



SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA COM ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS PROMOVEM ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGIAS HEPÁTICAS EM RATAS WISTAR

Eduarda MartinowskiHenriques Guia¹, Douglas Moritz Moreira², Matheus Felipe Zazula³

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Curitiba-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/ICETI- UniCesumar. duda.mhguia@gmail.com

²Acadêmico do Curso de Biologia, Campus Politécnico, Universidade Federal do Paraná - UFPR. douglasmoritzmoreira@gmail.com

³Orientador, Mestre, Docente no Curso de Biomedicina, UNICESUMAR. matheusazazula@gmail.com

RESUMO

Este estudo investigou os efeitos da suplementação crônica com ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6) em ratas *Wistar*, avaliando impactos corporais, bioquímicos e histopatológicos hepáticos. Embora reconhecidos por seus benefícios cardiovasculares e anti-inflamatórios, o consumo excessivo desses ácidos pode estar relacionado a distúrbios metabólicos, como diabetes, obesidade e síndrome metabólica (SM). Foram utilizados nove grupos experimentais, incluindo controle e suplementados com n-3 ou n-6 por quatro semanas. As análises mostraram que, apesar de não haver diferença significativa no peso corporal ou índice de Lee, houve aumento da adiposidade visceral e redução do peso relativo do fígado e pâncreas nos grupos suplementados. Bioquimicamente, observaram-se elevação da glicemia, colesterol total, LDL e triglicerídeos, além de redução do HDL, caracterizando dislipidemia e resistência à insulina. Histologicamente, fígados de animais suplementados apresentaram aumento de macrófagos, infiltrado inflamatório, hepatócitos binucleados, degeneração hidrópica, esteatose e necrose, indicando lesão hepática e inflamação crônica de baixo grau. Esses achados sugerem possível desenvolvimento de SM, mesmo sem alteração visível no peso total dos animais, corroborando a existência de indivíduos metabolicamente obesos com peso normal (MOPN). Conclui-se que a suplementação crônica de n-3 e n-6, sem ajuste dietético, pode promover disfunções metabólicas e alterações hepáticas significativas, reforçando a necessidade de equilíbrio na razão n-6/n-3 (ideal de 6:1) na dieta para evitar efeitos adversos associados ao consumo excessivo de AGPI.

PALAVRAS-CHAVE: Ômega 3; Ômega 6; Esteatose hepática; Fígado; Síndrome metabólica.

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos (AG) são lipídios essenciais à reserva energética e à estrutura das membranas celulares (Huang et al., 2023), podendo ser saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) ou poli-insaturados (AGPI) conforme suas ligações duplas (Khan et al., 2023). Entre os AGPI, destacam-se o ácido linolênico (ômega-3) e o linoleico (ômega-6), obtidos apenas pela dieta (Belury, 2023). O ômega-3 está presente em peixes de águas frias e sementes como chia e linhaça, enquanto o ômega-6 é encontrado em óleos vegetais e oleaginosas (Costa, 2021). A OMS recomenda uma razão n-6/n-3 de ~6:1, mas a dieta ocidental atual chega a 16:1 devido ao alto consumo de alimentos processados (Akhgarjand et al., 2024; Khan et al., 2023). Embora AGPI promovam efeitos benéficos, como proteção cardiovascular e anti-inflamatória (Costa, 2021; Park et al., 2023), suplementações excessivas podem causar distúrbios metabólicos e favorecer a síndrome metabólica (Bassuk; Manson, 2023; Chen et al., 2023). Dada a capacidade regenerativa limitada do fígado frente a agressões crônicas (Díaz et al., 2023), é importante investigar os impactos da suplementação prolongada de n-3 e n-6 nesse órgão.

