

Comparação Morfológica e Bioquímica entre Ratos Envelhecidos Alimentados com Dieta Hiperlipídica e com Óleo de Canola

Márcia Barbosa Águila, Mara Ibis Rodrigues Apfel, Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda

Rio de Janeiro, RJ

Objetivo - Observar as alterações cardiovasculares e do metabolismo lipídico devidas a dieta com óleo de canola (rica em ácido graxo n-3).

Métodos - Quarenta e cinco ratos foram acompanhados do nascimento até 15 meses de idade, divididos em três grupos. O grupo I, constituído de ratos que envelheceram normalmente recebeu dieta balanceada, servindo de grupo controle. No grupo H, receberam dieta hiperlipídica e, no grupo O, dieta com óleo de canola. A administração das dietas iniciou logo após o desmame. No final do experimento foi feita análise lipídica e o coração e a aorta foram medidos e analisados. Os lipídios totais foram extraídos e as lipoproteínas (LDL, HDL e VLDL) e frações de quilomícrons foram determinadas.

Resultados - O colesterol total e os triglicerídeos não foram diferentes entre os grupos ($p > 0,05$). Foram diferentes os pesos corporal e cardíaco, as espessuras das paredes livres dos ventrículos direito (VD) e esquerdo (VE), os diâmetros internos da aorta e da artéria pulmonar, a HDL e a LDL ($p < 0,05$). Os menores valores do peso cardíaco e da espessura do VD e VE foram os do grupo O. Os diâmetros da aorta e da artéria pulmonar foram menores no grupo H. A HDL foi cerca de 40% maior no grupo O, e a LDL foi mais que 80% menor que no mesmo grupo. As curvas de sobrevivência foram diferentes comparando os grupos HxI e HxO ($p < 0,05$), mas não foi significativa entre os grupos IxO ($p = 0,48$).

Conclusão - Ratos envelhecidos sob dieta com adição de óleo de canola (rico em ácido graxo n-3) mostraram alterações morfológicas do coração e metabólicas menos intensas que animais idosos e, principalmente, animais da mesma idade sob dieta hiperlipídica.

Palavras-chave: HDL, LDL, ácido graxo n-3

Morphological and Biochemical Comparison among Aged Rats Fed with Hyperlipidic and Canola Oil Diet

Purpose - To observe cardiovascular and metabolic changes due to canola oil diet (rich in n-3 fatty acid).

Methods - Forty five rats were followed during 15 months separated in three groups. In group aged (A), they received a regular diet. In group H, animals received a hyperlipidic diet and in group O they received a canola oil diet. The rats were fed for 15 months after weaning. At the end of the experience a blood analysis was performed and heart and aorta were analyzed. The total lipids were extracted and the LDL, VLDL and HDL were determined.

Results - Total cholesterol and triglyceride levels were not different among groups. Differences were found in body and cardiac weight, the thickness of the right and left ventricular wall, aorta and pulmonary diameters, HDL and LDL ($p < 0,05$). Smallest values of the cardiac weight and thickness of the ventricular walls were found in group O. The aorta and pulmonary internal diameters were smaller in group H. The HDL was 40% greater in group O than in groups A and H while the LDL was more than 80% lower in group O than in groups A and H. Differences in survival curves between groups H x A and between H x O were significant ($p < 0,05$) but not between groups A x O ($p = 0,48$).

Conclusion - Aged rats fed with canola oil diet (rich in n-3 fatty acid) presented morphological cardiovascular and metabolic changes less important in magnitude than old animals and, mainly, the same age animals under hyperlipidic diet.

Key-words: HDL, LDL, n-3 fatty acid

Arq Bras Cardiol, volume 68 (nº 3), 155-161, 1997

Laboratório de Morfometria e de Morfologia Cardiovascular, Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia - UERJ

Correspondência: Márcia Barbosa Águila - Lab. de Morfometria e Morfologia Cardiovascular Centro Biomédico, Inst. de Biologia - UERJ - Av. 28 de Setembro, 87 (fundos), 20551-030 - Rio de Janeiro, RJ

Recebido para publicação em 17/8/96

Aceito em 4/12/96

As doenças cardiovasculares, sabemos, são as causas principais de morbidade e mortalidade no mundo ocidental¹. As doenças coronárias são responsáveis por cerca de 70 a 80% das mortes em indivíduos acima de 65 anos^{2,3}. Além disso, a epidemiologia do desenvolvimento da aterosclerose mostra sua correlação com as concentrações plas-

máticas das lipoproteínas; correlação positiva com a LDL-C e negativa com a HDL-C⁴⁻⁹.

Um estudo projetado para o ano 2030 estima, que nos Estados Unidos, um em cada cinco indivíduos terão mais de 65 anos naquela data (aproximadamente 35 milhões de pessoas)¹⁰, impondo um conhecimento melhor sobre a influência da manipulação da gordura dietética durante o envelhecimento.

