CONSUMO ELEVADO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS NÃO PROMOVE OXIDAÇÃO DAS PROTEÍNAS NO SORO E NOS ERITRÓCITOS DE CÃES ADULTOS

GABRIEL F. E. PACHECO1*, DÉBORA A. EUGÊNIO2, RAFAEL C. BORTOLIN3, JOSÉ C. F. MOREIRA4, ALEXANDRE M. KESSLER5, LUCIANO TREVIZAN5

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Contato: gfepacheco@hotmail.com

Resumo: Embora as proteínas sejam os principais componentes da maioria dos sistemas biológicos, poucos estudos são conduzidos para avaliar a oxidação proteica. Neste sentido, foi estudado o efeito do consumo de dietas ricas em ácidos graxos insaturados sobre a atividade de marcadores de oxidação proteica em cães. Uma dieta basal foi formulada e recoberta com óleo de soja + farinha de microalgas ou com sebo bovino (dieta controle), suplementadas ou não com um blend de componentes que auxiliam no controle oxidativo celular (AOX), compondo quatro tratamentos (INS, SAT, INS AOX, SAT AOX). Doze cães adultos foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados. Amostras de soro e eritrócitos foram coletadas nos dias 0, 15 e 30 após aplicação dos tratamentos para a análise de indicadores de oxidação proteica. Não houve diferença no nível de oxidação proteica mensurado pela quantificação do grupo carbonila no soro e pelo conteúdo tiol na proteína do soro e dos eritrócitos ao longo do período experimental. Foi possível verificar que consumo de dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados não promove oxidação das proteínas no soro e nos eritrócitos de cães adultos.
Palavras Chave: ácidos graxos poli-insaturados, antioxidante, grupo tiol

HIGH CONSUMPTION OF POLY-INSATURATED FATTY ACIDS DOES NOT PROMOTE OXIDATION OF PROTEINS IN SERUM AND ERYTHROCYTES OF ADULT DOGS

Abstract: Although proteins are the major components of most biological systems, few studies are conducted to evaluate protein oxidation. In this sense, we studied the effect of unsaturated fatty acids rich diets consumption on the activity of protein oxidation markers in dogs. A basal diet was formulated and coated with soybean oil + microalgae meal or bovine tallow (control diet), supplemented or not with a blend of components that aid in the cellular oxidative control (AOX), composing four treatments (UNS, SAT, UNS AOX, SAT AOX). Twelve adult dogs were distributed in a randomized complete block design. Serum and erythrocyte samples were collected on days 0, 15 and 30 after application of the treatments for protein oxidation indicators. There was no difference in the level of protein oxidation measured by the quantification of the carbonyl group in the serum and by the thiol content in the serum protein and the erythrocytes throughout the experimental period. It was possible to verify that consumption of polyunsaturated fatty acids rich diets does not promote the proteins oxidation in serum and erythrocytes of adult dogs.
Keywords: polyunsaturated fatty acids, antioxidant, thiol group

Introdução: As proteínas são as moléculas mais funcionais presentes nas membranas e constituem enzimas, bombas e canais transportadores, componentes estruturais e receptores para diversas moléculas. Sabe-se que os ácidos graxos consumidos via dieta possuem a capacidade de alterar as concentrações teciduais de lipídios do organismo e a relação entre lipídios e proteínas das membranas. Por possuírem elevado número de ligações duplas em suas moléculas, os ácidos graxos poli-insaturados são altamente suscetíveis à peroxidação. Poucos estudos avaliaram o efeito do consumo elevado de ômega-3 sobre a estabilidade oxidativa das proteínas em cães. Este estudo avaliou se o consumo de dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados afeta o status redox da proteína em cães adultos e se a adição de um blend antioxidante (AOX) tem efeito na proteção à oxidação.

