

Harrison Maycon Vieira Nunes¹
Aline D'ávila Pereira¹
Sabrina Castro Brasil²
Luciana Armada²
Rachel Santos³
Gilson Teles Boaventura¹
Carlos Alberto Soares da Costa¹

¹Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Nutrição Emília de Jesus Ferreiro, Laboratório de Nutrição Experimental. Niterói, RJ, Brasil.

²Universidade Estácio de Sá, Faculdade de Odontologia. Niterói, RJ, Brasil.

³Universidade Federal Fluminense, Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Niterói, RJ, Brasil.

Correspondência

Harrison Maycon Vieira Nunes
harrison.vnunes@gmail.com

Efeitos da dieta hiperlipídica, contendo gordura saturada, sobre a qualidade óssea de ratos *Wistar* machos na vida adulta

Effects of the hyperlipidic diet, containing saturated fat, on the bone quality of Wistar machos rats in the adult life

Resumo

Objetivos: Avaliar a influência da ingestão de banha de porco sobre a composição óssea de ratos machos aos 120 dias de idade. **Métodos:** Foram utilizados ratos *Wistar*, machos, provenientes de um laboratório de uma universidade federal do Rio de Janeiro. Os animais foram mantidos em Biotério com temperatura (25 a 27°C), ciclo claro/escuro (12-12h), recebendo água *ad libitum* por um período de oito semanas. Os grupos, divididos em controle, que recebeu ração a base de caseína (GC, n=12) e experimental, que recebeu ração com acréscimo de banha de porco (GH, n=12), foram acompanhados até completarem 120 dias. Ao final do experimento, os animais foram anestesiados. O fêmur foi reservado adequadamente para futuras análises. A análise estatística foi realizada através do programa GraphPadPrism (versão 5.00, 2007, San Diego, USA). **Resultados:** Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), considerando o nível de significância de P<0,05. O GH (6,938±0,030 mm) apresentou maior (p<0,05) largura da diáfise com rela-

ção ao GC (4,430±0,040 mm). No teste biomecânico, foi observada a força máxima dos grupos (GC=102,200 ± 10,210N e GH=126,100 ± 4,341N) e o módulo elástico (GC=471415 ± 44457MPa e GH=570013 ± 24575Mpa) sendo os maiores valores no grupo hiperlipídico (p<0,05). Na composição óssea femural, foi observado maior (p<0,05) DMO do GH (0,15 ± 0,001g/cm²) em relação ao GC (0,144 ± 0,002g/cm²). **Discussão e Conclusões:** A dieta hiperlipídica contendo gordura saturada influenciou na estrutura óssea, mas não reduziu a qualidade óssea.

Palavras-chave: Dieta Hiperlipídica. Ratos. Osso. Gordura da dieta. Adulto.

Abstract

Objectives: To evaluate the influence of pork lard intake on the bone composition of male rats at 120 days of age. **Methods:** Male Wistar rats from a laboratory of a federal University of Rio de Janeiro. The animals were kept in a room with temperature (25 to 27°C), light / dark cycle (12-12h), receiving ad libitum water during 8 weeks. The groups, divided into: control, which received casein (GC, n = 12) and experimental fed pig lard (GH, n = 12) rations, were followed up to 120 days. The femur was adequately reserved for future analysis. Statistical analysis was performed using the GraphPadPrism program (version 5.00, 2007, San Diego, USA). **Results:** The results were expressed as mean ± standard error of the mean (SEM), considering the level of significance of P<0.05. The GH (6.938 ± 0.030 mm) had a greater (p<0.05) diaphysis width than the GC (4.430 ± 0.040 mm). In the biomechanical test, the maximum strength (GC = 102,200 ± 10,210N and GH = 126,100 ± 4,341N) and the elastic modulus (GC = 471415 ± 44457MPa and GH = 570013 ± 24575MPa) were higher in the hyperlipid group (p<0.05), respectively. The femoral bone composition was higher (p<0.05) GH BMD (0.15 ± 0.001g / cm²) than the CG (0.144 ± 0.002g / cm²). **Discussion and Conclusions:** The hyperlipid diet containing saturated fat influenced the bone structure, but did not reduced bone quality.

