the OOChia group. The association of chia oil with TA led to lower cumulative weight gain, lower increase in TAE, TAM and TAR, as well as decreased triglycerides and increased HDL cholesterol. In addition, it also presented smaller fractal dimension values. **CONCLUSION:** The consumption of chia oil alone or associated with AT for 8 weeks has positive effects on lipid profile, adipose tissue, liver fat accumulation and cardiac structure in rats fed a high fat diet.

Keywords: Obesity; Fatty acids, omega-3; Diet; Exercise; Antioxidants.

Introdução

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença complexa e multifatorial caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, que acarreta prejuízos à saúde dos indivíduos¹. Sua presença está relacionada ao aparecimento de diversos desfechos como doença hepática gordurosa não alcoólica², dislipidemias³ e alguns tipos de câncer⁴. Além disso, aumenta o risco para diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (DCV)⁵.

Na literatura, já está bem descrito que a obesidade leva a um estado inflamatório bem caracterizado, que ocorre devido a excessiva hipertrofia de adipócitos, que levam a alterações na produção de adipocinas⁶. Dentre as adipocinas produzidas estão as com efeitos pró-inflamatórios como o TNF-alfa, que por sua vez apresenta habilidade em suprimir a sinalização mediada pelo receptor de insulina e de seus substratos, além de prejudicar a função de produção e liberação desse hormônio pelas células B-pancreáticas⁷. Como resultado, encontram-se prejuízos na cascata de ativação da insulina e no recrutamento do transportador de glicose GLUT4 para que ocorra a captação de glicose^{8,9}.

Esse processo se deve, em parte, a lipólise exacerbada que os estoques de triglicerídeos acumulados na gordura visceral sofrem, estimulada pelo TNF-alfa, gerando maior liberação de ácidos graxos livres, acarretando em dislipidemia pela formação de lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL) e na redução de proteínas de alta densidade (HDL), levando a um quadro aterosclerótico^{10,11}, o qual está diretamente associado com as DCV¹².

Ademais, a obesidade apresenta-se como um fator de risco isolado para as DCV por promover insuficiência cardíaca (IC) em alguns pacientes. Isso pode ocorrer devido a alterações hemodinâmicas que levam à disfunção cardíaca ou devido a uma maior predisposição a outros fatores de risco para IC ou por estresse oxidativo¹³ e ainda, pelo

acúmulo de triglicerídeos nos elementos contráteis que contribuem de maneira importante para hipertrofia do ventrículo esquerdo¹⁴.

Por fim, no processo de obesidade, encontra-se o excessivo acúmulo de gordura no tecido hepático, denominado esteatose hepática¹⁵, o qual pode ser caracterizado por uma forma menos progressiva da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), podendo perdurar e evoluir para doenças mais graves, como a cirrose¹⁶. A DHGNA também pode ser resultado da associação de mais um fator relacionado a obesidade, o estresse oxidativo¹⁷, esse que, parece ser induzido por dietas hipercalóricas, hiperlipídicas e ricas em frutose¹⁸ e apresenta íntima relação com ácidos graxos livres e adipocinas pró-inflamatórias¹⁹. Além de ser apontado como mecanismo chave para desenvolvimento de outros distúrbios metabólicos como a resistência à insulina (RI) e a diabetes¹⁷.

Em contexto mundial, a prevalência de obesidade tem aumentando continuamente, sendo que o número de casos existentes duplicou desde 1980 em mais de 70 países²⁰. Ainda, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos com idade superior ou igual a 18 anos estavam acima do peso, e destes mais de 650 milhões apresentavam-se obesos²¹. Em relação aos gastos públicos, uma recente pesquisa mostrou que no Brasil, os custos estimados em um ano, para cuidados ambulatoriais e hospitalares de doenças relacionadas à obesidade e sobrepeso, foram em média de 2,1 bilhões de dólares, sendo US\$ 747 milhões para doenças cardiovasculares e US\$ 23,7 milhões para DM e o restante para outras doenças²².

Diante da prevalência crescente da obesidade, bem como o impacto prejudicial que esta promove no organismo, observa-se o desafio a ser enfrentado pela saúde pública e clínica, fazendo-se necessário encontrar alternativas de tratamentos eficazes e de baixo custo que possam reduzir a alta taxa de morbi-mortalidade nessa população.

Para manejo dessa doença, a primeira opção é a mudança no estilo de vida, principalmente, a combinação entre modificações na dieta e aumento da atividade física²³⁻²⁶. Nesse contexto, intensificou-se a busca por alimentos e tipos de exercício físico que contribuam no combate a obesidade e suas comorbidades.

Com relação a atividade física, tanto o exercício aeróbio quanto o resistido, são considerados componentes importante no gerenciamento da doença pois aumentam o gasto energético e a perda de gordura, bem como preservam a massa magra²⁶⁻²⁸, principalmente quando combinada às intervenções alimentares²⁹. Ademais, minimizam fatores de risco cardiovasculares²⁹.

Em modelo experimental, diversos artigos mostraram efeitos favoráveis do TA em animais que apresentavam fatores relacionados à obesidade. Os resultados encontrados estiveram relacionados à prevenção de inflamação pela redução da infiltração de macrófagos M1 (produtor de citocinas pró-inflamatórias) no tecido adiposo³⁰ e pela diminuição de gordura visceral, pressão arterial sistólica, rigidez ventricular diastólica, além de melhora na regulação da glicose e perfil lipídico³¹.

No que diz respeito às dietas, aquelas com baixa caloria, baixo carboidrato e baixa gordura tem sido largamente utilizada com essa finalidade³². Ainda, é interessante que ocorra diminuição no consumo de ácidos graxos saturados (AGS), uma vez que esses parecem apresentar relação com mediadores pró-inflamatórios associados à obesidade. E aumentar o consumo de gorduras poli-insaturados (AGPI), pois levam à diminuição na hipertrofia de adipócitos e nas concentrações de adipocinas pró-inflamatórias³³.

Dentre os ácidos graxos poli-insaturados, encontram-se os da família ômega-3 (w-3), o ácido alfa-linolênico (ALA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), sendo o ALA precursor do EPA e DHA³⁴. Os ácidos graxos w-3 são essenciais para o crescimento e desenvolvimento do organismo além de encontrar na literatura, evidências

sobre o desempenho de funções importantes no tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, dislipidemia e DM2. Em relação à origem, o EPA e DHA são encontrados em peixes e óleo de peixes, enquanto o ALA é essencialmente vegetal, presente em diversas sementes, nozes, e em óleos vegetais, como linhaça, canola, soja, linho e chia³⁴.

A chia (*Salvia hispanica* L.) tem sido descrita como uma fonte importante de proteína, fibra dietética, minerais, compostos polifenólicos com grande atividade antioxidante e óleo, sendo considerada única, pois contém a maior proporção de ALA dentre as fontes botânicas conhecidas, apesar disso sua utilização ainda é baixa, havendo a necessidade de maiores divulgações sobre seus benefícios³⁵.

Na literatura podem ser encontrados estudos que verificaram efeitos da ingestão da semente de chia (*Salvia hispanica* L.) por humanos. Vuksan et al. (2007)³⁶ verificaram em indivíduos com DM2, que a ingestão de chia em comparação com controle (ingestão de farelo de trigo) foi capaz de reduzir a pressão arterial sistólica, as concentrações de proteína C-reativa, e aumentar as concentrações plasmáticas de ALA e EPA.

Em modelo experimental, estudos com ratos saudáveis, que ingeriram semente e óleo de chia, mostram como resultados redução dos níveis séricos de triglicerídeos e colesterol total, aumento de HDL e da concentração sérica de ALA, EPA, DHA³⁵. Já em estudos com ratos obesos, dislipidêmicos e resistentes à insulina relatam benefícios tais como, normalização e melhora de marcadores biológicos relacionados com a dislipidemia³⁷⁻³⁹, melhora na RI^{37,39,40}, e esteatose hepática³⁸, bem como redução da adiposidade visceral^{37,40} e hipertrofia de adipócitos³⁹.

Tomados em conjunto, esses dados apontam para algumas lacunas na literatura, ou seja, a suplementação de óleo de chia associada ao TA em ratos alimentados com dieta hiperlipídica pode promover alterações nos parâmetros relacionados a obesidade? Se sim, quais as alterações serão promovidas? Hipotetizamos que a suplementação de óleo de chia

associada ao TA possa promover alterações benéficas nos parâmetros de composição corporal, perfil lipídico, acúmulo de gordura hepática, fatores estruturais e funcionais do coração, analisados em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Objetivo

OBJETIVO

1) Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de chia aplicada isoladamente e associada ao TA, sobre composição corporal, perfil lipídico e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

2) Avaliar a influência da suplementação de óleo de chia, aplicada de forma isolada ou associada ao TA na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Para cumprir com os objetivos propostos foi realizado um estudo que proporcionou a elaboração de dois manuscritos. A seguir esses manuscritos serão apresentados na íntegra, conforme as normas para apresentação da tese, as quais foram definidas pelo Conselho de Curso do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da FCT/UNESP.

Manuscrito 1

Título: Efeitos da suplementação de óleo de chia (*Salvia hispanica* L.) combinada ao treinamento aeróbio no perfil lipídico, tecido adiposo e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Título curto: Suplementação do óleo de chia e treinamento aeróbio no combate a obesidade

Autores: Rayana Loch Gomes^{1,2*}, Sabrina Alves Lenquiste^{1,2}, Luiz Carlos Marques Vanderlei¹.

Filiação: ¹Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente - SP, Brasil.

²Faculdade de Ciências da Saúde, Curso de Nutrição, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste) - Presidente Prudente - SP, Brasil.

***Autor correspondente:**

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia
A/C Rayana Loch Gomes
Faculdade de Ciências e Tecnologia UNESP – Universidade Estadual Paulista.
Endereço: Roberto Simonsen Street, 305. CEP: 19060-900.
Presidente Prudente – São Paulo – Brasil
Fone: (18) 3229–5819; Fax: (18) 3223-4519
e-mail: rayana.loch@hotmail.com

Resumo

Introdução: A obesidade representa grande risco para a saúde. Nesse contexto, prevenir e tratar essa doença e suas complicações metabólicas é fundamental e a primeira opção para seu manejo é a mudança no estilo de vida composta pela prática de atividade física e dieta. Alguns alimentos específicos podem promover benefícios contra a obesidade, como é o caso da chia fonte de ácido α -linolênico, o qual apresenta efeito hepatoprotetor e cardioprotetor. Na literatura não são de nosso conhecimento estudos que associem a suplementação da chia com o exercício físico, o que poderia promover melhores benefícios no combate a obesidade do que a suplementação ou exercício aplicados sozinhos. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de chia aplicada isoladamente e associada ao treinamento aeróbio, sobre composição corporal, perfil lipídico e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. **Materiais e métodos:** A pesquisa foi realizada em 40 ratos machos Wistar, divididos em quatro grupos (n = 10): Controle normocalórico (CN) – alimentados com dieta comercial por 14 semanas; Controle obesogênico (CO) – alimentado com dieta obesogênica hiperlipídica; Dieta obesogênica e suplementado com óleo de chia (OOChia) e Dieta obesogênica suplementada com óleo de chia e associada a treinamento aeróbio (OTOChia). Os grupos obesos foram alimentados com dieta de cafeteria sendo que o ganho de peso foi monitorado uma vez na semana e a ingestão de dieta a cada dois dias. O protocolo durou 14 semanas e as intervenções foram iniciadas após a 6ª semana, totalizando 8 semanas de intervenção. O óleo de chia foi suplementado por meio de gavagem diária (1mL) e o treinamento aeróbio foi por meio de natação com duração de 30 minutos e frequência de 3 vezes na semana. Ao final das 14 semanas os animais tiveram o sangue coletado em jejum e, após a exsanguinação, o fígado e os tecidos adiposos epididimal (TAE), mesentérico (TAM) e retroperitoneal (TAR) foram retirados para as análises de composição corporal e quantidade de gordura no fígado. Os lipídios nos fígados foram mensurados por Bligh & Dyer, alíquotas do tecido hepático foram fixadas em formalina tamponada e encaminhadas para análise histológica e o perfil lipídico foi analisado por meio de método colorimétrico. As comparações entre os grupos foram realizadas pela análise de variância ANOVA - One Way com pós teste de Tukey para dados normais. O nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** Os resultados estatísticos demonstram que o óleo de chia, quando administrado por 8 semanas de maneira isolada, induziu menor ganho de TAE, diminuiu triglicérides e colesterol total, e aumentou HDL colesterol. Sua associação com o treinamento aeróbio levou a menor ganho de peso cumulativo, menor aumento de TAE, TAM e TAR, assim como diminuiu triglicérides e aumentou HDL colesterol. **Conclusão:** Os resultados demonstraram que o consumo de óleo de chia de maneira isolada ou associado com o treinamento aeróbio, durante 8 semanas, produz efeitos positivos no perfil lipídico, tecido adiposo e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, principalmente quando associado ao exercício, que demonstrou resultados superiores a suplementação isolada.

