



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

Natália Engroff do Canto

**A SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO RICO EM ÁCIDO
PALMITOLEICO PODE SER UMA ESTRATÉGIA NÃO
FARMACOLÓGICA PARA MODIFICAR ALTERAÇÕES
METABÓLICAS INDUZIDAS POR
DIETA HIPERLIPÍDICA EM CAMUNDONGOS?**

**Florianópolis/SC
2018**

Natália Engroff do Canto

**A SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO RICO EM ÁCIDO
PALMITOLEICO PODE SER UMA ESTRATÉGIA NÃO
FARMACOLÓGICA PARA MODIFICAR ALTERAÇÕES
METABÓLICAS INDUZIDAS POR
DIETA HIPERLIPÍDICA EM CAMUNDONGOS?**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Fisiologia.

Área de Concentração: Ciências
Biológicas

Linha de Pesquisa:
Neuroimunoendocrinologia

Orientador: Prof. Everson Araújo Nunes, Dr.

**Florianópolis/SC
2018**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Canto, Natália Engroff do

A suplementação de óleo rico em ácido palmitoleico pode ser uma estratégia não farmacológica para modificar alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica em camundongos? / Natália Engroff do Canto; orientador, Everson Araújo Nunes, Florianópolis, 2018.

121 p.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas.

Inclui referências.

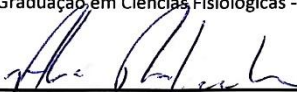
1. Ciências Fisiológicas. 2. Dieta Hiperlipídica. 3. Ácido graxo Palmitoleico. 4. Parâmetros Metabólicos. I. Araújo Nunes, Everson. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas. III. Título.

"A suplementação de óleo rico em ácido palmitoleico pode ser uma estratégia não farmacológica para modificar alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica em camundongos?"

Por

Natália Engroff do Canto

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca Examinadora (004/2018/PPGMCF) do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - UFSC.



Prof.(a) Dr.(a) Alex Rafacho

Coordenador(a) do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Banca examinadora:



Dr. Everson Araújo Nunes (Universidade Federal de Santa Catarina)
Orientador(a)



Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta (Universidade Federal de Santa Catarina)



Dr.(a) Elisabeth Wazlawik (Universidade Federal de Santa Catarina)

Florianópolis, 06 de julho de 2018.

Dedico este trabalho aos meus pais Marise Eli Weber Engroff e Zilmar Simon do Canto e amigos que estiveram sempre presentes nos momentos em que mais precisei. Agradeço o incentivo diário.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela fé, energia e por estar ao meu lado em todos os momentos.

Ao meu orientador, professor Dr. Everson Araújo Nunes pela oportunidade e paciência. Ao professor Alex Rafacho que auxiliou meu ingresso, conversou com meu orientador para abertura de mais uma vaga no mestrado para a linha de pesquisa de Neuroimunoendocrinologia.

Aos meus pais, por serem sempre um porto seguro, o qual reconheci verdadeiramente durante o mestrado.

Aos meus colegas de laboratório, por todo auxílio na execução do trabalho.

As pessoas maravilhosas que conheci, estiveram ao meu lado e contribuíram para a concretização desta etapa Daniela Coelho, Daniela Hauschild, Michel Mocellin, Ana Sofia Bodenmüller, Amanda Marreiro, Júlia Spanhol, Felipe Azevedo, Maciel Bruxel, Cinthia Correa e Jéssica Bastista.

As amigas que dividiram apartamento, paciência, angústias, felicidade e, principalmente o tempo. Muito obrigada por estarem ao meu lado, durante experimentos e sempre que realmente precisei, por trazerem luz e conforto. Haíssa Mendes e Thayz Chagas vocês foram determinantes para a conclusão desta etapa.

Agradeço aos animais, fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa.

Agradeço também a Universidade Federal de Santa Catarina, pela estrutura e oportunidade e a CAPES conceder a bolsa de mestrado, fundamental pela permanência em Florianópolis e, portanto, execução do projeto.

CANTO, Natália Engroff do. **A suplementação de óleo rico em ácido palmitoleico pode ser uma estratégia não farmacológica para modificar alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica em camundongos?**. 2018. 121f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2018.