Keywords: High fat diet. Rats. Bone. Dietary fats. Adult.

INTRODUÇÃO

A estrutura óssea é permanentemente alterada em função das forças mecânicas e processos metabólicos, por meio de mecanismos de remodelação adaptativa.¹ Múltiplos fatores estão associados a este quadro, como genética, estilo de vida e hábito alimentar, proporcionando maior fragilidade óssea, resultando em fraqueza, aumentando a incidência de fraturas, reduzindo a qualidade de vida do indivíduo, além dos efeitos sobre os custos com a saúde, com elevado impacto sobre a economia.²

A nutrição é um fator fundamental na promoção e manutenção da saúde óssea. Uma dieta rica em gordura saturada resulta em distúrbio metabólico, com elevação dos níveis de hormônios anabólicos, potentes reguladores do desenvolvimento ósseo que atuam na atividade dos osteoblastos, estimulando a formação óssea.³ Porém, outros autores descrevem que a gordura saturada pode interferir no sistema esquelético, estando relacionada com uma qualidade óssea inferior. Em adição, o aumento da massa corporal provocada por uma dieta hiperlipídica eleva a ação mecânica na estrutura óssea, resultando em microdeformações ósseas.⁴⁻⁶

Devido à inconsistência de relatos na literatura, a proposta deste estudo foi avaliar os efeitos da dieta rica em gordura saturada sobre a estrutura óssea de ratos *Wistar* na vida adulta.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto de pesquisa seguiu os Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e obteve aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo 594/2016.

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, obtidos a partir de colônias do Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal Fluminense, que foram mantidos em condições controladas de temperatura (25 a 27°C) e umidade (60 ± 10%), com ambiente submetidos a ciclos claro-escuro de 12:12h (das 6:00 h às 18:00 h).

A ração controle e a experimental (tabela 1) apresentaram a mesma quantidade de mix mineral, vitamínico, celulose e sacarose. As dietas foram manufaturadas semanalmente e estocadas a 4°C, de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN-93G). Ambos os grupos tiveram livre acesso à água e a ração por um período de oito semanas.

Tabela 1. Composição nutricional da ração experimental e controle, que será administrada durante 120 dias. Niterói-RJ, 2018.

Ingrediente (g / 100 g)	Controle	Experimental
Banha de porco	-	17,0
Caseína	20,0	20,0
Amido de Milho	52,9	35,9
Sacarose	10,0	10,0
Óleo de Soja	7,0	7,0
Celulose	5,0	5,0
<i>Mix</i> Mineral AIN-93G	3,5	3,5
<i>Mix</i> Vitamínico AIN-93	1,0	1,0
L-Cistina	0,3	0,3
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
BHT, mg	14	14
kcal/100g	347,2	468,0

Será formulada com base nas recomendações do *American Institute of Nutrition* AIN-93G para dietas de roedores. Grupo controle (GC) e grupo experimental, tratado com ração contendo banha de porco (GE). *Mix* Mineral e vitamina; L-cistina; Bitartarato de Colina: PragSoluções®; Caseína; Amido de Milho; Celulose: FARMOS®; Soja: Lisa® e Sacarose: União®.

Foram utilizados 24 ratos adultos machos, que com oito semanas de idade, mantidos em gaiolas individuais. Os animais foram divididos randomicamente em dois grupos (grupo controle, com dieta normal, e grupo experimental, com dieta hiperlipídica). A água e a ração foram ofertadas ad libitum por um período de oito semanas.

Os animais, quando completaram 120 dias de idade, foram submetidos a seis horas de jejum e posteriormente anestesiados com injeção intraperitoneal de Thiopentax® (Tiopental sódico 1G, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA, Brasil) a 5% (0,15 ml/100g p.c., i.p.), sendo a diluição de 50 mL de água destilada para 1 g de anestésico.