Palavras-chave: Obesidade; Ácidos graxos, ômega-3; Dieta; Exercício; Esteatose hepática; Ácido alfa linolênico.

Introdução

A obesidade, doença complexa e multifatorial definida pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, representa grande risco para a saúde¹ e sua prevalência tem aumentando continuamente em todo o mundo². Calcula-se que até 2030 cerca de 57,8% da população global apresentará sobrepeso ou obesidade, o que representa um importante problema de saúde pública mundial³.

O excessivo acúmulo de gordura, principalmente a adiposidade visceral, está associada ao aumento do risco para diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (DCV)⁴ e ao aparecimento de diversas outras doenças e distúrbios, como doença hepática gordurosa não alcoólica⁵, dislipidemias⁶ e alguns tipos de câncer⁷.

Nesse contexto, prevenir e tratar a obesidade e suas complicações metabólicas é fundamental e a primeira opção para o manejo dessa doença é a mudança no estilo de vida, principalmente, a combinação entre modificações na dieta e aumento da atividade física⁸⁻¹¹.

Em relação as dietas, aquelas com baixa caloria, baixo carboidrato e baixa gordura tem sido largamente utilizada com essa finalidade¹². Além disso, alguns alimentos específicos podem promover benefícios contra a obesidade, como é o caso dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPII) da família ômega-3 ($w-3$)¹³⁻¹⁶, dentre os quais encontra-se o ácido α -linolênico (ALA) que apresenta efeitos cardioprotetores e hepatoprotetores, relacionados à redução da adiposidade visceral^{17,18}, melhora da esteatose hepática^{18,19} e redução da hipertrofia de adipócitos²⁰.

O ALA está presente em sementes e óleos vegetais como o de chia²¹, a qual parece apresentar vantagens em relação a outras fontes de $w-3$, uma vez que em sua composição está também presente ácidos fenólicos (ácido clorogênico e cafeico, quercetina e kaempferol) que possuem efeitos antioxidantes^{22,23} frente a processos inflamatórios. A chia apresenta-se ainda como uma alternativa para consumo de $w-3$ por indivíduos que não

consomem peixes como vegetarianos²⁴ e por aqueles que apresentam efeitos adversos com o consumo de ω -3 derivado de óleo de peixes, como eructação²⁵.

Já a atividade física, tanto o exercício aeróbio quanto o resistido, são considerados componentes importante no gerenciamento da obesidade pois aumentam o gasto energético e a perda de gordura, bem como preservam a massa magra^{11,26,27}, principalmente quando combinada à intervenções alimentares^{28,11}. Ademais, minimizam fatores de risco cardiovasculares²⁸.

Na literatura são encontrados estudos isolados com a administração de óleo de chia²⁹ ou realização de exercício aeróbio³⁰ no combate a obesidade, contudo não é do nosso conhecimento estudos que tenham avaliado a associação entre ambos. Tomados em conjunto, esses dados apontam para algumas lacunas, ou seja: a combinação da suplementação de óleo de chia com o exercício aeróbio pode promover melhoras na composição corporal, perfil lipídico e acúmulo de gordura hepática de ratos alimentados com dietas hiperlipídicas? Essa associação é mais eficaz do que a suplementação sozinha?

Hipotetizamos que a suplementação de óleo de chia combinada ao treinamento aeróbio, promove melhores benefícios na composição corporal, perfil lipídico e acúmulo de gordura hepática em comparação aos obtidos somente com a suplementação. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de óleo de chia aplicada isoladamente e associada ao treinamento aeróbio, sobre composição corporal, perfil lipídico e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

O grande impacto produzido pela obesidade sobre a saúde pública mundial estimula a busca por substâncias que possam ser incorporadas à dieta e que atuem positivamente em seu tratamento. Nesse contexto, o óleo de chia que ainda possui uma utilização baixa, pode apresentar-se como uma alternativa próspera²² a qual precisa ser estudada.

Materiais e Métodos

O presente artigo seguiu as diretrizes ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments)³¹.

Animais

Para realização desse estudo foram utilizados quarenta ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*, var. albina, Rodentia, Mammalia), com idade de 28 dias e peso médio de $197,85 \pm 18,46$ gramas, os quais foram obtidos do Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista – Unoeste. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno coletivas com maravalha (3 a 4 animais por gaiola), com água e alimentação sob o sistema de livre acesso e foram mantidos em ambiente com temperatura de 22 ± 1 °C e umidade do ar (60 – 70%) controladas, em ciclo claro/escuro de 12 horas, com o ciclo claro se iniciando às 6:00 horas, durante todo o experimento.

Todos os procedimentos utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista – Unoeste (Protocolo nº 3962) e seguiu todos os requisitos éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os animais foram randomizados aleatoriamente, por meio de um site de randomização, em quatro grupos (n = 10): Controle normocalórico (CN) – alimentados com dieta comercial por 14 semanas; Controle obesogênico (CO) – alimentado com dieta obesogênica hiperlipídica; Dieta obesogênica e suplementado com óleo de chia (OOChia) e Dieta obesogênica suplementada com óleo de chia e associada a treinamento aeróbio (OTOChia).

Protocolo Experimental

O protocolo experimental apresentou duração de 14 semanas, sendo que a suplementação e o treinamento aeróbio foram iniciados somente após as primeiras 6 semanas, para que antes disso houvesse indução de obesidade nos grupos alimentados com dieta obesogênica.

Os grupos OOChia e OTOChia receberam por meio de gavagem suplementação com 1 mililitro de óleo de chia por dia. O grupo treinado (OTOChia) realizou um protocolo de natação com duração de 30 minutos e frequência de 3 vezes na semana. Os grupos CN e CO somente receberam, respectivamente, ração comercial e dieta hiperlipídica (obesogênica).

Durante todo o protocolo experimental os animais foram pesados semanalmente e ao final das 14 semanas tiveram o sangue coletado em jejum e, após a exsanguinação, o fígado e os tecidos adiposos epididimal (TAE), mesentérico (TAM) e retroperitoneal (TAR) foram retirados para as análises de composição corporal e quantidade de gordura no fígado.

Dieta experimental e suplementação

Durante os primeiros 28 dias, período de crescimento, os animais foram alimentados com ração comercial. No período experimental, foram utilizadas duas dietas: normocalórica (dieta comercial) e obesogênica, as quais foram substituídas duas vezes por semana, para minimizar a oxidação lipídica. A dieta palatável obesogênica foi previamente descrita por Estadella et al. (2011)³², e consiste em uma mistura hipercalórica (normoprotéica e hiperlipídica) contendo ração comercial Supralab®, amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha maisena na proporção 3:2:2:1.

Esses constituintes foram moídos, misturados e em seguida foram elaborados *pellets*, os quais foram colocados em estufa para secagem. A composição centesimal das

dietas experimentais foi avaliada de acordo com os métodos analíticos preconizados pela Association of Official Analytical Chemists³³ e é apresentada na tabela 1.

Inserir Tabela 1

Utilizando gavagem os animais dos grupos OOOchia e OTOChia receberam suplementação diária de óleo de chia. Considerando dados do estudo de Marinelli et al. (2015)²⁹, que suplementou a ração animal com 40 g/kg dieta de óleo de chia, a dose estipulada de suplementação foi de 1ml/dia.

O total de ração consumida durante o protocolo experimental foi utilizado para calcular a ingestão diária de alimento. Esse valor foi multiplicado pelo respectivo valor energético da dieta para obter o consumo de energia diário. Esses dados e os componentes do óleo de chia podem ser observados na tabela 2. Nessa mesma tabela, também é possível observar o coeficiente de eficácia alimentar, o qual determina quanto um grama do alimento ingerido é convertido em aumento de peso corporal, que é determinado pela relação entre a variação de peso dos animais (peso final menos peso inicial) e o alimento consumido pelos animais no período experimental³⁴.

Inserir Tabela 2

Treinamento aeróbio

O grupo OTOChia realizou um protocolo de treinamento aeróbio por meio de natação, a qual foi realizada em um tanque, onde cada animal foi colocado dentro de um tubo de PVC, o qual permitia que treinassem individualmente, e realizassem o treinamento com frequência de três vezes por semana e duração de 30 minutos.

A intensidade do treinamento foi determinada utilizando o peso corporal do animal. Segundo Manchado et al. (2006)³⁵, a intensidade de limiar anaeróbio é estimada em 5% do peso corporal do animal. Baseado no estudo de Castoldi et al. (2019)³⁶, foi utilizado 70% desse valor para a determinação de intensidade do treino. Essa intensidade foi reajustada semanalmente, considerando o peso do animal aferido no início da semana, a fim de evitar adaptação. O aumento da intensidade foi feito por meio de uma bolsa de tecido acoplada na região posterior do tórax dos animais, contendo em seu interior um peso em gramas referente a 70% do valor obtido com 5% do peso corporal.

Coleta e análise de parâmetros sanguíneos e tecidos

Ao final do período experimental, os animais permaneceram em jejum noturno de 12 horas, tiveram o sangue coletado sob anestesia intraperitoneal de Ketamina (60 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1 mg/kg). Após a exsanguinação, o fígado de cada animal foi removido, pesado e armazenado em solução de formalina tamponada 10%. Os TAE, TAM e TAR foram removidos, limpos com solução salina e pesados.

Parâmetros sanguíneos

Para verificação do perfil lipídico, os níveis séricos de colesterol total (CT), HDL colesterol (HDLc) e triglicérides foram analisados por meio de método colorimétrico pelo equipamento Cobas® C111 (Roche Diagnostics- Brasil) com *Kit* comercial *ROCHE* segundo instruções do fabricante. A análise foi cega e realizada por um profissional experiente.

Avaliação do fígado

Para avaliação do fígado foram utilizados a sua morfologia e o seu percentual de gordura. Para análise da morfologia do fígado, uma amostra de 1cm² foi retirada e fixada em

formol tamponado a 10% durante 24 horas e submetida a processamento histológico habitual, com inclusão em parafina. Cortes seriados de 5 μ foram obtidos por micrótomo e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE). A análise histopatológica foi cega e realizada por um único observador experiente, utilizando-se microscópio óptico comum. Foi avaliada a presença e tipo de esteatose (microvesicular e/ou macrovesicular)³⁷.

A medida para a determinação do percentual de gordura no fígado dos animais foi realizada em fígado congelado a -180° C por nitrogênio líquido e acondicionado a -80° C seguindo o método gravimétrico descrito por Bligh e Dyer (1959)³⁸, que é um método de extração a frio utilizando uma mistura de clorofórmio, metanol e água.

Análise estatística

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi determinada pelo teste de Shapiro Wilk. As comparações entre os grupos foram realizadas pela análise de variância ANOVA - One Way com pós teste de Tukey para dados normais. As análises foram realizadas utilizando-se o software comercial GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA). O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Na tabela 2 é possível observar que a ingestão de energia (Kcal/dia), bem como de alimentos (g/dia) foi maior no CN em comparação a todos os outros grupos, além disso o grupo OTOChia consumiu menos ração (g/dia) do que o grupo CO ($p < 0,05$). Entretanto, o coeficiente de ingestão alimentar mostra que a dieta obesogênica foi mais eficiente em promover ganho de peso do que a dieta normocalórica ($p < 0,05$).

Na tabela 3 observa-se maior média de peso para o grupo CO, seguido do CN, OOChia e OTOChia, com valores estatisticamente significantes para OTOChia em relação a

CO ($p < 0,05$). Ainda na tabela 3, valores significativamente maiores do peso do fígado foi observado para o grupo OTOChia em relação ao CO ($p < 0,05$). Sobre os valores de gordura no fígado, esses foram maiores no grupo CO e OChia em comparação ao grupo CN ($p < 0,05$) e além disso, o grupo OTOChia apresentou menores valores médios do que os grupos CO e OChia, porém sem diferenças significantes.

