

Effects of flaxseed on rat milk creatocrit and its contribution to offspring body growth

Efeito da semente de linhaça no crematócrito do leite de ratas e sua contribuição no crescimento corporal dos filhotes

Carine Danielle Ferreira Costa Leite¹, Gabriela Câmara Vicente², Akemi Suzuki², Aline D'Avila Pereira², Gilson Teles Boaventura³, Ronald Marques dos Santos⁴, Luis Guillermo Coca Velarde⁵

Resumo

Objetivos: Avaliar o efeito da semente de linhaça no crematócrito do leite de ratas e crescimento corporal dos filhotes durante a lactação.

Métodos: Utilizou-se 22 ratas Lister Hooded divididas em dois grupos: controle (GC, n = 11), que recebeu ração caseína com 17% de proteína; e linhaça (GL, n = 11), que recebeu ração com 25% de linhaça acrescida de 14% de caseína, totalizando 17% de proteína. Controlou-se o consumo de ração das ratas por gaiola individual, número de crias, e avaliou-se o crematócrito do leite materno e variação ponderal dos filhotes até idade de desmame.

Resultados: O GL foi semelhante ao GC no consumo de ração das ratas (GL = 76,46±31,87 g; GC = 76,7±33,36 g; p = 0,9613) e equivalente ao GC no número de crias (GL = 4,94±2,34; GC = 5,5±3,19; p = 0,435). O mesmo foi verificado no teor de gordura do leite materno (GL = 18,4±4,76; GC = 15,3±6,03; p = 0,204) e valor energético total (GL = 212,92±46,4; GC = 181,1±60; p = 0,1964). O GL assemelhou-se ao GC tanto no peso corporal dos filhotes ao desmame (GL = 37±6,96 g; GC = 2,6±7,5 g; p = 0,1817) quanto na evolução ponderal (GL = 31,8±7,0 g; GC = 27,7±7,5 g; p = 0,2104).

Conclusão: Um total de 25% de linhaça promoveu um crescimento adequado aos filhotes.

J Pediatr (Rio J). 2012;88(1):74-8: Linhaça, caseína, rato, crematócrito, ômega-3, crescimento corporal.

Introdução

Durante a gravidez, as necessidades maternas placentárias e fetais para os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (*long chain polyunsaturated fatty acids*) são elevadas. Sendo assim, uma dieta materna com aporte adequado des-

Abstract

Objectives: To assess the effect of flaxseed on rat milk creatocrit and its contribution to offspring weight gain during lactation.

Methods: The study was conducted with 22 Lister Hooded rats divided into two groups: Control Group (CG, n = 11), which received a casein-based diet with 17% protein, and Flaxseed Group (FG, n = 11), which received a 25% flaxseed diet supplemented with 14% casein, totaling 17% protein. Food consumption was controlled per individual cage and litter size. Maternal milk creatocrit and offspring weight variation until weaning age were also evaluated.

Results: FG was similar to CG concerning food intake (FG = 76.46±31.87 g; CG = 76.7±33.36 g; p = 0.9613) and equivalent to CG concerning litter size (FG = 4.94±2.34; CG = 5.5±3.19; p = 0.435). The same was found for milk fat content (FG = 18.4±4.76; CG = 15.3±6.03; p = 0.204) and total energy value (FG = 212.92±46.4; CG = 181.1±60; p = 0.1964). FG was similar to CG both in offspring body weight at weaning (FG = 37±6.96 g; CG = 32.6±7.5 g; p = 0.1817) and in weight gain (FG = 31.8±7.0 g; CG = 27.7±7.5 g; p = 0.2104).

Conclusion: A total of 25% flaxseed promoted an adequate offspring growth.

J Pediatr (Rio J). 2012;88(1):74-8: Flaxseed, casein, rat, creatocrit, omega-3, body growth.

ses lipídios durante o período gestacional e de lactação é de extrema importância, principalmente os da série ômega-3, em especial o ácido docosa-hexaenóico (DHA), já que a maior necessidade desse lipídio acontece durante a vida intraute-

1. Mestranda, Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ.
2. Estudante de Graduação, Nutrição, UFF, Niterói, RJ.
3. Professor associado, Departamento de Nutrição e Dietética, UFF, Niterói, RJ.
4. Professor associado, Departamento de Fisiologia, UFF, Niterói, RJ.
5. Professor associado, Departamento de Estatística, UFF, Niterói, RJ.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI).

