



Resumo do Projeto de Pesquisa

Título: Avaliação da Biodisponibilidade de Ácidos Graxos Ômega-3

Autor: Tiago Augusto Bento

Orientador: Prof. Dr. Dennys Esper Cintra

1. JUSTIFICATIVA

Existe uma enorme lacuna nas ciências nutricionais no que tange a compreensão sobre o requerimento nutricional de ácidos graxos ômega-3. Suspeitamos que a taxa de bioconversão de ácidos graxos ômega-3 do tipo alfa-linolênico (ALA) em eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) seja determinada de forma tecido-específica. Após a bioconversão, cada tecido parece devolver quantidade específica de EPA e DHA à circulação. Traçar tais características é meta importante para a nutrição, com prospecção semelhante aos humanos.

2. OBJETIVO GERAL

2.1- Objetivo Geral

Avaliar a capacidade absorptiva do ácido graxo alfa-linolênico por diferentes tecidos de camundongos C57BL/6J, e sua bioconversão em espécies longas como EPA e DHA.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais:

Para melhor conhecimento das técnicas de gavagem, extração e cromatografia, as datas para as retiradas dos animais se deu em duas etapas, ficando para o semestre da realização deste projeto, contando com pequenas alterações de cronograma na proposta inicial.

Todos os animais (n=4/grupo) foram mantidos em ração comercial e água *ad libitum*, por uma semana para adaptação ao biotério do LabGeN, em condições de luz (ciclo claro/escuro 12h/12h) e temperatura (22 °C +-1)



controladas. Previamente à data do experimento, os animais foram mantidos em jejum alimentar por 8 horas. Posteriormente foi administrado, via gavagem, 0,5 mL de óleo de semente de linhaça (OL), fonte alimentar de ômega-3 – ALA (58%). Posteriormente os animais foram anestesiados (cetamina 300 mg/kg e xilazina 30 mg/kg) e, após perda dos reflexos pedais e corneais, os camundongos foram eutanasiados para coleta dos tecidos de interesse (sangue, pulmão e testículo). A organização do experimento se deu de acordo com o disposto na tabela 1.

3.2 – Procedimentos com os tecidos

O sangue foi submetido inicialmente à centrifugação a 1500 r.p.m, durante 15 minutos, para separação do soro. Assim, o soro e os fragmentos do pulmão e testículo foram armazenados em tubos plásticos de 2 mL, e armazenados no freezer -80 °C até data da análise.

Devido, sobretudo as imposições colocadas pela atual pandemia as análises dos tecidos precisou sofrer alterações. Inicialmente todos os tecidos removidos seriam analisados, mas apenas sangue e pulmão foram processados para análise cromatográfica.

4. RESULTADOS

4.1 – Análise do perfil cromatográfico dos ácidos graxos obtidos do soro

A figura 1 mostra o perfil lipídico encontrado no soro dos animais dos seis grupos experimentais. Pode-se notar a linearidade nos resultados encontrados, para todos os ácidos graxos. A curva para o ácido linolênico (ALA) se comportou como esperado, partindo de concentração zero, atingindo platô e finalizando novamente em baixa concentração. Para ambos os ácidos graxos mais longos, EPA e DHA, houve pequeno incremento entre os tempos de 2 e 4 horas, parecendo terem sido influenciados pelo ALA, em comparação ao tempo inicial de cada um, seguidos por regularização em sua cinética.

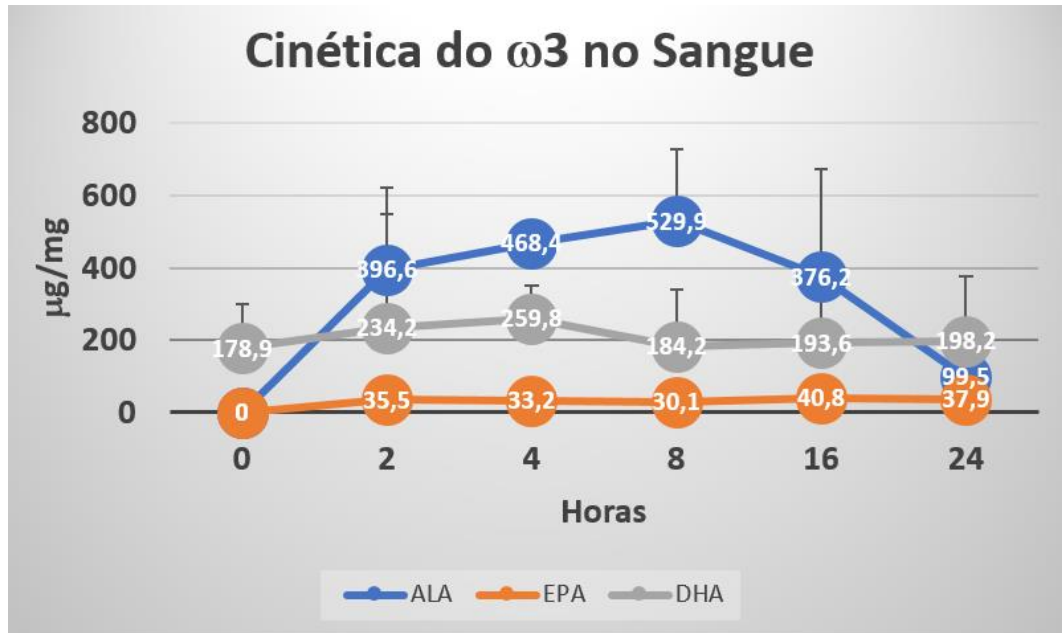


Figura 1: Perfil de ácidos graxos do soro de camundongos tratados com óleo de linhaça.