Para o TAE foram observados maiores valores no grupo CO em relação aos outros grupos ($p < 0,05$). Os pesos do TAM e TAR foram maiores para o CO e OChia em comparação ao grupo CN ($p < 0,05$) e menores para o grupo OTOChia em comparação com o CO ($p < 0,05$).

Inserir Tabela 3

A Figura 1 mostra os resultados patológicos para os tecidos do fígado dos ratos nos quatro grupos após a coloração com hematoxilina e eosina (HE). Na figura 1A (Grupo CN) observa-se o parênquima hepático normal, enquanto que na figura 1B (grupo CO) há presença de esteatose mista, sendo possível notar que alguns hepatócitos apresentam microvacuolização e outros macrovacúolos. Já as lâminas dos grupos OChia (figura 1C) e OTOChia (figura 1D) apresentam esteatose microvesicular, onde os hepatócitos possuem microvacuolização, ou seja, pequenas vesículas contendo lipídeos.

Inserir Figura 1

A Figura 2 mostra a avaliação do perfil lipídico e nela podem ser visualizadas as comparações entre os grupos para os níveis séricos de triglicérides, colesterol total (CT), e HDL colesterol (HDLc). Para triglicérides, menores valores foram observados para os grupos

OOChia e OTOChia em comparação aos grupos CN e CO ($p < 0,05$). Ainda, para colesterol total valores significativamente menores podem ser observadas para o OOChia em relação a todos os outros grupos ($p < 0,05$). Por fim, para HDL colesterol menores valores foram encontrados no grupo CN em relação aos grupos CO, OOChia e OTOChia ($p < 0,05$). O maior valor médio do HDL Colesterol foi observado para o grupos OTOChia.

Inserir Figura 2

Discussão

No presente estudo, investigamos os efeitos independentes e combinados da suplementação de óleo de chia com o treinamento aeróbio sobre composição corporal, perfil lipídico e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Os resultados demonstraram que o óleo de chia, quando administrado por 8 semanas de maneira isolada em ratos obesos, induziu menor ganho de TAE, diminuiu triglicérides e colesterol total, e aumentou HDL colesterol. Enquanto que, sua associação com o treinamento aeróbio levou a menor ganho de peso cumulativo, menor aumento de TAE, TAM e TAR, assim como diminuiu triglicérides e aumentou HDL colesterol.

Estes achados fornecem evidências do impacto positivo de ambas as intervenções no combate a parâmetros relacionados a obesidade, porém destacam-se resultados superiores da combinação entre suplementação e treinamento.

Em relação ao ganho de peso corporal, os animais suplementados com óleo de Chia apresentaram menores valores de ganho, com significância entre o OTOChia e o CO. Já para o tecido adiposo (TAE, TAM e TAR) observa-se também menores valores nos animais suplementados em relação ao CO, com valores significantes entre os grupos OTOChia e o CO e para o peso do TAE entre OOChia e CO. Para os animais treinados e suplementados não foram observadas diferenças no peso do tecido adiposo em relação ao CN. Esses resultados

não estão relacionados com a redução da ingestão calórica pelos animais, uma vez que tanto o grupo CO quanto os grupos OOChia e OTOChia ingeriram quantidades semelhantes de calorias.

Esses achados corroboram com os observados por Oliva et al (2013)²⁰, onde ratos alimentados por 3 meses com dieta contendo sacarose seguido da mesma dieta contendo sementes de chia (36,2g%) por mais 3 meses, tiveram seu peso da gordura epididimal e volume celular (hipertrofia) diminuídos, também independente da quantidade calórica ingerida. Em contrapartida, animais alimentados com uma dieta rica em frutose (HFF) contendo semente de chia ou óleo de chia por 12 semanas, e animais inicialmente alimentados com uma dieta HFF nas primeiras 6 semanas, seguidos por 6 semanas adicionais de dieta HFF contendo semente de chia (13,3%) ou óleo de chia (4%) não apresentaram diminuição no ganho de peso corporal e acúmulo de gordura abdominal²⁹.

Os efeitos do óleo de chia sobre os tecidos adiposos parecem estar, pelo menos em parte, relacionados ao aumento da beta-oxidação de ácidos graxos em resposta ao consumo de ácido alfa linolênico (ALA)³⁹. Em exercício físico sob estímulo de hormônios lipolíticos ocorre a liberação de ácidos graxos no plasma os quais são captados pelo músculo esquelético e utilizados para produção de energia pela beta-oxidação⁴⁰, o que pode ter potencializado os resultados da suplementação aplicada de forma isolada.

Esses achados são importantes, uma vez que a hipertrofia do tecido adiposo, principalmente na região abdominal, está fortemente associada a alterações metabólicas, como por exemplo a resistência à insulina⁴¹, as quais desempenham papel fundamental no aparecimento de DCV⁴² e esteatose hepática⁴³.

Nos grupos OOChia e OTOChia os valores percentuais médios de acúmulo de gordura no fígado foram menores do que no CO e nas análises histológicas houve presença de esteatose microvesicular em comparação com a presença de macrovesículas de lipídeos no

grupo CO, o que sugere redução da esteatose hepática nos animais obesos suplementados com dieta contendo óleo de Chia.

O uso da chia mesmo em animais não obesos alimentados com dieta isocalórica também promoveu menor percentual de gordura hepática⁴⁴ e da quantidade de vesículas lipídicas no fígado⁴⁵.

Poudyal et al (2012)¹⁸ também observaram redução da esteatose hepática em ratos obesos alimentados com dietas contendo sementes de chia. Segundo os autores, esse resultado está relacionado à capacidade da chia em induzir uma redistribuição de lipídeos no organismo dos animais, por meio da inibição da enzima esteroil-CoA desaturase que é responsável pela síntese de ácidos graxos monoinsaturados. Além disso, existem evidências que a presença da quercetina, um composto fenólico encontrado na chia, também atenua o acúmulo de gordura hepática, principalmente devido à diminuição da inflamação⁴⁶, o que pode também ter contribuído para os resultados observados.

Em ratos alimentados com dieta alta em colesterol e frutose o treinamento físico por natação restaurou substancialmente a arquitetura hepatocelular, como a interrupção da esteatose (redução de 84%) possivelmente também pela diminuição de marcadores inflamatórios e de lesão hepática⁴⁷, o que pode também ter contribuído para os resultados observados no grupo OTOChia.

O perfil lipídico está frequentemente alterado na obesidade, sendo que maiores níveis de triglicérides e colesterol total, e menores níveis de HDL colesterol estão intimamente associados a maior incidência de doenças cardiovasculares⁴⁸. No presente estudo, observam-se menores valores de triglicérides e colesterol total para as intervenções com óleo de chia, bem como maiores valores de HDL-colesterol, sugerindo que a ingestão de óleo de chia de maneira isolada ou associada ao treinamento foi capaz de promover melhora na homeostase dos lipídios nos animais.

Esses resultados estão em concordância com os obtidos por Ayerza e Coates (2005)⁴⁹, os quais utilizando dieta isocalórica também observaram aumento significativo de HDL colesterol e redução nos níveis séricos de triglicerídeos em animais suplementados com semente ou óleo de chia em comparação com o controle. Os autores também observaram redução de colesterol total com o uso de semente de chia. Ainda, a ingestão da semente de chia por animais alimentados com dieta rica em sacarose e gordura foi também capaz de prevenir a hipertrigliceridemia¹⁷.

Os mecanismos pelos quais a suplementação de sementes de chia na dieta influenciam os níveis lipídicos plasmáticos ainda não completamente compreendidos. Acredita-se que a proporção de ALA na semente de chia como precursora de EPA e DHA, tenha efeito semelhante ao óleo de peixe no metabolismo de lipídeos, impedindo o aumento das atividades enzimáticas lipogênicas hepáticas e pelo aumento da oxidação peroxissômica dos ácidos graxos¹⁹. Ademais, o exercício aeróbio parece melhorar as dislipidemias por diversos mecanismos, como por exemplo em relação ao HDL, esse pode agir por meio da promoção da via de transporte reverso de colesterol⁵⁰, o que pode explicar nossos valores médios aumentados de HDL no grupo OTOChia.

Estudos utilizando ALA por meio de linhaça combinado ao exercício aeróbio promoveram melhora no colesterol total de ratos obesos⁵¹ e no colesterol total e LDL colesterol em ratos com isquemia miocárdica⁵². No estudo com ratos isquêmicos, foi também observado um aumento significativo de 129,4% do HDL em relação ao controle, o que foi explicado pela oxidação lipídica durante o exercício, além da fato de que a maior proporção de HDL para LDL poderia aumentar a atividade da lipoproteína lipase, levando ao uso de triglicerídeos como forma de energia e também a conversão das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) em HDL⁵².

Por fim, merece destaque a evidência de que a presença de flavonóides como quercetina, e kaempferol na composição química da chia²² produz efeitos anti-obesogênicos como indução da captação de glicose, aumento da secreção de insulina e redução do dano oxidativo e acúmulo de lipídios⁵³, o que explicaria os resultados de perfil lipídico e acúmulo de gordura no fígado.

Pelo nosso conhecimento esse é um estudo pioneiro em avaliar os efeitos da associação entre óleo de chia e exercício em ratos obesos. Os resultados apresentados sugerem que a suplementação de *w-3* por óleo de chia e sua combinação com o treinamento aeróbio, podem ser uma estratégia de estilo de vida para prevenir ou controlar a obesidade e doenças relacionadas. Considerando a importância dessa questão, outros estudos estão em andamento para avaliar os efeitos do óleo de chia associado ao treinamento aeróbio em parâmetros de resistência à insulina, estresse oxidativo no fígado e alterações cardíacas. E ainda, futuros estudos são necessários para avaliar os mecanismos e vias pelos quais essa intervenção promove os efeitos benéficos apresentados.

Conclusão

Os resultados demonstraram que o consumo de óleo de chia de maneira isolada ou associado com o treinamento aeróbio, durante 8 semanas, produz efeitos positivos no perfil lipídico, tecido adiposo e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, principalmente quando associado ao exercício, que demonstrou resultados superiores a suplementação isolada.

Referências Bibliográficas

1. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894(i-xii):1-253.

2. The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med.* 2017;377(1):13-27.
3. Kelly T, Yang W, Chen CS, et al. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes.* 2008;32(9):1431-7.
4. Després JP. Body Fat Distribution and Risk of Cardiovascular Disease: an Update. *Circulation.* 2012;126(10):1301-13.
5. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: Biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology.* 2010;51(2):679-89.
6. Veilleux A, Caron-Jobin M, Noël S, Laberge PY, Tchernof A. Visceral adipocyte hypertrophy is associated with dyslipidemia independent of body composition and fat distribution in women. *Diabetes.* 2011;60(5):1504-11.
7. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K. Body fatness and cancer - viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med.* 2016;375(8):794-8.
8. National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. *Obes Res.* 1998;6(Suppl 2):51S-209S.
9. US Preventive Services Task Force, Curry SJ, Krist AH, Owens DK, Barry MJ, Caughey AB, et al. Behavioral Weight Loss Interventions to Prevent Obesity-Related Morbidity and Mortality in Adults: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA.* 2018;320(11):1163-71.
10. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force

- on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*. 2014;129(25Suppl 2):S102-38.
11. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, et al. Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity: European guidelines for obesity management in adults. *Obes Facts*. 2015;8(6):402-24.
 12. Fock KM, Khoo J. Diet and exercise for weight management. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(Suppl.4):59-63.
 13. Endo J, Arita M. Cardioprotective mechanism of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Cardiol*. 2016;67(1):22-7.
 14. Karalis DG. A Review of Clinical Practice Guidelines for the Management of Hypertriglyceridemia: A Focus on High Dose Omega-3 Fatty Acids. *Adv Ther*. 2017;34(2):300-23.
 15. Tajuddin N, Shaikh A, Hassan A. Prescription omega-3 fatty acid products: considerations for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2016;9:109-18.
 16. Colussi G, Catena C, Novello M, Bertin N, Sechi LA. Impact of omega-3 polyunsaturated fatty acids on vascular function and blood pressure: Relevance for cardiovascular outcomes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2017;27(3):191-200.
 17. Chicco AG, D'Alessandro ME, Hein GJ, Oliva ME, Lombardo YB. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *Br J Nutr*. 2009;101(1):41-50.
 18. Poudyal H, Panchal SK, Waanders J, Ward L, Brown L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. *J Nutr Biochem*. 2012;23(2):153-62.