Como citar este artigo: Leite CD, Vicente GC, Suzuki A, Pereira AD, Boaventura GT, dos Santos RM, et al. Effects of flaxseed on rat milk creatocrit and its contribution to offspring body growth. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88(1):74-8.

Artigo submetido em 21.07.11, aceito em 13.09.11.

<http://dx.doi.org/10.2223/JPED.2168>

rina, principalmente durante o último trimestre de gestação e nos primeiros meses de vida do bebê, onde ocorre sua maior acumulação nas membranas cerebrais e da retina^{1,2}.

Ao mesmo tempo, alguns estudos destacam as propriedades funcionais da semente de linhaça (*Linum usitatissimum*), a qual é uma excelente fonte de proteína, fibras e ácido graxo alfa-linolênico (ALA) (n-3), apresentando, em sua composição, de 32 a 45% de lipídios, dos quais 51 a 55% são desse ácido graxo^{3,4}. Tal composto exerce efeitos protetores contra doenças crônicas não transmissíveis, decorrentes de sua atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, dentre outros⁵.

De acordo com as características descritas, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da semente de linhaça, ofertada durante a gestação e lactação, no crematócrito do leite materno de ratas Lister Hooded e sua contribuição no crescimento corporal dos filhotes durante a fase de amamentação.

Métodos

Aspectos éticos

O experimento foi conduzido de acordo com as determinações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal Fluminense (UFF) sob protocolo nº 00110/09.

Animais

Foram utilizadas 22 ratas Lister Hooded, em idade fértil, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Dietética da Faculdade de Nutrição da UFF, Niterói (RJ), Brasil.

Delineamento experimental

As ratas foram divididas em dois grupos: controle (GC), constituído por 11 animais que receberam ração com 17% de proteína à base de caseína; e linhaça (GL), constituído por 11 animais que receberam ração com 17% de proteína, sendo esta adicionada de 25% da semente de linhaça, para completar o teor proteico, e do antioxidante *tert-butylhydroquinone* (BHT) (0,014 g/kg dieta), para evitar a rancificação da ração. Esse tamanho de amostra de cada grupo garantiu nível de significância 0,05 e poder de 0,8.

Todas as rações eram isocalóricas e isoproteicas, balanceadas e preparadas de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition⁶, como apresentado na Tabela 1.

As ratas receberam as respectivas rações experimentais desde o acasalamento e foram mantidas em gaiolas individuais, com temperatura constante (22±2 °C) e iluminação controlada, ciclo claro-escuro 12/12 h, recebendo água *ad libitum*, sendo controlados o número de crias por grupo, o consumo de ração e o peso corporal da ninhada, duas vezes por semana, em balança digital, marca Filizola™, modelo MF-3, sensibilidade de 0,5 g, durante todo o ensaio, que durou 21 dias.

Os filhotes, ao completarem 21 dias de vida, idade de desmame, foram separados de suas mães, e estas receberam injeção intraperitoneal de anestésico xilazina (20 mg/kg) e ocitocina (NaOx) para ordenha e coleta do leite materno.

Para determinação do crematócrito, foi seguida a técnica desenvolvida por Lucas et al.⁷, na qual, após homogeneização do leite ordenhado (1 ml), este foi aquecido em banho-maria a 40 °C durante 10 minutos; centrifugado por 15 minutos a 3.500 rpm, para separação da coluna de creme e soro; e, após tal procedimento, calculou-se o teor de gordura e valor energético total do leite materno.

Tabela 1 - Formulação das rações (g/100 g de alimento) com 17% de proteínas

Componentes	GC	GL
Caseína*	20	14,2
Linhaça†	-	25,0
Amido‡	52,95	45,83
Açúcar§	10,0	10,0
Mix minerais*	3,5	3,5
Mix vitaminas*	1,0	1,0
Óleo de soja	7,0	-
Celulose¶	5,0	-
B-colina*	0,25	0,25
Cistina*	0,3	0,3
Total	100	100

GC = grupo controle; GL = grupo linhaça.