4.2 – Análise do perfil cromatográfico dos ácidos graxos obtidos do Pulmão

A figura 2 mostra o perfil lipídico encontrado no pulmão dos animais dos grupos experimentais. Diferente do comportamento encontrado no sangue, o ALA não se comportou linearmente, com aumentos e quedas sequenciais. O DHA manteve comportamento linear, e não pareceu ter sido influenciado pelo ALA. O EPA não foi detectado no tecido pulmonar, contudo, isso parece estar de acordo com dados da literatura. Curiosamente, um ácido graxo da família $\omega 3$, mas de ocorrência incomum, o docosapentaenóico – DPA – surgiu no pulmão em concentração importante. O DPA manteve concentração constante em todos os tempos, mas triplicou no tempo 16 horas, mostrando possível influência do ALA. Já o DHA, apesar de ter sido detectado em concentração significativa, não apresentou alterações ao longo do tempo de administração de ALA.

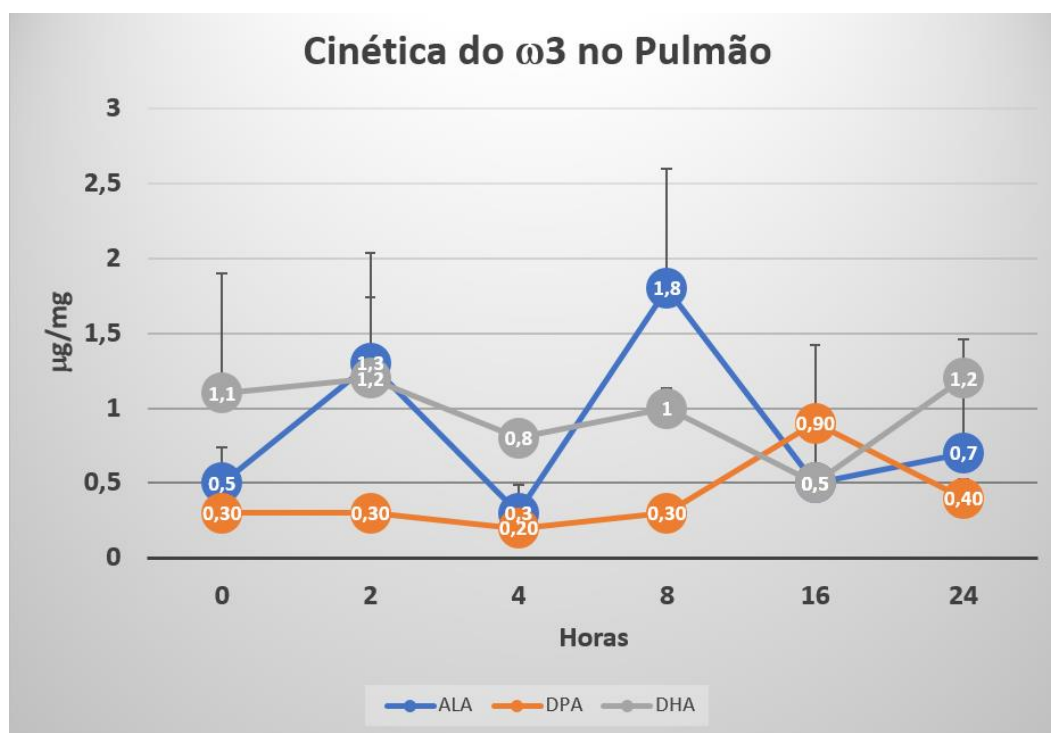


Figura 2: Perfil de ácidos graxos do pulmão de camundongos tratados com óleo de linhaça.

5. CONCLUSÃO

Existe enorme lacuna nas ciências nutricionais no que tange a compreensão sobre o requerimento nutricional de ω 3. Há suspeitas de que a taxa de bioconversão de ω 3 do tipo ALA em EPA e DHA seja determinada de forma tecido-específico e que após a bioconversão, cada tecido parece devolver quantidade específica de EPA e DHA à circulação. Tais pontos não foram totalmente esclarecidos no presente projeto devido as dificuldades encontradas na pandemia. Porém é necessário que os mesmos procedimentos sejam realizados com os demais tecidos e em número maior de animais por grupo. É importante que mais estudos abordem as vertentes relacionadas aos ácidos graxos, pois traçar tais características é de suma importância para a nutrição, com projeção semelhante aos humanos.



Tabela 1: Organização dos animais

ORGANIZAÇÃO DOS ANIMAIS

Grupo/Tempo	0h	2h	4h	8h	16h	24h
Numeração	25,17, 18, 19	20, 21, 22, 23	6, 7, 8, 24	9, 10, 11, 26	27, 28, 29, 30	12, 13, 14, 15

1ª leva e procedimentos (11 e 12/02/2020)

Tempo/Grupo	0h		2h			4h			8h			16h		24h			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	12	13	14	15
Jejum/Horário	00:00		00:00			00:00			00:00			08:00		08:00			
Gavagem/Horário	08:05		08:07			08:10			08:15			16:02		16:05			
Extração/Horário	-		-			12:15			16:05			-		16:01			

11/02/2020 12/02/2020

2ª leva e procedimentos (10, 11 e 12/03/2020)

Tempo/Grupo	0h				2h				4h	8h	16h				24h
	25	17	18	19	20	21	22	23	24	26	27	28	29	30	-
Jejum/Horário	00:00				00:00				00:00	00:00	09:00				-
Gavagem/Horário	08:07	08:19	08:34	08:47	07:57	07:58	07:59	08:00	08:11	07:50	17:00	17:02	17:03	17:06	-
Extração/Horário	08:12	08:23	08:37	08:50	09:58	10:10	10:20	10:32	12:13	16:00	09:01	09:15	09:24	09:34	-

10/03/2020 11/03/2020 12/03/2020