Atualmente, tem-se estudado os efeitos do ácido graxo n-3 sobre a função cardiovascular. Os ácidos graxos n-3 têm cadeia longa e ocorrem naturalmente nos óleos de peixe e em alguns vegetais, como o óleo de canola^{11,12}. Os ácidos graxos n-3 clinicamente importantes incluem o ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3), ácido docosahexaenóico (C22:6n-3) e o ácido alfa-linolênico (C18:3n-3)¹³. As ações dos ácidos graxos n-3 são muitas, como, redução da incidência de obstrução de enxertos venosos¹⁴, profilaxia contra depressão¹⁵ e distúrbios de comportamento¹⁶, papel protetor nas doenças cardiovasculares¹⁷⁻²¹, redução do risco de artrite reumatóide^{22,23}, diminuição da resistência vascular periférica e diminuição da viscosidade sanguínea²⁴. Em fumantes, idosos e indivíduos com placa de ateroma pré-existente, o uso de ácido graxo n-3 diminuiu o risco de infarto do miocárdio, arritmia e trombose²⁵. O uso de ácido graxo n-3 também diminuiu a pressão sanguínea e os níveis de triglicérides séricos em hipertensos²⁶, além de reduzir o crescimento de tumor em animais de laboratório^{27,28}. A maioria dos trabalhos experimentais com ácidos graxos n-3 utilizam os ácidos docosahexaenóico e eicosapentaenóico purificados²⁹.

O objetivo do presente trabalho é estudar a morfologia cardiovascular mesoscópica e o metabolismo lipídico comparando animais idosos alimentados com dietas hiperlipídica e com óleo de canola (rica em ácido graxo alfa-linolênico).

Métodos

Quarenta e cinco ratos machos, Wistar foram acompanhados desde o nascimento até o final da experimentação. Os animais foram divididos em três grupos de 15 cada um. A partir dos 21 dias (que corresponde ao desmame no rato) até 15 meses de idade, os animais foram alimentados diferentemente. Um grupo foi constituído de ratos que envelheceram normalmente, recebendo durante todo o tempo uma dieta comercial balanceada. Os dois grupos restantes receberam dietas diferenciadas, apresentadas nas tabelas I e II. O grupo I, (idoso padrão) recebeu dieta padrão balanceada própria para ratos (Nuvilab®) e água *ad libitum*; grupo H, dieta hiperlipídica e água *ad libitum*; grupo O, dieta com óleo de canola e água *ad libitum*.

Os animais foram mantidos em caixas próprias (cinco animais por caixa) em ambiente apropriado com temperatura e ciclo de luz controlados, avaliados diariamente quando às condições de saúde e aceitação da dieta. Este procedimento repetiu-se ao longo de 15 meses e, após este período, foram sacrificados para estudo. Trinta minutos antes do

Tabela I - Composição das dietas hipercolesterolêmica e com adição de óleo de canola (g/kg de dieta)⁴⁷⁻⁴⁹

Alimento	Hipercolesterolêmica	Com óleo de canola
Caseal	57,5	57,5
Proteinato de cálcio	75,0	75,0
Clara de ovo	120,0	120,0
Maisena	150,0	150,0
Farinha de trigo	317,5	317,5
Manteiga	100,0	0
Gema de ovo	180,0	0
Óleo de canola	0	280,0
Mistura de vitaminas	20,0	20,0
Mistura de minerais	20,0	20,0

sacrifício era injetada heparina por via intraperitoneal, 25.000UI, sendo os animais anestesiados com inalação de éter sulfúrico, avaliados biometricamente com a medida do peso corporal e do comprimento vértice-cóccix, abrindo-se então, o tórax e expondo o coração, que era puncionado para a retirada de cerca de 2ml de sangue para análise lipídica. Depois, era injetado, no ventrículo esquerdo (VE), cerca de 1ml de KCl a 10% até a parada cardíaca em diástole.

Todos os animais foram perfundidos, através do VE, com grande volume de líquido de Bouin alcoólico. O coração e a aorta eram retirados e deixados neste mesmo líquido por uma noite. Após a fixação, os corações eram retirados, seccionando os vasos da base próximo ao órgão e pesados com acurácia de 0,01g. Então, os corações eram seccionados transversalmente, imediatamente abaixo do sulco coronário e as seguintes medidas eram tomadas sob observação em microscópio estereoscópico com ocular graduada e aferida: a) espessura da porção compacta das paredes livres dos ventrículos direito (VD) e VE, b) diâmetros internos da aorta e artéria pulmonar, imediatamente acima das valvas destas artérias.

Foi separado o soro por centrifugação (3000rpm/10min), do sangue coletado e deixado no congelador a -80°C

Tabela II - Composição de ácidos graxos das gorduras testadas (g%)^{10,50}

Ácidos graxos	Óleo de canola	Gema de ovo	Manteiga
4:0			3,40
6:0			1,90
8:0			1,26
10:0			2,89
12:0			3,62
14:0			11,80
14:1			0,36
16:0	5,4	25,0	32,61
16:1	0,30		2,5
18:0	1,60	10,00	12,47
18:1	56,30	50,0	24,90
18:2w6	25,0	10,0	0,64
18:3w3	8,40	2,0	1,51
20:0	0,60		
20:1	1,30		
22:0	0,40		
22:1	0,50		
22:2			
24:0	0,20	3,0	
P/S	4,17	0,3	0,03

	Peso do corpo (g)	Peso cardíaco (g)	VD (µm)	VE (µm)	Aorta (µm)	Pulmonar (µm)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
Controle	406,8±6,4	1,72±0,18	1723,2±88,1	3348,2±124,4	5250,0±94,5	5508,9±177,0	58,9±2,9	12,3±3,4
Hipercolesterolêmico	448,0±25,5	1,68±0,25	2055,0±287,02	3138,9±461,2	3763,9±484,3	4263,9±365,3	57,3±2,4	14,5±2,7
Ômega-3	454,9±11,3	1,37±0,16	1221,2±61,9	2557,7±390,7	5240,4±95,4	5855,8±119,8	80,5±4,8	2,2±1,3