19. Rossi AS, Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo YB. Dietary chia seed induced changes in hepatic transcription factors and their target lipogenic and oxidative enzyme activities in dyslipidaemic insulin-resistant rats. *Br J Nutr.* 2013;109(9):1617-27.
20. Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo YB. Seed rich -linolenic acid improves adipose tissue dysfunction and the altered skeletal muscle glucose and lipid metabolism in dyslipidemic insulin-resistant rats. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids.* 2013;89(5):279-89.
21. Alabdulkarim B, Bakeet ZAN, Arzoo S. Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. *J King Saud Univ.* 2012;24(4):319-29.
22. Ixtaina VY, Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM, Diehl BWK. Characterization of Chia Seed Oils Obtained by Pressing and Solvent Extraction. *J Food Compost Anal.* 2011;24(2):166-74.
23. Marineli RS, Moraes EA, Lenquiste SA, Godoy AT, Eberlin MN, Marostica Jr.MR. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *Food Sci and Technology.* 2014;59(2):1304-10.
24. Welch AA, Shakya-Shrestha S, Lentjes MA, Wareham NJ, Khaw K-T. Dietary intake and status of n-3 polyunsaturated fatty acids in a population of fish-eating and non-fish-eating meat-eaters, vegetarians, and vegans and the precursor-product ratio of α -linolenic acid to long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: results from the EPIC-Norfolk cohort. *Am J Clin Nutr.* 2010;92(5):1040-51.
25. Chang CH, Tseng PT, Chen NY, Lin PC, Lin PY, Chang JP, et al. Safety and tolerability of prescription omega-3 fatty acids: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2018;129:1-12.

26. Hainer V, Toplak H, Mitrakou A: Treatment modalities of obesity: What fits whom? *Diabetes Care*. 2008;(Suppl 2):S269-77.
27. Willis LH, Slentz CA, Bateman LA, Shields AT, Piner LW, Bales CW, et al. Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. *J Appl Physiol*. 2012;113(12):1831-7.
28. Shaw KA, Gennat HC, O'Rourke P, Del Mar C. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Ver*. 2006;18(4):CD003817.
29. Marineli RS, Moura CS, Moraes EA, Lenquiste SA, Lollo PC, Morato PN, et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 α expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats. *Nutrition*. 2015;31(5):740-8.
30. Keating SE, Hackett DA, Parker HM, O'Connor HT, Gerofi JA, Sainsbury A, et al. Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *J Hepatol*. 2015;63(1):174-82.
31. Kilkenny C, Brown WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Animal Research: Reporting In Vivo Experiments: The ARRIVE guidelines. *Br J Pharmacol*. 2010;160(7):1577-9.
32. Estadella D, Oyama LM, Bueno AA, Habitante CA, Souza GI, Ribeiro EB, et al. A palatable hyperlipidic diet causes obesity and affects brain glucose metabolism in rats. *Lipids Health Dis*. 2011;23(10):168-77.
33. Cunniff P. Official methods of analysis of AOAC. 16 ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
34. Nery CS, Pinheiro IL, Muniz GS, Vasconcelos DAA, França SP, Nascimento E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. *Rev Bras Med Esporte*. 2011;17(1):49-55.

35. Manchado FB, Gobatto CA, Contarteze RVL, Papoti M, Mello MAR. Máxima fase estável de lactato é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos. *Rev Bras Med Esporte*. 2006;12(5):259-62.
36. Aleixo PH, Santos LS, Ozaki GAT, Garcia TA, Zanuto EAC, Camargo RCT, Filho JCSC, Castoldi RC. Effects of Consumption of Soft Drinks on the Muscular Morphology of Animals Submitted to Concurrent Training. *Int J Morphol*. 2019;37(2):671-6.
37. Pegoraro CMR, Nai GA, Garcia LA, Serra FM, Alves JA, Chagas PHN, et al. Protective effects of *Bidens pilosa* on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by carbon tetrachloride in rats. *Drug Chem Toxicol*. 2018:1-11.
38. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959;37:911-7.
39. Ide T. Effect of dietary α -linolenic acid on the activity and gene expression of hepatic fatty acid oxidation enzymes. *Biofactors*. 2000;13(1-4):9-14.
40. Lundsgaard AM, Fritzen, AM, Kiens, B. Molecular regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle during aerobic exercise. *Trends Endocrinol Metab*. 2018;29(1):18-30.
41. Poulos SP, Hausman DB, Hausman GJ. The development and endocrine functions of adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;323(1):20-34.
42. Fuster JJ, Ouchi N, Gokce N, Walsh K. Obesity-induced changes in adipose tissue microenvironment and their impact on cardiovascular disease. *Circ Res*. 2016;118(11):1786-807.
43. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol*. 2017;67(4):829-46.

44. Da Silva BP, Dias DM, de Castro Moreira ME, Toledo RC, da Matta SL, Lucia CM, et al. Chia seed shows good protein quality, hypoglycemic effect and improves the lipid profile and liver and intestinal morphology of Wistar rats. *Plant Foods Hum Nutr.* 2016;71(3):225-30.
45. Montes Chañi EM, Pacheco SOS, Martínez GA, Freitas MR, Ivona JG, Ivona JA, et al. Long-term dietary intake of chia seed is associated with increased bone mineral content and improved hepatic and intestinal morphology in sprague-dawley rats. *Nutrients.* 2018;10(7)pii:E922.
46. Panchal SK, Poudyal H, Brown L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr.* 2012;142(6):1026-32.
47. Dallak MA, Bin-Jaliah I, Albawardi A, Haidara MA, Sakr HF, Eid RA, et al. Swim exercise training ameliorates hepatocyte ultrastructural alterations in rats fed on a high fat and sugar diet. *Ultrastruct Pathol.* 2018;42(2):155-61.
48. Kopin L, Lowenstein C. Dyslipidemia. *Ann Intern Med.* 2017;167(11):ITC81-ITC96.
49. Ayerza R, Coates W. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutr Res.* 2005;25(11):995-1003.
50. Wang Y, Xu D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):132-9.
51. Barbeau PA, Holloway TM, Whitfield J, Baechler BL, Quadrilatero J, Van Loon, et al. LJC α -linolenic acid and exercise training independently, and additively, decreases blood pressure and prevents diastolic dysfunction in obese Zucker rats. *J Physiol.* 2017;595(13):4351-64.

52. Nounou HA, Deif MM, Shalaby MA. Effect of flaxseed supplementation and exercise training on lipid profile, oxidative stress and inflammation in rats with myocardial ischemia. *Lipids Health Dis.* 2012;11:129-8.
53. Hossain MK, Dayem AA, Han J, YY, Kim K, Saha SK, et al. Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids. *Int J Mol Sci.* 2016;17(4):569.

Apêndices

Tabela 1. Análise da composição centesimal das dietas.

Composição	Comercial	Obesogênica
Proteína (%)	24.11	18.84
Lipídeos (%)	4.27	23.80
Carboidratos (%)	52,2	50,04
Cinzas (%)	10.86	4.43
Umidade (%)	8,56	2.89
Fibras totais da dieta (%)	18,23	13,54
Energia (Kcal g⁻¹)*	3,43	4,90

Legenda: Kcal = Quilocalorias; % = porcentagem. *As quilocalorias foram calculadas considerando 4 Kcal por grama de proteína e carboidrato e 9 Kcal por grama de lipídeo.

Tabela 2. Consumo de alimentos em gramas e calorias, coeficiente de eficiência alimentar e componentes do óleo de chia

	CN	CO	OOChia	OTOChia
Ingestão de energia da ração (Kcal/dia)	101,09 ± 0,96	83,74 ± 2,56 ^a	77,21 ± 5,91 ^a	77,90 ± 5,67 ^a
Ingestão de ração (g/dia)	29,47 ± 0,28	17,09 ± 0,52 ^a	15,76 ± 1,21 ^a	15,90 ± 1,16 ^{a,b}
Coeficiente de eficácia alimentar	0,07 ± 0,01	0,16 ± 0,01 ^a	0,15 ± 0,02 ^a	0,14 ± 0,02 ^{a,b}
Ácidos graxos saturados (g/dia)	NC	NC	0,11	0,11
Ácidos graxos monoinsaturados (g/dia)	NC	NC	0,07	0,07
Ácidos graxos poliinsaturado (mg/dia)				
Linoleico (<i>w-6</i>)	NC	NC	190	190
Linolênico (ALA)	NC	NC	620	620
Calorias óleo (Kcal/1g/dia)	NC	NC	9	9

^aDiferença estatisticamente significativa em relação ao CN; ^bDiferença estatisticamente significativa em relação ao CO; Legenda: NC = não consumido. ANOVA one way.

Tabela 3. Comparações entre o ganho de peso total, peso e acúmulo de gordura nos fígados e peso dos tecidos adiposos dos grupos do experimento.

	CN	CO	OOChia	OTOChia
Ganho de peso cumulativo (g)	191,89 ± 19,50	206,71 ± 14,67	186,14 ± 21,34	167,14 ± 22,75 ^b
Fígado (g 100g⁻¹)	3,22 ± 0,27	3,01 ± 0,30	3,08 ± 0,22	3,40 ± 0,35 ^b
Gordura no fígado (%)	10,88 ± 3,91	25,60 ± 8,58 ^a	20,06 ± 6,92 ^a	17,72 ± 3,74
TAE (g 100g⁻¹)	1,48 ± 0,20	2,34 ± 0,24 ^a	1,73 ± 0,33 ^b	1,56 ± 0,23 ^b
TAM (g 100g⁻¹)	1,32 ± 0,18	1,89 ± 0,14 ^a	1,70 ± 0,26 ^a	1,41 ± 0,20 ^b
TAR (g 100g⁻¹)	1,47 ± 0,23	2,81 ± 0,66 ^a	2,30 ± 0,48 ^a	2,04 ± 0,42 ^b

^aDiferença estatisticamente significativa em relação a CN (p<0,05); ^bDiferença estatisticamente significativa em relação a CO (p<0,05). **Legenda:** TAE = Tecido adiposo epididimal; TAM = Tecido adiposo mesentérico; TAR = Tecido adiposo retroperitoneal.

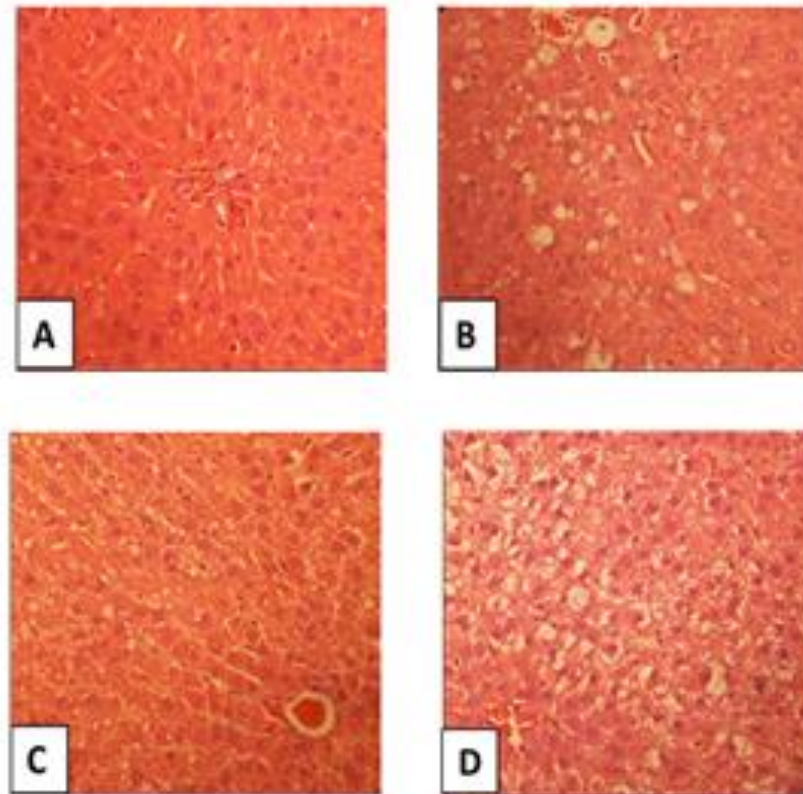


Figura 1. Análise microscópica do tecido hepático dos grupos experimentais. Legenda:
Figura A = Controle Normocalórico; Figura B = Controle Obesogênico; Figura C =
Obesogênico óleo de Chia; Figura D = Obesogênico Treinamento óleo de Chia.