Material e Métodos: Doze cães Beagle adultos, intactos e sadios (6 machos e 6 fêmeas), com idade de 2 anos e 11.2 ± 1.92 kg foram usados em delineamento de blocos casualizados com 4 tratamentos e 2 blocos de 8 semanas. Cada bloco incluiu uma fase de adaptação de 4 semanas em que todos os cães receberam a mesma dieta comercial extrusada, livre de óleo de peixe. Este período foi usado para padronizar o status oxidativo dos animais. Após o período de adaptação, os cães foram alimentados com quatro dietas experimentais. A dieta basal foi recoberta com 13% da mistura de óleo de soja + farinha de microalgas (INS) ou com 13% de sebo bovino (SAT) para formar dietas com alta gordura (Tabela 1). Estas dietas foram acrescidas de AOX para forma duas outras dietas (INS AOX e SAT AOX, respectivamente). Nos dias 0, 15 e 30 de cada bloco experimental foram realizadas as coletas de sangue e a separação do soro e dos eritrócitos para as análises laboratoriais. O grupo tiol (SH) foi analisado para quantificar o total do grupo sulfidrila reduzido nas amostras de soro e de eritrócitos (Ellman, 1959). O dano oxidativo à proteína sérica foi mensurado pela quantificação do grupo carbonila, baseado na reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH) (Levine et al., 1990). Foram usados contrastes (INS vs. SAT e AOX vs. Sem AOX) para avaliar o efeito das fontes lipídicas e da suplementação com AOS sobre a atividade dos marcadores de oxidação proteica. O valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultado e Discussão: O nível de oxidação proteica mensurado pela quantificação do grupo carbonila no soro e pelo conteúdo tiol na proteína do soro e dos eritrócitos não sofreu alteração ao longo do período experimental. Não foi observado efeito dos tratamentos em nenhum dos contrastes avaliados (Tabela 2). A avaliação da capacidade antioxidante dos ingredientes muitas vezes é dificultada pela incapacidade de induzir estresse oxidativo nos animais. Isso ocorre devido ao fato de que é necessário promover grandes mudanças a ponto de ser suficiente para induzir alterações mensuráveis de marcadores oxidativos, enquanto garanta que o protocolo seja compatível com o bem-estar animal (Ferreira et al., 2014).

Tabela 1. Concentração de extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA) e composição de ácidos graxos das dietas experimentais contendo óleo de soja + farinha de microalga (INS) ou sebo bovino (SAT).

Item	Dietas	
	INS	SAT
Composição química		
EEHA, % na MS	20,1	20,9
∑ dos ácidos graxos	g de ácido graxo/100 g de AG da dieta	
Saturado[1]	35,0	69,5
Monoinsaturado[2]	4,38	11,6
Poli-insaturado[3]	60,6	18,7

[1] Soma dos ácidos graxos saturados: 4:0 + 6:0 + 8:0 + 10:0 + 11:0 + 12:0 + 13:0 + 14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0 + 22:0 + 24:0 + 25:0.
[2] Soma dos ácidos graxos monoinsaturados: 14:1 (n-5) + 16:1 (n-7) + 17:1 (n-7c) + 18:1 (n-9t) + 18:1 (n-9c) + 20:1 (n-9c11) + 22:1 (n-9) + 24:1 (n-9).
[3] Soma dos ácidos graxos poli-insaturados: 18:2 (n-6t9t12) + 18:2 (n-6c) + 20:2 (n-6c) + 22:2 (n-6c) + 18:3 (n-6) + 18:3 (n-3) + 20:3 (n-3c) + 20:4 (n-6) + 22:6 (n-3c).

Tabela 2. Marcadores de oxidação proteica no soro e nos eritrócitos de cães alimentados com dietas insaturada (INS), insaturada com antioxidante (INS AOX), saturada (SAT) e saturada com antioxidante (SAT AOX).

Item	*P*-value			
	Soro		Eritrócitos	
	INS x SAT	AOX x Sem AOX	INS x SAT	AOX x Sem AOX
Sulfidrila µmol/mg proteína	0.6817	0.3908	0.9367	0.8037
Carbonila nmol/mg proteína	0.9231	0.7060	-	-

Conclusão: O consumo de dietas compostas por 60% do EEHA na forma de ácidos graxos poli-insaturados não promove oxidação das proteínas no soro e nos eritrócitos. O AOX não produziu efeito claro da capacidade antioxidante, já que o metabolismo oxidativo não foi desafiado pelas dietas poli-insaturadas.

Referências Bibliográficas: ELLMAN, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl group. Arch. Biochem. Biophys. 82:70-77.
FERREIRA, C. S.; VASCONCELLOS, R. S.; PEDREIRA, R. S.; SILVA, F. L.; SÁ, F. C.; KROLL, F. S. A.; MARIA, A. P. J.; VENTURINI, K. S.; CARCIOFI, A. C. Alterations to oxidative stress markers in dogs after a short-term stress during transport. J. Nutr. Svi. 3(e27):1-5, 2014.
LEVINE, R. J.; GARLAND, D.; OLIVER, C. N.; AMICI, A.; CLIMENT, I.; LENZ, A. G.; AHN, B. W.; SHALTIEL S.; STADTMAN, E. R. Determination of carbonyl contente in oxidatively modified protein. Methods Enzymol. 186:464-478, 1990.