Resultados estão apresentados como média ± erro padrão da média.

até a análise dos lipídios. Os lipídios totais foram extraídos de acordo com o método enzimático colorimétrico^{30,31}. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL e VLDL) e frações de quilomícrons foram precipitadas quantitativamente pela adição de ácido fosfotungstênico na presença de íons de magnésio. Após centrifugação, a concentração de colesterol na fração HDL (lipoproteína de alta densidade), que permanece no sobrenadante, foi quantificada. Para a determinação da LDL-colesterol foi utilizada a fórmula de Friedewald³²: LDL colesterol = colesterol total - HDL colesterol - VLDL colesterol, sendo que VLDL colesterol = triglicérides/5

A comparação das curvas de sobrevivência dos animais nos diferentes grupos foi feita com o teste de Mantel-Haenszel (T). Sendo a hipótese nula verdadeira, T tem distribuição aproximadamente como o c^2 com um grau de liberdade³³. As diferenças quantitativas entre os grupos de estudos foram testadas pela análise de variância e o teste de comparações múltiplas de Tukey. Em ambos os casos aceitou-se o nível de significância de 0,05, como sendo estatisticamente significativo³⁴.

Variáveis	Grupos	P
Peso do corpo	C x O	0,03
	C x H	NS
	H x O	NS
Peso cardíaco	C x O	0,0002
	C x H	NS
	H x O	0,003
Espessura do VD	C x O	0,0002
	C x H	0,04
	H x O	0,0001
Espessura do VE	C x O	0,0001
	C x H	NS
	H x O	0,01
Diâmetro da aorta	C x O	NS
	C x H	0,0003
	H x O	0,0004
Diâmetro da pulmonar	C x O	NS
	C x H	0,001
	H x O	0,0001
HDL	C x O	0,0004
	C x H	NS
	H x O	0,0007
LDL	C x O	0,02
	C x H	NS
	H x O	0,01

A probabilidade das diferenças serem diferentes de zero está assinalada (p). NS= não significativo (p>0,05).

Resultados

Ao fim do tempo de experimentação parâmetros comprimento V-C, colesterol total e triglicérides não foram diferentes, comparando os animais dos grupos I, H e O (p>0,05).

Os parâmetros pesos corporal e cardíaco, espessura das paredes livres do VD e VE, diâmetros da aorta e da artéria pulmonar, HDL e o LDL mostraram diferenças estatisticamente significativas (p<0,05):

A média do peso corporal dos animais do grupo O foi 11,8% maior que a do grupo I. O menor peso cardíaco foi encontrado nos animais do grupo O, que foi 18,5% menor que nos animais do grupo H e 20,4% menor que nos animais do grupo I (tab. III e IV, fig. 1).

Com relação as espessuras de VD e de VE o VD foi mais espesso no grupo H (19% maior que nos animais do

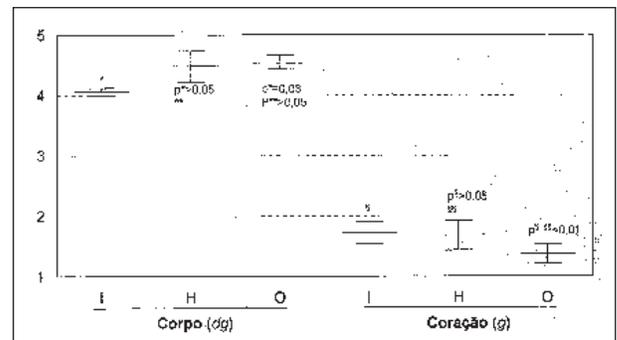


Fig. 1 - Gráfico da média ± erro padrão da média dos pesos corporal e do coração nos grupos I, H e O. Observe que as unidades do peso corporal e cardíaco são diferentes para manter a mesma ordem de grandeza (dg e g, respectivamente). Estão indicadas as probabilidades das diferenças serem estatisticamente significativas.

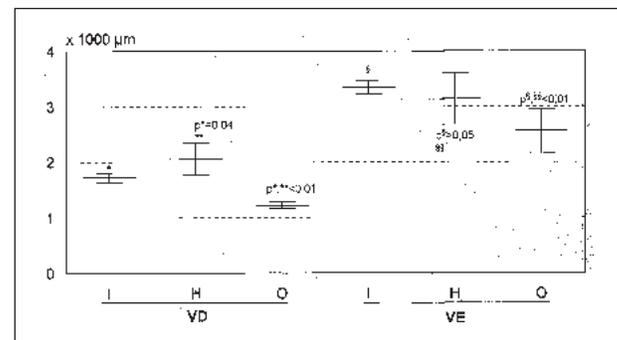


Fig. 2 - Gráfico da média ± erro padrão da média das espessuras das paredes livres dos ventrículos direito (VD) e esquerdo (VE) nos grupos I, H e O. Estão indicadas as probabilidades das diferenças serem estatisticamente significativas.

grupo I e 68% maior que no grupo O). O VD nos animais do grupo O foi o menos espesso (-29% que no grupo I). A espessura do VE nos animais do grupo O foi a menor dos três grupos, 18,5% menor que no grupo H e 23,6% menor que no grupo I (tab. III e IV, fig. 2).

Os diâmetros da aorta e da artéria pulmonar foram observados no grupo H, sendo para a aorta cerca de 28% menor que nos grupos I e O, e para a artéria pulmonar cerca de 23% menor que nos grupos C e O. Nestes diâmetros não houve diferença significativa entre os animais dos grupos I e O (tab. III e IV, fig. 3).