Com os animais ainda sob efeito do anestésico, foi realizada a coleta do fêmur e armazenados a -20°C, para posteriores análises, e as peças ósseas, depois de limpas, foram pesadas (g) em balança analítica (precisão 0,0001 Bosch S2000, Brasil) e mensurado o com-

primento do fêmur (a partir da distância entre as epífises, mm) e a largura do ponto médio da diáfise (mm) com o auxílio de um paquímetro digital (Jomarca, 0,01 mm).

A composição óssea do fêmur foi realizada no Laboratório de Avaliação Nutricional e Funcional (LANUFF) da Faculdade de Nutrição Emília de Jesus Ferreiro, da Universidade Federal Fluminense (UFF), através da absorptiometria (*Dual-energy X-ray absorptiometry*, DXA). Foram analisados a densidade mineral óssea - DMO (g/cm²) e o conteúdo mineral ósseo - CMO (g).

A análise das propriedades biomecânicas dos fêmures foi realizada no Laboratório Analítico de Biomateriais Restauradores da Faculdade de Odontologia da UFF, através de teste de flexão de três pontos universais na máquina universal de ensaio (MUE), na qual a força foi aplicada perpendicularmente ao eixo longitudinal do osso, na porção medial em velocidade constante de 0,5 cm/min até o momento da ruptura do osso com a capacidade da célula de carga de 200 kgf. As extremidades dos ossos foram apoiadas em dois rolos de diâmetro de 3 mm e o raio de 21,70 mm. A força máxima (N), a força de ruptura (N) e o módulo elástico (MPa) foram obtidos por *software*.

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa GraphPad Prism (versão 5.00, 2007, San Diego, USA). Todos os resultados foram analisados pelo teste *t* de Student e expressos como média ± erro-padrão da média (EPM), considerando-se o nível de significância de $p < 0,05$.