* Rhosther Indústria e Comércio Ltda.

† ArmaZem Ltda.

‡ Maisena.

§ União.

|| Liza®.

¶ Macrocel®.

Análise estatística

Os dados foram apresentados na forma de média e desvio padrão e avaliados com *software* S-Plus 8.0. Para análise do consumo de ração e crematócrito do leite materno, utilizou-se o teste *t* de Student; na análise do número de crias por grupo e peso corporal da ninhada, foi utilizado o teste da soma dos postos de Wilcoxon, ao nível de $p \leq 0,05$.

Resultados

Durante a gestação e lactação, observa-se, na Tabela 2, que o GL teve o mesmo consumo de ração das ratas do GC ($p = 0,551$), assim como número de crias semelhante ($p = 0,435$). Após a análise do crematócrito, também constatou-se que não havia diferenças entre os grupos ($p = 0,204$).

Ao desmame, percebe-se que o GL foi semelhante ($p = 0,1817$) ao GC tanto no peso corporal (Figura 1a) quanto na evolução ponderal (Figura 1b) dos filhotes durante a lactação (Figura 1b).

Discussão

Ao se observar o consumo de ração das ratas no presente estudo, percebe-se que não houve diferença significativa entre os grupos, e essa semelhança pode ser justificada pela adição do antioxidante em pequena quantidade na ração de linhaça, melhorando, assim, a palatabilidade e, conseqüentemente, promovendo um melhor consumo para os animais.

Troina et al.⁵ também não encontraram diferença no consumo de ração entre os grupos experimentais, linhaça e caseína, durante o período de lactação, corroborando com o dado ensaio.

A semente de linhaça é uma rica fonte de diglicosídeo secoisolariciresinol (SDG), uma lignana vegetal precursora de lignanas mamárias que atua no organismo humano de forma benéfica, auxiliando na prevenção e tratamento do câncer. Porém, em períodos específicos como a gestação, a sensibilidade aos hormônios está aumentada; assim, a administração de lignanas deve ser realizada com precaução, por sua atuação como fitoestrógeno⁸. Estudos relatam que tais substâncias podem estar relacionadas com infertilidade e hiperestrogenização em algumas espécies animais⁹.

No dado ensaio, ambos os grupos foram semelhantes no número de crias. O mesmo fato foi encontrado por Tou et al.¹⁰ ao utilizarem os mesmos grupos experimentais do dado ensaio, além de Collins et al.¹¹, que também não observaram efeitos adversos na fertilidade das ratas, no desenvolvimento fetal e no tamanho da ninhada ao ofertarem semente de linhaça em altas concentrações durante o período de gestação, lactação e pós-lactação das ratas.

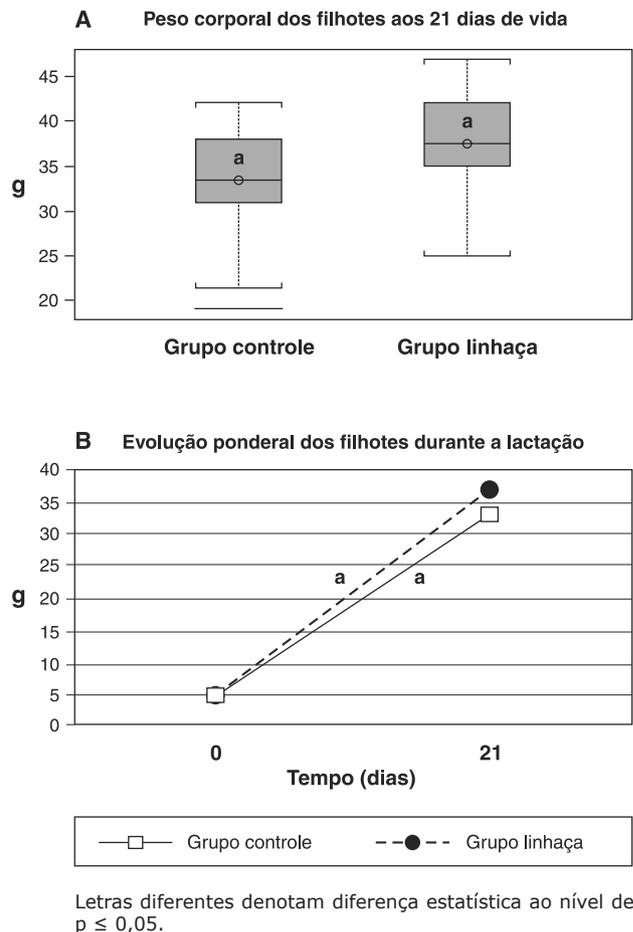


Figura 1 - Crescimento corporal dos filhotes durante a lactação

Tabela 2 - Consumo de ração das ratas, número de crias e crematócrito do leite materno