Analisando as diferenças significativas entre os grupos de estudo para o HDL e o LDL, observamos que o HDL foi cerca de 40% maior nos animais do grupo O em relação aos grupos I e H, enquanto que o LDL foi 80% menor no grupo O em relação aos grupos I e H (tab. III e IV, fig. 4).

Durante a execução do experimento, alguns animais morreram espontaneamente. A maior mortalidade ocorreu no grupo H, principalmente após um ano de experimentação. No grupo I um animal morreu no final do experimento, com 15 meses de idade. No grupo O, não se observou morte espontânea de animais. Estas diferenças foram significativas comparando os grupos H x I (T=5 ; p=0,03) e H x O (T=4,5 ; p=0,03), mas não foi significativa entre os grupos I x O (T=0,5 ; p=0,48). A figura 5 ilustra as curvas de sobrevivência dos animais/grupo.

Discussão

Comparada com a dieta hiperlipídica, a dieta com óleo de canola teve o efeito de elevar os níveis de HDL-C e de diminuir os níveis de LDL-C, dados de acordo com os resultados de estudos experimentais em animais, e epidemiológicos no homem, relatados na literatura³⁵⁻⁴⁰. Os altos níveis de HDL-C séricos, após os 15 meses de experimento com óleo de canola, poderiam ser devidos à grande quantidade de ácidos graxos alfa-linolênico (C18:3n3) da família n-3 (tab. II). A dieta com óleo de canola é caracterizada por uma maior quantidade de ácido graxo alfa-linolênico¹¹.

Os ácidos graxos alfa-linolênico são menos estudados que os outros ácidos graxos da série n-3, ácido eicosapentaenóico (C20:5n3) e o ácido docosahexaenóico (C22:6n3),

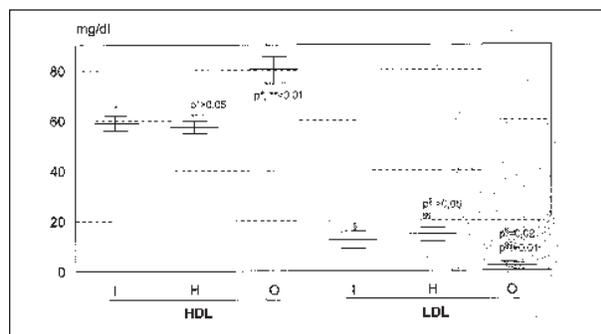


Fig. 4 - Gráfico da média ± erro padrão da média das concentrações plasmáticas da HDL e da LDL nos grupos I, H e O. Estão indicadas as probabilidades das diferenças serem estatisticamente significativas.

que estão presentes nos óleos de peixe e mamíferos marinhos⁴¹. A fonte de alfa-linolênico (C18:3n3) são alguns óleos vegetais, entre eles o óleo de canola¹¹. Quando ingerido, o ácido graxo alfa-linolênico é desnaturado e alongado para formar ácidos graxos de cadeia longa com 20 e 22 carbonos altamente insaturados⁴². Os ácidos graxos alfa-linolênico (C18:3n3) são ácidos graxos essenciais e substrato para a síntese de ácidos graxos poliinsaturados n-3 e n-6, incluindo o ácido eicosapentaenóico (C20:5n3), o ácido docosahexaenóico (C22:6n3), além do ácido aracdônico (20:4n-6)¹². Uma vez no organismo de mamíferos, esses ácidos graxos são convertidos a eicoesanoídes como prostaglandinas, tromboxanes, prostaciclina e leucotrienos⁴².

Berrettini e col⁴³ demonstraram que o uso de n-3 aumentou os níveis de HDL-C e LDL-C, assim como de TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*). O presente estudo demonstrou aumento de HDL-C, mas não o aumento de LDL-C, ocorrendo justamente o contrário (tab. IV). Entretanto, nossos resultados concordaram com o trabalho de Hartman e col³⁷, que observaram aumento de HDL-C e diminuição de LDL-C com a suplementação de ácidos graxos alfa-linolênico (C18:3n3) na dieta.

Estudos prévios demonstram que a regressão da aterosclerose correlaciona-se com a redução da LDL-C e aumento da HDL-C, diminuindo a morbidade e aumentando a longevidade de pacientes com doenças coronárias⁴⁴⁻⁴⁶. Segundo Burchfield e col⁴⁶, o risco de doenças ateroscle-

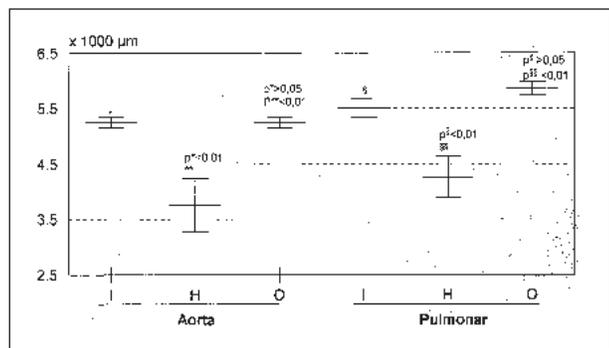


Fig. 3 - Gráfico da média ± erro padrão da média dos diâmetros internos da aorta e da artéria pulmonar nos grupos I, H e O. Estão indicadas as probabilidades das diferenças serem estatisticamente significativas.

