



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Aplicadas



JOSIANE ÉRICA MIYAMOTO

**INGESTÃO DE GORDURA DE PALMA INTERESTERIFICADA ALTERA
PARÂMETROS METABÓLICOS E A HOMEOSTASIA DE GLICOSE EM
CAMUNDONGOS DA LINHAGEM SWISS**

LIMEIRA

2017

JOSIANE ÉRICA MIYAMOTO

INGESTÃO DE GORDURA DE PALMA INTERESTERIFICADA ALTERA
PARÂMETROS METABÓLICOS E A HOMEOSTASIA DE GLICOSE EM
CAMUNDONGOS DA LINHAGEM SWISS

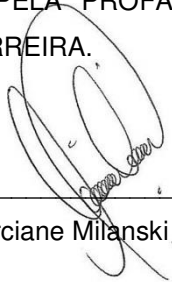
INTERESTERIFIED PALM OIL INTAKE IMPAIRS METABOLIC PARAMETERS AND
GLUCOSE HOMEOSTASIS IN SWISS MICE

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para obtenção
do Título de Mestra em Ciência da Nutrição e do
Esporte e Metabolismo, na Área de concentração
Metabolismo e Biologia Molecular

Orientadora: Profa. Dra. Marciane Milanski Ferreira

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Badan Ribeiro

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA
ALUNA JOSIANE ÉRICA MIYAMOTO, E
ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MARCIANE
MILANSKI FERREIRA.



Profa. Dra. Marciane Milanski Ferreira

LIMEIRA

2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2014/11751-0; CAPES

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Sueli Ferreira Júlio de Oliveira - CRB 8/2380

M699i Miyamoto, Josiane Érica, 1991-
Ingestão de gordura de palma interesterificada altera parâmetros metabólicos e a homeostasia de glicose em camundongos da linhagem Swiss / Josiane Érica Miyamoto. – Limeira, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Marciane Milanski Ferreira.
Coorientador: Ana Paula Badan Ribeiro.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Gorduras interesterificadas. 2. Óleo de palma. 3. Fígado. 4. Gliconeogênese. 5. Dieta hiperlipídica. I. Ferreira, Marciane Milanski. II. Ribeiro, Ana Paula Badan. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Interesterified palm oil impairs metabolic parameters and glucose homeostasis in Swiss mice

Palavras-chave em inglês:

Interesterified fat

Palm oil

Liver

Gluconeogenesis

High-fat diet

Área de concentração: Metabolismo e Biologia Molecular

Titulação: Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Marciane Milanski Ferreira [Orientador]

Everardo Magalhães Carneiro

Ana Maria Pita Lottenberg

Data de defesa: 11-08-2017

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Autora: Josiane Érica Miyamoto

Título: Ingestão de gordura de palma interesterificada altera parâmetros metabólicos e a homeostasia de glicose em camundongos da linhagem *Swiss*

Natureza: Dissertação de Mestrado

Instituição: Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Ciências Aplicadas

Data da Defesa: Limeira, 11 de agosto de 2017

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marciane Milanski Ferreira (Orientadora)

(Assinatura)

Prof. Dr. Everardo Magalhães Carneiro

(Assinatura)

Profa. Dr. Ana Maria Pita Lottenberg

(Assinatura)

Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Fumio e Vera, pelo amor e apoio incondicional e por nunca medirem esforços para que eu consiga alcançar meus objetivos. Todas as minhas conquistas sempre serão, acima de tudo, conquistas de vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por ter abençoado e iluminado o meu caminho e minhas escolhas. Por ter me acompanhando durante todo o meu trabalho, por me proporcionar esta grande conquista e por ter dado de presente pessoas especiais que cruzaram esta jornada.

A minha maior gratidão é pela família que tenho... Agradeço, em especial, aos meus pais Fumio e Vera, aos meus irmãos Gabriele e Pedro, amores da minha vida, que são a base de tudo, pelo amor incondicional, pelo carinho, pela força, pela confiança, pelos cuidados e por sempre acreditar em mim, por sempre estarem ao meu lado, independente da situação. Agradeço principalmente pelo incentivo e o apoio, foram vocês que me fizeram mais forte, sempre acreditaram em mim, na minha capacidade e potencial. Mesmo longe, estou pertinho, pois esteja onde eu estiver o meu coração estará sempre com vocês.

Ao meu namorado, companheiro da vida e melhor amigo, Gustavo, agradeço pelo companheirismo, cumplicidade, apoio e paciência, por ter tornado todos estes anos em Limeira tão mais fáceis, felizes e agradáveis. Você foi um grande presente que ganhei há 8 anos e agradeço imensamente à Deus por colocar você em minha vida pois, independente da situação, você sempre esteve ao meu lado, nos bons e maus momentos, na felicidade e na angústia... Eu te amo muito! E espero isso só seja início da nossa jornada juntos! E, para não dizer que tirei a sorte grande (mas tirei), agradeço também à sua família, aos seus pais, Elza e Sergio, aos seus irmãos que sempre me recebem de braços abertos... Sinto-me como se estivesse em casa, vocês são minha segunda família!

À minha querida e amada orientadora, Marciane, um grande exemplo de pessoas e de profissional e uma grande inspiração para mim, sempre tropeço nas palavras ao falar de você. Agradeço por ter me guiado durante todo o meu trabalho, pelo aconselhamento e sabedoria compartilhados comigo. Com você descobri minha paixão pela pesquisa, conheci o desconhecido e desenvolvi habilidades que eu não sabia que possuía. Obrigada por ter acreditado em mim e ter me aceito, primeiramente como aluna de iniciação científica, aluna de mestrado e agora aluna de doutorado. Obrigada Marciane, pela amizade, atenção, dedicação e pela confiança depositada em mim, sempre acreditando no meu potencial. Tive uma enorme sorte ao escolher uma pessoa tão brilhante como orientadora.

À minha co-orientadora profa. Ana Paula e colaboradores do Laboratório de Óleos e Gorduras da UNICAMP agradeço por sempre estarem dispostos a me ajudar.

Aos professores Marcio Torsoni, Adriana Torsoni e Letícia Souza, agradeço pelo acolhimento, pelas diversas discussões científicas as quais sempre contribuem para ampliação dos nossos conhecimentos e da nossa visão crítica, vocês são exemplos de profissionais e pesquisadores!

Aos meus companheiros e amigos do LabDiMe pela amizade, pelas conversas, por tornarem as horas de experimentos tão mais divertidas e agradáveis. Agradeço, principalmente, à Mari e Andressa, agradeço pelo acompanhamento, horas e horas de dedicação e ensinamento. Vocês me proporcionaram um enorme aprendizado e foram essenciais para a realização do meu projeto.

Aos meus queridos do “Baile”, Suleyma, Dora, Isabela, Fernando, Ana Paula, Pâmela, Camilla, Mari T. e Julia, vocês são a família que a pós-graduação me deu! Obrigada pelas horas e horas de risada, o cafezinho e as confidências, além das discussões científicas, claro!

Agradeço a todos os professores, mestres e doutores que fizeram parte da minha formação, agradeço ao ensinamento, vocês são meus exemplos e inspiração, mostraram a beleza e singularidade das ciências da Nutrição.

Aos meus amigos de toda a vida e aqueles que conheci durante a graduação e todos aqueles que fizeram parte dessa caminhada, por estarem presentes em momentos de alegrias e angústias, de trabalhos e diversões, pois amigos é a família que nós escolhemos.

Agradeço a todos aqueles que fizeram parte da minha vida e proporcionaram esta conquista!

A FAPESP, FAEPEX, CNPq, agradeço pelo suporte financeiro.

“Para conseguir a amizade de uma pessoa digna, é preciso desenvolvermos em nós mesmos as qualidades que daquela admiramos”.

Sócrates

A todos vocês, a minha eterna gratidão!

O sábio não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas.

Claude Lévi-Strauss

RESUMO

O processo de interesterificação consiste em uma opção tecnológica para a modificação da consistência de óleos e gorduras sem a formação de isômeros *trans*. A indústria de alimentos tem utilizado as gorduras interesterificadas como alternativa para a substituição das gorduras vegetais parcialmente hidrogenadas (*trans*), porém o papel deste tipo de gordura no metabolismo ainda é controverso. Este trabalho teve como objetivo avaliar parâmetros metabólicos e a homeostasia de glicose em camundongos alimentados com dieta normocalórica e normolipídica ou hipercalórica e hiperlipídica enriquecida com gordura interesterificada de palma. Camundongos *Swiss* com 6 semanas de vida foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais: grupo normolipídico óleo de palma (OP), com 10% de lipídios provenientes do óleo de palma não modificado, grupo normolipídico óleo de palma interesterificado (OPI), com 10% de lipídios provenientes do óleo de palma interesterificado, grupo hiperlipídico (HLOP), com 60% de lipídios provenientes do óleo de palma nativo e grupo hiperlipídico interesrificado (HLOPI), com 60% de lipídios provenientes do óleo de palma interesterificado, os quais receberam a dieta experimental por um período de 8 semanas. O óleo de palma não modificado e óleo de palma interesterificado quimicamente tiveram suas composições em ácidos graxos, TAG e distribuição regioespecífica analisadas. O grupo OPI apresentou intolerância à glicose durante o ipGTT e maior área sob a curva de glicose durante o ipITT, maior ganho de peso e glicemia em jejum elevada quando comparado ao seu controle OP ao final do período experimental. Foi obsevado aumento do conteúdo proteico de PECK e elevada expressão gênica de IL-1 β e IL-6 no tecido hepático do grupo OPI, quando comparado ao grupo OP. Os grupos hiperlipídicos HLOP e HLOPI não apresentaram diferenças entre si. Quase todos as alteração observadas no grupo OPI não apresentou diferença estatística com relação aos grupos hiperlipídicos (HLOP e HLOPI). Este estudo mostra que o consumo da gordura interesterificada na dieta normocalórica e normolipídica teve repercussões negativas tanto em parâmetros metabólicos, quanto na homeostasia de glicose, além de promover o aumento de marcadores inflamatórios no tecido hepático quando comparada a gordura não modificada.

ABSTRACT

Interesterification process provides an important alternative to modify the consistency of oils and fats without generating *trans* isomers. Interesterified fats have been used as an alternative to substitute partially hydrogenated fat (mainly source of *trans* fatty acids) in the food industry, the role of this fat in metabolism remains an uncertain controversy. The aim of this work was to evaluate metabolic parameters and glucose homeostasis in mice fed with normocaloric and normolipidic diet or hypercaloric and high-fat diet enriched with interesterified palm oil. Six-week-old male Swiss mice were randomly divided into four experimental groups submitted to either normolipidic palm oil diet (OP), with 10% of lipids from unmodified palm oil, normolipidic interesterified palm oil diet (OPI), with 10% of lipids from interesterified palm oil, high fat diet, with 60% of lipids from unmodified palm oil (HLOP) or high fat diet with 60% of interesterified palm oil (HLOPI) during 8 weeks. The groups received water and food *ad libitum*. The fatty acids composition, triacylglycerol composition and regioespecific distribution of dietary lipids source were analyzed. The weight gain was measured weekly, glucose tolerance test (ipGTT) and insulin tolerance test (ipITT) were performed after 7 weeks of diet, fasting glucose was measured and hepatic gluconeogenic enzymes and cytokines were evaluated. The OPI group showed higher weight gain, increased fasting glucose and impaired glucose tolerance was observed during the ipGTT and higher area under the glucose curve during the ipITT compared to OP group. We also observed higher protein content of PEPCK and increased cytokine expression in liver of OPI compared to OP group. The HLOP and HLOPI did not show any differences. The results showed that OPI group presented similar results when compared to both high-fat diet groups. These results indicate that substitution of palm oil for interesterified palm oil on normocaloric and normolipidic diet could modulate negatively metabolic parameters and glucose homeostasis, furthermore the interesterified fat upregulated cytokine gene expression in the liver.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Sinalização da insulina em hepatócito promovendo a síntese de glicogênio (glicogênese) e inibição da gliconeogênese.....	19
Figura 2. Resistência à sinalização da insulina mediada por citocinas e ácidos graxos saturados livres em hepatócito.....	21
Figura 3. Representação de um triacilglicerol e a nomenclatura esteroespecífica (sn) e a interesterificação química.....	24
Figura 4. Delineamento experimental.....	31
Figura 5. Esquema da reação de interesterificação química do óleo de palma.....	33
Figura 6. Ganho de peso corporal semanal e adiposidade após 8 semanas de dieta.....	46
Figura 7. Análise de triglicérides e colesterol total plasmáticos.....	47
Figura 8. Análise da glicemia em jejum.....	48
Figura 9. Gordura interesterificada e avaliação de tolerância à glicose.....	50
Figura 10. Gordura interesterificada e avaliação de sensibilidade à insulina.....	52
Figura 11. Gordura interesterificada e a expressão gênica de enzimas-chave da gliconeogênese hepática.....	53
Figura 12. Gordura interesterificada e o conteúdo proteico das enzimas-chave da gliconeogênese hepática.....	55
Figura 13. Conteúdo de glicogênio, triglicérides e colesterol hepático.....	57
Figura 14. Gordura interesterificada e a expressão gênica de citocinas no tecido hepático após 8 semanas de dieta.....	61
Figura 15. Ganho de peso corporal semanal e adiposidade após 16 semanas de dieta.....	63
Figura 16. Glicemia de jejum e avaliação de tolerância à glicose após 16 semanas de dieta.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas (OP, OPI, HLOP, HLOPI).....	31
Tabela 2. Composição de ácidos graxos do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.....	42
Tabela 3. Composição em triacilglicerois e quantidade relativa de triacilglicerois, diacilglicerois, monoacilglicerois e ácidos graxos livres do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.....	43
Tabela 4. Posição dos ácidos graxos obtidos pela análise de distribuição regioespecífica do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.....	44
Tabela 5. Posição dos ácidos graxos obtidos pela análise de distribuição regioespecífica corrigidos pela quantidade de ácidos graxos saturados e insaturados na amostra segundo a composição em ácidos graxos do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.....	44
Tabela 6. Composição de ácidos graxos do tecido hepático dos grupos OP, OPI, HLOP e HLOPI.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG MONO - Ácido graxo monoinsaturado

AG POLI - Ácido graxo poliinsaturado

AG SAT - Ácido graxo saturado

AG TRANS - Ácido graxo *trans*

AKT - Proteína quinase B

DAG - Diacilglicerol

DHGNA - Doença hepática gordurosa não alcoólica

G6Pase - Glicose-6-fosfatase

HLOP - Dieta hiperlipídica com 60% do valor energético total de óleo de palma

HLOPI - Dieta hiperlipídica com 60% do valor energético total de óleo de palma interesterificado

IB - *Immunoblotting*

IL-1 β - Interleucina 1 'beta'

IL-6 - Interleucina 6

IL-10 - Interleucina 10

ipGTT - Teste intraperitoneal de tolerância à glicose

ipITT - Teste intraperitoneal de tolerância à insulina

MAG - Monoacilglicerol

MeONa - Metóxido de sódio

OP - Dieta controle com 10% do valor energético total de óleo de palma

OPI - Dieta controle com 10% do valor energético total de óleo de palma interesterificado

PEPCK - Fosfoenolpiruvatocarboxiquinase

qRT-PCR - PCR quantitativo em tempo real

RI - resistência à insulina

TAG - Triacilglicerol

TLR-4 - *Toll-like receptor 4*

TNF- α - Fator de necrose tumoral 'alfa'

WB - Western Blot

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	29
2.1. Objetivo geral	29
2.2. Objetivos específicos	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1. Desenho experimental	30
3.2. Formulação da gordura de palma interesterificada	32
3.3. Caracterização química das fontes lipídicas das dietas	33
3.4. Parâmetros metabólicos.....	35
3.5. Extração dos tecidos	36
3.6. Análises bioquímicas do soro.....	36
3.7. Extração e determinação do conteúdo lipídico do tecido hepático.....	36
3.8. Extração e determinação do glicogênio hepático	37
3.9. Western blotting	37
3.10. RT-qPCR	38
3.11. Forma de análise estatística	38
4. RESULTADOS	40
5. DISCUSSÃO.....	64
6. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS.....	71
ANEXOS	77

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo aumento da deposição do tecido adiposo, em particular, o tecido adiposo visceral que pode trazer prejuízos para a saúde (WHO, 2016) e está acompanhada do desenvolvimento de doenças associadas, como a resistência à insulina (RI), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemias, hipertensão arterial sistêmica (HAS), doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), diversos tipos de cânceres, entre outras (ALBERTI et al., 2009; FAN; KIM; WONG, 2017). O aumento da prevalência da obesidade e, conseqüentemente das suas comorbidades, estão entre as maiores causas de morte, e é por essa razão que ela tem sido considerada como um dos mais importantes problemas de saúde pública no mundo (AHIMA, 2011; POPKIN; ADAIR; NG, 2012; WHO, 2016).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a prevalência de obesidade no mundo mais do que duplicou desde 1980 e, dados recentes apontam que mais de 1,9 bilhão de adultos (39% da população mundial) estão acima do peso, dentre estes, mais de 600 milhões estão classificados como obesos (13% da população mundial) (WHO, 2016). No Brasil, dados obtidos pelo Ministério da Saúde em 2015 através do VIGITEL (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), mostram que indivíduos com sobrepeso vem aumentando de 43% para 52,50%, ao longo de um período de 9 anos (BRASIL, 2015).

De etiologia multifatorial e complexa, a obesidade é considerada uma doença, e está relacionada com a interação de determinantes genéticos ainda pouco conhecidos, metabólicos, ambientais, psicossociais, comportamentais e culturais (KOPELMAN, 2000). Dentre os fatores responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade, a drástica diminuição da atividade física e mudança dos padrões alimentares resultam em um desequilíbrio energético, desempenham um papel relevante na patogênese e na manutenção da característica epidêmica desta doença (AHIMA, 2011; FAN; KIM; WONG, 2017; KOPELMAN, 2000; POPKIN; ADAIR; NG, 2012; VELLOSO, 2006).

A obesidade altera funções metabólicas e endócrinas no tecido adiposo, promovendo maior síntese e liberação de ácidos graxos, hormônios e moléculas pró-

inflamatórias que contribuem para a manutenção do estado de inflamação crônica e de baixo grau (WEISBERG et al., 2003). Em indivíduos obesos e em modelos experimentais de obesidade é observada a hipertrofia de adipócitos, que resulta em áreas hipoperfundidas do tecido adiposo, criando ambientes de microhipóxia (SCHENK; SABERI; OLEFSKY, 2008). A hipóxia acarreta na ativação das vias da JNK e a IKK/NF- κ B e, conseqüentemente, aumento da expressão de genes relacionados com a inflamação, entre eles quimiocinas como, por exemplo, MCP-1 (Proteínas quimio-atrativas de monócitos 1) (WANG; WOOD; TRAYHURN, 2007; YE et al., 2007). A síntese e subsequente liberação destas quimiocinas promovem o recrutamento e aumento no número de monócitos para o tecido adiposo, sendo estes os principais responsáveis pela produção de TNF α , IL-6 e iNOS (WEISBERG et al., 2003).

No tecido adiposo a RI é responsável pela falha na captação de glicose via GLUT-4, aumento da lipólise e diminuição da síntese de adiponectina (LUCA; OLEFSKY, 2008; SCHINNER et al., 2005). O aumento da expressão e a desregulada secreção de citocinas provenientes do tecido adiposo pode causar anormalidades no metabolismo de lipídios resultantes da interação entre o estado inflamatório e o desenvolvimento de RI, levando ao aumento da lipólise e diminuição da lipogênese, contribuindo para o desenvolvimento da lipotoxicidade, que consiste no aumento de ácidos graxos circulantes e/ou o acúmulo de lipídios no músculo e fígado, contribuindo para o desenvolvimento de RI nesses tecidos (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993; HOTAMISLIGIL et al., 1995; TATEYA; KIM; TAMORI, 2013).