2 MATERIAIS E MÉTODOS



O presente estudo foi conduzido em conformidade com as Diretrizes Brasileiras para o Cuidado e Uso de Animais para Fins Científicos e de Ensino (CONCEA) e com as diretrizes internacionais (du Sert et al., 2020), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR, protocolo nº 1459/2022). Foram utilizadas ratas Wistar com aproximadamente 120 dias de idade, mantidas em biotério sob condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro, com água e ração ad libitum. Após um período de 10 dias de aclimação, os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais: Grupo Controle, composto por fêmeas sem suplementação; Grupo SPL3, suplementado diariamente por via oral com 4 g/kg de extratos marinhos ricos em ácidos graxos ômega-3; e Grupo SPL6, suplementado diariamente por via oral com 4 g/kg de extratos vegetais ricos em ácidos graxos ômega-6. A suplementação foi administrada por 4 semanas consecutivas, com o volume ajustado ao peso de cada animal por meio de pipeta de volume regulável. A randomização foi realizada após o período de aclimação, e as etapas de administração e análise foram conduzidas por pesquisadores diferentes, assegurando cegamento parcial do estudo. A suplementação foi administrada por gavagem, com doses ajustadas ao peso corporal. Ao final do período experimental, os animais foram anestesiados para coleta de sangue e remoção de fígado e pâncreas. Foram realizadas análises corporais (peso corporal, índice de Lee e peso relativo dos órgãos), bioquímicas (glicemia, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL) e histopatológicas, avaliando parâmetros como presença de macrófagos, infiltrado inflamatório, hepatócitos binucleados, degeneração hidrópica, esteatose e necrose. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA seguida de pós-teste de Tukey, considerando-se significância para $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS CORPORAIS

Nas características corporais (Figura 1), não foram observadas diferenças entre os grupos quanto ao peso corporal e ao índice de Lee. Entretanto, o peso relativo do fígado e do pâncreas foi reduzido nas ratas suplementadas, independentemente do tipo de AGPI utilizado. Por outro lado, a adiposidade abdominal apresentou aumento significativo nos grupos suplementados em comparação ao grupo controle, indicando acúmulo de gordura central associado à suplementação.

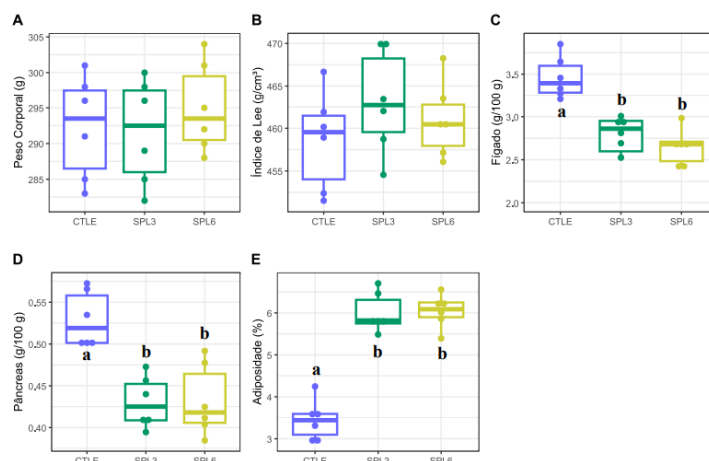


Figura 1 - Boxplots das características corporais



Fonte: Elaborada pelo autor

Legenda: Boxplots de A: Peso Corporal (g); B: Índice de Lee (g/cm^3); C: Peso do Fígado (g/100 g de peso corporal); D: Peso do Pâncreas (g/100 g de peso corporal); E: Adiposidade Visceral (%). Em azul, grupo controle; Em verde, grupo suplementado com n-3; Em amarelo, grupo suplementado com n-6. Dados analisados pelo teste de ANOVA, letras diferentes mostram intervalos de confiança diferentes.

3.2 PERFIL PLASMÁTICO

No perfil plasmático, a glicemia e a albumina foram maiores no grupo controle em relação aos suplementados, enquanto a insulina permaneceu estável entre todos. O grupo SPL6 apresentou aumento de triglicérides e LDL, além de redução de HDL, configurando um perfil lipídico mais desfavorável em comparação ao controle e ao SPL3. O colesterol total foi mais baixo no controle do que nos grupos suplementados, que não diferiram entre si. Já o ácido úrico foi mais elevado no controle em relação aos suplementados. Esses achados sugerem que a suplementação crônica, sobretudo com SPL6, associada a alterações metabólicas e a um perfil lipídico prejudicial.