Grupos	GC	GL
Consumo de ração (g)	621,3±97,1 ^a	646,45±92,5 ^a
Número de crias	5,5±3,19 ^a	4,94±2,34 ^a
Teor de gordura do leite (%)	15,3±6,03 ^a	18,4±4,76 ^a
Valor energético total do leite (kcal)	181,1±60,0 ^a	212,92±46,4 ^a

Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferença significativa ($p \leq 0,05$).
GC = grupo controle; GL = grupo linhaça (n = 11/grupo).

A gordura presente no leite materno representa a maior fonte de energia para o lactente, contribuindo com 40 a 55% do total de energia ingerida, como também os lipídios representam a melhor fonte energética utilizada pelos animais, pois além de fornecer energia metabólica, são requeridos para a manutenção da estrutura e função da membrana celular e fornecem ácidos graxos essenciais a estes^{12,13}.

No presente estudo, o crematócrito do leite materno das ratas alimentadas com semente de linhaça mostrou-se superior ao GC tanto no teor de gordura quanto no valor energético total, apesar de essa superioridade não ser significativa. Por outro lado, vale ressaltar que a importância está na qualidade da gordura do leite materno, principalmente no aporte de ácidos graxos, e não na quantidade de gordura.

Nas últimas décadas, especial atenção tem sido dada à composição e aos aspectos fisiológicos da fração lipídica do leite materno, com destaque para a qualidade dos lipídios da dieta materna, pois estes têm influência direta no perfil de ácidos graxos do leite secretado, sendo de crucial importância na nutrição infantil durante o aleitamento¹⁴.

No experimento realizado por Almeida et al.¹⁵, verificou-se que a ração adicionada também de 25% de semente de linhaça apresentou maior teor do ALA (C18:3 n-3) quando comparada à ração à base de caseína, assim como foi encontrado aumento significativo desse mesmo ácido graxo, além do ácido eicosapentaenóico (EPA) (C20:5 n-3) e de DHA (C22:6 n-3), no leite das ratas alimentadas com linhaça, quando comparado ao das ratas alimentadas com caseína, fato que mostrou a eficiência da conversão do ALA em DHA e comprovou que a qualidade lipídica da dieta materna influencia o perfil de ácidos graxos no leite secretado.

Esse achado pode supor que o leite materno das ratas alimentadas com ração adicionada de 25% dessa oleaginosa, no presente estudo, estaria com um aporte aumentado de ácidos graxos da família n-3.

Ao mesmo tempo, Visentainer et al.¹⁶ verificaram que a ração preparada com óleo de linhaça para os animais apresentou concentrações superiores de ALA, quando comparada às rações preparadas com outros óleos, constatando que a linhaça é a oleaginosa mais rica em ácidos graxos n-3, fato que também supõe que, no dado ensaio, a ração do GL poderia ter uma concentração superior de ALA.

Em outro estudo¹⁷, observou-se que uma dieta rica em ácidos graxos n-3 sobre a composição lipídica do leite de 31 nutrizas brasileiras contribuiu para aumentar os teores destes no leite.

Silva et al.¹⁸ também constataram que o alto consumo de ácidos graxos poliinsaturados em oito nutrizas brasileiras durante 10 semanas refletiu em maior conteúdo de ácido linoleico (n-6) e de ALA no leite.

Costa & Sabarense¹⁹, em seu trabalho de revisão, perceberam que o leite das nutrizas brasileiras, comparado ao das nutrizas de outros países, apresenta melhor perfil de ácidos graxos essenciais e de seus metabólitos (ácido araquidônico - n-6; e DHA), além de menor quantidade de ácidos graxos trans e de saturados, o que os levou a concluir

que a alimentação materna brasileira seja possivelmente o principal fator que contribua para isso.