Orientador: Prof. Dr. Everson Araújo Nunes

RESUMO

Diets hipercalóricas e hiperlipídicas são utilizadas como modelos experimentais para indução da obesidade. Além da obesidade, dietas com alto teor de gordura provocam alterações metabólicas associadas ao aumento da adiposidade corporal. Assim, intervenções não farmacológicas têm sido utilizadas para frear o desenvolvimento de comorbidades relacionadas a obesidade. Entre as intervenções nutricionais estão a mudança na qualidade da dieta e incorporação de gorduras mono e poli-insaturadas. O ácido graxo palmitoleico, representante da família ômega-7, tem sido investigado como estratégia para reverter as comorbidades. Por conseguinte, buscamos avaliar o efeito da ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico para prevenir ou atenuar as alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica. Assim, 134 camundongos Swiss foram divididos em: FASE I animais que receberam dieta padrão ou hiperlipídica (58%) por 28 dias. Posteriormente, os animais foram divididos novamente em FASE II Controle (C), Controle Óleo (CO), (High Fat Diet) HFD, High Fat Diet + Óleo HFDO, Reversibilidade (REV) e Reversibilidade Óleo (REVO) por mais 28 dias. A FASE II corresponde a fase de suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico (50%) na dose de 1g/Kg/dia). Outros protocolos de suplementação também foram testados: 28 dias de dieta hiperlipídica com óleo rico em ácido palmitoleico e 56 dias dieta hiperlipídica com óleo rico em ácido palmitoleico. Foram determinados parâmetros metabólicos relacionados às alterações provocadas pela dieta hiperlipídica. Após 28 dias de dieta hiperlipídica os animais HFD apresentaram aumento da massa corpora, menor tolerância à glicose, menor sensibilidade à insulina, aumento no conteúdo de triacilgliceróis hepáticos e colesterol total sérico. A retirada da dieta hiperlipídica promoveu melhora em todos os parâmetros analisados, revertendo todas as alterações metabólicas do consumo de dieta com alto teor de lipídeo: massa corporal, tolerância à glicose, sensibilidade à insulina, triacilglicerol e colesterol total séricos e hepáticos. Porém, no grupo REVO a ingestão de óleo não surtiu efeito nos parâmetros analisados. Ademais, a ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico nos animais que receberam dieta hiperlipídica reduziu a

glicemia de jejum, melhorou a sensibilidade à insulina e reduziu a concentração de colesterol total sérico, embora não tenha reduzido a massa corporal e adiposa. Por conseguinte, a ingestão de óleo junto com o início da dieta hiperlipídica, por 28 dias, preveniu o desenvolvimento de intolerância à glicose e resistência à insulina e também foi capaz de prevenir o aumento nas concentrações séricas de colesterol e adiar o acúmulo de triacilgliceróis no fígado e aumento da massa adiposa. Entretanto, com 56 dias de exposição à dieta hiperlipídica e óleo rico em ácido palmitoleico, os efeitos nocivos da dieta se sobrepuseram aos efeitos benéficos do óleo quando comparadas as massas corporais e adiposas dos animais. Porém, mesmo com o desenvolvimento da obesidade, o óleo conseguiu prevenir a intolerância à glicose por mecanismo independente da sensibilidade à insulina. A ingestão de óleo reduziu as concentrações séricas de colesterol total, embora não tenha surtido efeito na prevenção da esteatose hepática e aumento da massa adiposa. Concluímos que a ingestão de óleo rico em ácido graxo palmitoleico pode ser eficaz para prevenir, atenuar ou tratar as alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica. Contudo, os resultados dependem do momento de início e duração da suplementação, sendo mais promissores quando a suplementação com óleo 50% palmitoleico inicia junto com a ingestão de dieta hiperlipídica.

Palavras-Chave: Obesidade. Ácido Graxo Palmitoleico. Tolerância à Glicose.