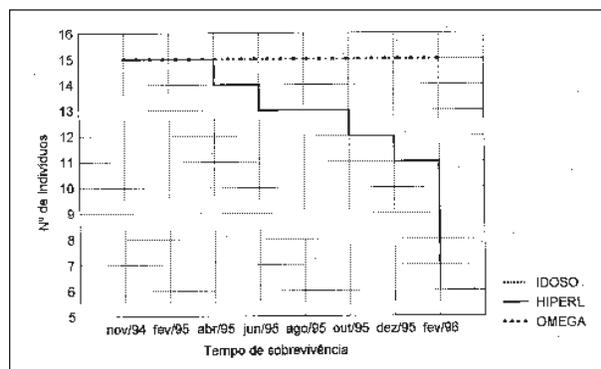


Fig. 5 - Curvas de sobrevivência dos animais nos grupos I, H e O. Há diferença significativa entre o grupo H e os outros grupos (p < 0,05).

róticas também está associado com baixos níveis plasmáticos de HDL-C e elevados de triglicerídeos. Lombargo e col⁴⁷ demonstraram que o uso de n-3 teve efeito redutor nos triglicerídeos plasmáticos, o que não foi observado no trabalho atual.

Os níveis séricos elevados de LDL⁴⁸ e de apolipoproteína (apo) estão associados com o processo de aterogênese e trombogênese⁴⁹. Lacoste e col⁴⁸ demonstraram que a correlação entre LDL e formação de trombose mural, não apenas intensifica a associação entre hiperlipidemia e trombose mural, como também apóia a possibilidade de que uma apreciável parte dos efeitos dos lipídios tenha sido mediada pela LDL. Nesse estudo, também observaram que não houve uma interação entre formação de trombo com a HDL ou com triglicerídeos, o que poderia indicar que estas frações lipídicas não teriam um papel importante na trombogênese, ainda que eles estejam implicados no processo de aterogênese. As apolipoproteínas fazem parte da estrutura das lipoproteínas. O núcleo das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) é composto por éster de colesterol e circundado por uma monocamada de fosfolipídio e antioxidantes lipofílicos, incluindo alfa-tocoferol, localizado na camada externa da molécula de LDL (protegendo a monocamada de fosfolipídio) e beta-caroteno, localizado no interior do núcleo (protegendo o éster de colesterol)⁵⁰. Dentro desta capa de fosfolipídio, encontra-se uma molécula de apo-B100, porção que serve como ligante para o receptor da LDL⁵¹⁻⁵⁴.

Além disso, existe uma outra anomalia biológica aterogênica, a concentração elevada de lipoproteína (a) [Lp(a)]^{55,56}. A Lp(a) é uma variação da LDL. De forma similar à LDL, o principal componente protéico da Lp(a) é a apo-B, mas existe uma outra grande molécula de glicoproteína, chamada de apolipoproteína (a) [apo(a)]. A apo(a) é geneticamente homóloga ao plasminogênio o que pode impedir o processo de fibrinólise^{49,57}. A Lp(a) é considerada um fator de risco independente para doenças coronárias^{55,58}. Estudo usando suplementação de ácido graxo poliinsaturado n-3 mostrou uma redução da Lp(a) de 20%⁵⁸. O atual trabalho não aferiu a quantidade de apo(B) ou de Lp(a), mas no grupo que recebeu dieta com óleo de canola, o nível sérico de LDL foi significativamente menor em comparação com os outros grupos ($p < 0,05$), estando o resultado em concordância com outros trabalhos^{52,54}.

Mais recentemente, tem-se atribuído a modificação da LDL, especificamente a oxidação desta lipoproteína, nos efeitos aterogênicos da LDL. Evidências mostram que a LDL oxidada inibe a produção e/ou a bioatividade do óxido nítrico, ou ainda, aumenta a taxa de degradação do óxido nítrico, que é um potente dilatador^{51,60-62}, além disso, as LDL oxidadas são captadas pelos macrófagos e provocam a formação das células espumosas, que são a origem da placa de ateroma⁵⁵. A LDL oxidada é captada pelos macrófagos três a 10 vezes mais rapidamente do que a LDL nativa, e esta última não leva a formação de células espumosas⁶³. Diante de todos esses efeitos desfavoráveis das lipoproteínas (aumento das LDL e da lipoproteína B, diminuição da

HDL, por exemplo) torna-se evidente a importância de proporcionar a diminuição da LDL e aumento da HDL.

É sabido que o uso de ácido graxo n-3 na dieta tem efeito protetor na função cardiovascular, reduzindo os níveis pressóricos, diminuindo a resistência vascular periférica e diminuindo a viscosidade sanguínea^{17-21,24,26}. A possibilidade dos ácidos graxos ômega-3 ter propriedade anti-aterosclerótica encoraja-nos a estudar cada vez mais este nutriente. Sugerem-se efeitos positivos dos ácidos graxos ômega-3 sobre o perfil dos lipídios plasmáticos e da viscosidade sérica e plasmática, como a função das plaquetas, algumas das quais mediadas pelos eicosanoídeos. Um estudo com pacientes com doença cardíaca isquêmica e hiperlipoproteinemia, usando cápsulas de óleo de peixe, demonstrou que houve diminuição da viscosidade plasmática e do fibrinogênio, da resistência periférica total e aumento da taxa cardíaca⁶⁴.