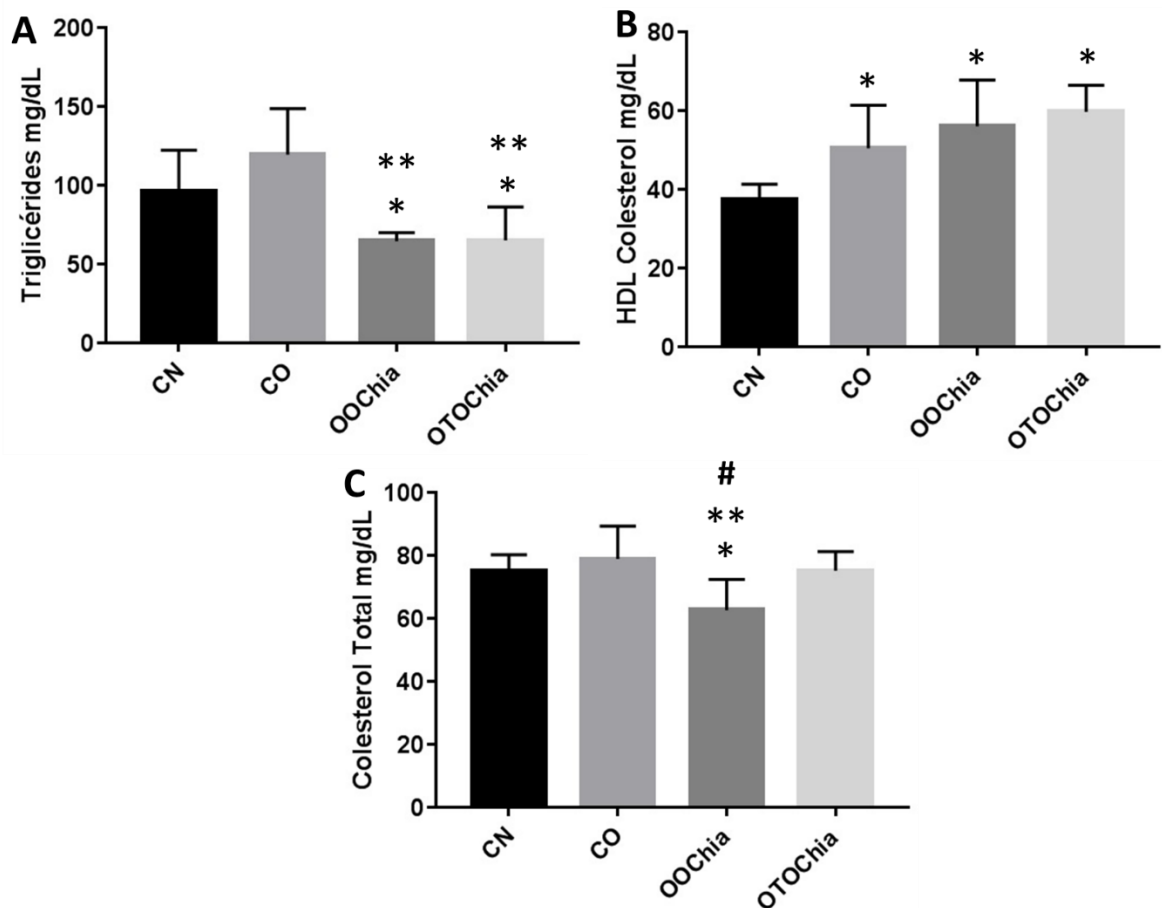


Figura 2. Comparações entre os níveis séricos de triglicérides (2A), HDL colesterol (2B) e colesterol total (2C). *Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CN; **Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CO; #Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo OTOChia. **Legenda:** mg/dL = miligrama por decilitro. ANOVA one-way.

Manuscrito 2

Título: Impacto da suplementação de óleo de chia associada a treinamento aeróbio na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Título curto: Suplementação de óleo de chia e treinamento aeróbio na função e estrutura cardíaca.

Autores: Rayana Loch Gomes^{1,2*}, Sabrina Alves Lenquiste^{1,2}, Luiz Carlos Marques Vanderlei¹.

¹Laboratório de fisiologia do estresse, departamento de fisioterapia; Faculdade Ciências e Tecnologia, UNESP - Presidente Prudente - SP, Brasil.

²Faculdade de Nutrição, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) - Presidente Prudente - SP, Brasil.

Filiação: ¹Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente - SP, Brasil.

²Faculdade de Ciências da Saúde, Curso de Nutrição, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste) - Presidente Prudente - SP, Brasil.

***Autor correspondente:**

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

A/C Rayana Loch Gomes

Faculdade de Ciências e Tecnologia UNESP – Universidade Estadual Paulista.

Endereço: Roberto Simonsen Street, 305. CEP: 19060-900.

Presidente Prudente – São Paulo – Brasil

Fone: (18) 3229-5819; Fax: (18) 3223-4519

e-mail: rayana.loch@hotmail.com

Resumo

Introdução: Estudos mostram relação entre obesidade e doenças cardiovasculares (DCV) como a insuficiência cardíaca (IC). As alterações induzidas pela IC predis põem o indivíduo a disfunções cardíacas, como diminuição da fração de ejeção, que pioram a qualidade de vida e levam a aumento de mortalidade. Diante desses aspectos, mudanças na dieta e realização de exercício são fundamentais para os indivíduos obesos. **Objetivo:** Avaliar a influência da suplementação de óleo de chia, aplicada de forma isolada ou associada ao treinamento aeróbio (TA) na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica (HL). **Materiais e métodos:** A pesquisa foi realizada em 32 ratos machos Wistar, divididos em quatro grupos (n = 8): Controle normocalórico (CN); Controle obesogênico (CO); Obesogênico óleo de chia (OOChia) e Obesogênico óleo de chia associado ao TA (OTOChia). Os grupos obesogênicos foram alimentados com dieta de cafeteria sendo que o ganho de peso foi monitorado uma vez na semana e a ingestão de dieta a cada dois dias. O protocolo durou 14 semanas e as intervenções foram iniciadas após a 6ª semana, totalizando 8 semanas de intervenção. O óleo de chia foi suplementado por meio de gavagem diária (1mL) e o TA foi por meio de natação com duração de 30 minutos e frequência de 3 vezes na semana. Cinco dias antes da eutanásia foi realizado o exame de ecocardiografia para avaliação funcional do coração e, ao final do experimento após a exsanguinação, o coração foi retirado para análise estrutural. Ainda, lâminas histológicas foram confeccionadas, coradas com hematoxilina/eosina para mensuração das áreas de secção transversa dos cardiomiócitos e análise da dimensão fractal. As comparações entre os grupos foram realizadas pela análise de variância ANOVA - One Way com pós teste de Tukey para dados normais ou Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn para dados não normais. O nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** Menor área dos cardiomiócitos foi observada para o grupo OOChia em comparação ao Co ($p < 0,05$). Não foram encontradas diferenças entre os grupos para os parâmetros analisados pelo ecocardiograma. Por fim, menores valores de dimensão fractal foram encontrados para os grupos OOChia ($1,34 \pm 0,05$) e OTOChia ($1,33 \pm 0,06$) em comparação com os grupos CN ($1,43 \pm 0,05$) e CO ($1,42 \pm 0,07$) ($p < 0,05$). **Conclusão:** Os resultados demonstraram que a suplementação de óleo de chia de maneira isolada atenuou hipertrofia de cardiomiócitos e ainda, tanto a suplementação sozinha quanto sua associação com o TA levaram a menores valores de dimensão fractal. Porém, essas intervenções não foram capazes de levar a demais alterações na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Palavras-chave: Ácidos graxos; Dieta; Exercício; Coração; Antioxidantes; Insuficiência Cardíaca.

Introdução

As altas taxas de mortalidade e comorbidades associadas aos altos custos, têm feito da obesidade um problema de saúde pública¹ e, nesse contexto, pesquisas envolvendo alternativas para tratamento e prevenção têm aumentado na literatura².

Nessa direção são recomendadas, principalmente, mudanças no estilo de vida que possam promover a perda de peso^{2,3}, uma vez que a obesidade se instala, em parte, devido a hábitos de vida inadequados compostos por dietas ricas em calorias e gordura combinadas ao sedentarismo^{1,4}.

No que diz respeito às comorbidades, estudos mostram relação entre obesidade e doenças cardiovasculares (DCV) como a insuficiência cardíaca (IC)⁵. Constatou-se em um trabalho com pacientes do *Framingham Heart Study* que aproximadamente 14% dos casos de IC entre mulheres e 11% entre homens foram atribuídos apenas à obesidade^{5,6}.

As alterações induzidas pela IC^{5,7,8} predisõem o indivíduo a disfunções cardíacas, como diminuição da fração de ejeção, que pioram a qualidade de vida e levam a aumento de mortalidade. A literatura demonstra que a cada incremento de 5 unidades no índice de massa corporal (IMC) encontra-se risco relativo de 1,26 para mortalidade por IC⁹.

Diante desses aspectos, mudanças na dieta e realização de exercício são fundamentais para os indivíduos obesos³. Em relação ao exercício, o TA é considerado elemento importante na redução de massa corporal total e tecido adiposo¹⁰ e quanto a dieta são indicadas com frequência as de baixa gordura e baixas calorias¹¹.

Especificamente em relação a dieta, ainda é crescente a busca por alimentos alternativos que possam auxiliar no combate a obesidade, como é o caso da chia, um ácido graxo poli-insaturado da família ômega-3 que possui alto teor de ácido alfa linolênico (ALA)¹², atuando como uma substância cardioprotetora devido a seus efeitos na redução de dislipidemias¹³, adiposidade visceral¹⁴ e hipertrofia de adipócitos.

Além disso, a chia possui em sua composição compostos polifenólicos com grande atividade antioxidante^{16,17} que também poderiam ser utilizados como estratégias terapêuticas para condições cardiovasculares associadas ao estresse oxidativo, como hipóxia cardíaca¹⁸. Sabe-se também que dietas ricas em antioxidantes são benéficas para reduzir o risco de morte por diversas causas, incluindo DCV¹⁹.

Estudo demonstrando os efeitos isolados em obesos do exercício físico sobre a estrutura e função do coração está descrito na literatura²⁰, contudo não é de nosso conhecimento estudos que abordaram os efeitos da suplementação de chia aplicada de maneira isolada ou associada ao TA na estrutura e função cardíaca de obesos.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da suplementação de óleo de chia, aplicada de forma isolada ou associada ao TA na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica (HL). O estudo foi desenvolvido para testar a hipótese de que tanto a suplementação isolada do óleo de chia quanto sua combinação com o TA podem promover efeitos positivos sobre fatores estruturais e funcionais do coração em ratos obesos alimentados com dieta HL. Além disso, que a combinação do óleo de chia com o TA apresentará melhores resultados.

Materiais e Métodos

O estudo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista – Unoeste (Protocolo nº 3962) e seguiu todos os requisitos éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Animais e protocolo experimental

Foram analisados trinta e dois ratos machos *Wistar* com 28 dias de idade e peso médio de $197,11 \pm 18,52$ gramas, os quais foram fornecidos pelo Biotério Central da

Universidade do Oeste Paulista – Unoeste. Esses animais permaneceram em gaiolas de polipropileno coletivas com maravalha (3 a 4 animais por gaiola), com água e alimentação sob o sistema de livre acesso e foram mantidos em ambiente com temperatura (22 ± 1 °C) e umidade do ar (60 – 70%) controladas, em ciclo claro/escuro de 12 horas, com o ciclo claro se iniciando às 6:00 horas, durante todo o experimento

A distribuição dos animais ocorreu por meio de um site de randomização em quatro grupos (n = 8): Controle normocalórico (CN); Controle obesogênico (CO); Obesogênico óleo de chia (OOChia) e Obesogênico óleo de chia associado ao TA (OTOChia). Durante todo o período do experimento, os animais do grupo CN recebeu dieta comercial com 3,43 (Kcal g⁻¹) e os grupos obesogênicos receberam dieta HL e hipercalórica com 4,90 (Kcal g⁻¹).