Portanto, pode se dizer que a RI na obesidade é uma consequência decorrente da exposição a uma sobrecarga de nutrientes em longo prazo, e diversos e complexos mecanismos podem levar a sua manifestação como: a lipotoxicidade dado pelo maior fluxo de ácidos graxos (tanto provenientes da alimentação quanto da síntese endógena e da lipólise do tecido adiposo), excesso de nutrientes e microhipóxia, estresse de retículo endoplasmático, secreção de citocinas e inflamação crônica no tecido adiposo (SCHENK; SABERI; OLEFSKY, 2008).

Dentre as comorbidades causadas por anormalidades metabólicas decorrentes da obesidade e a RI, está a doença hepática gordurosa não alcoólica

(DHGNA) (LAU; ZHANG; YU, 2017; RECCIA et al., 2017), que tem como definição diversas desordens caracterizadas pela esteatose hepática em indivíduos que não fazem o uso do álcool ou na ausência de infecções (SANYAL, 2002). Reconhecida como a doença hepática mais comum, acometendo cerca de 30% da população, a DHGNA é considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica (MARCHESINI et al., 2003; PETTA; MURATORE; CRAXÌ, 2009; YOUNOSSI et al., 2016). Estudos demonstram uma forte associação entre a DHGNA, RI e o DM2, sendo que mais de 90% dos pacientes obesos com DM2 apresentam a DHGNA (TOLMAN et al., 2007; PETERSEN et al., 2006).

A composição e localização corporal de tecido adiposo possuem um papel importante no conteúdo hepático de gordura, sendo que não somente obesos possuem esta condição (SEPPÄLÄ-LINDROOS et al., 2002). O acúmulo de gordura no tecido hepático é independente da composição corporal sendo também associada à hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, baixos níveis de colesterol de alta densidade (HDL-c) e aumento da pressão arterial sistêmica (SEPPÄLÄ-LINDROOS et al., 2002). Além disso, há uma associação entre a supressão da produção endógena de glicose e a quantidade de gordura hepática, mostrando que há uma estreita relação entre o percentual do depósito de gordura hepática e a sensibilidade do fígado à insulina (RYYSY et al., 2000).

O fígado é principal órgão responsável pelo metabolismo energético e pela manutenção da homeostasia da glicose, e suas funções metabólicas são finamente controladas e orquestradas pela insulina e por outros hormônios. A presença de nutrientes, hormônios e sinais provenientes do sistema nervoso central são os principais responsáveis pela regulação do metabolismo de glicose, lipídios e aminoácidos no tecido hepático. Após curtos períodos em jejum, a produção e liberação de glicose pelo fígado acontece por meio da glicogenólise e a redução do estoque hepático de glicogênio leva a ativação da gliconeogênese, via pela qual a glicose é produzida por meio da utilização substratos não-carboidratos, como o lactato, piruvato, glicerol e alguns aminoácidos como precursores (RUI, 2014).

A gliconeogênese hepática é a principal responsável pela manutenção da euglicemia durante os períodos de jejum prolongado, sendo regulada pela disponibilidade dos substratos, ativação das enzimas-chave como a

fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) e a glicose-6-fosfatase (G6Pase), e fatores de transcrição, como FOXO1, responsáveis pela expressão destas enzimas (RUI, 2014).

A sinalização da insulina no tecido hepático é um importante supressor da gliconeogênese, sendo essencial para regulação da homeostasia e manutenção das funções fisiológicas desempenhadas pelo órgão (MICHAEL et al., 2000; RUI, 2014). Como representado na **figura 1**, a insulina se liga ao seu receptor IR, com atividade quinase intrínseca, que se autofosforila e fosforila em resíduos de tirosina os substratos citoplasmáticos deste receptor (IRS 1/2), promovendo a ativação da PI3-K, que é posicionada para fosforilar fosfoinosítídeos da membrana plasmática (PIP2 → PIP3), segundos mensageiros que ativam PDK que medeia a fosforilação de AKT. pAKT fosforila e inibe a atividade constitutiva de GSK-3, resultando em aumento da síntese de glicogênio. pAKT fosforila e inibe a transcrição gênica mediada por FOXO, entre eles, as enzimas-chave da gliconeogênese hepática (PEPCK e G6Pase). Assim, o adequado controle da via gliconeogênica hepática desempenha um papel fundamental para a manutenção da homeostasia de glicose (RUI, 2014). Em camundongos, a deleção específica para receptores de insulina (IR) em hepatócitos promoveu aumento da gliconeogênese hepática, resultando hiperglicemia e intolerância à glicose (MICHAEL et al., 2000), mostrando o importante papel supressor da gliconeogênese desempenhado pela insulina.

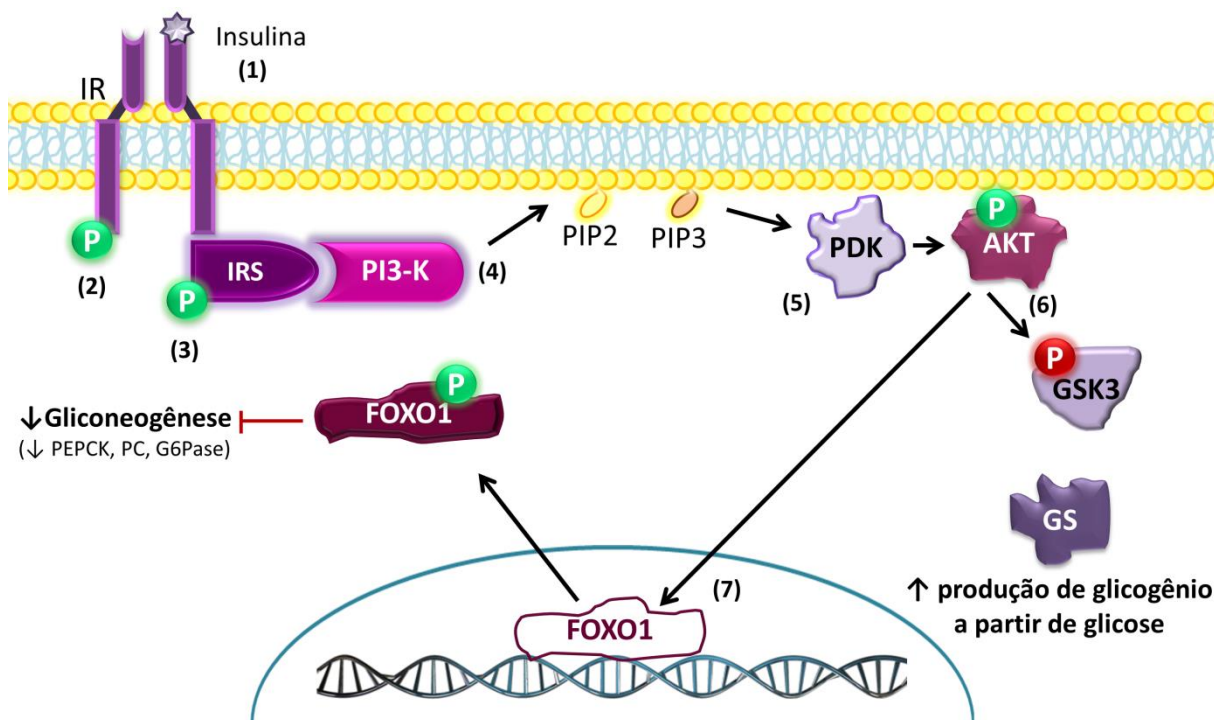


Figura 1. Sinalização da insulina em hepatócito promovendo a síntese de glicogênio (glicogênese) e inibição da gliconeogênese. O controle da via gliconeogênica hepática desempenha um papel fundamental para a manutenção da homeostasia de glicose. Em condições fisiológicas a supressão da produção de glicose hepática via gliconeogênese se dá pela ação do hormônio insulina, que é sintetizado e liberado pelas células beta pancreáticas em resposta à presença de nutrientes. **(1)** A insulina se liga ao seu receptor IR, com atividade quinase intrínseca, que se **(2)** autofosforila e **(3)** fosforila em tirosina substratos citoplasmáticos deste receptor (IRS 1/2), criando sítios de encaixe para PI3-K. **(4)** PI3-K é posicionado para fosforilar fosfoinosítídeos da membrana plasmática PIP2 que é convertido em PIP3, um segundo mensageiro que ativa PDK e recruta AKT para a membrana celular. **(5)** PDK medeia a fosforilação de AKT – a AKT possui diversos alvos *downstream*, entre eles GSK-3 e o fator de transcrição FOXO. **(6)** pAKT fosforila e inibe a atividade constitutiva de GSK-3, resultando em aumento da síntese de glicogênio. **(7)** pAKT fosforila e inibe a transcrição gênica mediada por FOXO, entre eles, as enzimas-chave da gliconeogênese hepática (PEPCK e G6Pase). (→ ATIVA; — INIBE) (Adaptado de RUI, 2014).

A ativação e sinalização de vias inflamatórias é um dos principais mecanismos que promove o quadro de RI, comumente observado em obesos, resultando em diferentes repercussões em diversos tecidos. FEINSTEIN e colaboradores (1993) demonstraram que na presença da citocina pró-inflamatória TNF- α foi observada menor fosforilação em resíduos de tirosina em IR e em IRS-1, resultando em menor propagação do sinal da insulina. No contexto de obesidade e DM2, o TNF- α é um importante mediador da RI, principalmente pela ativação de proteínas (JNK e IKK) da via da sinalização de TNF- α que agem diretamente sobre substratos do receptor de insulina 1 (IRS-1) propiciando sua fosforilação em resíduos de serina e consequente diminuição da fosforilação em resíduos de tirosina, o que resulta em uma atenuação da propagação de sinal da insulina (HOTAMISLIGIL et al., 1996).

A ingestão em curto prazo de dietas hiperlipídicas (3 dias) resulta em acúmulo de gordura hepática e modelos animais de DHGNA podem ser obtidos para o estudo de mecanismos de RI no fígado (PERRY et al., 2014). Neste modelo é observada maior ativação de proteínas como JNK, IKK e PKCs que são serinas quinases, que contribuem para RI levando a maior produção endógena de glicose via gliconeogênese ao mesmo tempo em que limita a ativação da glicogênio sintase (SAMUEL et al., 2004).

A inabilidade da insulina em propagar o sinal se dá, principalmente, pela ativação de serinas quinases (JNK e IKK) por vias inflamatórias e pelo excesso de metabólitos de gordura, como diacilgliceróis (DAGs) no tecido hepático (PKC, uma serina quinase), estas são responsáveis pela inibição da progressão da sinalização deste hormônio (**figura 2**) (CAI et al., 2005; PERRY et al., 2014). No fígado ocorre a diminuição da glicogênese e aumento da glicogenólise, lipólise e gliconeogênese (**figura 2**) (GROSS; WAN; BIRNBAUM, 2009; HALL et al., 2000; JOHNSON; OLEFSKY, 2013).

No SNC, especificamente no hipotálamo, a RI pode comprometer a regulação da ingestão alimentar e levar a efeitos negativos sobre o controle periférico do metabolismo lipídico e glicídico (GROSS; WAN; BIRNBAUM, 2009; KÖNNER; BRÜNING, 2012).

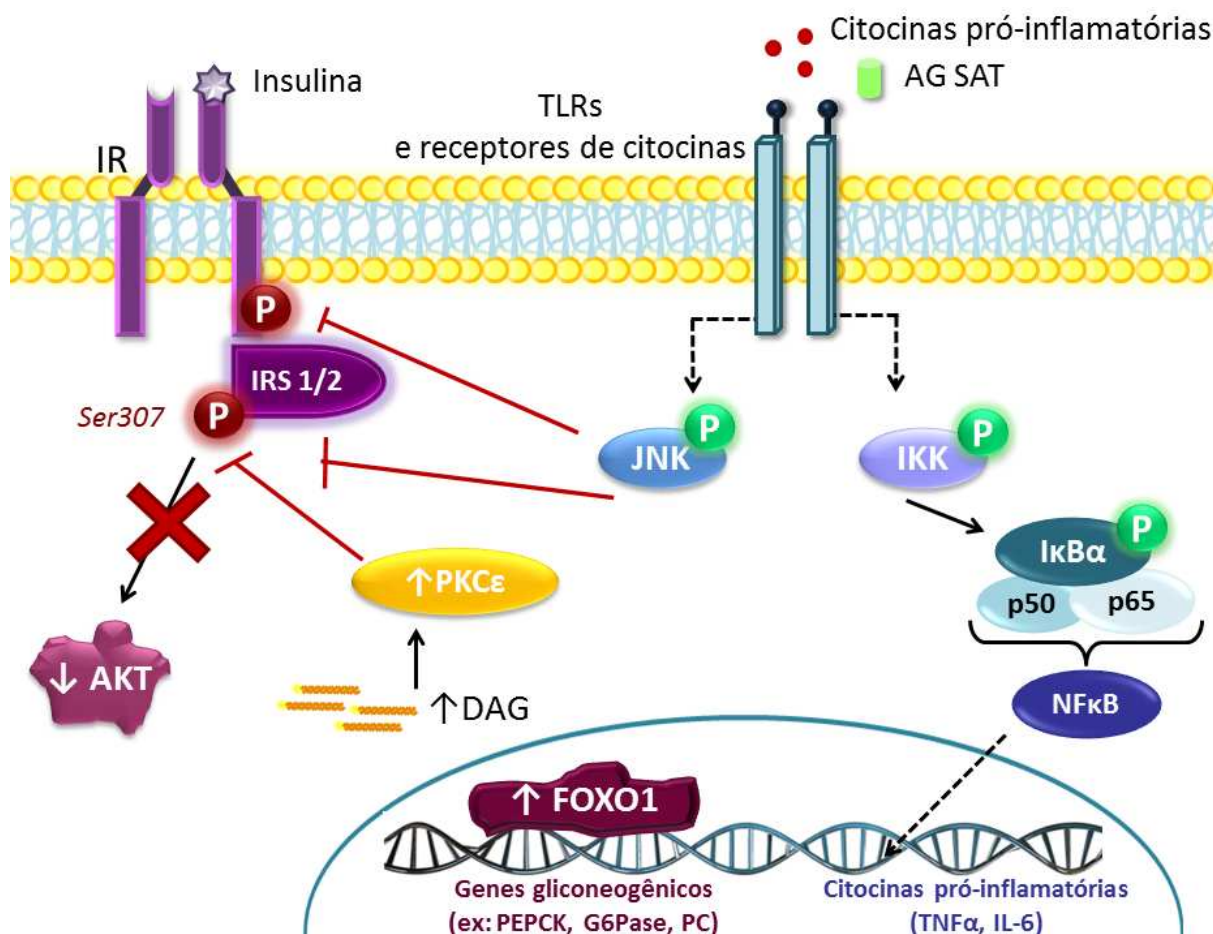


Figura 2. Resistência à sinalização da insulina mediada por citocinas e ácidos graxos saturados livres em hepatócito. A RI pode ser mediada pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias e/ou ácidos graxos livres circulantes que promovem a ativação de vias inflamatórias estimulando a ativação das serinas quinases JNK e IKK, que levam ao aumento da fosforilação em resíduos de serina, o que leva redução da propagação do sinal da insulina por IR e IRS1/2. Outro mecanismo responsável pela atenuação do sinal da insulina é o aumento de DAG (resultado da degradação de TAG), que ativa PKC, serinas quinases que atuam de forma semelhante a JNK e IKK. O prejuízo da ação da insulina resulta em menor fosforilação e ativação de AKT, reduzindo a supressão da gliconeogênese hepática por manter FOXO1 no núcleo e aumentando a expressão de genes relacionados a expressão de PEPCK, G6Pase e PC (enzimas-chave da gliconeogênese hepática). (→ ATIVA; — INIBE). (Adaptado de GLASS; OLEFSKY, 2012; PERRY et al., 2014).

Dentre os fatores ambientais que estão relacionados ao aumento da prevalência da obesidade, o consumo excessivo de calorias e consequente desequilíbrio do consumo de macronutrientes, como dietas hiperlipídicas, são capazes de favorecer o ganho de peso (AHIMA, 2011; KOPELMAN, 2000; POPKIN; ADAIR; NG, 2012). O padrão alimentar atual da população é marcado pela grande ingestão de alimentos processados e ultraprocessados, altamente palatáveis, com elevada densidade calórica, ricos em açúcar e gorduras, como a gordura *trans*, óleos e gorduras interesterificadas e gorduras vegetais. Por essa razão os efeitos dos diferentes tipos de óleos e gorduras na nutrição e saúde humana têm sido intensamente discutidos e estudados nas últimas décadas. Interessantemente, estudos demonstram que não apenas a quantidade, mas também a qualidade de gordura ingerida merece atenção (WANG et al., 2016).

Dois grandes estudos de coorte prospectivos demonstraram a associação entre a mortalidade total e causa-específica de morte pela ingestão de gorduras saturadas e *trans*, e concluíram que redução do consumo de gordura saturada e aumento da ingestão de gorduras insaturadas foi capaz de reduzir a mortalidade em 27%, mostrando as diferentes repercussões da ingestão dos diferentes tipos de gorduras alimentares na saúde e indicando a importância da redução do consumo de ácidos graxos saturados e *trans* e a substituição por gorduras insaturadas (WANG et al., 2016).

Os ácidos graxos insaturados podem apresentar dois tipos de configurações da insaturação: a *cis*, onde a cadeia de carbonos se dobra próximo uma a outra, e a *trans*, que se apresenta de forma linear, similar aos ácidos graxos saturados (SEMMA, 2002). Os ácidos graxos *trans* são artificialmente produzidos a partir da hidrogenação parcial catalítica de óleos vegetais, gerando principalmente o ácido graxo elaídico (*trans*-9 18:2) ou naturalmente pelo processo de biohidrogenação realizada por animais ruminantes, levando a formação de CLA (“9-*cis*,11-*trans*-octadecadienoic acid”) (BROUWER; WANDERS; KATAN, 2010). O processo de hidrogenação parcial dos ácidos graxos insaturados é utilizado de forma abrangente na indústria alimentícia e é o principal responsável pela geração das gorduras *trans* consumidas (MOZAFFARIAN; ARO; WILLETT, 2009; RIBEIRO et al., 2007).

O processo de hidrogenação promove a eliminação de duplas ligações através da adição de átomos de hidrogênio em cadeias insaturadas de ácidos graxos, quando a reação de hidrogenação é feita parcialmente, devido ao mecanismo da reação, ocorre eliminação de algumas duplas ligações e uma proporção significativa de duplas ligações *cis* é convertida em seus respectivos isômeros *trans* promovendo maior estabilidade oxidativa para o produto final (ASCHERIO; WILLETT, 1997; HISSANGA; PROENÇA; BLOCK, 2012; SEMMA, 2002).

Estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos demonstraram evidências sobre os efeitos deletérios, tanto no estado nutricional, quanto no desenvolvimento de DCVs e doenças crônicas degenerativas do consumo da gordura *trans* (ASCHERIO; WILLETT, 1997; HU et al., 1997; MENSINK, RONALD P, KATAN, 1990; MOZAFFARIAN; ARO; WILLETT, 2009; OOMEN et al., 2001). Diante dessas evidências, políticas públicas foram criadas recomendando a redução do consumo de ácidos graxos *trans* (AG TRANS), além de se tornar obrigatório a apresentação destes na rotulagem de produtos alimentares (WHO, 2004).

No Brasil, através da resolução RDC nº 360 de dezembro de 2003, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou que os alimentos considerados “zero *trans*” devem conter uma quantidade menor ou igual a 0,20g por porção do alimento. Em novembro de 2012, a RDC nº 54 entrou em vigência e o limite para ser considerado “zero *trans*” é de 0,10g por porção ou a cada 100g ou 100mL em preparações.