O crescimento é um processo dinâmico e contínuo, que acontece desde a concepção até o final da vida, sendo apresentado pelo aumento do tamanho corporal²⁰. Uma carência dietética, principalmente proteica, acarreta diminuição no consumo de alimento, levando a uma redução no ganho de peso corporal e atraso na evolução ponderal²¹. No presente estudo, percebe-se que os filhotes amamentados por mães que receberam dieta adicionada de linhaça apresentaram maior peso corporal e evolução ponderal, revelando que essa semente é uma excelente fonte de proteína e gordura, apesar de esta superioridade não apresentar significância estatística.

Segundo Almeida et al.²², em 100 g desta oleaginosa, encontram-se 396 kcal, sendo 109 advindas de proteína e 287 de lipídeos, e estes valores foram considerados excelentes para uma fonte vegetal.

No estudo realizado com filhotes, aos 21 dias de vida, da mesma raça, porém da linhagem Wistar, foi observado que os animais oriundos de mães que também receberam ração acrescida de 25% da semente de linhaça tiveram peso corporal menor do que o GC (GC = 47,31±4,72 g; GL = 42,69±3,06 g), assim como menor evolução ponderal (GC = 41,45±4,81; GL = 36,55±3,82)²³. Tais resultados são contraditórios ao dado experimento, tanto no peso corporal (GC = 32,6±7,5 g; GL = 37±6,96 g) quanto na evolução ponderal (GC = 27,7±7,5; GL = 31,8±7,0).

Já Soares et al.²⁴ perceberam que, ao utilizar a linhaça como fonte proteica exclusiva, sem acréscimo de qualquer proteína animal, durante a fase de crescimento dos filhotes, acabaram promovendo uma menor evolução ponderal do grupo alimentado com linhaça em relação ao grupo caseína, fato que os levou a considerar essa oleaginosa de baixa qualidade proteica, pois interferiu de forma negativa no crescimento corporal dos animais.

No entanto, Leite et al.²⁵, apesar de constatarem um crescimento corporal inferior nos animais que receberam dieta adicionada da linhaça quando comparados aos que receberam dieta à base de caseína durante a fase de crescimento, consideraram essa oleaginosa uma boa fonte proteica, já que promoveu um crescimento dentro da normalidade para os filhotes.

Portanto, pode-se concluir que a semente de linhaça mostrou-se boa fonte proteica e lipídica, proporcionando um crescimento adequado aos filhotes durante a lactação. Porém, mais estudos devem ser realizados quanto à transferência de ácidos graxos da série ômega-3 dessa oleaginosa para o leite materno.

Referências

1. Silva DR, Miranda Júnior PF, Soares EA. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. *Rev Bras Saude Matern Infant.* 2007;7:123-33.
2. Dangat KD, Kale AA, Joshi SR. [Maternal supplementation of omega 3 fatty acids to micronutrient-imbalanced diet improves lactation in rat.](#) *Metabolism.* 2011;60:1318-24.