O protocolo experimental teve duração de 14 semanas e os grupos OOChia e OTOChia receberam suplementação de 1 mililitro de óleo de chia após as primeiras 6 semanas. Ainda, nesse mesmo período o grupo OTOChia iniciou o TA por meio de natação com frequência de 3 vezes na semana e duração de 30 minutos. Os animais foram pesados semanalmente durante todo o protocolo experimental e 5 dias antes da eutanásia foi realizado o exame de ecocardiografia para avaliação funcional e, ao final do experimento após a exsanguinação, o coração foi retirado para análise estrutural.

Dietas experimentais e suplementação

A dieta obesogênica foi descrita por Estadella et al²¹ e possui como constituintes ração comercial, chocolate ao leite, amendoim torrado e bolacha maisena na proporção de 3:2:2:1. A dieta normocalórica e obesogênica apresentaram, respectivamente, 24,11% e 18,84% de proteínas, 4,27% e 23,80% de lipídeos e 52,2% e 50,04% de carboidratos. Associado a dieta obesogênica, os grupos OOChia e OTOChia receberam 1 mililitro de óleo e

chia diariamente, considerando os dados do estudo de Marinelli et al²². Em sua composição o óleo continha: 0,11gramas de ácidos graxos saturados, 0,07 gramas ácidos graxos monoinsaturados, 190 miligramas de ácido linoleico (w-6) e 620 miligramas de ácido linolênico (ALA).

Caracterização nutricional e murinométrica

A caracterização nutricional foi feita por meio do consumo de alimentos em energia (Kcal) e da eficiência energética (EE)²³. A ingestão das dietas, em gramas, foi avaliada a cada 2 dias após a sua substituição para minimização da oxidação lipídica. Ao final do experimento, o total de ração consumido, em gramas, foi utilizado para calcular a ingestão diária de dieta e esse foi multiplicado pelo respectivo valor energético da dieta para obtenção do consumo em calorias²⁴. A eficiência energética (EE), que determina quanto um grama do alimento ingerido é convertido em aumento de peso corporal, foi calculada pela relação entre o ganho de peso e o alimento consumido pelos animais no período experimental²³.

A massa corporal dos animais foi mensurada semanalmente por meio de uma balança digital e, após a eutanásia, foi obtido o índice de adiposidade (IA). Esse índice representa o percentual de gordura corporal, por meio da relação entre a soma dos tecidos adiposos (TA) epididimal, mesentérica e retroperitoneal e a massa corporal final (MCF) pela fórmula $IA = \Sigma TA \times 100 / (MCF - \Sigma TA)$ ²⁵. Esses dados podem ser observados na tabela 1.

Treinamento aeróbio

O treinamento ocorreu por meio de natação, em tanques que permitiam treino individual de cada animal. Os treinos ocorreram com frequência de três vezes por semana, duração de 30 minutos e intensidade de 70% do limiar dos animais (que corresponde a 5% do peso corporal). A intensidade foi obtida por meio de uma bolsa de tecido acoplada na região

posterior do tórax dos animais, contendo em seu interior um peso em gramas referente a 70% do valor obtido com o 5% do peso corporal e foi reajustada semanalmente considerando o peso do animal aferido no início da semana, a fim de evitar adaptação²⁶.

Avaliação funcional ecocardiográfica

Para o exame ecocardiográfico foi utilizado um ecocardiógrafo (GE Medical Systems®, modelo Vivid T8, China) equipado com transdutor eletrônico de 12 MHz. Para o exame, realizado 5 dias antes da eutanásia, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (60 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1 mg/kg) via intraperitoneal²⁷.

Os parâmetros estruturais avaliados foram: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE), diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (DSVE), diâmetro da aorta (AO), diâmetro do átrio esquerdo (AE), relação entre DDVE e peso, DSVE/Peso, AE/Peso e AE/AO. Já os parâmetros funcionais foram: tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo (TRIV), onda E do fluxo transmitral (E) – representa a velocidade de enchimento diastólico inicial do ventrículo esquerdo, onda A do fluxo transmitral (A) – que representa a velocidade de enchimento ventricular durante a contração atrial, a relação E/A e a fração de ejeção (FE).

Avaliação do parâmetros anatômicos

Para eutanásia, os animais permaneceram em jejum noturno de 12 horas tiveram o sangue coletado sob anestesia intraperitoneal de Ketamina (60 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1 mg/kg). Após a exsanguinação o coração foi retirado, dissecado, separado em átrios (ATs), ventrículo direito (VD) e esquerdo (VE). Em seguida as partes foram pesadas e normalizadas pelo peso corporal final (PCF) de cada animal. Sendo que a relação normalizada de VE pelo PCF tem sido utilizada para caracterizar hipertrofia ventricular²⁸.

Histologia e análise histomorfométrica

Para fixação do tecido, amostras do ventrículo esquerdo foram colocadas em solução de formol tamponado a 10% por 48 horas. Após esse procedimento, o tecido foi incluso em blocos de parafina e dois cortes histológicos coronais de 4 micrômetros foi obtido de cada animal. Os cortes foram corados por meio de Hematoxilina-Eosina (HE) para mensuração das áreas de secção transversa dos cardiomiócitos. Para esse procedimento, imagens com aumento de 40x foram obtidas pelo microscópio óptico *Nikon® eclipse 50i* acoplado à uma câmera fotográfica *Infinity 1* e a área dos cardiomiócitos foi mensurada utilizando o software *NIS-Elements*.

A seleção das imagens para captura e digitalização foi realizada visualmente e diferentes regiões em cada um dos cortes do VE foi obtida. Para análise 50 cardiomiócitos de cada animal foi obtido e para uniformizar ao máximo o conjunto de cardiomiócitos dos diferentes grupos, foram escolhidos aqueles que estavam seccionados transversalmente e apresentavam forma arredondada, núcleo visível no centro da célula e localizavam-se na camada subendocárdica da parede muscular do VE. O valor médio dessas áreas para cada grupo foi utilizado como indicador do tamanho celular²⁸.

Dimensão fractal

A análise da dimensão fractal do VE foi realizada por meio de fotografias das lâminas, seguida da binarização para leitura. A dimensão fractal foi estimada pelo método de contagem de caixas denominado *box-counting* e por meio do programa de processamento de imagens *ImageJ* (National Institutes of Health, EUA – <http://rsbweb.nih.gov/ij/>), o qual realiza a contagem de caixas em duas dimensões, permitindo a quantificação da distribuição de pixels no espaço, não considerando a textura da imagem.

A análise fractal das lâminas histológicas baseia-se na relação entre a resolução e a escala avaliada, e o resultado pode ser quantitativamente expresso como a dimensão fractal do objeto $[FD = (\text{Log } Nr / \log r - 1)]$, onde Nr é o número de elementos iguais necessários para cobrir o objeto original e r é a escala aplicada ao objeto. A dimensão fractal calculada com o programa ImageJ estará sempre entre 0 e 2, não distinguindo diferentes texturas²⁸.

Análise estatística

Os dados foram expressos em médias e desvio padrão. Para a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Shapiro - Wilk. As comparações entre os grupos foram realizadas pela análise de variância ANOVA - One Way com pós teste de Tukey para dados paramétricos ou teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn para dados não paramétricos. Considerou-se o limite de significância de 0,05 ($p < 0,05$).

Resultados

Na tabela 1, observa-se que a ingestão de energia em calorias por dia foi maior no grupo CN em comparação a todos os outros grupos, no entanto, a eficiência alimentar (EE) demonstra que a dieta obesogênica foi capaz de promover maior ganho de peso ($p < 0,05$). Além disso, menores valores de EE foram encontrados para OTOChia em relação a CO ($p < 0,05$).

Inserir Tabela 1

Os animais do grupo CN apresentaram maior massa corporal final, com diferença estatística entre OTOChia e CO ($p < 0,05$). Porém em relação ao valores de IA, esses foram

maiores para os grupo CO e OOChia em relação a CN ($p < 0,05$) e menores para OTOChia em relação a CO ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Não foram encontradas diferenças significantes para os valores da normalização do peso das estruturas pela massa corporal final dos animais (átrios/MCF, VD/MCF e VE/MCF) entre os grupos ($p > 0,05$). Para essas relações menores valores médios foram encontrados para átrios/MCF e VD/MCF para o grupo OOChia e maiores valores médios para a relação VE/MCF para o grupo OTOChia. Em relação a área dos cardiomiócitos foram observados menores valores de área para o grupo OOChia em relação ao CO ($p < 0,05$; Tabela 1).

A tabela 2 mostra que com exceção do maior valor de DDVE/Peso para o grupo OTOChia em relação a CO ($p < 0,05$), nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada para os parâmetros ecocardiográficos estruturais entre os grupos.

Inserir Tabela 2

Também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes para os parâmetros funcionais entre os grupos avaliados (Tabela 3). Para a onda E e A do fluxo transmitral maiores valores foram observados para o grupo OTOChia. Em contrapartida, para tempo de relaxamento isovolumétrico os menores valores foram encontrados para esse grupo. Ainda, o grupo OOChia apresentou maiores médios de fração de ejeção, seguida do OTOChia.

Inserir Tabela 2

A figura 1 mostra os valores obtidos pela análise da dimensão fractal. Observa-se menores valores de dimensão fractal para os grupos OOCchia ($1,34 \pm 0,05$) e OTOCchia ($1,33 \pm 0,06$) em comparação com os grupos CN ($1,43 \pm 0,05$) e CO ($1,42 \pm 0,07$).

Inserir Figura 1

Discussão

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da suplementação de óleo de chia, aplicada de maneira isolada e associada ao TA, na função e estrutura do coração de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Os principais achados desse estudo foram: 1) A suplementação de óleo de chia isolada foi capaz de atenuar a hipertrofia de cardiomiócitos; 2) Tanto o óleo de chia quanto sua associação com o TA levaram a menores valores de dimensão fractal.

As dietas HL tem sido amplamente utilizadas para o desenvolvimento de obesidade em ratos²⁹. Nesse estudo, foi utilizada uma dieta que continha 23,80% de lipídeos para indução de obesidade, a qual foi confirmada pelos altos valores de IA apresentados pelos animais dos grupos obesogênicos. Esse resultado corrobora com os obtidos por Jacobsen et al²⁹, que encontraram maior ganho de peso e gordura corporal, bem como maior IA, em animais que consumiram dieta HL. Esse modelo de indução de obesidade pode promover alterações em parâmetros cardíacos gerados pela sobrecarga a adiposidade²⁵.

Os resultados obtidos no presente estudo não mostraram diferenças significantes nos valores das normalizações do peso das estruturas cardíacas e o peso corporal final dos animais. Contudo, apesar de não ser significativo, o grupo CO apresentou maior valor médio da relação átrios/MCF, enquanto que para o grupo OTOCchia foram observados maiores valores de VD/MCF e VE/MCF. Esses resultados corroboram em parte com os obtidos por Martins et

al²⁵, os quais observaram também maior valor médio da relação átrios/MCF para o grupo obeso em relação ao controle, entretanto, diferentemente do observado por esses autores, no presente estudo foram encontrados maiores valores médios de VD/MCF para o grupo CO em relação a CN.

Os resultados das relações VD/MCF e VE/MCF obtidos para o grupo OTOChia parecem sugerir uma tendência a hipertrofia ventricular para esse grupo, a qual pode estar relacionada ao possível remodelamento fisiológico induzido pelo exercício aeróbio. Esse remodelamento aparentemente é benéfico, pois está associado à maior fração de ejeção encontrada nesse grupo, que também é característico da atuação do exercício físico^{30,31}. Ademais, sabe-se que o exercício aeróbio por meio de natação leva a diminuição de fibrose cardíaca e inibição de colágeno, os quais são encontrados em disfunção cardíaca³¹.

Em relação as análises histológicas, o grupo CO apresentou maiores valores médios de área de cardiomiócitos em relação aos demais grupos, o que também foi observado por outros autores²⁵, os quais sugerem que essa alteração associada à fibrose intersticial, indica evidências de que a dieta HL promove remodelação cardíaca, uma vez que essa dieta parece levar ao acúmulo de lipídeos estimulando sobrecarga mitocondrial.