Outro trabalho sugere que ácidos graxos ômega-3 possuem efeitos favoráveis sobre a vasculatura, diminuindo a vasoconstrição e a tendência para a coagulação. Embora os ácidos graxos ômega-3 influenciem os tipos e quantidade dos eicosanoídeos formados *in vivo* e tenham ação antiplaquetária moderada, tais efeitos ainda não estão totalmente elucidados⁶⁵.

Um possível papel do ácido graxo alfa-linolênico (C18:3n-3) na prevenção de doenças cardiovasculares é relatado em um estudo populacional dos gregos mediterrâneos da ilha de Creta e dos japoneses da ilha de Kohama^{66,67}. Essas populações que apresentam as maiores expectativas de vida no mundo, assim como uma baixa taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares, possuem elevada concentração plasmática de C18:3n-3⁶⁶. No Japão, as principais fontes dietéticas de C18:3n-3 é a canola (36% de todos os óleos consumidos) e os óleos de semente de soja⁶⁷. Assim, as duas populações documentadas como as que possuem as maiores expectativas de vida (japoneses no Japão e gregos em Creta) têm uma alta ingestão de C18:3n-3.

Um outro efeito dos ácidos graxos ômega-3, mais especificamente o docosahexaenóico e eicopentaenóico, é a possível modificação da composição dos ácidos graxos em corações de ratos, modificando, em seguida, a permeabilidade do receptor de membrana da célula e assim influenciar a função cardíaca⁶⁸.

Nossos resultados concordam com o relato de Besse e col⁶⁹, sobre envelhecimento em ratos, que constataram que ratos senescentes apresentam aumento significativo dos pesos corporal e cardíaco em comparação aos ratos jovens.

O peso corporal dos animais do grupo O apresentou mais, na média, que nos animais dos grupos I e H, o que pode ser explicado pelo fato dos animais do grupo O terem recebido dieta com adição de óleo de canola, que é um pouco mais calórica que as outras duas dietas. Apesar disso, o grupo O foi o que apresentou menor peso cardíaco em relação aos outros grupos.

Vimos, igualmente, que a espessura da parede livre dos VD e VE foi menor nos animais do grupo O e maior no grupo H, fato que ainda não pode ser explicado, necessitan-

do de novos estudos para compreender o que aconteceu com o coração dos animais durante o experimento.

Freeman e col⁷⁰, em estudo sobre a variação de peso corporal e do coração, em ratos, observaram que existe redução da massa miocárdica correlacionada com a perda de peso corporal, o que não foi confirmado no nosso trabalho, pois a correlação entre peso corporal e peso cardíaco não foi estatisticamente significativa.

As curvas de sobrevivência dos animais foram diferentes entre os grupos HxI e HxO. A mortalidade dos animais foi maior no grupo H (9/15 óbitos ou 60% dos casos) que nos outros grupos: um óbito apenas nos grupos I e O (1/15 ou 6,7% dos casos, sendo que no grupo O *causa mortis* não foi natural e sim um acidente onde um animal escapou da gaiola e ingeriu veneno destinado a ratos parasitas). A

alta mortalidade dos animais do grupo H, intensificada após os animais completarem um ano de experimentação, provavelmente é secundária ao uso de dieta hiperlipídica, com alto teor de colesterol.

Em conclusão, observamos que, em ratos envelhecidos sob dieta rica em óleo de canola (ácido graxo n-3), as alterações morfológicas mesoscópicas cardíacas e metabólicas foram menos intensas que em animais idosos e, principalmente, animais de mesma idade sob dieta hiperlipídica.

Agradecimentos

Ao Dr Jairo Alves de Oliveira, farmacêutico-bioquímico. Trabalho parcialmente financiado pelo CNPq 52.16.22/93-0 e 52.23.73/95.0 e Faperj E-26/170.315/95.