Dentro desta nova realidade e para se adequar as legislações vigentes no país, a indústria de alimentos tem desenvolvido diversos processos tecnológicos com intuito de reduzir e até mesmo eliminar os AG TRANS dos produtos alimentícios, dentre eles, o uso de gorduras vegetais, como a gordura de palma e as gorduras modificadas pelo processo de interesterificação vem ganhando destaque e o seu uso tem aumentado (RIBEIRO et al., 2007; SILVA; GIOIELLI, 2006).

Os óleos e gorduras são compostos predominantemente por triacilgliceróis. Os triacilgliceróis (TAG) são estruturas compostas por três ácidos graxos esterificados aos carbonos hidroxilas de uma molécula de glicerol, sendo que este pode ser formado a partir de três ácidos graxos iguais ou a partir de uma

mistura de diferentes ácidos graxos (BERRY, 2009). A maior parte dos TAG de ocorrência natural é misto contendo, portanto, dois ou três ácidos graxos diferentes. Os ácidos graxos que compõem os TAG são esterificados em três diferentes posições do glicerol, como representado na **figura 3**, estas regiões são descritas por um sistema de numeração esteroespecífica (sn): sn-1, sn-2 e sn-3, onde o sn-2 refere-se à posição central e sn-1 e sn-3 referem-se às posições externas do TAG, sendo que frequentemente os ácidos graxos insaturados estão acilados na posição sn-2, enquanto que os ácidos graxos saturados estão acilados nas posições externas do glicerol (sn-1 e sn-3) (BERRY, 2009; MAY; NESARETNAM, 2014; RIBEIRO et al., 2007).

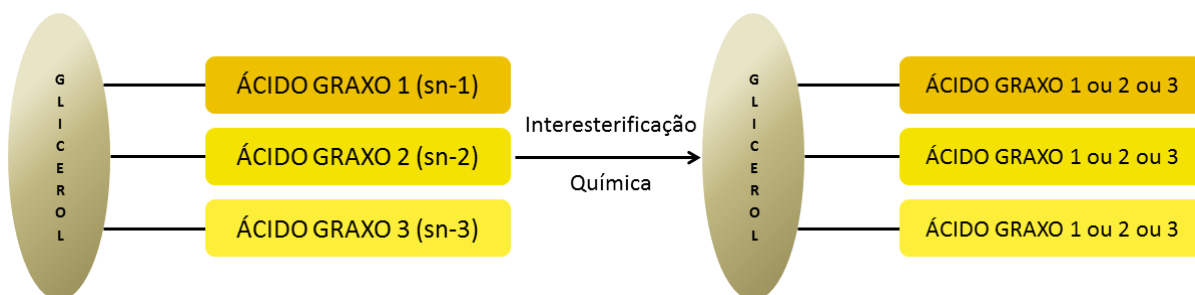


Figura 3. Representação de um triacilglicerol e a nomenclatura esteroespecífica (sn) e a interesterificação química. A imagem indica um esquema de um TAG e os ácidos graxos segundo a numeração esteroespecífica.

Os processos de interesterificação química e enzimática são os mais utilizados atualmente como alternativa tecnológica a hidrogenação parcial para a modificação de óleos e gorduras. A interesterificação permite a produção de óleos e gorduras com funcionalidades específicas devido a mudanças nas propriedades de fusão e solidificação de óleos e gorduras pelo rearranjo aleatório dos ácidos graxos que permanecem inalterados na molécula de glicerol, criando novas estruturas de TAG isentos de isômeros *trans* (GRIMALDI et al., 2005; RIBEIRO et al., 2009a).

Diferente do processo de hidrogenação parcial, a interesterificação não isomeriza as duplas-ligações e não interfere no grau de saturação dos ácidos graxos (HAUMANN, 1994; NORIZZAH et al., 2004). O processo químico é realizado pela adição de um catalisador em óleo ou gordura isentas de umidade, a uma

temperatura de 90 – 100°C, onde a reação ocorre por um tempo pré-determinado e a adição de água permite a paralisação instantânea da reação (GRIMALDI et al., 2005; RIBEIRO et al., 2007). Para que a reação de interesterificação química ocorra de maneira eficiente, o seu processo deve ser otimizado, levando em consideração a matéria prima utilizada, o catalisador, a temperatura e o tempo de reação, segundo GRIMALDI e colaboradores (2005), as condições ótimas para a interesterificação do óleo de palma é com 0,40% de metóxido de sódio (MeONa), por 20 minutos de reação. Enquanto que o processo de interesterificação enzimática é específica por promover a migração os ácidos graxos presentes em sn-1 e sn-3 por meio da utilização de biocatalisadores, tais como lipases microbianas, responsáveis por promover a troca dos ácidos graxos nas moléculas de glicerol (BERRY, 2009; RIBEIRO et al., 2007). Porém, o processo mais utilizado pela indústria é a interesterificação química, por ser mais viável economicamente (NIELSEN, 2006).

A interesterificação leva ao aumento nos níveis de triacilgliceróis dissaturados e trissaturados com a introdução de ácidos graxos saturados (palmítico ou esteárico) na posição sn-2 do glicerol resultando assim no aumento do ponto de fusão do produto, sendo portanto, uma ferramenta fundamental para a formulação de gorduras isentas de isômeros *trans* (BERRY, 2009; MAY; NESARETNAM, 2014; RIBEIRO et al., 2007).

Outros substitutos bastante utilizados pela indústria de alimentos são as gorduras vegetais, dentre elas, o óleo de palma. O óleo de palma apresenta uma composição de ácidos graxos saturados e insaturados bastante similar à gordura proveniente de fonte animal, apresentando aproximadamente 50% de ácidos graxos saturados e 50% de ácidos graxos insaturados. Suas características físico-químicas chamaram a atenção da indústria alimentícia, pois o óleo de palma apresenta elevada estabilidade oxidativa, tanto em temperatura ambiente, como também em altas temperaturas, sendo um substituto adequado das gorduras parcialmente hidrogenadas por sua possibilidade de aplicação em diversos tipos de produtos alimentícios (NOOR LIDA et al., 2002). O óleo de palma é rico em ácidos graxos saturados de cadeia longa e é composto predominantemente por TAGs e os outros componentes como DAGs, MAGs e ácidos graxos livres, sendo que estes podem compostos podem ser resultantes da biossíntese de novos TAGs e/ou produtos

provenientes da ação de enzimas lipolíticas (SAMBANTHAMURTHI; SUNDRAM; TAN, 2000).

As alterações nas moléculas de TAGs decorrente do processo de interesterificação podem ter um impacto importante no metabolismo, uma vez que as estruturas de 2-monoacilglicerois são mantidas durante a digestão e absorção, e estas servem de precursores para a formação de novos TAG que serão transportados pelos quilomícrons (INNIS; DYER, 1997). Em 2007 a “*American Heart Association*” publicou um documento manifestando a preocupação dos possíveis riscos pelo aumento do consumo de óleos e gorduras enriquecidas com gorduras saturadas, como as gorduras interesterificadas e as gorduras vegetais, que vem sendo utilizadas como substitutos das gorduras *trans* (ECKEL; PAST; BORRA, 2007).

Poucos estudos avaliaram o papel das gorduras interesterificadas no organismo, sendo que alguns resultados se apresentam bastante conflitantes e pouco se sabe sobre as repercussões da ingestão da gordura interesterificada a curto e longo prazo no metabolismo.

Estudos realizados em modelos experimentais mostraram que o consumo de óleos e gorduras interesterificados quando comparados com as suas respectivas misturas (óleo de coco, óleo de farelo de arroz e óleo de sésamo) promoveram a redução do colesterol total, LDL-c e triglicérides, além disso, a redução destes estavam associados com a modulação da expressão de enzimas-chave do metabolismo de colesterol (REENA; GOWDA; LOKESH, 2011). Por outro lado, foi demonstrado também que a ingestão de gordura enriquecida com ácido palmítico em sn-2, obtida por interesterificação química, induziu o desenvolvimento de aterosclerose devido ao maior acúmulo de colesterol em partículas de LDL e em macrófagos, promovendo a ativação de vias inflamatórias em animais LDLr-KO (AFONSO et al., 2016). Ainda, um estudo com humanos mostrou que a introdução do ácido graxo saturado na posição sn-2 da molécula de glicerol pode prejudicar o metabolismo de LDL-c (SUNDRAM; KARUPAIAH; HAYES, 2007).

O consumo de gordura interesterificada por camundongos fêmeas (C57/BL) durante a gravidez e lactação promoveu mudanças no desenvolvimento e metabolismo do tecido adiposo, resultando no aumento da deposição do tecido

adiposo visceral da prole e assim, predispondo ao desenvolvimento de obesidade na vida adulta quando comparado aos grupos que receberam óleo de soja, óleo de palma ou gordura *trans* (MAGRI et al., 2015). Outro grupo mostrou que consumo de gordura interesterificada durante estágios iniciais do desenvolvimento de roedores promoveu a modificação da composição de ácidos graxos do hipocampo (aumento de ácidos graxos saturados e diminuição de DHA), piora da memória pela modulação no sistema antioxidante, favorecendo dano oxidativo no hipocampo em prole de mães que receberam suplementação com gordura interesterificada durante o período de acasalamento, gestação e lactação (D'AVILA et al., 2017)

Em estudos prévios do nosso grupo foram analisados diferentes grupos experimentais de roedores alimentados com dieta controle ou hiperlipídica rica em gordura interesterificada por processo químico. Nossos resultados mostraram maior ganho de peso corporal, maior glicemia de jejum, intolerância à glicose, aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e marcadores de estresse de retículo endoplasmático no tecido hepático de animais que receberam dieta controle (normocalórica e normolipídica, aproximadamente 10% do valor calórico total) onde a fonte de gordura dietética era o óleo de soja interesterificado quando comparado ao seu controle, que recebeu dieta com óleo de soja não modificado (MIYAMOTO et al, submetido e em análise *The Journal of Nutritional Biochemistry*).

Ainda não se tem uma estimativa da participação das gorduras interesterificadas na alimentação da população, porém o seu consumo tende a aumentar substancialmente devido às legislações que vetaram o uso de gordura *trans* pela indústria de alimentos. Em junho de 2015, o órgão do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, FDA (*Food and Drug Administration*), baseada em evidências científicas determinou que as gorduras parcialmente hidrogenadas seriam desclassificadas como “*generally recognized as safe*” (GRAS), portanto estes componentes não seriam mais considerados seguros para o consumo. O órgão ainda determinou que as indústrias alimentícias americanas tenham um prazo de até 18 de junho de 2018 para se adequar e reformular os seus produtos para que o uso de gorduras parcialmente hidrogenadas sejam completamente eliminadas. Na Europa, países como a Dinamarca e Suíça já possuem leis que proíbem a utilização de gordura *trans* pela indústria de alimentos. No Brasil, em maio de 2017, o Projeto de Lei do Senado nº 478, de 2015 que

determina que os alimentos não poderão conter gordura *trans* e estabelece o incentivo às pesquisas com intuito de formulação de gorduras para a substituição de gordura *trans* e gordura saturada dos alimentos foi sancionada. Assim, as indústrias brasileiras têm um prazo de 3 anos para se adequar à nova legislação.

Sendo assim, a indústria alimentícia terá que buscar novas alternativas tecnológicas como substitutos das gorduras *trans* nos alimentos e este cenário implicará na maior utilização para a produção de alimentos, conseqüentemente, o maior consumo de gorduras interesterificadas pela população.

Diante desta nova realidade, o aumento da ingestão de gordura interesterificada pela população promovida pela substituição dos ácidos graxos *trans* pela indústria de alimentos e da escassez de estudos sobre os efeitos desses novos componentes da dieta moderna, torna-se importante entender as respostas do organismo à ingestão dietética de gorduras interesterificadas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os parâmetros metabólicos, moleculares e a produção hepática de glicose em camundongos alimentados com dieta rica em gordura interesterificada.

2.2. Objetivos específicos

- Análise química das fontes lipídicas dietéticas utilizadas;
- Avaliar parâmetros metabólicos periféricos de animais em resposta ao consumo de gordura interesterificada;
- Avaliar a atuação das gorduras interesterificadas em parâmetros bioquímicos séricos;
- Avaliar a modulação da via gliconeogênica no fígado de animais alimentados com dieta rica em gordura interesterificada;
- Avaliar ativação de proteínas de vias inflamatórias no fígado de animais alimentados com dieta rica em gordura interesterificada;
- Extração e avaliação do perfil de ácidos graxos do tecido hepático de animais alimentados com dieta rica em gordura interesterificada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Desenho experimental

Todos os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Estadual de Campinas (nº 3853-1), conforme o certificado apresentado no **Anexo I**.

Camundongos machos da linhagem *Swiss* provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/UNICAMP) foram obtidos com quatro semanas de vida. Os animais passaram por um período de aclimação de duas semanas, no qual receberam dieta controle e ao completar seis semanas de vida foram separados aleatoriamente em quatro grupos experimentais: dieta controle normocalórica e normolipídica (OP), com 10% do valor calórico proveniente de lipídios (óleo de palma refinado não modificado), dieta controle interesterificada normocalórica e normolipídica (OPI) com 10% do valor calórico proveniente de lipídios (óleo de palma refinado interesterificado), dieta hiperlipídica (HLOP) com 60% do valor calórico proveniente de lipídios (óleo de palma refinado não modificado) e dieta hiperlipídica interesterificada (HLOPI) com 60% do valor calórico proveniente de lipídios (óleo de palma refinado interesterificado), conforme ilustrada na **figura 4**. Todas as dietas foram preparadas e adaptadas a partir da AIN93-M (REEVES; FORREST; FAHEY, 1993) recomendada para roedores. A composição das dietas oferecidas está listada na **tabela 1**. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com 12 horas de ciclo claro/escuro, em gaiolas individuais de polipropileno onde receberam água e dieta *ad libitum* por todo o período experimental de 8 semanas. A ingestão alimentar e o peso corporal dos animais foram monitorados durante todo o período. Ao final dos períodos experimentais (8 ou 16 semanas), os animais foram submetidos à eutanásia após um período de 12 horas em jejum.

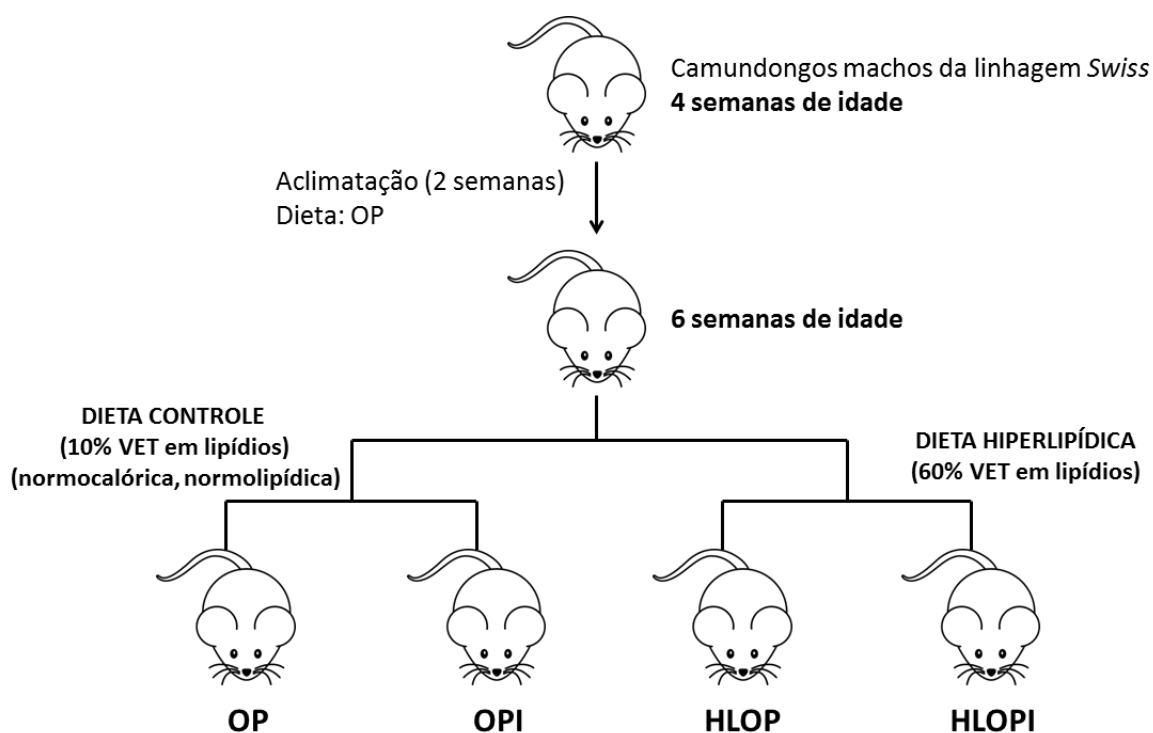


Figura 4. Delineamento experimental. OP: dieta controle contendo 10% do VET de óleo de palma não modificado; OPI: dieta controle contendo 10% do VET de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica contendo 60% do VET de óleo de palma não modificado; HLOPI: dieta hiperlipídica contendo 60% do VET de óleo de palma interesterificado.

Tabela 1. Composição das dietas (OP, OPI, HLOP, HLOPI)

	NORMOCALÓRICA NORMOLIPÍDICA	NORMOCALÓRICA NORMOLIPÍDICA INTERESTERIFICADA	HIPERCALÓRICA HIPERLIPÍDICA	HIPERCALÓRICA HIPERLIPÍDICA INTERESTERIFICADA
	OP	OPI	HLOP	HLOPI
INGREDIENTES	AIN ADAP (g)	AIN ADAP INTER (g)	HL SAT 60% (g)	HL INTER 60% (g)
Amido	410,7	410,7	20	20
Caseína	110	110	161	161
Farinha de Trigo	200	200	240	240
Maltodextrose	115	115	39,1	39,1
Sacarose	25	25	100	100
Óleo de palma	40	-----	340	-----
Óleo de palma inter.	-----	40	-----	340
Fibras (celulose)	50	50	50	50
Mix minerais	35	35	35	35
Mix vitaminas	10	10	10	10
L-cistina	1,8	1,8	2,4	2,4
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5
TOTAL	1000	1000	1000	1000

3.2. Formulação da gordura de palma interesterificada

Para a composição das dietas controle e hiperlipídica (OP e HLOP respectivamente) foi utilizado óleo de palma puro (100%). O óleo de palma foi produzido e refinado pela indústria Agropalma - SA. Para a composição da dieta interesterificada (OPI e HLOPI), foi utilizado óleo de palma randomizado via interesterificação química. Esta fração lipídica foi estabelecida a fim de que a totalidade da composição em ácidos graxos fosse mantida inalterada com respeito à composição das gorduras das dietas.

O óleo de palma interesterificado quimicamente foi obtido em laboratório, com utilização de metóxido de sódio como catalisador, na proporção de 0,4% em relação à fase lipídica. A reação foi realizada a 90°C, durante 20 minutos e posteriormente, foi adicionada água para inativação do catalisador. Em seguida, o óleo interesterificado foi lavado com água a 90°C e submetido à secagem à vácuo por 20 minutos (GRIMALDI et al., 2005; RIBEIRO et al., 2007). O esquema da interesterificação química está apresentado na **figura 5**. O sistema reacional para interesterificação química foi composto por um reator de vidro com parede dupla, modular e volume de 3000 mL (HEL Group, Borehamwood, Inglaterra), com impelidor tipo hélice conectado a um motor de alto torque, RZR 2102 (Heidolph Instruments, Schwabach, Alemanha). Ao reator foi acoplado um banho termostático da marca Julabo Labortechnik GmbH, modelo F25 (Selbach, Alemanha), com programador de temperatura na faixa de 5 a 100 °C e resolução de 0,01 °C.

O óleo de palma e o óleo de palma interesterificado foram mantidos sob congelamento até o momento do preparo das dietas.