Observou-se ainda que o grupo OOChia apresentou menores valores da área dos cardiomiócitos em relação aos animais obesos, indicando que a administração de chia influenciou o tamanho celular o que pode estar relacionado ao seu efeito antioxidante^{16,17}. Diversos estudos têm demonstrado o papel do estresse oxidativo na hipertrofia cardíaca, uma vez que as espécies reativas de oxigênio (EROs) parecem ativar um componente responsável por estimular essa hipertrofia, e os antioxidantes como vitamina E podem inibir esse componente³²⁻³⁴ o que poderia explicar o resultado encontrado para o grupo OOChia, levando em consideração o potencial antioxidante da chia^{16,17}.

Apesar da diminuição da área seccional dos cardiomiócitos, em nenhum dos grupos analisados foi observada alterações significativas para as variáveis estruturais e funcionais avaliadas por meio do ecocardiograma

Respostas diversas para essas variáveis podem ser observadas na literatura. Ausência de alterações estruturais e funcionais do coração foi também observada em animais alimentados por 3 semanas com dieta HL²⁹, enquanto que, a utilização da dieta HL por 15 semanas consecutivas promoveram aumento nos valores de dimensão diastólica e sistólica final do ventrículo esquerdo (DDVE, DSVE) e E/A⁴. Esses resultados sugerem que as alterações estruturais e funcionais do coração são, pelo menos em parte, dependentes da duração do consumo da dieta HL.

Fang et al³⁵ trataram ratos com IC com ácidos graxos poli-insaturados de origem vegetal contendo 30% de ALA, um grupo após uma semana de IC foi tratado durante 12 semanas (grupo a longo prazo) e outro grupo após 12 semanas de IC foi tratado por 1 semana (grupo a curto prazo). Nesse estudo os autores observaram redução dos diâmetros diastólico e sistólico do VE, redução significativa do peso do VE, da relação VE/peso corporal e densidade de colágeno do VE após a suplementação a longo prazo, sugerindo que essas alterações são dependentes do tempo de aplicação da dieta. Os autores acreditam que os efeitos benéficos a longo prazo provavelmente estão relacionados à prevenção da deficiência de glutatona relacionada à ICC, levando a um aumento da neutralização dos EROs e, assim, à redução do estresse oxidativo sistêmico e cardíaco.

Em relação às análises da dimensão fractal, observam-se menores valores para os grupos OOOchia e OTOchia em comparação aos grupos CN e CO. A dimensão fractal permite identificar estruturas irregulares em lâminas histológicas e quantificar as alterações existentes²⁸. Portanto, infere-se que as lâminas de CN e CO apresentaram-se mais irregulares

em comparação aos grupos que receberam chia, sugerindo que a chia reduz as irregularidades observadas nas lâminas histológicas.

Como limitação do estudo pode-se apontar a ausência da verificação da deposição de colágeno e fibrose cardíaca, o que poderia oferecer evidências de lesão cardíaca, o que não foi analisado em nosso experimento. Nesse sentido, outros estudos são necessários para verificação desses parâmetros.

Os resultados desse estudo abrem caminhos para novas pesquisas em relação a utilização de alimentos que possam melhorar parâmetros relacionados a obesidade, principalmente em relação aqueles que apresentam potencial antioxidante, como é o caso da chia, pois altos níveis de EROs estão intrinsecamente ligados à obesidade e patologias associadas³⁶.

Conclusão

Os resultados do presente estudo demonstraram que a suplementação de óleo de chia de maneira isolada atenuou hipertrofia de cardiomiócitos e ainda, tanto a suplementação sozinha quanto sua associação com o TA levaram a menores valores de dimensão fractal. Porém, essas intervenções não foram capazes de levar a demais alterações na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Referências Bibliográficas

1. Meldrum DR, Morris MA, Gambone JC. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions but do we have the will? *Fertil Steril*. 2017;107(4):833-9.
2. US Preventive Services Task Force, Curry SJ, Krist AH, Owens DK, Barry MJ, Caughey AB, et al. Behavioral Weight Loss Interventions to Prevent Obesity-Related

- Morbidity and Mortality in Adults: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2018;320(11):1163-71.
3. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*. 2014;129(25Suppl 2):S102-38.
 4. Leopoldo AS, Sugizaki MM, Lima-Leopoldo AP, Nascimento AF, Luvizotto RAM, Campos DHS, et al. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. *Can J Cardiol*. 2010;26(8):423-9.
 5. Csige I, Ujvárosy D, Szabó Z, Lorinxz I, Paragh G, Harangi M, et al. The impact of obesity on the cardiovascular system. *J Diabetes Res*. 2018;4;2018:3407306.
 6. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347:305-13.
 7. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006;113(6):898-918.
 8. Alpert MA, Omran J, Bostick B. Effects of Obesity on Cardiovascular Hemodynamics, Cardiac Morphology, and Ventricular Function. *Curr Obes Rep*. 2016;5(4):424-34.
 9. Aune D, Sen A, Norat T, Janszky I, Romundstad P, Tonstad S, et al. Body Mass Index, Abdominal Fatness, and Heart Failure Incidence and Mortality: A Systematic

- Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Circulation*. 2016;133(7):639-49.
10. Willis LH, Slentz CA, Bateman LA, Shields AT, Piner LW, Bales CW, et al. Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. *J Appl Physiol*. 2012;113(12):1831-7.
 11. Fock KM, Khoo J. Diet and exercise for weight management. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(Suppl.4):59-63.
 12. Alabdulkarim B, Bakeet ZAN, Arzoo S. Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. *J King Saud Univ*. 2012;24:319-29.
 13. Rossi AS, Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo YB. Dietary chia seed induced changes in hepatic transcription factors and their target lipogenic and oxidative enzyme activities in dyslipidaemic insulin-resistant rats. *Br J Nutr*. 2013;109(9):1617-27.
 14. Chicco AG, D'Alessandro ME, Hein GJ, Oliva ME, Lombardo YB. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *Br J Nutr*. 2009;101(1):41-50.
 15. Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo YB. Seed rich -linolenic acid improves adipose tissue dysfunction and the altered skeletal muscle glucose and lipid metabolism in dyslipidemic insulin-resistant rats. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids*. 2013;89(5):279-89.
 16. Ixtaina VY, Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM, Diehl BWK. Characterization of Chia Seed Oils Obtained by Pressing and Solvent Extraction. *J Food Compost Anal*. 2011;24(2):166-74.

17. Marineli RS, Moraes EA, Lenquiste SA, Godoy AT, Eberlin MN, Marostica Jr.MR. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *Food Sci and Technology*. 2014;59(2):1304-10.
18. Farías JG, Molina VM, Carrasco RA, Zepeda A, Figueroa E, Letelier P, et al. Antioxidant Therapeutic Strategies for Cardiovascular Conditions Associated with Oxidative Stress. *Nutrients*. 2017;9(9):966.
19. Kim K, Vance TM, Chen MH, Chun OK. Dietary total antioxidant capacity is inversely associated with all-cause and cardiovascular disease death of US adults. *Eur J Nutr*. 2018;57(7):2469-76.
20. Bowen TS, Brauer D, Rolim NPL, Bækkerud FH, Kricke A, Ormbostad Berre AM, et al. Exercise Training Reveals Inflexibility of the Diaphragm in an Animal Model of Patients With Obesity-Driven Heart Failure With a Preserved Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(10):e006416.
21. Estadella D, Oyama LM, Bueno AA, Habitante CA, Souza GI, Ribeiro EB, et al. A palatable hyperlipidic diet causes obesity and affects brain glucose metabolism in rats. *Lipids Health Dis*. 2011;23(10):168-77.
22. Marineli RS, Moura CS, Moraes EA, Lenquiste SA, Lollo PC, Morato PN, et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 α expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats. *Nutrition*. 2015;31(5):740-8.
23. Nery CS, Pinheiro IL, Muniz GS, Vasconcelos DAA, França SP, Nascimento E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. *Rev Bras Med Esporte*. 2011;17(1):49-55.
24. Cunniff P. Official methods of analysis of AOAC. 16 ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1995.

25. Martins F, Campos DH, Pagan LU, Martinez PF, Okoshi K, Okoshi MP, et al. High-fat Diet Promotes Cardiac Remodeling in an Experimental Model of Obesity. *Arq Bras Cardiol.* 2015;105(5):479-86.
26. Aleixo PH, Santos LS, Ozaki GAT, Garcia TA, Zanuto EAC, Camargo RCT, et al. Effects of Consumption of Soft Drinks on the Muscular Morphology of Animals Submitted to Concurrent Training. *Int J Morphol.* 2019;37(2):671-6.
27. Pagan LU, Damatto RL, Cezar MD, Lima AR, Bonomo C, Campos DH, et al. Long-term low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36(1):61-74.
28. Pacagnelli FL, Sabela AK, Mariano TB, Ozaki GA, Castoldi RC, Carmo EM, et al. Fractal Dimension in Quantifying Experimental-Pulmonary-Hypertension-Induced Cardiac Dysfunction in Rats. *Arq Bras Cardiol.* 2016;107(1):33-9.
29. Jacobsen BB, Leopoldo APL, Cordeiro JP, Campos DHS, Nascimento AFD, Sugizaki MM, et al. Cardiac, Metabolic and Molecular Profiles of Sedentary Rats in the Initial Moment of Obesity. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109(5):432-9.
30. Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(7):387-407.
31. Fernandes T, Baraúna VG, Negrão CE, Phillips MI, Oliveira EM, et al. Aerobic exercise training promotes physiological cardiac remodeling involving a set of microRNAs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015;309(4):H543-52.
32. Shiomi T, Tsutsui H, Matsusaka H, Murakami K, Hayashidani S, Ikeuchi M et al. Overexpression of glutathione peroxidase prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. *Circulation.* 2004;109(4):544-9.

33. Tsujimoto I, Hikoso S, Yamaguchi O, Kashiwase K, Nakai A, Takeda T, et al. The antioxidant edaravone attenuates pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Hypertension*. 2005;45(5):921-6.
34. Minhas KM, Saraiva RM, Schuleri KH, Lehrke S, Zheng M, Saliaris AP et al. Xanthine oxidoreductase inhibition causes reverse remodeling in rats with dilated cardiomyopathy. *Circ Res*. 2006;98(2):271-9.
35. Fang Y, Favre J, Vercauteren M, Laillet B, Remy-Jouet I, Skiba M, et al. Reduced cardiac remodelling and prevention of glutathione deficiency after omega-3 supplementation in chronic heart failure. *Fundam Clin Pharmacol*. 2011;25(3):323-32.
36. McMurray F, Patten DA, Harper ME, et al. Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in Obesity-Recent Findings and Empirical Approaches. *Obesity (Silver Spring)*. 2016;24(11):2301-10.

Apêndices

Tabela 1. Ingestão alimentar, eficiência energética, parâmetros anatômicos e histomorfométricos expressos em média \pm desvio padrão dos grupos lados.

	CN	CO	OOChia	OTOChia
Ingestão de energia (Kcal/dia)	101,09 \pm 0,96	83,74 \pm 2,56 ^a	77,21 \pm 5,91 ^a	77,90 \pm 5,67 ^a
Eficiência energética	0,07 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01 ^a	0,15 \pm 0,02 ^a	0,14 \pm 0,02 ^{a,b}
Massa corporal final (g)	407,78 \pm 17,11	397,39 \pm 24,75	387,75 \pm 37,31	364,28 \pm 34,97 ^a
Índice de adiposidade	4,72 \pm 0,49	6,44 \pm 0,60 ^a	5,95 \pm 1,10 ^a	5,23 \pm 0,79 ^b
Átrios/MCF (mg/g)	0,29 \pm 0,09	0,38 \pm 0,23	0,24 \pm 0,09	0,26 \pm 0,09
VD/MCF (mg/g)	0,48 \pm 0,08	0,53 \pm 0,10	0,46 \pm 0,09	0,54 \pm 0,07
VE/MCF (mg/g)	2,21 \pm 0,14	2,10 \pm 0,10	2,11 \pm 0,14	2,22 \pm 0,12
Área (μm^2)	260,03 \pm 53,76	295,15 \pm 70,14	213,62 \pm 21,33 ^b	273,72 \pm 26,10

^aDiferença estatisticamente significativa em relação a CN ($p < 0,05$); ^bDiferença estatisticamente significativa em relação a CO ($p < 0,05$). One- Way ANOVA pós teste de Tukey. **Legenda:** MCF = massa corporal final, VD = ventrículo direito, VE = ventrículo esquerdo,

Tabela 2. Parâmetros ecocardiográficos estruturais expressos em média \pm desvio padrão dos grupos estudados.