Referências

- Biosca G, Mizuma S, Sawamura M, Nara Y, Yamori Y - The effect of nutritional prevention of cardiovascular diseases on longevity. *Nut Rev* 1992; 12: 407-12.
- Fraser GE, Linosted KD, Beeson WL - Effect of risk factor values on lifetime risk of and age at first coronary event. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 746-58.
- Duncan AK, Vittone J, Fleming KC, Smith HC - Cardiovascular disease in elderly patients. *Mayo Clin Proc* 1996; 71: 184-96.
- Dimmitt SB - Recent insights into dietary fats and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharm Physiol* 1995; 22: 204-8.
- Sacks FM - Is there anything to add to our lipid risk factor for coronary heart disease? *Am J Cardiol* 1995; 15: 1263-4.
- Maher VMG, Brown BG, Marcovina SM, Hilger LA, Zhao XQ, Albers JJ - Effects of lowering elevated LDL cholesterol on the cardiovascular risk of lipoprotein(a). *JAMA* 1995; 274: 1771-4.
- Corti MC, Guralnik JM, Salive ME et al - HDL cholesterol predicts coronary heart disease mortality in older persons. *JAMA* 1995; 274: 539-44.
- Thomas MJ, Rudel LL - Dietary fatty acids, low density lipoprotein composition and oxidation in primate atherosclerosis. *J Nutr* 1996; 126: 1058S-62S.
- Hegele RA - The role of lipids in cardiovascular disease: lessons from rare mutations special populations. *Clin Invest Med* 1996; 19: 161-70.
- Wei JY, Gersh BJ - Heart disease in the elderly. *Cur Prob Cardiol* 1987; 12: 1-65.
- Lassere M, Mendy F, Spielmann D, Jacotot B - Effects of the ingestion of the different essential fatty acids on seric levels of C20:3n6 and C20:4n6 in human adults. *Lipids* 1985; 20: 227-33.
- Lottenberg AMP - Dieta na hipercolesterolemia. In: Quintão ECR, ed - Colesterol e Aterosclerose. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1992: 177-93.
- Goodnight HT, Cairns JA - Therapeutic use of n-3 fatty acid for vascular disease and thrombosis. *Chest* 1995; 108(suppl): 302S-4S.
- Eritsland J, Arnesen H, Gronseth K, Fjeld NB, Abdelwoor M - Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am J Cardiol* 1996; 77: 31-6.
- Maes M, Smith R, Christophe A, Cosyns P, Desnyder R, Meltzer H - Fatty acid composition in major depression: decrease n-3 fractions in cholesteryl esters and increased C20:4n6/C20:5n3 ratio in cholesteryl esters and phospholipids. *J Affectives Dis* 1996; 38: 35-46.
- Stevens LJ, Zentall SS, Abate ML, Kuczek T, Burgess JR - Omega-3 fatty acids in boys with behavior learning, and health problems. *Phys Behav* 1996; 45: 915-20.
- Simon JA, Hodgkins ML, Brower WS, Neuhaus JM, Bernert JT, Hulley SB - Serum fatty acids and risk of coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 469-76.
- Siscovick DS, Raghunathan TE, King I et al - Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA* 1995; 274: 1363-7.
- Christensen JH, Gustenoff P, Korup E et al - Effects of fish oil on heart rate variability in survivors of myocardial infarction: a double randomised controlled trial. *BMJ* 1996; 312: 677-80.
- McLennan P, Howe P, Abeywardena M et al - The cardiovascular protective role of docosahexaenoic acid. *Eur J Pharm* 1996; 300: 83-9.
- Pepe S, McLennan P - Dietary fish oil confers direct antiarrhythmic properties on the myocardium of rats. *J Nutr* 1996; 126: 34-42.
- Endres S, De Catarina R, Schmidt EB, Kristensen D - N-3 polyunsaturated fatty acids: update 1995. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 629-38.
- Shapiro JA, Koepsell TD, Voigt LF, Dugowson CE, Kestin M, Nelson JL - Diet and rheumatoid arthritis in women: A possible protective effect of fish consumption. *Epidemiology* 1996; 7: 256-63.
- McCarty MK - Fish oil and other nutritional adjuvants for treatment of congestive heart failure. *Med Hypotheses* 1996; 46: 400-6.
- McCarty MK - Fish oil may be an antidote for the cardiovascular risk of smoking. *Med Hypotheses* 1996; 46: 337-47.
- Tofti BKH, Ingebretsen OC, Nordoy A, Jenssen T - Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on glucose homeostasis and blood pressure in essential hypertension. *Ann Intern Med* 1995; 123: 911-18.
- Torosian MH, Charland SL, Lappin JA - Differential effects of w-3 and w-6 fatty acids on primary tumor growth and metastasis. *Int J Oncol* 1995; 7: 667-72.
- Jenski LJ, Zerouga M, Stillwell W - w-3 fatty acid-containing liposomes in cancer therapy. *PSEBM* 1995; 210: 227-33.
- Gester H - The use of n-3 PUFA's (fish Oil) in enteral nutrition. *Internat J Vit Nutr Rev* 1995; 65: 3-20.
- Chen HW, Lii CK, Ou CC, Wang ML - Dietary fat and vitamin E have differential effects on serum lipid levels. *Nut Res* 1995; 9: 1367-76.
- Schaefer EJ, Lichtenstein AH, Lamou-Fava S, McNamara JR, Ordovas JM - Lipoprotein, nutrition, aging, and atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 1995; 61(suppl 1): 727S-40S.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS - Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 8: 499-502.
- Matthews DE, Farewell VT - Using and Understanding Medical Statistics. Basel: Karger 1985: 200.
- Zar H - Biostatistical Analysis. Englewood Cliffs: Prentice Hall 1984: 718.
- Sakai K, Shimokawa T, Kobayashi T, Okuyama H - Lipid lowering effects of high linoleate and high alpha-linolenate diets in rats and mice. Consequence of long-term feedings. *Chem Pharm Bull* 1992; 40: 2129-32.
- Ishihara A, Ito A, Sakai K, Watanabe S, Kobayashi T, Okuyama H - Dietary high-linoleate safflower oil is not hypocholesterolemic in aged mice after a long-term feeding. Comparison with lard, perilla oil and fish oil. *Biol Pharm Bull* 1995; 18: 485-90.
- Hartman IS - Alpha-linolenic acid: A preventive in secondary coronary events? *Nut Rev* 1995; 7: 194-201.
- Berenson SG, Wattigney WA, Bao W, Srinivasan R, Radhakrishnamurthy B - Rationale to study the early natural history of heart disease: the Bogalusa Heart Study. *Am J Med Sci* 1995; 310(suppl. 1): S22-S8.
- Okita M, Yoshida S, Yamamoto J et al - N-3 and n-6 fatty acid intake and serum phospholipid fatty acid composition in middle-aged women living in rural and urban areas in Okayama Prefecture. *J Nutr Sci Vitaminol* 1995; 41: 313-23.
- Mahley RW, Palaoglu KE, Atak Z et al - Turkish heart study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. *J Lipid Res* 1995; 36: 839-59.