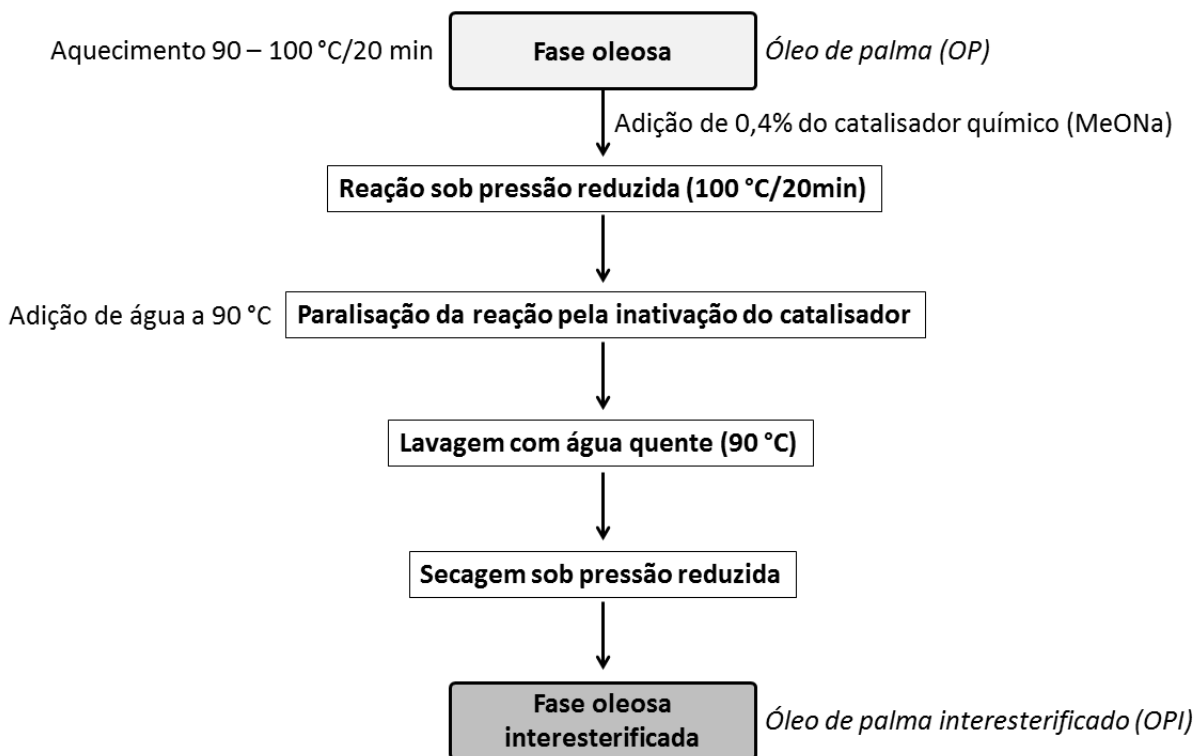


Figura 5. Esquema da reação de interesterificação química do óleo de palma.

3.3. Caracterização química das fontes lipídicas das dietas

3.3.1. Composição em ácidos graxos

A análise da composição em ácidos graxos foi realizada utilizando cromatógrafo em fase gasosa com coluna capilar – CGC Agilent 6850 Series GC System, após esterificação utilizando o método de Hartamn e Lago, 1973. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados de acordo com o método AOCS Ce 1f-96 (AOCS, 2009) em coluna capilar DB – 23 Agilent (50% cyanopropyl-methylpolysiloxano), com as seguintes dimensões: 60m, diâmetro interno: 0,25 mm e 0,25 mm de espessura filme. Condições de análise: temperatura do forno: 110°C por 5min, 110°C-215°C (5°C/min), 215°C por 24 min; temperatura do detector: 280°C; temperatura do injetor 250°C; gás de arraste: hélio; razão split 1:50; volume injetado: 1,0 µL. A composição qualitativa foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos respectivos padrões de ácidos graxos. A composição quantitativa foi realizada por normalização de área, sendo expressa como porcentagem em massa.

3.3.2. Distribuição regioespecífica

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de alta resolução de carbono-13 (^{13}C RMN) das cadeias acila dos triacilgliceróis foi utilizada como método quantitativo para análise regioespecífica. Amostras de 250 mg foram dissolvidas em 0,5 mL de clorofórmio deuterado em tubos de RMN de 5 mm NMR. Os espectros foram obtidos em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) BrukerAdvance DPX 300 (Silberstreifen, Rheinstetten, Germany). A determinação do ^{13}C foi feita na frequência de 75,8 MHz, com probe multinuclear de 5 mm e operação a 30°C, segundo a metodologia de Vlahov (1998).

3.3.3. Composição triacilglicerídica

A análise da composição em triacilgliceróis foi realizada em cromatógrafo em fase gasosa CGC Agilent 6850 Series GC System, utilizando coluna capilar DB-17HT AgilentCatalog 122-1811 (50%-fenilmetilpolisiloxano), com 15 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,15 μm de filme. Condições de análise: injeção split, razão de 1:100; temperatura da coluna: 250°C, programada até 350°C à razão de 5°C/min; gás de arraste: hélio, em vazão de 1,0 mL/min; temperatura do injetor: 360°C; temperatura do detector: 375°C; volume injetado: 1,0 μL ; concentração da amostra: 100mg/5mL de tetrahidrofurano. A identificação dos triacilgliceróis individuais foi realizada através da comparação dos tempos de retenção, segundo os procedimentos de Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995).

3.3.4. Classes de lipídios

Foi determinada por cromatografia de exclusão por tamanho (HPSEC), em cromatógrafo líquido Perkin Elmer 250; detector de índice de refração SiconAnalytic; Coluna 1: Jordi Gel dvb 300 x 7,8 mm, 500 Å; Coluna 2: Jordi Gel dvb 300 x 7,8 mm, 100 Å. Condições de análises: as amostras foram diluídas na proporção de 1:100 (v/v) em tetrahidrofurano; fase móvel: tetrahidrofurano (grau HPLC); fluxo: 1 mL/min; volume injetado: 20.0 μL (DOBARGANES; VELASCO; DIEFFENBACHER, 2000).

3.4. Parâmetros metabólicos

Os parâmetros metabólicos foram avaliados pelo acompanhamento do ganho de peso semanal e ingestão alimentar foi obtida pela média em 24 horas durante todo o período experimental. Os valores de glicemia foram mensurados usando monitor de glicose (Accu-Check Performa, Roche). A sensibilidade ao hormônio insulina e a tolerância à glicose foram avaliadas pela execução dos testes de tolerância à glicose (ipGTT), tolerância à insulina (ipITT).

3.4.1. Teste intraperitoneal de tolerância a glicose (ipGTT)

Todos os grupos experimentais passaram pelo ipGTT após 7 semanas de consumo da dieta. Para realização do ipGTT, os camundongos foram mantidos em jejum por 12 horas *overnight*, realimentados por 2 horas e um segundo jejum de 4 horas foi realizado após a realimentação. Este protocolo foi seguido a fim de manter os animais por um período padrão de jejum (4 horas). Por meio de corte na extremidade da cauda do animal foi efetuada uma primeira coleta de sangue para a dosagem de glicose, o que equivale ao tempo zero (t0) do teste. Em seguida, foi realizada a injeção de uma solução de glicose a 25% (1 g/Kg de peso corporal), administrada intraperitonealmente, com posteriores coletas de amostras sanguíneas nos tempos 15, 30, 60, 120 minutos, para as dosagens de glicose.

3.4.2. Teste intraperitoneal de tolerância à insulina (ipITT)

Todos os grupos experimentais passaram pelo ipITT após 7 semanas de consumo da dieta. Para realização do ipITT, os camundongos foram mantidos em jejum por 12 horas *overnight*, realimentados por 2 horas e um segundo jejum de 4 horas foi realizado após a realimentação. Este protocolo foi seguido a fim de manter os animais por um período padrão de jejum (4 horas). O teste foi realizado ao final do período experimental dos protocolos descritos. O alimento de ambos os grupos foi retirado oito horas antes do teste e a primeira coleta de sangue equivalerá ao tempo 0 do teste. Após essa coleta, a insulina (1,5 UI/Kg de peso corporal) foi

injetada intraperitonealmente e amostras de sangue foram coletadas pela cauda nos tempos 0, 5, 10, 15 e 20 minutos para a determinação da glicose sérica.

3.5. Extração dos tecidos

Os animais foram anestesiados através da administração intraperitoneal de Ketamina (100 mg/kg), Xilazina (10 mg/kg) e Diazepam (5 mg/kg) e a perda dos reflexos pedal e corneano foram utilizados como controle da anestesia. Os tecidos de interesse foram extraídos e em seguida congelado a -80°C ou, então, imediatamente homogeneizado em aproximadamente 10 volumes de tampão de solubilização (1% Triton X-100; 100 mM Tris, pH 7.4; contendo 100 mM de pirofosfato de sódio; 100 mM de fluoreto de sódio; 10 mM de vanadato de sódio; 2 mM PMSF e 0.1 mg de aprotinina/ml) a 4°C com “Polytron PTA 20S Generator” (Brinkmann Instruments mode PT 10/35) com velocidade máxima por 30 s. O extrato foi centrifugado a 8×10^3g , a 4°C em um rotor “Beckman 70.1”, por 30 min para remover material insolúvel e o sobrenadante foi utilizado para a preparação de extrato total protéico (ET).

3.6. Análises bioquímicas do soro

O sangue foi coletado por punção cardíaca e amostra foi deixada em temperatura ambiente por 2 horas para a retenção do coágulo. As amostras foram centrifugadas a 25°C , 1.000 RPM por 30 minutos para separação do plasma. As concentrações plasmáticas de colesterol total (CT) e triglicérides (TG) foram avaliadas por KITS comerciais (Laborlab, Brazil) de ensaio enzimático e quantificadas segundo as instruções do fabricante.

3.7. Extração e determinação do conteúdo lipídico do tecido hepático

A extração dos lipídios totais do tecido hepático foi realizada segundo o protocolo de FOLCH, 1957, onde foram homogeneizados em uma solução de

clorofórmio:metanol (2:1, v/v) e posteriormente preservados a 20° C até a análise química, de acordo com o protocolos descrito posteriormente no item 3.3.1.

3.7.1. Determinação de triglicerídeos totais e colesterol hepático

Após filtração e secagem em estufa, o lipídio foi ressuspendido em isopropanol e em seguida foi feita a determinação de colesterol e triacilglicerol por kits comerciais da marca BioClin.

3.8. Extração e determinação do glicogênio hepático

O tecido hepático foi colocado em solução de KOH a 30% para digestão. Em seguida foi feita a espectrofotometria para a determinação do glicogênio segundo o protocolo de LO et al., 1970.

3.9. Western blotting

Após rápida fervura (5 min/100°C) dos extratos totais protéicos em tampão de Laemmli, as amostras foram aplicadas em gel de poliacrilamida para separação por eletroforese (SDS-PAGE). As proteínas separadas em SDS-PAGE foram transferidas para membrana de nitrocelulose em aparelho de transferência da BIO-RAD. A membrana de nitrocelulose foi incubada “overnight” com anticorpo específico (G6Pase, PEPCK). A ligação do anticorpo a proteínas não-específicas foi minimizada pela pré-incubação da membrana de nitrocelulose com tampão de bloqueio (5% de leite em pó desnatado; 10 mmol/L de Tris; 150 mmol/L de NaCl; 0.02% de Tween 20) por 2 horas. O sinal foi detectado através de quimiluminescência utilizando kit da Amersham e seguindo as orientações do fabricante. As bandas identificadas na autorradiografia foram quantificadas através de densitometria óptica.

3.10. RT-qPCR

Posteriormente à extração dos tecidos as amostras foram descongeladas em gelo, homogenizadas em Trizol com “Polytron PTA 20S Generator” (Brinkmann Instruments mode PT 10/35) com velocidade máxima por 30s e foram aguardados 5 minutos em temperatura ambiente para completar a dissociação do material. As amostras foram transferidas para eppendorfs com clorofórmio e após 3 minutos estas foram centrifugadas por 15 minutos a 4°C, 10500 RPM. A fase aquosa foi transferida para novos eppendorfs, onde foi adicionado o isopropanol e após descanso de 5 minutos à temperatura ambiente as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 4°C, 10500 RPM, o sobrenadante foi descartado. Adicionado 1mL de etanol 75% e centrifugado por 10 minuto a 4°C, 8400 RPM. O sobrenadante foi novamente descartado e foi adicionado 1mL de etanol 100%, o eppendorfoi centrifugado por mais 10 minutos, 4 °C, 8400 RPM. Após o descarte do etanol, 30 µL de água ultrapura foi adicionada e agitado até a dissolução total do *pellet*.

As amostras foram armazenadas a -20°C por 24h para que então a quantificação (Nanodrop) fosse realizada. A síntese de cDNA foi realizada com 3µg do total de RNA usando o High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). Alíquotas de 3,0 ng de RNA foram submetidas à transcrição reversa utilizando-se primers hexaméricos randômicos e SuperscriptTM Maloney MLV transcriptase reversa. As reações de PCR em tempo real foram realizadas utilizando-se o sistema TaqManTM (Applied Biosystems). Os valores da expressão gênica foram obtidos pela análise dos resultados no programa 7500 System SDS Software (Applied Biosystems).

3.11. Forma de análise estatística

Todos os resultados foram apresentados em média $\pm$ erro padrão da média. Para análise estatística, primeiramente aplicamos o teste de Levene para verificar as homogeneidades das variâncias. Para a comparação de médias entre dois grupos (OP x OPI ou HLOP x HLOPI), foi aplicado o teste *t de Student* para amostras independentes. A análise de variância uma via (One-way ANOVA) ou duas

vias (Two-way ANOVA) foi utilizada quando necessário, seguida do pós-teste LSD para comparação múltipla de médias. Em todos os casos o nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi de 5% ($p < 0,05$). Os dados foram analisados e montados utilizando o programa "GraphPadPrism", versão 5.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização das gorduras dietéticas – óleo de palma e óleo de palma interesterificado

O óleo de palma não modificado e óleo de palma interesterificado foram utilizados na dieta para roedores com o objetivo de estudar o efeito isolado da interesterificação em parâmetros metabólicos e na gliconeogênese hepática. Essas bases lipídicas foram adicionadas na dieta dos animais dos grupos controle (OP e OPI) e do grupo hiperlipídico (HLOP e HLOPI) nas proporções de 10 e 60%, respectivamente.

Como mostrado na **tabela 2**, a análise de composição do óleo de palma não modificado (OP) utilizado para o tratamento dos animais apresenta uma razão balanceada de ácidos graxos saturados e insaturados (~50:50). A base OP apresenta também quantidades similares de ácidos graxos saturados e insaturados, sendo que as quantidades de monoinsaturados e poliinsaturados foram de aproximadamente 41% e 9%, respectivamente. Entre os ácidos graxos saturados destacam-se os ácidos palmítico (42%) e o esteárico (5%) e com relação aos ácidos graxos insaturados destacam-se o ácido oleico (40%) e linoleico (9%), estes dados estão de acordo com a literatura (NOOR LIDA et al., 2002; SAMBANTHAMURTHI; SUNDRAM; TAN, 2000).

O óleo de palma foi submetido ao processo de interesterificação química, uma reação que resulta na formação de novos TAGs a partir da matéria prima utilizada de forma totalmente randomizada, sem alteração do perfil de ácidos graxos. Como mostrado na **tabela 2** após este processo o óleo de palma interesterificado (OPI) apresenta um perfil de ácidos graxos similar ao óleo de palma não modificado (OP), o que permitiu a avaliação do efeito da modificação da estrutura do TAG evitando assim outras variáveis e fatores de interferência como, por exemplo o perfil de ácidos graxos e proporção relativa de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados.

A molécula de TAG é composta por três ácidos graxos esterificados ao glicerol nos grupos do carbono hidroxil em três diferentes posições: sn-1, sn-2 e sn-

3, sendo as posições sn-1,3 externas e equivalentes e a posição sn-2 interna. A **tabela 3** traz a composição em triacilgliceróis do OP e do OPI em porcentagem, porém não é identificada a posição do ácido graxo no glicerol. Podemos observar que o OP é constituído predominantemente por TAGs (90%) e outros compostos minoritários como ácidos graxos livres, monoacilgliceróis (MAG) e quantidades apreciáveis de diacilgliceróis (DAG) (**tabela 3**). Como mostrado anteriormente por Noor Lida e colaboradores (2007), os nossos resultados corroboram que o óleo de palma é composto majoritariamente pelos TAGs trissaturados PPP (~9%), dissaturado POP (~32%) e monossaturado POO (~24%) (**tabela 3**).

Posteriormente, para avaliarmos a eficiência da reação de interesterificação química da fonte dietética de gordura, analisamos a distribuição regioespecífica das fontes dietéticas óleo de palma não modificado (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI). A **tabela 4** mostra que OP apresenta 77,6% do total ácidos graxos saturados em sn-1,3 e apenas 18,1% dos ácidos graxos saturados em sn-2. Ademais, OP apresenta quantidade elevada de ácidos graxos insaturados em sn-2 (81,9%) e 22,4% de ácidos graxos insaturados em sn-1,3. Após a interesterificação química houve uma modificação no padrão natural de posicionamento dos ácidos graxos na cadeia de glicerol, principalmente com relação ao ácido graxo saturado em sn-2 que aumentou na ordem de 3,2 vezes (11,9% para 38%), como evidenciado na **tabela 5**, que mostra a posição dos ácidos graxos (em %) corrigida em relação a composição em ácidos graxos saturados e insaturados da amostra.

Esses resultados mostram claramente um aumento de ácidos graxos saturados e diminuição de ácidos graxos insaturados na posição central do TAG (sn-2) após a interesterificação química, sendo que esta modificação poderia ser importante para explicar os resultados apresentados a seguir.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.

Ácido graxo	OP (%)	OPI (%)
C 10:0 (Cáprico)	0,046	0,033
C 12:0 (Láurico)	0,549	0,404
C 14:0 (Mirístico)	1,316	0,922
C 15:0 (Pentadecanóico)	0,057	0,053
C 16:0 (Palmítico)	41,935	41,436
C 16:1 (Palmitoleico)	0,173	0,160
C 17:0 (Margárico)	0,109	0,109
C 17:1 (<i>cis</i>-9-heptadecenóico)	0,033	0,026
C 18:0 (Estearico)	5,181	4,956
C 18:1 (Oleico)	40,732	41,739
C 18:2 <i>trans</i> (Linoelaídico)	0,100	0,150
C 18:2 (Linoleico)	8,770	9,065
C 18:3 (Linolênico)	0,251	0,227
C 20:0 (Araquídico)	0,428	0,412
C 20:1 (Gadoleico)	0,153	0,150
C 22:0 (Behênico)	0,074	0,077
C 24:0 (Lignocérico)	0,093	0,080
Total (%)	100	100
AG SAT	49,787	48,483
AG MONO	41,092	42,075
AG POLI	9,121	9,442
Total (%)	100	100

¹A composição em ácidos graxos está apresentada em porcentagem de área e o valor obtido representa a média de duas análises.

Tabela 3. Composição em triacilgliceróis e quantidade relativa de triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.

Triacilglicerol (%)	OP (%)	OPI (%)
MPP	0,696	0,639
LaOP	0,172	0,132
PPP	9,286	7,020
MOP	1,677	1,655
MLP	0,398	0,320
PPS	1,836	1,252
POP	32,326	33,392
PLP	6,585	7,047
POS	6,069	6,067
POO	24,145	24,544
POL	6,763	7,352
PLL	0,747	1,188
SOO	2,592	2,689
OOO	3,510	3,586
OLO	1,040	0,964
OLL	1,331	1,270
N.I.	0,828	0,881
Total (%)	100	100
MAG+AGL	0,701	0,934
DAG	9,051	7,032
TAG	90,248	92,034
Total (%)	100	100

La: ácido láurico; M: ácido mirístico; P: ácido palmítico; S: ácido esteárico; O: ácido oleico; L: ácido linoleico, N.I. = não identificado.