	CN	CO	OOChia	OTOChia
DDVE (mm)	6,37 \pm 0,60	5,87 \pm 0,67	5,94 \pm 0,53	6,08 \pm 0,41
DDVE/Peso (mm/Kg)	15,63 \pm 1,63	14,79 \pm 1,67	15,36 \pm 1,26	16,77 \pm 1,13 ^b
DSVE (mm)	3,88 \pm 0,84	3,36 \pm 0,49	3,23 \pm 0,49	3,33 \pm 0,35
DSVE/Peso (mm/Kg)	9,54 \pm 2,21	8,47 \pm 1,33	8,40 \pm 1,40	9,19 \pm 1,25
AO (mm)	2,80 \pm 0,70	2,70 \pm 0,34	2,61 \pm 0,52	2,93 \pm 0,44
AE (mm)	2,63 \pm 0,95	3,15 \pm 0,47	2,66 \pm 0,81	2,52 \pm 1,15
AE (mm)/Peso	6,47 \pm 2,35	7,97 \pm 1,39	7,08 \pm 2,24	6,99 \pm 3,26
AE (mm)/ AO (mm)	1,01 \pm 0,40	1,17 \pm 0,10	1,04 \pm 0,30	0,87 \pm 0,39

^aDiferença estatisticamente significativa em relação a CN ($p < 0,05$); ^bDiferença estatisticamente significativa em relação a CO ($p < 0,05$). ANOVA One-Way pós teste de Tukey. **Legenda:** FC = frequência cardíaca; VE = ventrículo esquerdo; DDVE = diâmetro diastólico do VE; DSVE = diâmetro sistólico do VE; AO = diâmetro da aorta; AE = diâmetro do átrio esquerdo.

Tabela 3. Parâmetros ecocardiográficos funcionais expressos em média \pm desvio padrão dos grupos estudados.

	CN	CO	OOChia	OTOChia
E mitral (cm/s)	72,22 \pm 16,28	68,25 \pm 13,26	63,63 \pm 27,42	80,25 \pm 14,04
A mitral (cm/s)	40,89 \pm 11,16	39,50 \pm 5,68	43,75 \pm 8,75	46,63 \pm 9,30
E/A	1,82 \pm 0,40	1,72 \pm 0,14	1,46 \pm 0,58	1,74 \pm 0,19
TRIV (ms)	32,33 \pm 4,53	33,38 \pm 6,89	31,50 \pm 4,38	26,63 \pm 4,07
Fração ejeção	74,56 \pm 11,04	79,00 \pm 6,30	81,75 \pm 5,87	81,50 \pm 5,45

Legenda: E mitral = velocidade de influxo mitral diastólica precoce; A mitral = velocidade de influxo mitral diastólica tardia; TRIV = tempo de relaxamento isovolumétrico. ANOVA One – Way.

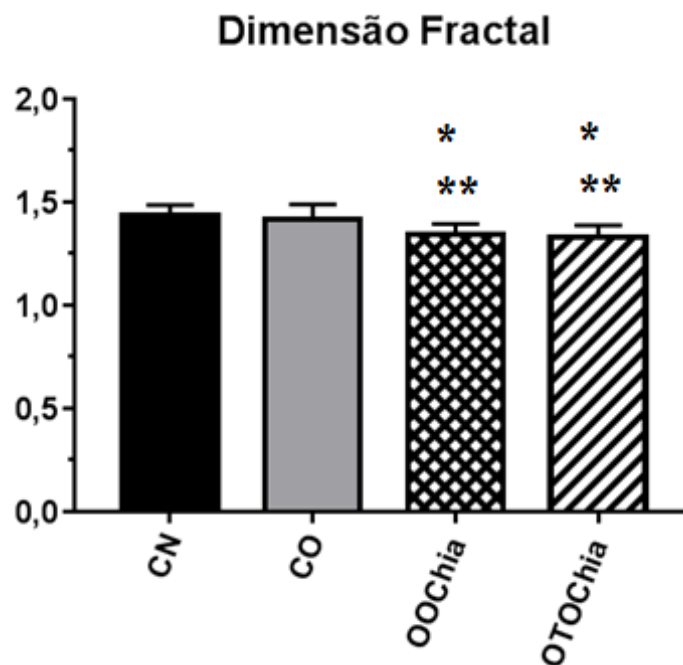


Figura 1. Análise da dimensão fractal. CN: controle normocalórico; CO: controle obeso; OOOchia: obeso óleo de chia; OTOchia: obeso óleo de chia e treinamento. *Diferença estatisticamente significativa em relação a CN ($p < 0,05$); **Diferença estatisticamente significativa em relação a CO ($p < 0,05$) (ANOVA One-Way pós teste de Tukey).

Conclusão

CONCLUSÃO

A partir dos achados, conclui-se que:

I. O consumo de óleo de chia de maneira isolada ou associado com o treinamento aeróbio, durante 8 semanas, produz efeitos positivos no perfil lipídico, tecido adiposo e acúmulo de gordura hepática em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, principalmente quando associado ao exercício, que demonstrou resultados superiores a suplementação isolada.

II. A suplementação de óleo de chia de maneira isolada atenuou hipertrofia de cardiomiócitos e ainda, tanto a suplementação sozinha quanto sua associação com o TA levaram a menores valores de dimensão fractal. Porém, essas intervenções não foram capazes de levar a demais alterações na função e estrutura cardíaca de ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894(i-xii):1-253.
2. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: Biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*. 2010;51(2):679-89.
3. Veilleux A, Caron-Jobin M, Noël S, Laberge PY, Tchernof A. Visceral adipocyte hypertrophy is associated with dyslipidemia independent of body composition and fat distribution in women. *Diabetes*. 2011;60(5):1504-11.
4. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K. Body fatness and cancer - viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med*. 2016;375(8):794-8.
5. Després JP. Body Fat Distribution and Risk of Cardiovascular Disease: an Update. *Circulation*. 2012;126(10):1301-13.
6. Musi N, Guardado-Mendoza R. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Cell Endocrinol Heal Dis*. 2014;89:229-37.
7. Warne JP. Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass. *J Endocrinol*. 2003;177(3):351-5.
8. Fonseca-Alaniz Mh. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. *Arq Bras Endocrino Metab*. 2006;50(2):216-29.
9. Berggren JR, Hulver MW, Houmard J a. Fat as an endocrine organ: influence of exercise. *J Appl Physiol*. 2005;99:757-64.
10. SBDC. 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;8(Supp1):2-19.
11. Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered Lipid Metabolism and the Pathogenesis of Insulin Resistance. *Physiol Rev*. 2007;87(2):507-20.
12. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol*. 2017;109(2 Supp1):1-92.
13. Ebong IA, Goff DCJr, Rodriguez CJ, Chen H, Berton AG, Mechanisms of Heart Failure in Obesity. *Obes Res Clin Pract*. 2014;8(6):e540-8.
14. Murdolo G, Angeli F, Reboldi G, Di Giacomo L, Aita A, Bartolini C, et al. Left Ventricular Hypertrophy and Obesity: Only a Matter of Fat? *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2015;22(1):29-41.

15. Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2010;24(5):695–708.
16. Nobili V, Carter-Kent C, Feldstein AE. The role of lifestyle changes in the management of chronic liver disease. *BMC Med.* 2011;9(1):70.
17. Cave M, Deaciuc I, Mendez C, Song Z, Joshi-Barve S, Barve S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: predisposing factors and the role of nutrition. *J Nutr Biochem.* 2007;18(3):184-95.
18. Kelley GL, Allan G, Azhar S. High Dietary Fructose Induces a Hepatic Stress Response Resulting in Cholesterol and Lipid Dysregulation. *Endocrinology.* 2004;145(2):548–55.
19. Huang C, Mcallister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-Related Oxidative Stress : the Impact of Physical Activity and Diet Manipulation. *Sport Med.* 2015;1(1):32.
20. The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med.* 2017;377(1):13-27.
21. Guthold R, Stevens GA, Riley LM, Bull FC. Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1.9 million participants. *Lancet Glob Health* 2018;6:e1077–86.
22. Bahia L, Coutinho ES, Barufaldi LA, Abreu G de A, Malhão TA, Souza CPR de, et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. *BMC Public Health* 2012;12(440):1-7.
23. National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. *Obes Res.* 1998;6(Suppl2):51S-209S.
24. US Preventive Services Task Force, Curry SJ, Krist AH, Owens DK, Barry MJ, Caughey AB, et al. Behavioral Weight Loss Interventions to Prevent Obesity-Related Morbidity and Mortality in Adults: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA.* 2018;320(11):1163-71.
25. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation.* 2014;129(25Suppl 2):S102-38.

26. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, et al. Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity: European guidelines for obesity management in adults. *Obes Facts*. 2015;8(6):402-24.
27. Hainer V, Toplak H, Mitrakou A: Treatment modalities of obesity: What fits whom? *Diabetes Care*. 2008;(Suppl 2):S269-77.
28. Willis LH, Slentz CA, Bateman LA, Shields AT, Piner LW, Bales CW, et al. Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. *J Appl Physiol*. 2012;113(12):1831-7.
29. Shaw KA, Gennat HC, O'Rourke P, Del Mar C. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Ver*. 2006;18(4):CD003817.
30. Kawanishi N, Yano H, Yokogawa Y, Suzuki K. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. *Exerc Immunol Rev*. 2010;16:105-18.
31. Cameron I, Alam MA, Wang J, Brown L. Endurance exercise in a rat model of metabolic syndrome. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90(11):1490-7.
32. Fock KM, Khoo J. Diet and exercise for weight management. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(Suppl.4):59-63.
33. Baranowski M, Enns J, Blewett H, Yakandawala U, Zahradka P TC. Dietary flaxseed oil reduces adipocyte size, adipose monocyte chemoattractant protein-1 levels and T-cell infiltration in obese, insulin-resistant rats. *Cytokine*. 2012;59:382-91.
34. Alabdulkarim B, Bakeet ZAN, Arzoo S. Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. *J King Saud Univ*. 2012;24:319–29. *Cytokine*. 2012;59:382-91.
35. Ayerza R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.), from five northeastern locations in northwestern Argentina. *J Am Oil Chem Soc*. 1995;72:1079-81.
36. Vuksan V, Whitham D, Sievenpiper JI. Supplementation of conventional therapy with the novel grain Salba (*Salvia hispanica* L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results of a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2007;30:2804-10.
37. Chicco AG, D'alessandro ME, Hein GJ. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *Br J Nutr*. 2009;101:41-50.

38. Rossi AS, Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo Y. Dietary chia seed induced changes in hepatic transcription factors and their target lipogenic and oxidative enzyme activities in dyslipidaemic insulin-resistant rats. *Br J Nutr.* 2013;109:1617–27.
39. Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo Yb. seed rich -linolenic acid improves adipose tissue dysfunction and the altered skeletal muscle glucose and lipid metabolism in dyslipidemic insulin-resistant rats. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids.* 2013;89:279–89.
40. Poudyal, H, Panchal SK, Waanders J, Ward L, Brown L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. *J Nutr Biochem.* 2012;23(2):153-62.

Anexo – Aprovação do comitê de ética

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA (SALVIA HISPANICA L.) OU ÔMEGA-3 ASSOCIADA AO TREINAMENTO AERÓBIO NO PERFIL GLICÊMICO E ESTEATOSE HEPÁTICA DE

RATOS INDUZIDOS A SÍNDROME METABÓLICA POR DIETA", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 3962 e tendo como participante(s) RAYANA LOCH GOMES (discente), THAISSA FERNANDA SANTOS DOMINGUES (discente), GISELE ALBORGHETTI NAI (docente), SABRINA ALVES LENQUISTE (orientador responsável), foi avaliado e APR. COM RECOMENDAÇÃO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS

(CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APR. COM RECOMENDAÇÃO em reunião realizada em 06/09/2017.

Vigência do projeto: 07/2017 a 06/2018.

Espécie/Linhagem	Nº de Animais	Peso	Idade	Sexo	Origem
Ratos Wistar	70	200 gramas	48 dias	M	Biotério Central Unoeste

Presidente Prudente, 18 de Dezembro de 2017.

Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CPDI

Prof. Ms. Adriana Falco de Brito
Coordenadora da CEUA - UNOESTE