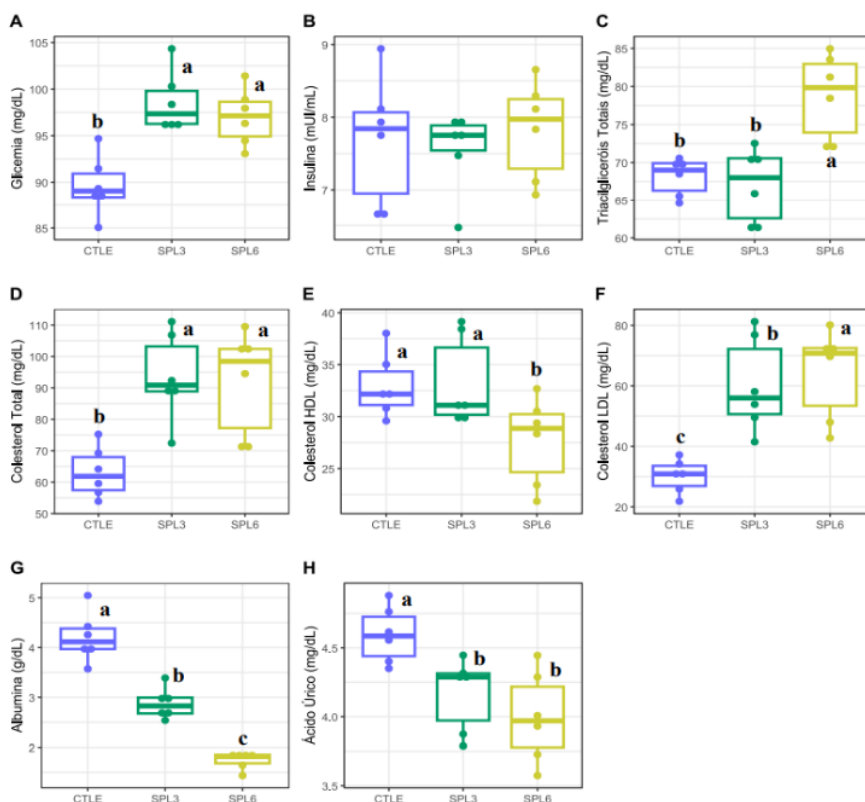


Figura 2 – Boxplots do perfil plasmático

Fonte: Elaborada pelo autor

Legenda: Boxplots de A: Glicemia (mg/dL); B: Insulina (mUI/mL); C: Triglicérides Totais (mg/dL); D: Colesterol Total (mg/dL); E: Colesterol HDL (mg/dL); F: Colesterol LDL (mg/dL); G: Albumina (g/dL); H: Ácido Úrico (mg/dL). Em azul, grupo controle; Em verde, grupo suplementado com n-3; Em amarelo, grupo suplementado com n-6. Dados analisados pelo teste de ANOVA, letras diferentes mostram intervalos de confiança diferentes.



3.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

As seções hepáticas (Figura 3) das ratas controle (CTLE) apresentaram arquitetura típica, com hepatócitos organizados em cordões regulares, predominância de células mononucleadas, poucos binucleados e distribuição vascular normal. Os macrófagos residentes eram escassos, assim como leucócitos, e havia sinais mínimos de hiperemia ou esteatose. Nos grupos suplementados (SPL3 e SPL6), observou-se redução no número de hepatócitos, dilatação de sinusoides, aumento de macrófagos e leucócitos, maior presença de hiperemia e macrovesículas lipídicas, além de degeneração hidrópica, focos necróticos e elevação de hepatócitos binucleados.