Tabela 4. Posição dos ácidos graxos obtidos pela análise de distribuição regioespecífica do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.

Posição do ácido graxo	OP (%)	OPI (%)
Saturados sn-1,3	77,6	24,2
Insaturados sn-1,3	22,4	75,8
Total (%)	100,0	100,0
Saturados sn-2	18,1	65,9
Insaturados sn-2	81,9	34,1
Total (%)	100,0	100,0

Tabela 5. Posição dos ácidos graxos obtidos pela análise de distribuição regioespecífica corrigidos pela quantidade de ácidos graxos saturados e insaturados na amostra segundo a composição em ácidos graxos do óleo de palma (OP) e do óleo de palma interesterificado (OPI) oferecidos nas dietas controle e hiperlipídica.

Posição do ácido graxo	OP (%)		OPI (%)	
Saturados sn-1,3	49,8	37,9	48,5	10,4
Saturados sn-2		11,9		38,0
Insaturados sn-1,3	50,2	11,5	51,5	36,4
Insaturados sn-2		38,7		15,1
Total (%)	100,0	100,0	100,0	100,0

4.2. Ganho de peso corporal e adiposidade após 8 semanas de dieta

Os animais com 6 semanas de vida foram separados aleatoriamente dentro dos quatro grupos experimentais (OP, OPI, HLOP e HLOPI), iniciando com a mesma média de peso corporal similar e foram expostos ao consumo das dietas experimentais por um período de 8 semanas. Como esperado, os grupos hiperlipídicos HLOP e HLOPI apresentaram maior ganho de peso e maior adiposidade medido pelo tecido adiposo branco epididimal quando comparado ao grupo controle OP e OPI (Two-way ANOVA $p < 0,001$), mostrando que a aumento da quantidade de lipídios na dieta foi capaz de promover o aumento do peso corporal principalmente na forma de gordura (**figura 6B e 6C**).

Após 2 semanas de dieta, os grupos hiperlipídicos (HLOP e HLOPI) apresentaram aumento significativo do peso corporal com relação ao grupo OP até o final do período experimental (**figura 6A**). Interessantemente, no acompanhamento do ganho de peso semanal durante o período experimental, o grupo OPI, mesmo recebendo uma dieta isocalórica e normolipídica, não apresentou diferença estatística na semana 4 quando comparado aos grupos hiperlipídicos (HLOP e HLOPI) (**figura 6A**) e ao final do período experimental de 8 semanas de dieta o grupo OPI apresentou maior ganho de peso corporal ($11 \pm 0,96$) comparado ao seu controle OP ($8,20 \pm 0,50$) (**figura 6B**), não sendo observada diferença na adiposidade entre os grupos OP e OPI (**figura 6C**).

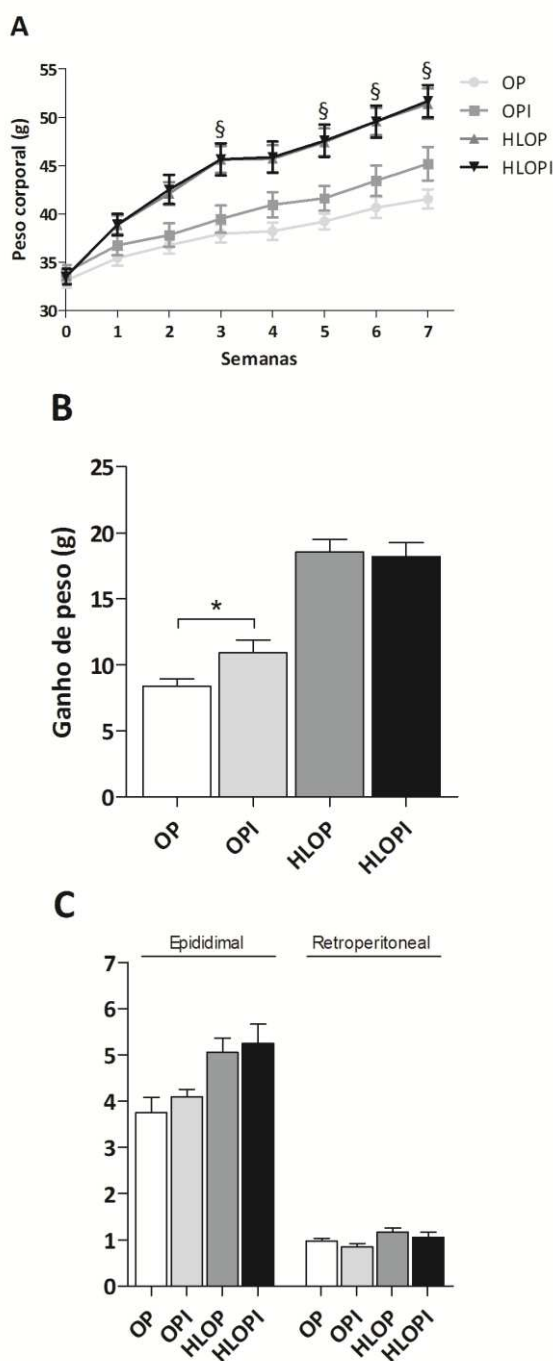


Figura 6. Ganho de peso corporal semanal e adiposidade após 8 semanas de dieta. (A) Curva do ganho de peso corporal (em g) semanal. **(B)** Delta do ganho de peso corporal (em g) após 8 semanas de dieta. **(C)** Peso relativo do tecido adiposo branco epididimal e retroperitoneal. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 15 - 17$). § Two-way ANOVA efeito da quantidade de lipídios da dieta.* Test-t de Student OPxOPI ou HLOPxHLOPI.

4.3. Análises bioquímicas

As concentrações plasmáticas de triglicérides (**figura 7A**) e de colesterol total (**figura 7B**) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos que consumiram dieta com óleo de palma não modificado (OP e HLOP) e óleo de palma interesterificado (OPI e HLOPI) independente da quantidade de lipídios ingerida.

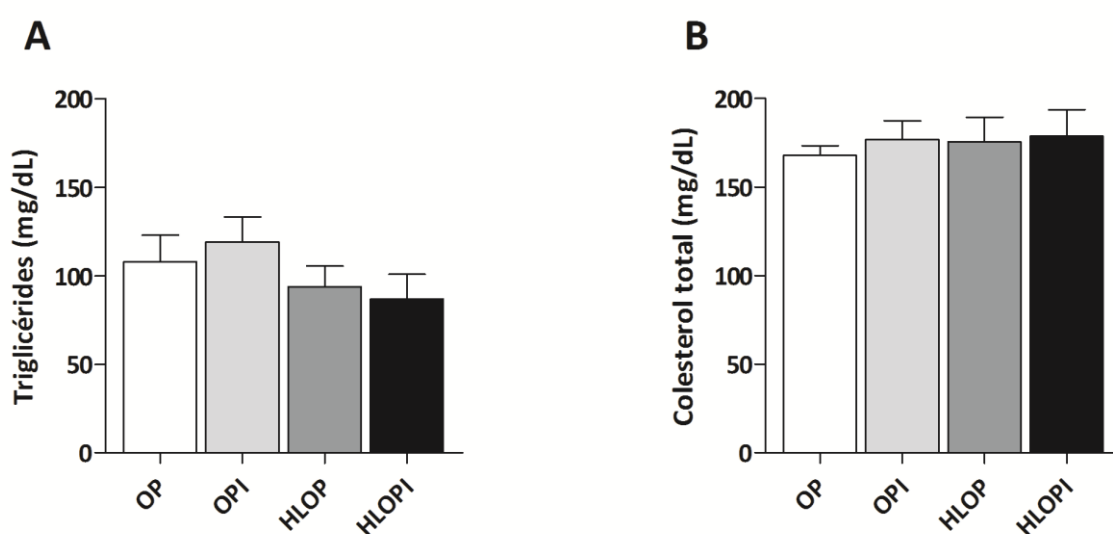


Figura 7. Análise de triglicérides e colesterol total plasmáticos.(A)Triglicérides plasmáticos (mg/dL). (B) Colesterol total plasmático (mg/dL). OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média (n = 6 – 7).

4.4. Avaliação da homeostasia de glicose

Ao final do período experimental de 8 semanas foi feita a mensuração da glicemia em jejum. O grupo OP ($166 \pm 6,27$ mg/dL), que recebeu uma dieta controle e normocalórica, apresentou média de glicemia em jejum menor em relação aos grupos OPI ($215 \pm 15,40$ mg/dL), HLOP ($247 \pm 17,70$ mg/dL) e HLOPI ($219 \pm 13,60$ mg/dL) (**figura 8**). Interessante observar que o grupo OPI, que recebeu a gordura interesterificada em quantidades recomendadas (normolipídica), apresentou a glicemia em jejum tão aumentada quanto aos grupos HLOP e HLOPI (**figura 8**).

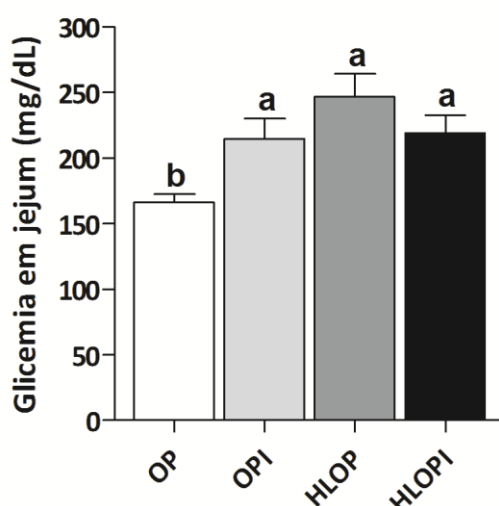


Figura 8. Análise da glicemia em jejum. Glicemia em jejum após 8 semanas de dieta. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 6 - 7$). A significância estatística está representada por letras diferentes obtida por Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD para comparação entre grupos.

Para avaliar o efeito da dieta enriquecida com gordura interesterificada na tolerância à glicose, o ipGTT foi realizado na 7ª semana do período experimental proposto. Após a mensuração da glicemia em jejum (tempo 0), os animais foram desafiados com uma solução de glicose 25% (1 g/kg) e a glicemia foi acompanhada nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos após a infusão de glicose (**figura 9A**).

O grupo experimental que recebeu dieta normocalórica e normolipídica com 10% de gordura interesterificada (OPI) apresentou uma curva de glicemia durante o ipGTT sem diferença significativa em relação aos grupos que receberam a dieta hiperlipídica (HLOP e HLOPI) (**figura 9A**). Adicionalmente, foi observado aumento significativo da glicemia durante o tempo 30' e uma dificuldade na redução desta glicemia no tempo 60' dos grupos OPI, HLOP e HLOPI em relação ao OP (**figura 9A**).

A área sob a curva (AUC) de glicemia dos grupos experimentais foi calculada e, como o esperado, o grupo OP (31967 ± 1914 AUC mg/dL 120min) apresentou diminuição significativa da AUC durante o ipGTT quando comparado ao OPI (48775 ± 4438 AUC mg/dL 120 min) (**figura 9B**).

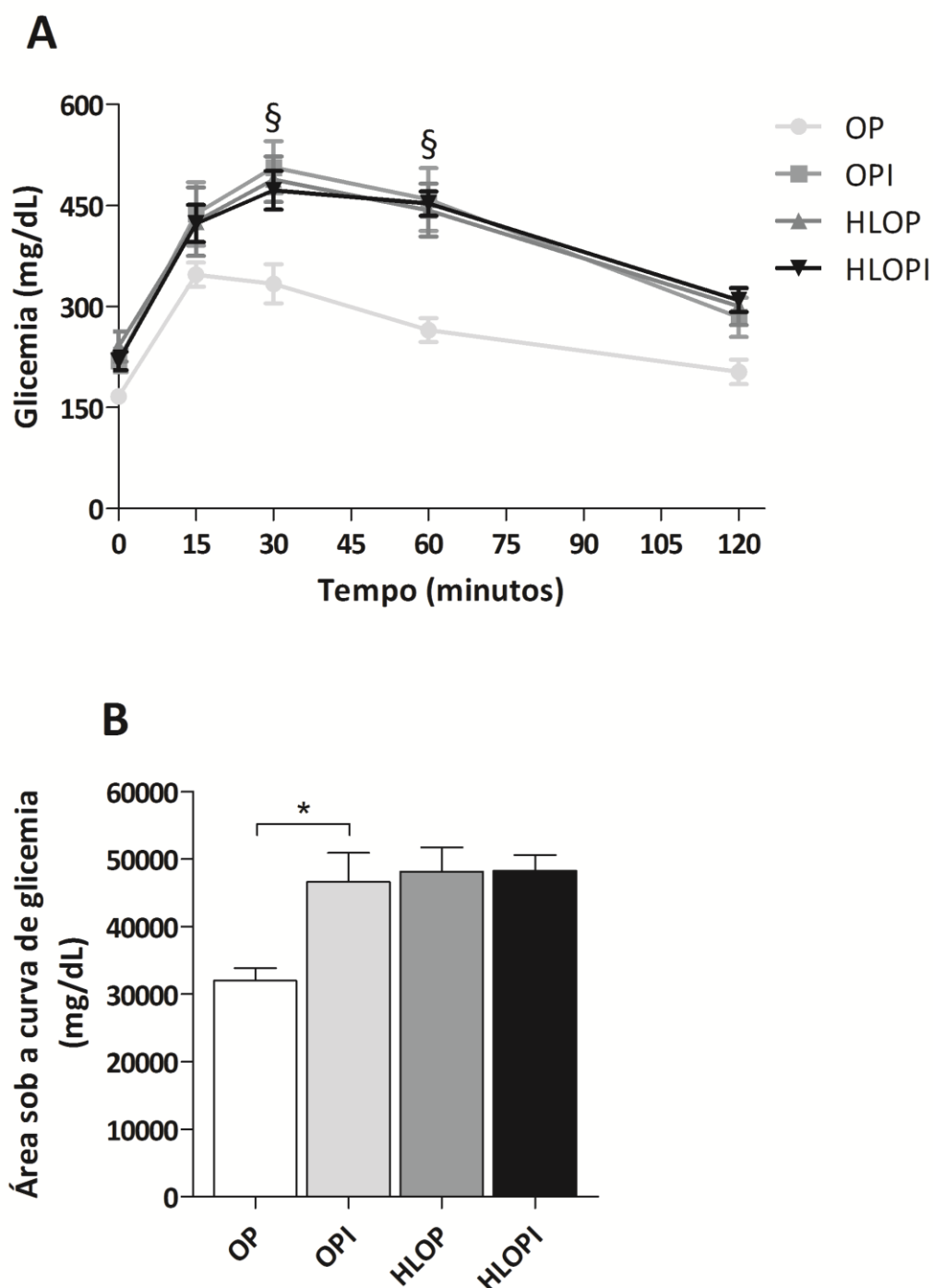


Figura 9. Gordura interesterificada e avaliação de tolerância à glicose. (A) Curva de glicemia durante o ipGTT. **(B)** Análise da área sob a curva de glicose durante o ipGTT. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 6 - 7$). * Test-t de Student OPxOPI ou HLOPxHLOPI.

Para avaliar o efeito da dieta enriquecida com gordura interesterificada na sensibilidade à insulina, o ipITT foi realizado na 7ª semana do período experimental proposto. Após a mensuração da glicemia em jejum (tempo 0), os animais foram desafiados com insulina (1,5 UI/kg) e a glicemia foi acompanhada nos tempos 5, 10, 15 e 20 minutos após a infusão (**figura 10A**).

O grupo experimental OP, que recebeu dieta normocalórica e normolípida com a gordura não modificada, apresentou glicemia significativamente menor nos tempos 10', 15' e 20' quando comparado aos grupos HLOP e HLOPI durante o ipITT (**figura 10A**). A área sob a curva (AUC) de glicemia obtida durante o ipITT dos grupos experimentais foi calculada e, conforme a curva de glicemia durante o ipITT, o grupo OP (3303 ± 509 AUC mg/dL 120min) apresentou diminuição significativa da AUC durante o ipITT quando comparado ao OPI (4074 ± 1036 AUC mg/dL 120 min) (**figura 10B**). É importante destacar que tanto a quantidade (OP e OPI x HLOP e HLOPI, Two-way ANOVA $p < 0,01$), quanto a qualidade de lipídios da dieta (OP e HLOP x OPI e HLOPI, Two-way ANOVA $p < 0,0001$) teve uma grande influência no aumento da curva de glicemia e, conseqüentemente, na AUC durante o ipITT.

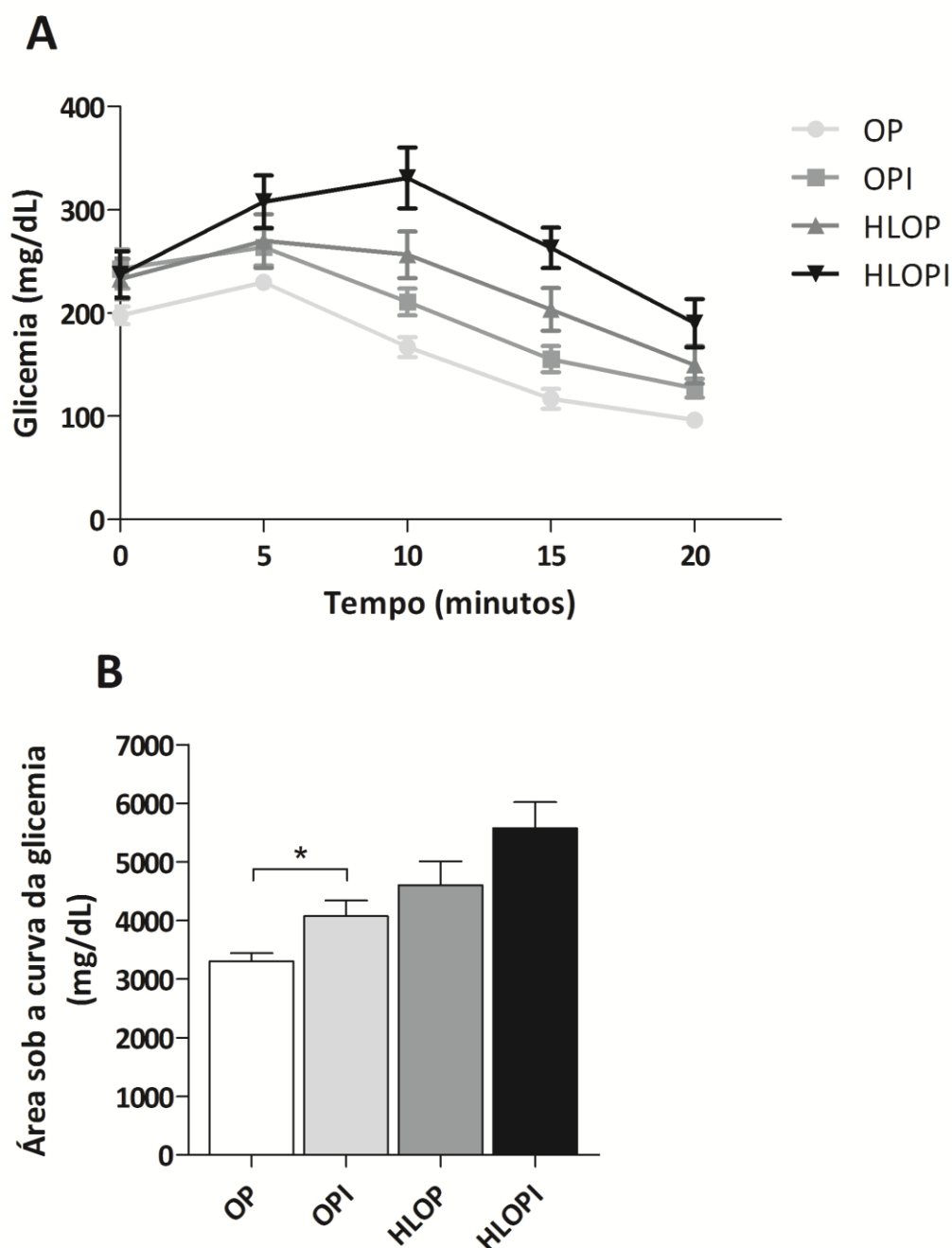


Figura 10. Gordura interesterificada e avaliação de tolerância à insulina. (A) Curva de glicemia durante o ipITT. **(B)** Análise da área sob a curva de glicose durante o ipITT. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 7 - 14$). A significância estatística está representada por letras diferentes obtida por Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD para comparação entre grupos. * Test-t de Student OPxOPI ou HLOPxHLOPI.