41. Leaf A - Some effects of n-3 fatty acids on coronary heart disease. *World Rev Nutr Diet* 1994; 76: 1-8.
42. Okaniwa Y, Yuasa S, Yamamoto N et al - A high lioleate and a high α -linolenate diet induced changes in learning behavior of rats. Effects of a shift in diets and reversal of training stimuli. *Biol Pharm Bull* 1996; 19: 536-40.
43. Berrettini M, Parise P, Ricotta S, Ioro A, Peirone C, Nenci GG - Increase plasma levels of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) after n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in patients with chronic atherosclerotic disease. *Thromb Haemost* 1996; 75: 395-400.
44. Barth JD - Lipoproteins and the progression/regression of atherosclerosis. *Baillière's Clin Endocrinol Metabol* 1995; 4: 849-66.
45. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM et al - Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995; 91: 2488-96.
46. Burchfield CM, Laws A, Benfante R et al - Combined effects of HDL cholesterol, triglyceride, and total cholesterol concentration on 18-year risk of atherosclerotic disease. *Circulation* 1995; 92: 1430-6.
47. Lombardo YB, Chicco A, D'Alessandro ME, Martinelli M, Soria A, Gutman R - Dietary fish oil normalize dyslipidemia and glucose intolerance with unchanged insulin levels in rats fed a high sucrose diet. *BBA* 1995; 1299: 175-82.
48. Lacoste L, Lan JYT, Hung J, Letchacovski G, Solymoss CB, Waters D - Hyperlipidemia and coronary disease. Correlation of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation* 1995; 92: 3272-7.
49. Lip GYH, Jones AF - Lipoprotein (a) and vascular disease: thrombogenesis and atherogenesis. *QJ Med* 1995; 88: 529-39.
50. Naito M, Hayashi T, Iguchi A - New approaches to the prevention of atherosclerosis. *Drugs* 1995; 50: 440-53.
51. Cox DA, Cohen ML - Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharm Reviews* 1996; 48: 3-19.
52. Herrmann W, Biermann J, Kostner GM - Comparison of effects of n-3 to n-6 fatty acids on serum level of lipoprotein(a) in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995; 76: 456-62.
53. Patsch W, Gotto A - High-density lipoprotein cholesterol, plasma triglyceride, and coronary heart disease: pathophysiology and management. *Advances in Pharmacology* 1995; 32: 375-426.
54. Saynor R, Gillott T - Changes in blood lipids and fibrinogen with a note on safety in a long term study on the effects of n-3 fatty acids in subjects receiving fish oil supplements and followed for seven years. *Lipids* 1992; 27: 533-8.
55. Bruckert E, Dairou F, Turpin G - Prise en charge des dyslipidémies. *Presse Med* 1995; 24: 1147-51.
56. Harpel PC, Hermann A, Zhang X, Ostfeld I, Borth W - Lipoprotein(a), plasmin modulation, and atherogenesis. *Thromb Haemostas* 1995; 74: 382-6.
57. Bartens W, Rader DJ, Talley G, Brewer HB - Lipoprotein(a) in patients with hyperlipidemia. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 647-53.
58. Reguero JJR, Cubero GI, Celada MM et al - Interrelationships between lipoprotein(a) and other cardiovascular risk factors. *Cardiology* 1995; 86: 432-5.
59. Berg-Schmied E, Klausen IC, Kristensen SD, Lervang HH, Faergeman O, Dyerberd J - The effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on Lp(a). *Clin Chim Acta* 1991; 198: 271-8.
60. Grey KF - Ten-year retrospective on the antioxidant hypothesis of arteriosclerosis: threshold plasma levels of antioxidant micronutrients related to minimum cardiovascular risk. *J Nutr Biochem* 1995; 6: 206-36.
61. Bruckdorfer KR - Antioxidants, lipoprotein oxidation, and arterial function. *Lipids* 1996; 31: S83-5.
62. Berliner JA, Heinecke JW - The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radical Biol Med* 1996; 20: 707-27.
63. Raal FJ, Areias AJ, Joffe BI - Low density lipoproteins and atherosclerosis - quantity or quality? *Redox Report* 1995; 1: 171-6.
64. Toth K, Ernest E, Habon T, Horvath I, Juricskay I, Mozsik GY - Hemorheological and hemodynamical effects of fish oil (AMEU) in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteinemia. *Clin Hemorheol* 1995; 15: 867-75.
65. Dupont J, Holub BJ, Knapp HR, Meydani M - Fatty acid-related functions. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 991S-3S.
66. Renaud S, LARGERIL M, Delaye J et al - Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1360S-7S.
67. Kagawa Y, Nishizawa M, Suzuki M - Eicosapolyenoic acids of serum lipids of Japanese Islanders with low incidence of cardiovascular diseases. *J Nutr Sci Vitam (Tokyo)* 1982; 28: 441-53.
68. Javouhey A, Roxquelin G, Rochette L, Juaneda P - Comparative effects of equivalent intake of 18:3(n-3) and of marine (n-3) fatty acids on rat cardiac phospholipid contents and fatty acids compositions. *Nutr Res* 1990; 10: 291-301.
69. Besse S, Assayag P, Delcayre C et al - Normal and hypertrophied senescent rat heart: mechanical and molecular characteristics. *Am J Physiol* 1993; 265 (Heart Circ Physiol 34): H183-H90.
70. Freemam GL, Harris MM, Ghidoni JJ, Page A, Cantu TL, Young E - Analysis of response to significant weight loss in obese rats. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 566-71.