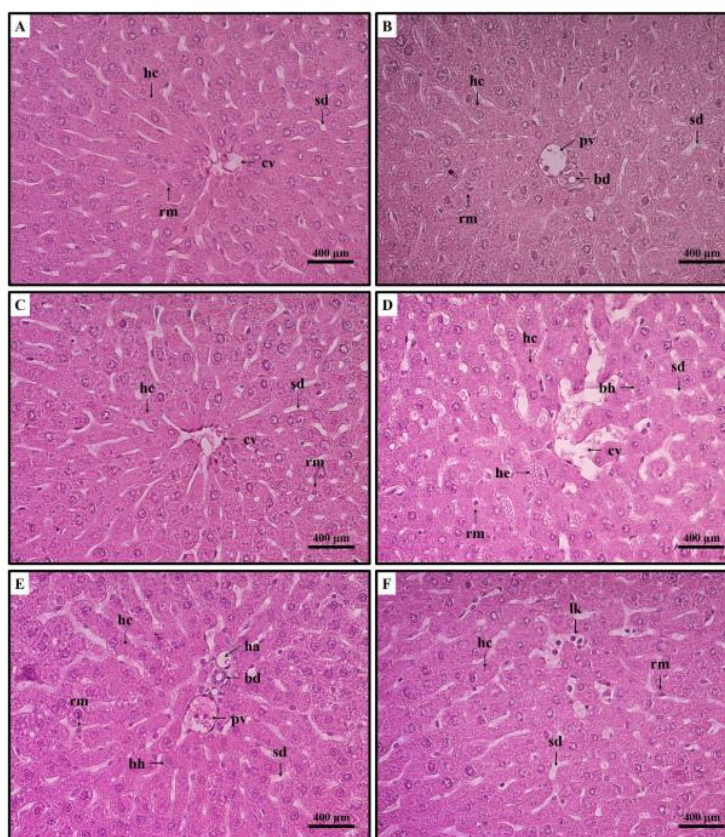


Figura 3 - Prancha histológica do fígado

Fonte: Elaborada pelo autor

Legenda: Fotomicrografias de seções do fígado a 7 μ m submetidas à coloração HE para análises morfológicas e estereológicas (A-F), n = 6 por grupo. A e B: Grupo Controle; C e D: grupo suplementado com óleo de peixe; E e F: grupo suplementado com óleo de soja.

A suplementação crônica com ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) para restabelecer a razão n-6/n-3 (6:1), em comparação à proporção média brasileira (16:1), sem reeducação alimentar, resultou em alterações metabólicas e histológicas em ratas nulíparas. Independentemente do tipo de AGPI, observaram-se sinais de obesidade, resistência à insulina, dislipidemia e lesões hepáticas, como necrose, degeneração hidrópica e esteatose microvesicular.



Os AGPI essenciais, ácido linolênico (n-3) e ácido linoleico (n-6), exercem efeitos anti e pró-inflamatórios (Beretta, 2020), mas o excesso pode induzir disfunções metabólicas e hepáticas (Bassuk, 2023). Dietas ocidentais, ricas em n-6 e pobres em n-3, atingem proporções de 20:1 a 30:1 (Wehrhahn, 2024) e favorecem a síndrome metabólica (SM), inclusive em indivíduos metabolicamente obesos de peso normal (MOPN) (Quek et al., 2023; Trujillo et al., 2023).

No experimento, houve redução do peso relativo de fígado e pâncreas, acompanhada de danos estruturais (Sevim et al., 2023; Demaria et al., 2023) e perfil bioquímico alterado: aumento de glicemia, triglicerídeos, colesterol total e LDL, e redução de HDL (Feingold et al., 2023; Nussbaumerova et al., 2023). Tais achados indicam que o desequilíbrio crônico de n-3 e n-6 induz alterações compatíveis com SM, favorecendo obesidade, diabetes tipo 2, dislipidemia e lesões hepatopancreáticas (Mohamed et al., 2023; Masenga et al., 2023; Swarup et al., 2023; Butnariu et al., 2023).

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a suplementação crônica com ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6 esteve associada, em ratas Wistar, a inflamação de baixo grau e alterações compatíveis com sinais iniciais de síndrome metabólica, incluindo aumento da adiposidade visceral, elevação da glicemia, modificações no perfil lipídico (triglicerídeos e LDL elevados, HDL reduzido) e disfunções hepáticas. As análises histológicas evidenciaram inflamação hepatocitária, presença de macrófagos, infiltrado inflamatório, hepatócitos binucleados, degeneração hidrópica, esteatose e necrose. Esses achados reforçam a importância de investigar a influência da suplementação crônica de diferentes ácidos graxos no metabolismo e na saúde hepática, embora sejam necessários estudos adicionais, inclusive em outros modelos, para confirmar e ampliar essas observações.

REFERÊNCIAS

AKHGARJAND, C. et al. The effect of conjugated linoleic acid supplementation in comparison with omega-6 and omega-9 on lipid profile: a graded, dose–response systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Nutrition*, Tehran, v. 11, p. 1-20, mar. 2024.

AMBROSELLI, D. et al. New Advances in Metabolic Syndrome, from Prevention to Treatment: The Role of Diet and Food. *Nutrients*, Rome, v. 15, n. 3, p. 1-38, jan. 2023.

BASSUK, S. S.; MANSON, J. E. Marine omega-3 fatty acid supplementation and prevention of cardiovascular disease: update on the randomized trial evidence. *Cardiovascular Research*, Boston, v. 119, n. 6, p. 1297–1309, jun. 2023.

BELURY, M. A. Linoleic acid, an omega-6 fatty acid that reduces risk for cardiometabolic diseases: premise, promise and practical implications. *Clinical Nutrition and Metabolic Care*, Columbus, v. 26, n. 3, p. 288-292, mai. 2023.