4.5. Avaliação da expressão gênica de enzimas-chave da gliconeogênese hepática

A regulação da via gliconeogênica desempenha um papel fundamental para a manutenção da homeostasia de glicose. Após observarmos um aumento na glicemia em jejum e intolerância à glicose dos animais que receberam a dieta controle com óleo de palma interesterificado ou os grupos hiperlipídicos HLOP e HLOPI, a expressão gênica das enzimas-chave PEPCK e G6Pase, responsáveis pela regulação da gliconeogênese hepática foi avaliada.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos estudados na expressão gênica de PEPCK (**figura 11A**) e de G6Pase (**figura 11B**) no tecido hepático após 8 semanas do consumo da dieta.

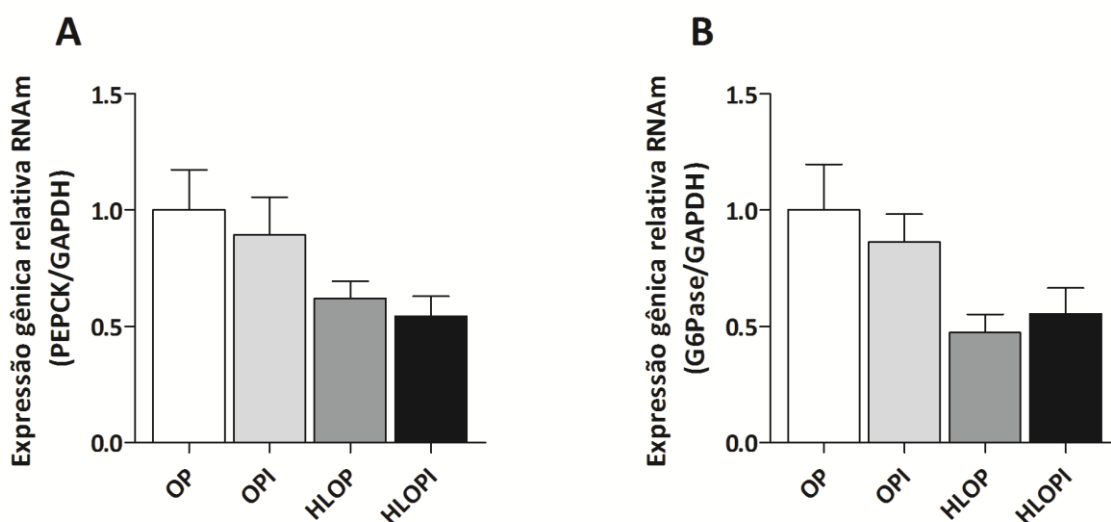


Figura 11. Gordura interesterificada e a expressão gênica de enzimas-chave da gliconeogênese hepática. (A) Expressão gênica relativa de PEPCK. **(B)** Expressão gênica relativa de G6Pase. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 6 - 7$). A significância estatística está representada por letras diferentes obtida por Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD para comparação entre grupos.

4.6. Determinação do conteúdo proteico de enzimas-chave da gliconeogênese hepática

Com o intuito de estudarmos o efeito da qualidade de lipídios ingerida (gordura não modificada ou gordura interesterificada) e não a quantidade (dieta normolipídica ou hiperlipídica) no conteúdo proteico de PEPCK e G6Pase, os estudos foram conduzidos utilizando os grupos OP e OPI ou HLOP e HLOPI.

Embora a expressão gênica da enzima PEPCK não apresentar diferença entre os grupos avaliados, o conteúdo proteico de PEPCK no controle OP mostrou-se significativamente reduzido em relação ao controle OPI ($p < 0,001$), como apresentado na **figura 12A**. Ao avaliarmos grupos HLOP e HLOPI, não foi observada diferença significativa no conteúdo de PEPCK (**figura 12B**).

Além disso, conforme o resultado obtido da expressão gênica de G6Pase, o conteúdo proteico de G6Pase não apresentou diferença entre os grupos controles (**figura 13C**) e entre os grupos hiperlipídicos (**figura 12D**).

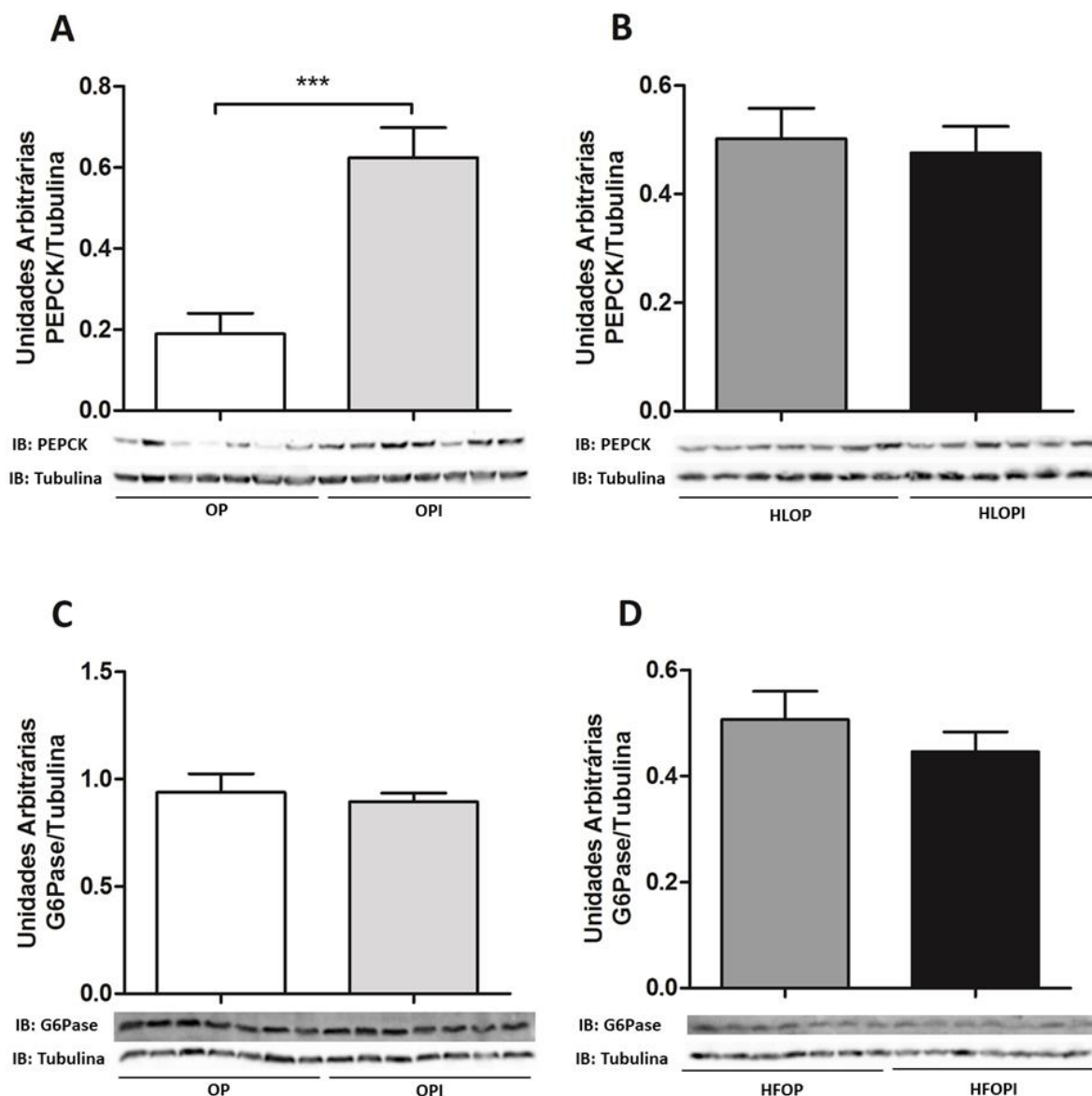


Figura 12. Gordura interesterificada e o conteúdo proteico das enzimas-chave da gliconeogênese hepática. (A) Conteúdo de PEPCK no tecido hepático de animais controles. (B) Conteúdo de PEPCK no tecido hepático de animais do grupo hiperlipídico. (C) Conteúdo de G6Pase no tecido hepático de animais controles. (D) Conteúdo de G6Pase no tecido hepático de animais hiperlipídicos. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 6 - 7$). * Test-t de Student OPxOPI ou HLOPxHLOPI.

4.7. Determinação do conteúdo de glicogênio, triglicérides e colesterol hepático

Para avaliarmos a composição do tecido hepático, foram quantificados o conteúdo de glicogênio, triglicérides e colesterol (**figura 13**).

O conteúdo de glicogênio hepático em OP ($1,10 \pm 0,40$) apresentou-se significativamente reduzido quando comparado aos grupos OPI ($1,90 \pm 0,40$ $p < 0,01$), HLOP ($1,77 \pm 0,39$ $p < 0,05$) e HLOPI ($1,79 \pm 0,51$ $p < 0,05$) (**figura 13A**). Embora o grupo OPI estivesse recebendo uma dieta normocalórica e normolípica, o conteúdo de glicogênio neste mostrou-se similar aos grupos hiperlipídicos (**figura 13A**). Além disso, a qualidade de lipídios ingerida parece ser um importante fator para o aumento do glicogênio hepático (OP e OPI x HLOP e HLOPI, Two-way ANOVA $p < 0,05$).

Assim, como no perfil sérico, não foi observada diferença estatística no conteúdo de triglicérides (**figura 13B**) e colesterol (**figura 13B**) hepático entre os grupos avaliados. Porém é observada uma tendência na redução de triglicérides (OPxOPI $p = 0,08$) e colesterol (OPxOPI $p = 0,06$) do grupo OP em relação aos grupos OPI. Mostrando novamente, que a qualidade de lipídios ingeridos pode ter um efeito importante no acúmulo de destes componentes no tecido hepático.

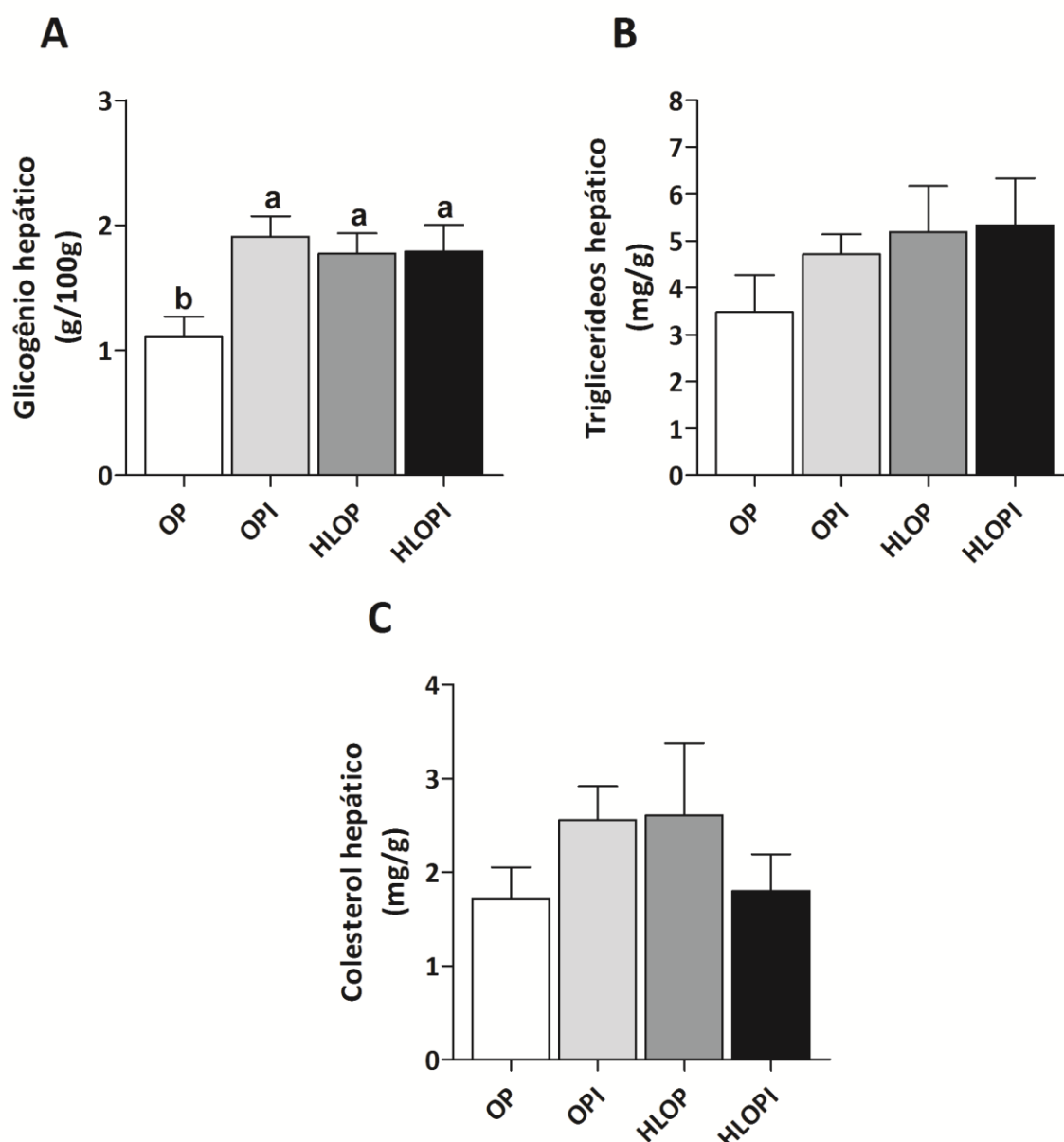


Figura 13. Conteúdo de glicogênio, triglicérides e colesterol hepático. (A) Glicogênio hepático em g/100g de tecido. **(B)** TG hepático em mg/g de tecido. **(C)** Colesterol hepático em mg/g de tecido. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 6 - 7$). A significância estatística está representada por letras diferentes obtida por Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD para comparação entre grupos.

4.8. Análise química do perfil de ácidos graxos que compõem o tecido hepático

A fim de avaliarmos o papel do consumo de gordura interesterificada na composição de ácidos graxos que compõem o tecido hepático, amostras foram processadas e analisadas por cromatografia gasosa.

O perfil de ácidos graxos no tecido hepático não apresentou diferenças significativas dentre as amostras estudadas (OP, OPI, HLOP e HLOPI). No entanto, como esperado, os grupos hiperlipídicos (HLOP e HLOPI) apresentam maior conteúdo de AG SAT e diminuição do conteúdo de AG MONO em relação aos grupos controles (OP e OPI).

Tabela 6. Composição de ácidos graxos do tecido hepático dos grupos OP, OPI, HLOP e HLOPI.

Ácido graxo	OP (%)	OPI (%)	HLOP (%)	HLOPI (%)
C 12:0	0,229	0,162	0,187	0,139
C 14:0	0,715	0,605	0,541	0,565
C 15:0	-----	0,061	0,102	0,079
C 16:0	21,562	23,131	27,661	27,309
C 16:1	5,170	5,562	3,069	3,598
C 17:0	0,092	0,091	0,134	0,143
C 17:1	0,084	0,112	0,066	0,143
C 18:0	4,193	3,661	4,749	4,181
C 18:1	52,470	54,397	47,706	51,807
C 18:2 <i>trans</i>	-----	0,138	0,113	0,092
C 18:2	4,702	4,085	9,329	7,134
C 18:3	0,103	-----	0,180	0,107
C 20:0	0,215	0,235	0,429	0,386
C 20:1	1,189	0,998	1,070	1,219
C 20:4	7,894	5,838	3,757	2,383
C 22:0	0,283	0,175	0,144	0,125
C 22:6	0,882	0,676	0,666	0,501
C 24:0	0,216	0,073	0,094	0,090
TOTAL (%)	100	100	100	100
AG SAT	27,505	28,195	34,043	33,016
AG MONO	58,913	61,068	51,911	56,767
AG POLI	13,582	10,599	13,934	10,125
TOTAL (%)	100	100	100	100

4.9. Avaliação da expressão gênica de citocinas no tecido hepático

Após verificarmos o aumento no ganho de peso e alteração da glicemia em jejum dos animais, a expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) e anti-inflamatória (IL-10) foram avaliadas.

O consumo de gordura interesterificada em quantidades normais (OPI) promoveu o aumento da expressão gênica de *Il-1 β* (**figura 14A**) e *Il-6* (**figura 14B**) quando comparado ao seu controle OP. Interessantemente, nestes mesmos resultados observamos uma similaridade no conteúdo de transcritos do grupo OPI com os grupos hiperlipídicos (**figura 14A e 14B**). Não foi observada diferença significativa na expressão de *Il-10* entre os grupos (**figura 14C**). Na **figura 14D**, observamos um aumento na expressão de *Tnf- α* em HLOPI quando comparado ao HLPO.