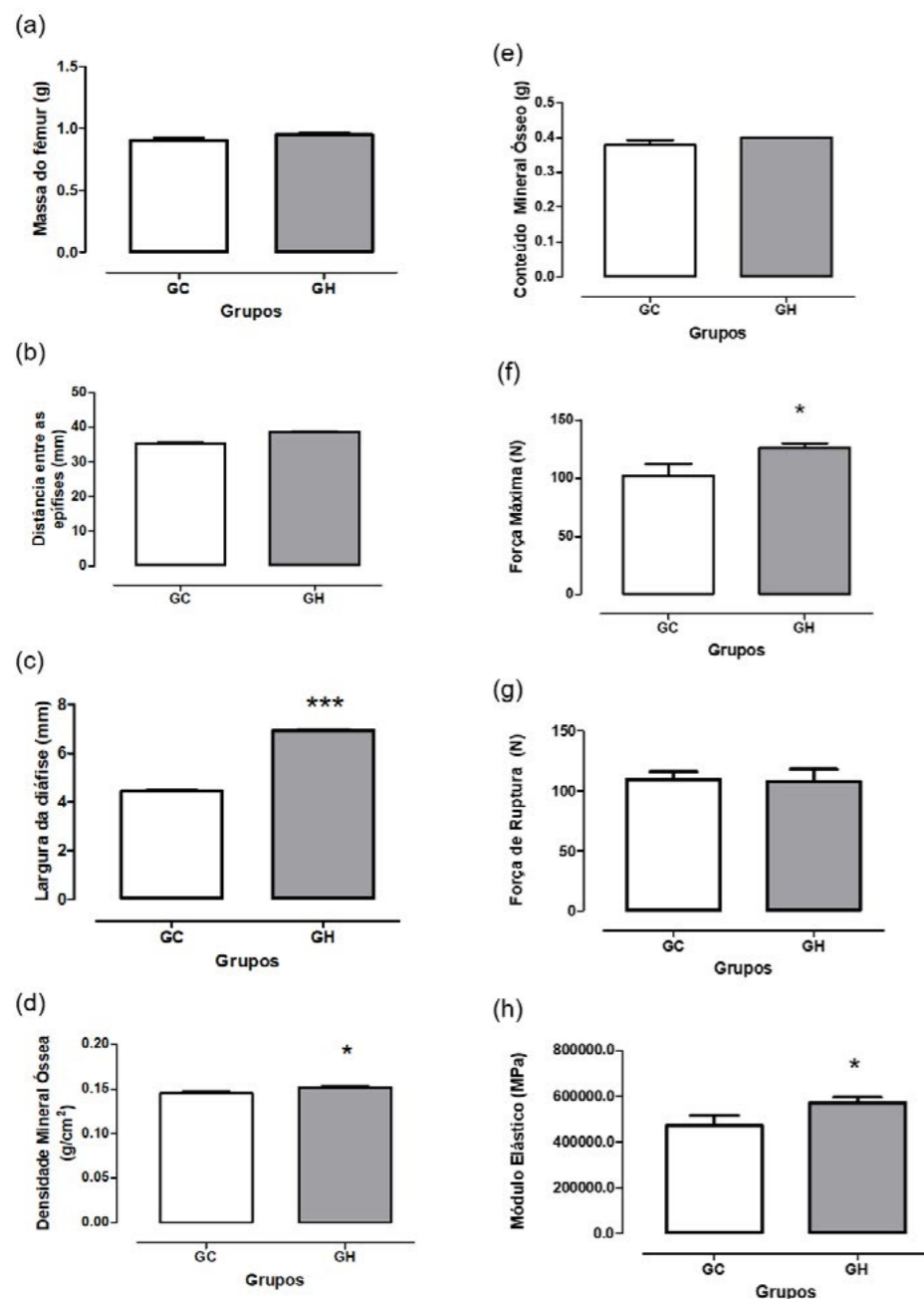
RESULTADOS

Massa do fêmur do GC (0,902±0,024g) e GH (0,949±0,012g, figura 1a), e a distância entre as epífises do GC (35,390±0,117mm) e GH (38,66±0,117mm, figura 1b) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. No entanto, foi observado que GH (6,938 ±0,030 mm) apresentou maior ($p < 0,05$, figura 1c) largura da diáfise com relação ao GC (4,430±0,040 mm).

Em relação à composição óssea femural, foi observado maior ($p < 0,05$, figura 1d) DMO do GH (0,15±0,001g/cm²) em relação ao GC (0,144±0,002g/cm²). Não se observou diferença significativa (figura 1e) na CMO do GC (0,376±0,016g) e GH (0,4±0,0g).

No teste biomecânico, foi observado que a força máxima do GC = 102,200±10,210N e GH = 126,100±4,341N (figura 1f) e o módulo elástico (GC = 471415±44457Mpa e GH = 570013±24575Mpa, figura 1h) foram maiores no grupo hiperlipídico ($p < 0,05$). A força de ruptura (GC = 109,200±6,880N e GH = 107,600±10,460N, figura 1g) não apresentou diferença significativa entre os grupos (figura 1).

Figura 1. Parâmetros ósseos (Niterói-RJ, 2018)



GC (grupo controle) e GH (grupo hiperlipídico). A – Massa do fêmur; B – distância entre as epífises; C – largura da diáfise; D – densidade mineral óssea; E – conteúdo mineral ósseo; F – força máxima; G – força de ruptura; H – módulo elástico do grupo controle e do grupo experimental até completarem 120 dias de vida. * Diferença estatística entre os grupos (*t* Student).

DISCUSSÃO

No presente estudo, foram avaliados os efeitos da dieta hiperlipídica contendo gordura saturada, proveniente de banha de porco, sobre a estrutura óssea de ratos *Wistar* do sexo masculino. Ao final do período experimental, observou-se que os fêmures dos animais do GH apresentaram maior largura do ponto médio da diáfise, densidade mineral óssea e maior resistência à fratura óssea.