ABSTRACT

Hypercaloric and high fat diets are used as experimental models for induction of obesity. In addition to obesity, high-fat diets provoke metabolic changes associated with increased body adiposity. Thus, non-pharmacological interventions have been used to curb the development of obesity-related comorbidities. Among the nutritional interventions, are the change in diet quality and incorporation of mono and polyunsaturated fats. Palmitoleic acid, representative of the omega-7 family, has been investigated as a strategy to reverse comorbidities. Therefore, we sought to evaluate the effect of oil-rich palmitoleic acid ingestion to prevent or attenuate the metabolic changes induced by a high fat diet. Thus, 134 Swiss mice were divided into: PHASE I animals that received standard or hyperlipidic diet (58%) for 28 days. Afterwards, the animals were again divided into Phase II Control (C), Control Oil (CO), High Fat Diet HFD, High Fat Diet + HFDO Oil, Reversibility (REV) and Reversibility Oil (REVO) for another 28 days. Phase II corresponds to the phase of supplementation with oil rich in palmitoleic acid (50%) at a dose of 1g / kg / day). Other supplementation protocols were also tested: 28 days of high fat diet with oil rich in palmitoleic acid and 56 days high fat diet with oil rich in palmitoleic acid. Metabolic parameters related to changes caused by the high fat diet were determined. After 28 days of high fat diet, HFD animals presented increased body mass, lower glucose tolerance, lower insulin sensitivity, increased hepatic triacylglycerol content, and total serum cholesterol. The withdrawal of the high fat diet promoted improvement in all analyzed parameters, reverting all the metabolic alterations of diet consumption with high lipid content: body mass, glucose tolerance, insulin sensitivity, triacylglycerol and total serum and hepatic cholesterol. However, in the REVO group the oil intake had no effect on the analyzed parameters. In addition, the ingestion of palmitoleic acid-rich oil in animals receiving a high-fat diet reduced fasting glucose, improved insulin sensitivity, and reduced serum total cholesterol concentration, although it did not reduce body mass and fat. Therefore, the ingestion of oil together with the onset of the hyperlipidic diet for 28 days prevented the development of glucose intolerance and insulin resistance and was also able to prevent the increase in serum cholesterol concentrations and postpone the accumulation of triacylglycerols in the liver and increased fat mass. However, with 56 days of exposure to the high fat diet and palmitoleic rich oil, the harmful effects of the diet overlapped with the beneficial effects of the oil when compared to the body and fat masses of the animals. However, even with the development of obesity, the oil was able to prevent glucose intolerance by an independent mechanism of insulin sensitivity. The ingestion of oil reduced the serum concentrations of total cholesterol, although it did not have an effect in the prevention of hepatic steatosis and increase of fat mass. We conclude that

ingestion of oil rich in palmitoleic fatty acid may be beneficial in preventing, attenuating or treating the metabolic changes induced by a high fat diet. However, the results depend on the starting time and duration of supplementation, and are more promising when 50% palmitoleic oil supplementation begins with the high fat diet.

Keywords: Obesity. Palmitoleic Fatty Acid. Glucose Tolerance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeitos imuno-metabólicos do ácido palmitoleico em diferentes tecidos.	38
Figura 2 - Desenho experimental dos lotes 1 e 2.....	45
Figura 3 - Representação das linhas de tempo e procedimentos aos quais os animais foram submetidos nos dois primeiros lotes de animais.	46
Figura 4 - Desenho experimental Lote 3.	47
Figura 5 - Linha do tempo dos animais após modificação do protocolo experimental.	48
Figura 6 - Massa corporal.....	56
Figura 7 - Ingestão de quilocalorias provenientes de proteínas.....	57
Figura 8 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.	58
Figura 9 - Massa de tecido adiposo epididimal.....	60
Figura 10 - Concentração de triacilgliceróis séricos.	62
Figura 11 - Massa corporal Fase II.....	64
Figura 12 - Ingestão em gramas durante Fase II.	64
Figura 13 - Ingestão em Kcal durante Fase II.....	66
Figura 14 - Ingestão em Kcal provenientes de proteínas durante Fase II.	69
Figura 15 - Ingestão em Kcal provenientes de carboidratos durante Fase II.	71
Figura 16 - Ingestão em Kcal provenientes de lipídeos durante Fase II.	73
Figura 17 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.....	75
Figura 18 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina.	77
Figura 19 - Massa de tecido adiposo epididimal.....	79
Figura 20 - Concentração de triacilgliceróis séricos.	81