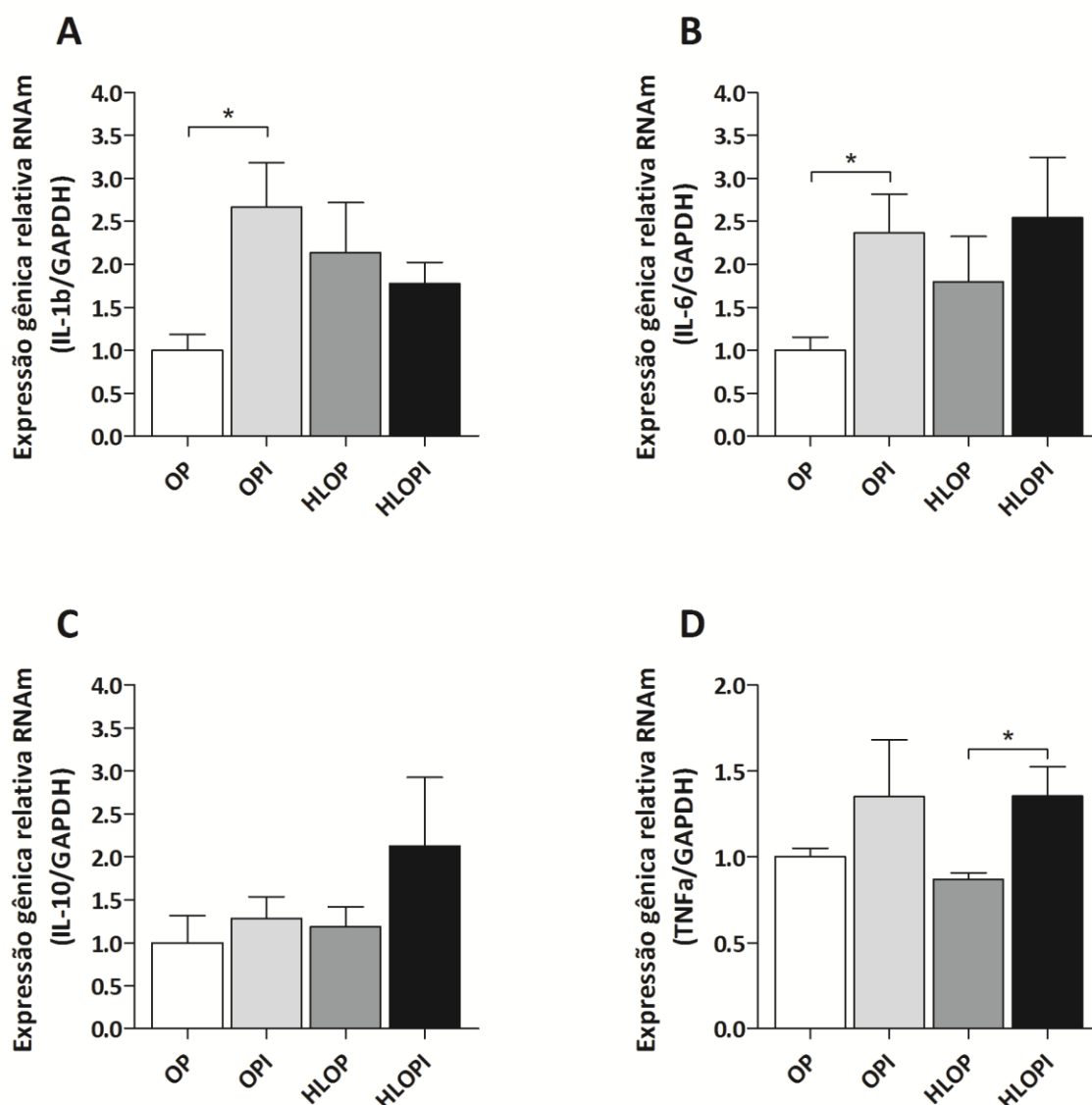


Figura 14. Gordura interesterificada e a expressão gênica de citocinas no tecido hepático após 8 semanas de dieta. (A) Expressão gênica relativa de IL-1 β . **(B)** Expressão gênica relativa de IL-6. **(C)** Expressão gênica relativa de IL-10. **(D)** Expressão gênica relativa de TNF- α . OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo; HLOPI: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média (n = 6 – 7). A significância estatística está representada por letras diferentes obtida por Two-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD para comparação entre grupos. * Test-t de Student OPxOPI ou HLOPxHLOPI.

4.10. Resultados suplementares – 16 semanas de dieta

Após avaliarmos os dados obtidos com 8 semanas, verificamos que a dieta controle normocalórica e normolipídica feita com a gordura de palma interesterificada (OPI), foi capaz de alterar parâmetros metabólicos e alterar a homeostasia de glicose, pelo menos em parte pela modulação de enzimas da via gliconeogênica hepática, além de promover o aumento da expressão de citocinas pró inflamatórias no fígado quando comparada a dieta controle, feita com o respectivo óleo não modificado (OP). Ademais, muitas das alterações observadas no grupo OPI se assemelhou aos grupos hiperlipídicos. Sendo assim, os grupos OP (controle negativo), OPI e HLOP (controle positivo) foram mantidos por mais 8 semanas de dieta além do período proposto inicialmente, totalizando 16 semanas. Como os resultados como 8 semanas de dieta não mostraram diferença significativa entre os grupos hiperlipídicos (HLOP e HLOPI), apenas o grupo HLOP foi mantido como um controle positivo. Este protocolo objetivou avaliarmos a exposição em longo prazo à gordura interesterificada em uma dieta normocalórica e normolipídica. Alguns experimentos foram conduzidos e resultados parciais estão expostos a seguir.

Como apresentado na **figura 15A e 15B**, não é observada diferença no ganho de peso entre os grupos OP e OPI, enquanto que o grupo HLOP manteve a diferença de peso com relação aos grupos normocalóricos. Interessantemente, o grupo OPI continuou apresentando maior glicemia de jejum (**figura 16A**) e piora da tolerância à glicose de acordo com a curva de glicose durante o ipGTT (**figura 16B**) e aumento da área sob a curva de glicose durante o ipGTT (**figura 16C**), quando comparado ao seu controle OP.

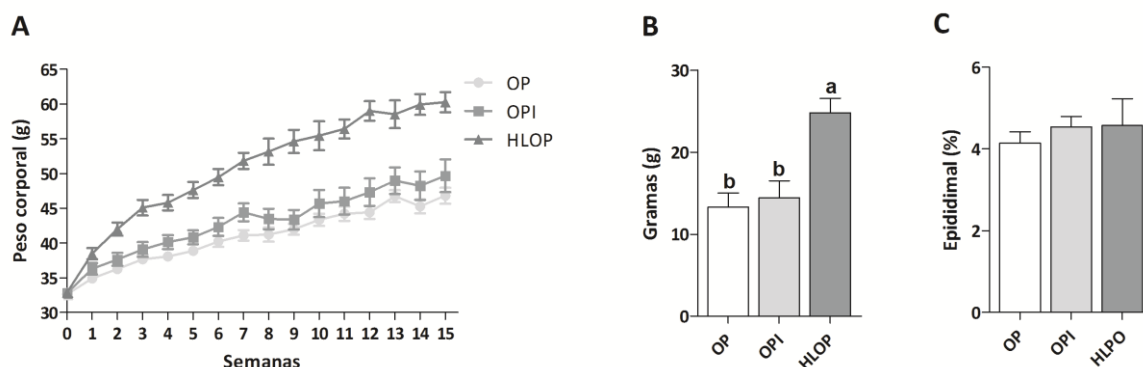


Figura 15. Ganho de peso corporal semanal e adiposidade após 16 semanas de dieta. (A) Curva do ganho de peso corporal (em g) semanal. (B) Delta do ganho de peso corporal (em g) após 16 semanas de dieta. (C) Peso relativo do tecido adiposo branco epididimal. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado; HLOP: dieta hiperlipídica com 60% de óleo de palma nativo. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 5 - 6$). A significância estatística está representada por letras diferentes obtida por One-way ANOVA seguido pelo pós-teste LSD para comparação entre grupos.

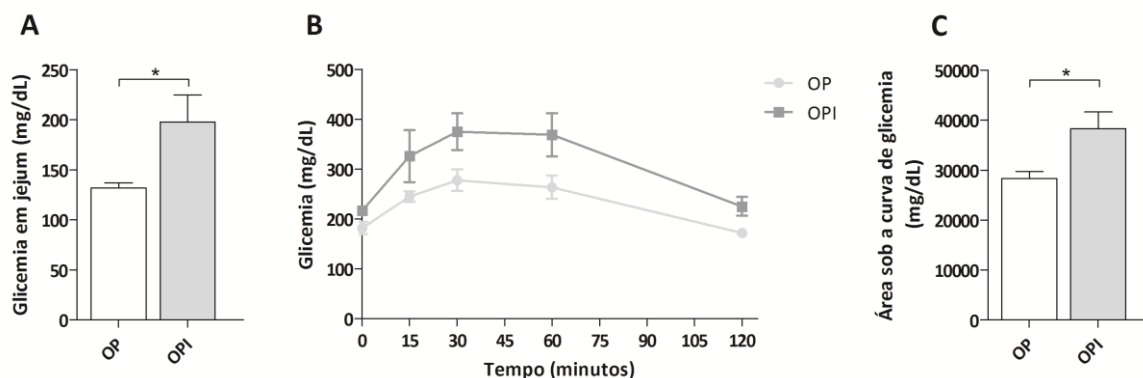


Figura 16. Glicemia de jejum e avaliação de tolerância à glicose após 16 semanas de dieta. (A) Glicemia de jejum após 16 semanas de dieta. (B) Curva de glicemia durante o ipGTT. (C) Análise da área sob a curva de glicose durante o ipGTT. OP: dieta controle com 10% de óleo de palma nativo; OPI: dieta controle com 10% de óleo de palma interesterificado. Dados apresentados em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 5 - 6$). * Test-t de Student OPxOPI.

5. DISCUSSÃO

Os efeitos dos diferentes tipos óleos e gorduras no metabolismo têm sido amplamente explorados na literatura. Estudos indicam uma forte correlação entre o tipo de gordura ingerida e diferentes repercussões na saúde (WANG et al., 2016) mostrando principalmente, a importância da substituição dos ácidos graxos saturados e ácidos graxos *trans* por ácidos graxos insaturados, como estratégia para a diminuição do consumo.

O consumo ácidos graxos saturados é capaz de modular respostas inflamatórias em tecidos metabolicamente ativos como fígado (CAI et al., 2005; MORINAGA et al., 2015; OBSTFELD et al., 2010), adiposo (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993; HOTAMISLIGIL et al., 1995), músculo (FINK et al., 2014; VARMA et al., 2009) e hipotálamo (DE SOUZA et al., 2005; MILANSKI et al., 2009; THALER et al., 2011), pela ativação de respostas inflamatórias por meio de receptores do sistema imune inato e de citocinas, contribuindo para a manutenção da condição de inflamação crônica e de baixo grau encontrada em indivíduos em sobrepeso e obesos. Evidências mostram claramente a relação entre o consumo de produtos industrializados contendo gordura *trans* e o risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MOZAFFARIAN; ARO; WILLETT, 2009).

Cerca de 90% dos AG TRANS consumidos na dieta são provenientes da hidrogenação parcial de óleos feita pela indústria para a sua aplicação em diversos tipos de alimentos (SCHEEDER, 2007). Diversos estudos mostram os efeitos deletérios das gorduras parcialmente hidrogenadas (ASCHERIO; WILLETT, 1997; HU et al., 1997; MENSINK, RONALD P, KATAN, 1990; MOZAFFARIAN; ARO; WILLETT, 2009; OOMEN et al., 2001). Diante dessas evidências, diversas medidas foram tomadas com intuito eliminação dos AG TRANS dos produtos alimentícios, entre eles as mais recentes são as determinações do órgão americano FDA de junho de 2015 e a aprovação em maio de 2017 do Projeto de Lei do Senado nº 478, de 2015, no Brasil.

A indústria de alimentos para se adequar a legislação vigente no país tem se utilizado de diversas alternativas para substituição da gordura *trans* nos alimentos, entre elas, as gorduras interesterificadas consiste em alternativa tecnológica, uma vez que viabiliza a produção de óleos e gorduras com funcionalidades específicas pela alteração físico-química dos TAG e sem a formação de isômeros *trans* (HAUMANN, 1994).

Neste estudo, o óleo de palma (OP e HLOP) foi utilizado como fonte dietética de lipídios e para que pudéssemos evitar outras possíveis variáveis, como a composição diferenciada em ácidos graxos e a desproporcionalidade da quantidade de AG SAT, AG MONO e AG POLI, a mesma matéria prima foi utilizada para obtermos a fração lipídica interesterificada (OPI e HLOPI), a fim de mantermos o perfil de ácidos graxos e a proporção de AG SAT, AG MONO e AG POLI (**tabela 2**).

A distribuição de ácidos graxos nos TAG naturais não ocorre de maneira randomizada. A distribuição regioespecífica de ácidos graxos em óleos e gorduras naturais se dá por: ácidos graxos saturados quase que exclusivamente nas posições sn-1 e sn-3 e os ácidos graxos insaturados, preferencialmente, na posição sn-2 (MENAA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2009b). O óleo de palma apresenta característica semi-sólida à temperatura ambiente e estas propriedades físicas podem ser atribuídas pela quantidade proporcional de ácidos graxos saturados e insaturados (50:50) e pela sua composição triglicéridica, principalmente pela presença de TAG trissaturados (PPP), dissaturados (POP) e monossaturado (POO) (GRIMALDI et al., 2005; NOOR LIDA; KALYANA; NOR AINI, 2007). Nossos resultados confirmaram as mesmas características na composição do óleo de palma (**tabelas 2 e 3**)

A interesterificação química permite uma randomização completa dos ácidos graxos nas moléculas de glicerol, sendo observada a maior incidência de ácidos graxos saturados na posição sn-2, enquanto que os ácidos graxos insaturados tendem a diminuir em sn-2 e migrarem para sn-1 e sn-3 (MENAA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2009b). Conforme o esperado, nossos resultados mostram que após a reação de interesterificação química, a quantidade de saturados em sn-2

passou de 18,1% para 65,9% e de insaturados em sn-1,3 de 22,4% aumentou para 75,8% (**tabela 4**).

Um das maiores dificuldades que enfrentamos para comparar e analisar os resultados dos trabalhos que estudam os efeitos das gorduras interesterificadas são a utilização de diferentes desenhos experimentais e/ou metodologias, sendo frequente o uso de dietas não-pareadas em termos de composição em ácidos graxos e teor relativo de ácidos graxos saturados, ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos poliinsaturados, dificultando o isolamento do efeito da interesterificação *per se*.

Além da dieta normocalórica e normolipídica (OP e OPI) as mesmas bases lipídicas (óleo de palma e óleo de palma interesterificado) foram utilizadas em quantidades suprafisiológicas (HLOP e HLOPI) com objetivo de avaliar não somente a qualidade da gordura da dieta, mas também se a interesterificação poderia potencializar o efeito já conhecido que as dietas hiperlipídicas exercem no metabolismo. Portanto, além da interesterificação incluímos no estudo o efeito da proporção de lipídios em relação ao valor energético total (VET) da dieta (OP e OPI 10% do VET e HLOP e HLOPI 60% do VET).

Nossos primeiros resultados sobre os parâmetros metabólicos mostram que, após 8 semanas de dieta, os dois grupos hiperlipídicos apresentaram maior ganho de peso corporal e maior quantidade de tecido adiposo branco epididimal quando comparados aos grupos normocalóricos (OP e OPI). Observamos que o consumo da dieta OPI levou ao aumento do ganho de peso corporal, aumento da glicemia em jejum e maior área sob a curva de glicose durante o ipGTT e ipITT nos animais em comparação à dieta controle OP. Interessantemente, quando comparamos o OPI com os grupos que receberam dieta hiperlipídica, a glicemia de jejum, área sob a curva de glicose durante o ipGTT e o conteúdo de glicogênio hepático não apresentaram diferenças estatísticas, ou seja, para alguns parâmetros analisados o grupo OPI foi similar aos grupos hiperlipídicos, mostrando que em algumas situações a qualidade de dieta recebida (10% do VET em gordura interesterificada) foi tão deletéria quanto a dieta hiperlipídica (60% do VET em lipídios).

Além disso, dados prévios do nosso grupo mostram que o consumo de dieta controle, normocalórica e normolipídica com 10% do VET em lipídios provenientes do óleo de soja interesterificado quando comparado ao consumo do óleo de soja não modificado provocou aumento do ganho de peso, da glicemia de jejum e piora na tolerância à glicose durante o ipGTT, bem como elevada expressão de marcadores de estresse de retículo endoplasmático e citocinas pró-inflamatórias no fígado de ratos *wistar*, resultados bastante semelhantes ao grupo hiperlipídico (60% do VET em lipídios) (MIYAMOTO et al, submetido e em análise *The Journal of Nutritional Biochemistry*).

Nossos resultados associados a outros estudos já publicados trazem a preocupação com o aumento da utilização desse tipo de gordura modificada na produção de alimentos. Estudo com modelos experimentais de programação metabólica mostrou que prole de mães que receberam dieta com gordura interesterificada ou óleo de palma durante a gestação e lactação apresentou maior deposição de tecido adiposo visceral na vida adulta quando comparado aos grupos que receberam óleo de soja, óleo de palma ou gordura *trans* (MAGRI et al., 2015). Outro estudo utilizou camundongos *knockout* para o receptor hepático de LDL, como modelo de aterosclerose, que foram alimentados com gordura interesterificada enriquecida com ácido palmítico ou esteárico em sn-2 ou ainda, outras fontes de lipídios naturais ricos em: poliinsaturados, trans ou palmítico/esteárico (mistura controle da interesterificação) para avaliar o efeito na lesão aterosclerótica. Foi observado que a gordura interesterificada enriquecida com ácido palmítico na posição sn-2 do TAG promoveu aumento no ganho de peso corporal e aumento da área lesionada em artérias, quando comparado aos grupos que receberam dieta enriquecida com poliinsaturados ou ácido esteárico em sn-2 (AFONSO et al., 2016).

O fígado é principal órgão responsável pelo controle da homeostasia de glicose e a regulação da via gliconeogênica desempenha um papel fundamental para a manutenção da glicemia em longos períodos em jejum, sendo que a falta na regulação da gliconeogênese hepática promove um aumento da produção endógena de glicose, o que resulta na hiperglicemia em jejum (GASTALDELLI et al., 2004; MAGNUSSON et al., 1992). Após curtos períodos em jejum, a produção de glicose acontece pela quebra do glicogênio hepático até que seus estoques diminuam sendo que, posteriormente, outros substratos não-carboidratos serão utilizados na

via gliconeogênica hepática como por exemplo, lactato, glicerol e alguns aminoácidos. Estudo recente mostra que animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento do glicogênio hepático devido à elevada da expressão de PTG (*glycogenic scaffolding protein*) (LU et al., 2014).

Após observarmos o aumento da glicemia de jejum, foram avaliadas a expressão gênica e o conteúdo proteicos das enzimas-chave responsáveis pelo controle da gliconeogênese hepática, a PEPCK e a G6Pase. Apesar da dieta não ter promovido diferenças na expressão gênica de *Pepck* e *G6Pase*, o conteúdo proteico de PEPCK no tecido hepático mostrou-se significativamente elevado no grupo OPI (3 vezes maior) quando comparada ao grupo OP. Estes resultados sugerem que o aumento da glicemia de jejum em resposta ao consumo de dieta normocalórica e normolipídica com gordura de palma interesterificada poderia estar relacionada com o aumento do conteúdo de enzimas responsáveis pelo controle da gliconeogênese. Porém, outros marcadores deveriam ser considerados para avaliar essa relação, uma vez que o controle da via gliconeogênica é muito mais complexa. Podemos citar como exemplo, a piruvato carboxilase (PC) (MCCLURE; LARDY; KNEIFEL, 1971) e frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase) (MEEK; NIMMO, 1984), que também são enzimas-chave da via, como outros pontos de regulação, além da concentração de precursores como aminoácidos (KREBS et al., 2003) e/ou glicerol (PREVIS; CLINE; SHULMAN, 1999). Além disso, há evidência de que a hiperglicemia em jejum em pacientes com DM2 não estava associada com o aumento da expressão gênica e no conteúdo proteico de PEPCK e G6Pase, e que a não modificação do conteúdo destes marcadores não estão necessariamente correlacionados com a hiperglicemia observada em pacientes com DM2 (SAMUEL et al., 2009).

Nossos resultados mostraram que o aumento na expressão de citocinas pró inflamatórias IL-1b e IL-6 no grupo OPI quando comparados ao grupo OP poderiam ter uma contribuição importante na modulação dos reguladores da gliconeogênese. No fígado, a insulina é o principal inibidor da gliconeogênese, por meio da inativação do fator de transcrição (FOXO1) dos genes gliconeogênicos (PEPCK, PC e G6Pase) (RUI, 2014). A sobrecarga de nutrientes, principalmente ácidos graxos e inflamação crônica no tecido hepático podem promover a RI e assim resultar no aumento das enzimas-chave da gliconeogênese hepática (CHEN et al., 2015; PERRY et al., 2014).

O processo de interesterificação leva ao aumento no ponto de fusão do produto, mediante a introdução de ácidos graxos saturados (palmítico ou esteárico) na posição sn-2 do glicerol, resultando em aumento nos níveis de triacilgliceróis dissaturados e trissaturados (BERRY, 2009; RIBEIRO et al., 2009a). Tais alterações estruturais no TAG podem ter um impacto importante no metabolismo, uma vez que as estruturas de 2-monoacilgliceróis são mantidas durante a digestão e absorção, e estas servem de precursores para a formação de novos TAG que serão transportados pelos quilomícrons (INNIS; DYER, 1997; INNIS, 2011). Estudos em animais e humanos (bebês recém-nascidos) mostram a preferência da absorção de ácidos graxos de cadeia longa posicionados em sn-2 (CARNIELLI et al., 1995; MATTSON; VOLPENHEIN, 1962; TOMARELLI et al., 1968).