3. Figueiredo MS, de Moura EG, Lisboa PC, Troina AA, Trevenzoli IH, Oliveira E, et al. [Flaxseed supplementation of rats during lactation changes the adiposity and FGuucose homeostasis of their offspring](#). *Life Sci*. 2009;85:365-71.
4. Santos FL, Azeredo VB, Martins AS. Efeito do fornecimento de ração complementada com semente de linhaça sobre os macronutrientes e colesterol em tecidos de camarões da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*). *Cienc Tecnol Aliment*. 2007;27:851-5.
5. Troina AA, Figueiredo MS, Moura EG, Boaventura GT, Soares LL, Cardozo LF, et al. [Maternal flaxseed diet during lactation alters milk composition and programs the offspring body composition, lipid profile and sexual function](#). *Food Chem Toxicol*. 2010;48:697-703.
6. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey CG Jr. [AIN-93 purified diet of laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodents diet](#). *J Nutr*. 1993;123:1939-51.
7. Lucas A, Gibbs JA, Lyster RL, Baum JD. [Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk](#). *Br Med J*. 1978;1:1018-20.
8. Saarinen NM, Thompson LU. [Prolonged administration of secoisolariciresinol diFGycoside increases lignan excretion and alters lignan tissue distribution in adult male and female rats](#). *Br J Nutr*. 2010;104:833-41.
9. Zimmerman SA, Clevenger WR, Brimhall BB, Bradshaw WS. [Diethylstilbestrol-induced perinatal lethality in the rat. II. Perturbation of parturition](#). *Biol Reprod*. 1991;44:583-9.
10. Tou JC, Chen J, Thompson LU. [Flaxseed and its lignan precursor, secoisolariciresinol diFGycoside, affect pregnancy outcome and reproductive development in rats](#). *J Nutr*. 1998;128:1861-8.
11. Collins TF, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Wiesenfeld PW, Babu US, et al. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. *Food Chem Toxicol*. 2003;41:819-34.
12. Tinoco SM, Sichieri R, Moura AS, Santos FS, do Carmo MG. Importância dos ácidos graxos essenciais e os efeitos dos ácidos graxos trans do leite materno para o desenvolvimento fetal e neonatal. *Cad Saude Publica*. 2007;23:525-34.
13. Hayashi C, Soares CM, Matsushita M, Galdioli EM, Cocito IC. Desempenho e características de carcaça do escargot francês (*Helix aspersa maxima*) alimentado com rações contendo diferentes óleos vegetais. *Cien Rural*. 2004;34:231-7.
14. Innis SM. [Human milk: maternal dietary lipids and infant development](#). *Proc Nutr Soc*. 2007;66:397-404.
15. Almeida KC, Teles Boaventura G, Guzmán-Silva MA. [Influence of omega-3 fatty acids from the flaxseed \(*linum usitatissimum*\) on the brain development of newborn rats](#). *Nutr Hosp*. 2011;26:991-6.
16. Visentainer JV, Gomes ST, Hayashi C, Santos-Junior OO, Silva AB, Justi KC, et al. Efeito do tempo de fornecimento de ração suplementada com óleo de linhaça sobre a composição físico-química e de ácidos graxos em cabeça de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Cienc Tecnol Alimen*. 2003;23:478-84.
17. Patin RV, Vítolo MR, Valverde MA, Carvalho PO, Pastore GM, Lopez FA. [The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk](#). *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82:63-9.
18. Silva MH, Silva MT, Brandão SC, Gomes JC, Peternelli LA, Franceschini SC. Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. *Food Chem*. 2005;93:297-303.
19. Costa AG, Sabarense CM. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. *Rev Nutr*. 2010; 23:445-57.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Saúde da criança: acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil. *Cadernos de Atenção Básica*. n.11. Brasília; 2002. p. 3-25.
21. Lima JG, Oliveira LM, Lachat JJ, Dal-Bo CM, Almeida SS. [Comparison of the effects of lab chow and casein diets based on body and brain development of rats](#). *Braz J Med Biol Res*. 1993;26:1069-76.
22. Almeida KC, Boaventura GT, Guzmán-Silva MA. A linhaça (*Linum usitatissimum*) como fonte de ácido α -linolênico na formação da bainha de mielina. *Rev Nutr*. 2009;22:747-54.
23. Cardozo LF, Soares LL, Chagas MA, Boaventura GT. [Maternal consumption of flaxseed during lactation affects weight and hemoFGobin level of offspring in rats](#). *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86:126-30.
24. Soares LL, Pacheco JT, Brito CM, Troina AA, Boaventura GT, Guzmán-Silva MA. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte de proteína nas fases de crescimento e manutenção em ratos. *Rev Nutr*. 2009;22:483-91.
25. Ferreira Costa Leite CD, Calvi Lenzi de Almeida K, Guzmán-Silva MA, Azevedo de Meneses J, Teles Boaventura G. [Flaxseed and its contribution to body growth and brain of Wistar rats during childhood and adolescence](#). *Nutr Hosp*. 2011;26:415-20.

Correspondência:
 Carine Danielle Ferreira Costa Leite
 Rua Tiradentes, 107/506 - Ingá
 CEP 24210-510 - Niterói, RJ
 Tel.: (21) 2629.9860, (21) 8387.0222
 E-mail: carinecleite@gmail.com