Figura 21 - Ingestão em gramas.	83
Figura 22 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.....	83
Figura 23 - Massa de tecido adiposo epididimal.....	85
Figura 24 - Concentração de triacilgliceróis séricos.	86
Figura 25 - Ingestão em gramas.	87
Figura 26 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.	89
Figura 27 - Massa de tecido adiposo.	91
Figura 28 - Concentração de triacilgliceróis séricos.	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Modelos experimentais de obesidade induzida por dieta	35
Tabela 2 - Efeitos metabólicos do ácido palmitoleico isolado ou óleo rico em palmitoleico em estudos com culturas de células ou animais.	37
Tabela 3 - Composição de macronutrientes e quilocalorias das dietas.	43
Tabela 4 - Composição da dieta hiperlipídica segundo fornecedor PragSoluções®.....	44
Tabela 5 - Composição dos principais ácidos graxos presentes no óleo rico em palmitoleico ALASKOMEGA©.....	49
Tabela 6 - Massa absoluta dos órgãos (g) após 28 dias de dieta hiperlipídica.	59
Tabela 7 - Massa absoluta dos órgãos após segunda Fase de intervenção (gramas).....	78
Tabela 8 - Resumo dos resultados.....	92

LISTA DE SIGLAS

AG	-	Ácido graxo
AGMI	-	Ácido graxo monoinsaturado
AGPI	-	Ácido graxo poli-insaturado
AGS	-	Ácido graxo saturado
AKT	-	Proteína cinase B
AMPK	-	Proteína cinase dependente de AMP
DHGNA	-	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM2	-	Diabetes Mellitus tipo 2
ERO	-	Espécies reativas de oxigênio
FAS	-	Sintase dos ácidos graxos
FOXO	-	Proteína Forkhead box
GC	-	Glicocorticoide
GLUT	-	Transportador de glicose
GSK3	-	Cinase da glicogênio sintase 3
HDL	-	<i>High density lipoprotein</i>
HFCS	-	Xarope de milho rico em frutose
IDL	-	<i>Intermediate density lipoprotein</i>
IGF-R	-	Receptor do fator de crescimento semelhante à insulina
IKK	-	Cinase do I κ B
IL1 β	-	Interleucina 1 beta
IL6	-	Interleucina 6
IP	-	Intraperitoneal
IpITT	-	Teste de tolerância à insulina intraperitoneal
IpPTT	-	Teste de tolerância ao piruvato intraperitoneal
IRS	-	Substrato do receptor de insulina
JNK	-	Cinase c-JUN N-terminal
LDL	-	<i>Low density lipoprotein</i>
LDN	-	Lipogênese de novo
MCP1	-	Proteína quimiotática de monócitos 1
MODY	-	Diabetes do jovem no início da maturidade
NF κ B	-	Fator nuclear kappa B
OMS	-	Organização Mundial da Saúde
PI3K	-	Fosfatidilinositol 3 cinase
PIP3	-	Fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato
PKC	-	Proteína cinase C

- PPARs - Receptores ativados por proliferadores de peroxissomos
- RI - Resistência à insulina
- RMQ - *Remanescents de quilomicrons*
- S6K - Proteína S6 cinase
- SI - Sensibilidade à insulina
- SREBP1 - Proteína ligada ao elemento regulador de esteroides 1
- TG - Triacilglicerol/ Triglicerídeo
- TLR4 - Receptor tipo 'toll like' 4
- TNF α - Fator de necrose tumoral alfa
- VLDL - *Very low density lipoprotein*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	OBESIDADE	21
1.2	PADRÃO ALIMENTAR.....	23
1.3	FATORES RELACIONADOS A EXPANSÃO DO TECIDO ADIPOSEO	24
1.3.1	Sensibilidade à Insulina	26
1.3.2	Dislipidemias	28
1.3.3	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica	31
1.4	MODELOS EXPERIMENTAIS PARA INDUÇÃO OBESIDADE	33
1.5	INTERVENÇÕES NÃO FARMACOLÓGICAS	35
2	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	39
3	OBJETIVOS	41
3.1	OBJETIVO GERAL.....	41
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
4	MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1	ANIMAIS	43
4.2	O MODELO EXPERIMENTAL	43
4.3	SUPLEMENTAÇÃO.....	49
4.4	CONSUMO DE RAÇÃO E MASSA CORPORAL.....	49
4.5	PARÂMETROS METABÓLICOS <i>IN VIVO</i>	50
4.5.1	Avaliação da tolerância à glicose intraperitoneal (ipGTT e ipITT)	50
4.6	EUTANÁSIA	50
4.7	ANÁLISE DOS TECIDOS E BIOQUÍMICAS	51
4.7.1	Pesagem de órgãos e tecidos	51
4.7.2	Análise bioquímica plasmática	51
4.7.3	Conteúdo de triacilglicerol e colesterol total hepático	51
4.7.4	Conteúdo hepático de glicogênio	52
4.8	ANÁLISE DOS DADOS	52
5	RESULTADOS	55
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO MODELO EXPERIMENTAL: FASE I	55
5.1.1	Massa Corporal e Consumo Alimentar	55