As lipases pancreáticas hidrolisam preferencialmente os ácidos graxos presentes nas posições externas do TAG, sn-1 e sn-3, liberando dois ácidos graxos livres e um 2-monoacilglicerol (2-MAG), e os ácidos graxos saturados posicionados em sn-2, são mais eficientemente absorvidos. Os 2-MAG são moléculas anfipáticas, pois são constituídas por uma parte polar (glicerol) e apolar (ácido graxo) e esta característica parece ser vantajosa para a absorção de AG SAT posicionados em sn-2 quando comparados com aqueles posicionados em sn-1 ou sn-3 (CARNIELLI et al., 1995; INNIS; DYER, 1997; INNIS, 2011; MATTSON; VOLPENHEIN, 1962; TOMARELLI et al., 1968).

Sendo assim, os resultados apresentados sugerem que a composição posicional dos ácidos graxos nos TAGs parece ter uma influência na sua digestibilidade, absorção e metabolismo, repercutindo nas suas propriedades nutricionais, o que poderiam explicar os efeitos nos parâmetros metabólicos e na homeostasia glicêmica.

6. CONCLUSÃO

Estes resultados sugerem que a alteração da fonte dietética e, consequentemente, a qualidade de lipídios (TAG natural por TAG modificado) numa dieta normocalórica e normolipídica, como no caso do nosso estudo, a substituição da gordura de palma não modificada (OP) pela gordura de palma interesterificada (OPI) resultaram em alterações importantes tanto em parâmetros metabólicos, quanto em prejuízo homeostasia da glicose no grupo OPI. Os resultados descritos neste trabalho são, provavelmente, devido à nova composição triacilglicerídica com alterações no posicionamento dos ácidos graxos na molécula de glicerol após a interesterificação química. No entanto, outros trabalhos são necessários para explicar os mecanismos moleculares envolvidos no efeito da gordura interesterificada no metabolismo.

REFERÊNCIAS

-
- AFONSO, M. S. et al. Dietary interesterified fat enriched with palmitic acid induces atherosclerosis by impairing macrophage cholesterol efflux and eliciting inflammation ☆. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 32, p. 91–100, 2016.
- AHIMA, R. S. Digging deeper into obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 121, n. 6, p. 2076–2079, 2011.
- ALBERTI, K. G. M. M. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International . *Circulation*, v. 120, n. 16, p. 1640–1645, 2009.
- ASCHERIO, A.; WILLETT, W. C. Health of trans fatty acids. *American journal for clinical nutrition*, v. 66, p. 1006–1010, 1997.
- BERRY, S. E. E. Triacylglycerol structure and interesterification of palmitic and stearic acid-rich fats : an overview and implications for cardiovascular disease. *Nutrition Research Reviews*, v. 22, p. 3–17, 2009.
- BROUWER, I. A.; WANDERS, A. J.; KATAN, M. B. Effect of animal and industrial Trans fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans - A quantitative review. *PLoS ONE*, v. 5, n. 3, p. 1–10, 2010.
- CAI, D. et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B. *Nature Medicine*, v. 11, n. 2, p. 183–190, 2005.
- CARNIELLI, V. P. et al. Effect of dietary triacylglycerol fatty acid positional distribution on plasma lipid classes and their fatty acid composition in preterm infants. *Am J Clin Nutr.*, v. 62, n. 4, p. 776–781, 1995.
- CHEN, L. et al. Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. *International Journal of Endocrinology*, v. 2015, p. 1-9, 2015.
- D'AVILA, L. F. et al. Toxicological aspects of interesterified fat: Brain damages in rats. *Toxicology Letters*, v. 276, n. March, p. 122–128, 2017.
- DE SOUZA, C. T. et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology*, v. 146, n. 10, p. 4192–4199, 2005.
- DOBARGANES, M. C.; VELASCO, J.; DIEFFENBACHER, A. Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols, and diacylglycerols in oils and fats: results of collaborative studies and the standardized method (Technical report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 72, n. 8, p. 1563–1575, 2000.
- FAN, J.-G.; KIM, S.-U.; WONG, V. W.-S. Public Health: New Trends on Obesity and NAFLD in Asia. [s.l.] European Association for the Study of the Liver, 2017.
- FEINSTEIN, R. et al. Tumor necrosis factor- α suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *The Journal of biological chemistry*, v. 268, n. 35, p. 26055–26058, 1993.
- FINK, L. N. et al. Pro-Inflammatory macrophages increase in skeletal muscle of high fat-Fed mice and correlate with metabolic risk markers in humans. *Obesity*, v. 22, n. 3, p. 747–757, 2014.

- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, S. G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry*, v. 224, n. 1, p. 497–509, 1957.
- GASTALDELLI, A. et al. Separate contribution of diabetes, total fat mass, and fat topography to glucose production, gluconeogenesis, and glycogenolysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 89, n. 8, p. 3914–3921, 2004.
- GRIMALDI, R. et al. Otimização da reação de interesterificação química do óleo de palma. *Quimica Nova*, v. 28, n. 4, p. 633–636, 2005.
- GROSS, D. N.; WAN, M.; BIRNBAUM, M. J. The role of FOXO in the regulation of metabolism. *Current Diabetes Reports*, v. 9, n. 3, p. 208–214, 2009.
- HALL, R. K. et al. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase and insulin-like growth factor-binding protein-1 gene expression by insulin. The role of winged helix/forkhead proteins. *Journal of Biological Chemistry*, v. 275, n. 39, p. 30169–30175, 2000.
- HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, v. 22, p. 475–476, 1973.
- HAUMANN, B. F. Tools: hydrogenation, interesterification. *Inform*, v. 5, n. 6, p. 668–678, 1994.
- HISSANGA, V. M.; PROENÇA, R. P. DA C.; BLOCK, J. M. Ácidos graxos trans em produtos alimentícios brasileiros : uma revisão sobre aspectos relacionados à saúde e à rotulagem nutricional. *Revista de Nutrição*, v. 25, n. 4, p. 517–530, 2012.
- HOTAMISLIGIL, G. S. et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, v. 95, n. 5, p. 2409–15, 1995.
- HOTAMISLIGIL, G. S. et al. IRS-I-Mediated Inhibition of Insulin Receptor Tyrosine Kinase Activity in TNF- α - and Obesity-Induced Insulin Resistance. *Science*, v. 271, n. 2, p. 665–668, 1996.
- HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, v. 259, n. 5091, p. 87–91, 1993.
- HU, F. B. et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *The New England Journal of Medicine*, v. 337, n. 21, p. 1491–1499, 1997.
- INNIS, S. M. Dietary Triacylglycerol Structure and Its Role in Infant Nutrition. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, v. 2, n. 3, p. 275–283, 2011.
- INNIS, S. M.; DYER, R. Biochemical and Molecular Roles of Nutrients Dietary Triacylglycerols with Palmitic Acid (16 : 0) in the 2-Position Increase 16 : 0 in the 2-Position of Plasma and Chylomicron Triacylglycerols , but Reduce Phospholipid Arachidonic and Docosahexaenoic Ac. *Journal of Nutrition*, n. September 1996, p. 1311–1319, 1997.
- JOHNSON, A. M. F.; OLEFSKY, J. M. Perspective The Origins and Drivers of Insulin Resistance. *Cell*, v. 152, n. 4, p. 673–684, 2013.
- KÖNNER, A. C.; BRÜNING, J. C. Selective insulin and leptin resistance in metabolic disorders. *Cell Metabolism*, v. 16, n. 2, p. 144–152, 2012.
- KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. *Nature*, v. 404, n. 6778, p. 635–643, 2000.

- KREBS, M. et al. Direct and indirect effects of amino acids on hepatic glucose metabolism in humans. *Diabetologia*, v. 46, n. 7, p. 917–925, 2003.
- LAU, J. K. C.; ZHANG, X.; YU, J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. *The Journal of Pathology*, v. 241, n. 1, p. 36–44, 2017.
- LU, B. et al. Metabolic crosstalk: Molecular links between glycogen and lipid metabolism in obesity. *Diabetes*, v. 63, n. 9, p. 2935–2948, 2014.
- LUCA, C. DE; OLEFSKY, J. M. Inflammation and Insulin Resistance. *FEBS Lett.*, v. 9, n. 582, p. 97–105, 2008.
- MAGNUSSON, I. et al. Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus a ¹³C nuclear magnetic resonance study. *The Journal of clinical investigation*, v. 90, n. 4, p. 1323–1327, 1992.
- MAGRI, T. P. R. et al. Interesterified fat or palm oil as substitutes for partially hydrogenated fat in maternal diet can predispose obesity in adult male offspring. *Clinical Nutrition*, v. 34, n. 5, p. 904–910, 2015.
- MARCHESINI, G. et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*, v. 37, n. 4, p. 917–923, 2003.
- MATTSON, F. H.; VOLPENHEIN, R. A. Rearrangement of Glyceride Fatty Acids During Digestion and Absorption Rearrangement of Glyceride Fatty Acids Digestion and Absorption. *Journal of Biological Chemistry*, v. 237, n. 1, p. 53–55, 1962.
- MAY, C. Y.; NESARETNAM, K. Research advancements in palm oil nutrition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 116, n. 10, p. 1301–1315, 2014.
- MCCLURE, W. R.; LARDY, H.; KNEIFEL, H. Rat Liver Pyruvate Carboxylase. *J Biol Chem*, v. 246, n. 11, p. 3569–3578, 1971.
- MEEK, D. W.; NIMMO, H. G. The allosteric properties of rat liver fructose-1,6-bisphosphatase. *The Biochemical journal*, v. 222, n. 1, p. 131–138, 1984.
- MENAA, F. et al. Technological approaches to minimize industrial trans fatty acids in foods. *Journal of Food Science*, v. 78, n. 3, 2013.
- MENSINK, RONALD P, KATAN, M. B. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *The New England Journal of Medicine*, v. 323, n. 7, p. 439–445, 1990.
- MICHAEL, M. D. et al. Loss of Insulin Signaling in Hepatocytes Leads to Severe Insulin Resistance and Progressive Hepatic Dysfunction. *Molecular Cell*, v. 6, n. 1, p. 87–97, 2000.
- MILANSKI, M. et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *The Journal of neuroscience*, v. 29, n. 2, p. 359–370, 2009.
- MORINAGA, H. et al. Characterization of distinct subpopulations of hepatic macrophages in HFD/obese mice. *Diabetes*, v. 64, n. 4, p. 1120–1130, 2015.
- MOZAFFARIAN, D.; ARO, A; WILLETT, W. C. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *European journal of clinical nutrition*, v. 63 Suppl 2, n. S2, p. S5–S21, 2009.
- NIELSEN, K. Is the quality and cost of food affected if industrially produced trans fatty acids

are removed? *Atherosclerosis Supplements*, v. 7, n. 2, p. 61–62, 2006.

NOOR LIDA, H. M. D. et al. TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein blends before and after chemical interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 79, n. 11, p. 1137–1144, 2002.

NOOR LIDA, H. M. D.; KALYANA, S.; NOR AINI, I. Effect of chemical interesterification on triacylglycerol and solid fat contents of palm stearin, sunflower oil and palm kernel olein blends. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 109, n. 2, p. 147–156, 2007.

NORIZZAH, A. R. et al. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olein blends. *Food Chemistry*, v. 86, n. 2, p. 229–235, 2004.

OBSTFELD, A. E. et al. Recruitment of Myeloid Cells That Promote Obesity-Induced Hepatic Steatosis. *Diabetes*, v. 59, n. April, p. 916, 2010.

OOMEN, C. M. et al. Association between trans fatty acid intake and 10-year risk of coronary heart disease in the Zutphen Elderly Study: a prospective population-based study. *The Lancet*, v. 357, n. 9258, p. 746–751, 2001.

PERRY, R. J. et al. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, v. 510, n. 5, p. 84–91, 2014.

PETERSEN, K. F. et al. Increased prevalence of insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in Asian-Indian men. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 103, n. 48, p. 18273–7, 2006.

PETTA, S.; MURATORE, C.; CRAXÌ, A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: The present and the future. *Digestive and Liver Disease*, v. 41, n. 9, p. 615–625, 2009.

POPKIN, B.; ADAIR, L.; NG, S. NOW AND THEN: The Global Nutrition Transition: The Pandemic of Obesity in Developing Countries. *Nutr Rev*, v. 70, n. 1, p. 3–21, 2012.

PREVIS, S. F.; CLINE, G. W.; SHULMAN, G. I. A critical evaluation of mass isotopomer distribution analysis of gluconeogenesis in vivo. *The American journal of physiology*, v. 277, n. 1 Pt 1, p. E154–60, 1999.

RECCIA, I. et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A sign of systemic disease. *Metabolism*, v. 72, p. 94–108, 2017.

REENA, M. B.; GOWDA, L. R.; LOKESH, B. R. Enhanced hypocholesterolemic effects of interesterified oils are mediated by upregulating LDL receptor and cholesterol 7- α -hydroxylase gene expression in rats. *The Journal of nutrition*, v. 141, n. 1, p. 24–30, 2011.

REEVES, P. G.; FORREST, N. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *American Institute of Nutrition*, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1993.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Interesterificação química: Alternativa para obtenção de gorduras zero trans. *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1295–1300, 2007.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Instrumental methods for the evaluation of interesterified fats. *Food Analytical Methods*, v. 2, n. 4, p. 282–302, 2009a.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications. *Food Research International*, v. 42, n. 3, p. 401–410, 2009b.

RUI, L. Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, v. 4, n. 1, p. 177–97, 2014.

RYYSY, L. et al. Hepatic Fat Content and Insulin Action on Free Fatty Acids and Glucose Metabolism Rather Than Insulin Absorption Are Associated With Insulin Requirements During Insulin Therapy in Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes*, v. 49, n. 10, p. 749–758, 2000.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUNDRAM, K.; TAN, Y. A. Chemistry and biochemistry of palm oil. *Progress in Lipid Research*, v. 39, p. 507–558, 2000.

SAMUEL, V. T. et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Biological Chemistry*, v. 279, n. 31, p. 32345–32353, 2004.

SAMUEL, V. T. et al. Fasting hyperglycemia is not associated with increased expression of PEPCK or G6Pc in patients with Type 2 Diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 106, n. 29, p. 12121–6, 2009.

SANYAL, A. J. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, v. 123, n. 5, p. 1705–1725, 2002.

SCHENK, S.; SABERI, M.; OLEFSKY, J. M. Insulin sensitivity: Modulation by nutrients and inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 118, n. 9, p. 2992–3002, 2008.

SCHINNER, S. et al. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, v. 22, n. 6, p. 674–682, 2005.

SEMMA, M. Trans Fatty Acids: Properties, Benefits and Risks. *Journal of Health Science*, v. 48, n. 1, p. 7–13, 2002.

SEPPÄLÄ-LINDROOS, A. et al. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 87, n. 7, p. 3023–3028, 2002.

SILVA, R. C. DA; GIOIELLI, L. A. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos a partir de banha e óleo de soja. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 2, 2006.

SUNDRAM, K.; KARUPAIAH, T.; HAYES, K. C. Stearic acid-rich interesterified fat and trans-rich fat raise the LDL/HDL ratio and plasma glucose relative to palm olein in humans. *Nutrition & metabolism*, v. 4, n. 3, p. 1–12, 2007.

TATEYA, S.; KIM, F.; TAMORI, Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Frontiers in Endocrinology*, v. 4, n. AUG, p. 1–14, 2013.

THALER, J. et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *Journal of Clinical Investigation*, v. 122, n. 1, p. 153, 2011.

TOLMAN, K. G. et al. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes Care*, v. 30, n. 3, p. 734–743, 2007.

TOMARELLI, R. M. et al. Effect of positional distribution on the absorption of the fatty acids of human milk and infant formulas. *Journal of Nutrition*, v. 95, n. 4, p. 583–590, 1968.

VARMA, V. et al. Muscle inflammatory response and insulin resistance: synergistic interaction between macrophages and fatty acids leads to impaired insulin action 696. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 296, n. 0193–1849 (Print), p. E1300–E1310, 2009.

VELLOSO, L. A. O controle hipotalâmico da fome e da termogênese: implicações no desenvolvimento da obesidade. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 50, n. 2, p. 165–176, 2006.

WANG, B.; WOOD, I. S.; TRAYHURN, P. Dysregulation of the expression and secretion of inflammation-related adipokines by hypoxia in human adipocytes. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, v. 455, n. 3, p. 479–492, 2007.

WANG, D. D. et al. Association of Specific Dietary Fats With Total and Cause-Specific Mortality. *JAMA Internal Medicine*, v. 176, n. 8, p. 1134–1145, 2016.

WEISBERG, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n. 12, p. 1796–1808, 2003.

YE, J. et al. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *AJP: Endocrinology and Metabolism*, v. 293, n. 4, p. E1118–E1128, 2007.

YOUNOSSI, Z. M. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, v. 64, n. 1, p. 73–84, 2016.

World Health Organization (WHO). Fact sheet n. 311: Obesity and overweight. 2016

ANEXOS

Anexo I – Certificado do comitê de ética no uso de animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação da produção hepática de glicose em camundongos alimentados com dieta rica em gordura interesterificada", protocolo nº 3853-1, sob a responsabilidade de Profa. Dra. Marciane Milanski Ferreira / Josiane Érica Miyamoto, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica ou ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais e do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA**, e foi aprovado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em reunião de 19 de maio de 2015.

Vigência do projeto: 06/2015-12/2016

Espécie/Linhagem: Camundongo heterogênico /Swiss

No. de animais: 120

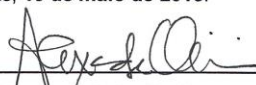
Peso/Idade: 03 semanas/20gr

Sexo: machos

Origem: CEMIB/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBio**.

Campinas, 19 de maio de 2015.


Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

Other Authors [Show Details](#)

Josiane Erica Miyamoto (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Ana Carolina Gato Ferraz (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Mariana Portoveio (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Andressa Reginato (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Marcela Aparecida Stani (School of Food Engineering, University of Campinas, UNICAMP), Letícia Martins Ignácio-Souza (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Kerry L. Chan (Cell Biology Program, The Hospital for Sick Children, Toronto), Adriana Torsoni (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Marcio Alberto Torsoni (School of Applied Sciences, University of Campinas, UNICAMP), Ana Paula Badian Ribeiro (School of Food Engineering, University of Campinas, UNICAMP)

Background: Interestified fats have largely replaced trans fat in the food industry as an economically viable alternative. Generating interest to study their health effects. **Objective:** To evaluate the dietary sources of lipids and their role on metabolic parameters as well as intracellular stress pathways in livers of rats fed with interesterified fat. **Methods:** Male Wistar rats 5 weeks old were submitted to either control diet (ISO), containing 10% fat (soybean oil), control interesterified fat (ISO), containing 10% interesterified fat or high fat diet (HFD), containing 60% fat rich in saturated fatty acids for 8 or 16 weeks. Metabolic parameters and hepatic gene expression were evaluated. **Results:** The HFD consumption led to increased body mass, adiposity and impaired glucose tolerance compared to SO and ISO at both time points of diet. The ISO group showed an increased body mass gain, retroperitoneal WAT mass and fasting glucose, and impaired glucose tolerance during ipGTT at 16 weeks compared to SO. Also, at 8 weeks, hepatic gene expression of Ahr3 and Tnf was increased in the ISO group compared to the SO group. **Conclusion:** The replacement of natural fat with interesterified fat on a normocaloric and normolipidic diet negatively modulated metabolic parameters and resulted in impaired glucose tolerance in rats.

interesterified fat, soybean oil, metabolic parameters, glucose homeostasis, liver