Esses dados se contrapõem aos de outros estudos, em que Dong et al.⁷ afirmam que uma dieta rica em gordura saturada resultou em perda óssea agravada e estrutura óssea comprometida. Outro estudo, de Parhami et al.,⁸ sugere que a gordura saturada afeta negativamente o osso, inibindo a diferenciação osteoblástica. E Wohl et al.⁹ afirmam que a gordura saturada contribui com consequências na saúde esquelética, afetando a composição do osso e resultando em patologias como a osteoporose.

Em outro estudo, que nossos dados corroboram, Wang et al.¹⁰ verificaram que uma alta ingestão de gordura com ácidos graxos saturados afetou negativamente a DMO total e femoral durante o crescimento em estudos com ratos, mas não conseguiu se associar ao comprometimento da qualidade óssea.

CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou que os efeitos da dieta hiperlipídica, contendo gordura saturada, influenciou na qualidade óssea. Portanto, concluímos que a ingestão da banha de porco durante o desenvolvimento ósseo alterou a estrutura óssea, mas não reduziu a qualidade óssea inferior.

REFERÊNCIAS

1. Tres LL, Kierszenbaum AL. Histologia e biologia celular – uma introdução à patologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012.
2. Voser RC. Comparação da densidade mineral óssea entre homens de meia idade que exercem diferentes tipos de atividades profissionais. Porto Alegre. Tese [Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde] - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2006.
3. Cohen A, Dempster DW, Recker RR, Lappe JM, Zhou H, Zwahlen A, et al. Abdominal fat is associated with lower bone formation and inferior bone quality in healthy premenopausal women: A transiliac bone biopsy study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:2562-72.

4. Anderson JJB. Nutrição e saúde óssea. In: Mahan LK, Escott-Stump S. Krause, alimentos, nutrição e dietoterapia. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p. 614-635.
5. Rosen CJ, Klibanski A. Bone, fat and body composition: evolving concepts in the pathogenesis of osteoporosis. *Am J Med* 2009;122:409-14.
6. Junqueira LC, Carneiro J. Tecido adiposo. In: Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia Básica*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 125-129.
7. Dong X, Li C, Cao S, Zhou L, Wong M. A High-Saturated-Fat, High-Sucrose Diet Aggravates Bone Loss in Ovariectomized Female Rats. *J Nutr* 2016; 117:2-79.
8. Parhami F, Tintut Y, Beamer W, Gharavi N, Goodman W, Demer L. Atherogenic High-Fat Diet Reduces Bone Mineralization in Mice. *J Bone Miner Res* 2001;16:182-8.
9. Wohl GR, Loehrke L, Watkins BA, Zernicke RF. Effects of High-Fat Diet on Mature Bone Mineral Content, Structure, and Mechanical Properties. *Calcif Tissue Int* 1998;63:74-9.
10. Wang Y, Dellatore P, Douard V, Qin L, Watford M, Ferraris RP et al. High fat diet enriched with saturated, but not monounsaturated fatty acids adversely affect femur, and both diets increase calcium absorption in older female mice. *Nut Res* 2016; 36: 742-50.

Colaboradores

Nunes HMV atuou no cuidado dos animais, coleta dos ossos, análise dos parâmetros ósseos, redação do artigo, versão final e concepção. Pereira AD participou na análise estatística dos parâmetros ósseos, elaboração de gráfico e discussão dos dados. Brasil SC, Armada L e Santos R participaram na execução do delineamento experimental. Boaventura GT coorientou o estudo. da Costa CAS participou na análise, interpretação de dados, desenho do estudo e orientação do estudo.

Conflitos de interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Recebido: 17 de maio de 2018

Revisado: 17 de janeiro de 2019

Aceito: 26 de janeiro de 2019