5.1.2	Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina	58
5.1.3	Massa órgãos e tecidos	59
5.1.4	Perfil lipídico sérico e hepático.....	61
5.2	RESULTADOS DA INTERVENÇÃO COM ÓLEO RICO EM PALMITOLEICO: FASE II.....	63
5.2.1	Massa Corporal e Consumo Alimentar	63
5.2.2	Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina	74
5.2.3	Massa órgãos e tecidos	77
5.2.4	Perfil lipídico sérico e hepático	79
5.3	RESULTADOS DA SUPLEMENTAÇÃO CONCOMITANTE A INDUÇÃO DA OBESIDADE POR 28 E 56 DIAS	81
5.4	VINTE E OITO DIAS DE DIETA HIPERLIPÍDICA E SUPLMENTAÇÃO.....	82
5.4.1	Massa corporal e consumo alimentar	82
5.4.2	Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina	82
5.4.3	Massa adiposa.....	84
5.4.4	Perfil lipídico sérico e hepático	85
5.5	CINQUENTA E SEIS (56) DIAS DE DIETA HIPERLIPÍDICA E SUPLMENTAÇÃO	87
5.5.1	Massa corporal e consumo alimentar	87
5.5.2	Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina	88
5.5.3	Massa adiposa.....	90
5.5.4	Perfil lipídico sérico e hepático	90
6	DISCUSSÃO.....	93
6.1	FASE I: INDUÇÃO DA OBESIDADE	93
6.2	FASE II: REVERSIBILIDADE DO QUADRO DE OBESIDADE E INTERVENÇÃO COM SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO RICO EM ÁCIDO PALMITOLEICO.....	94
6.3	SUPLEMENTAÇÃO CONCOMITANTE A INDUÇÃO DA OBESIDADE POR 28 E 56 DIAS	98
7	CONCLUSÕES	103
	REFERÊNCIAS.....	105
	ANEXOS.....	119
	ANEXO A – Certificado Comissão de ética no uso de animais.....	121

1 INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE

A obesidade inicialmente, em 1948, foi especificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma doença, junto com outras patologias elencadas na Classificação Internacional de Doenças (ICD). Por conseguinte, a OMS definiu obesidade como acúmulo anormal ou excessivo de gordura, podendo apresentar risco a saúde. Assim, um dos métodos utilizados para a classificação de excesso de massa corporal é o índice de Massa Corporal (IMC), que considera a massa corporal dividida pela altura ao quadrado. Ademais, classifica-se o indivíduo com sobrepeso quando o índice atinge 25 – 29,9 Kg/m² e obeso quando o índice for igual ou superior a 30 Kg/m².

No entanto, o reconhecimento da obesidade como uma doença não é consenso, pois ainda não existe um acordo geral sobre o que constitui uma doença (SHARMA, 2017). Assim, em 2008, *The Obesity Society* iniciou uma discussão focada nas definições de doenças e como elas se aplicam à obesidade. O critério utilizado baseou-se não apenas se o indivíduo possui excesso de massa adiposa, mesmo que essa gordura seja "anormal". Prevaleceria então, o conceito de que esta quantidade anormal ou excessiva de adiposidade realmente prejudique a saúde dessa pessoa.

Por conseguinte, a Associação Americana de Endocrinologistas Clínicos e o Colégio Americano de Endocrinologia, sugeriram um novo termo para identificar a obesidade, denominado “*Adiposity Based on Chronic Disease - ABCD*”; Doença Crônica Baseada em Adiposidade. O termo propõe a obesidade como uma doença quando afeta um indivíduo devido às consequências mecânicas ou metabólicas do excesso de peso (MECHANICK; HURLEY; GARVEY, 2016). Ademais, foram referenciadas, consequências como depressão, ansiedade e quando o indivíduo não é capaz de se realizar atividades sociais devido ao excesso de gordura corporal.

A adiposidade excessiva também foi considerada como problema de saúde pública. Dados epidemiológicos apresentam a obesidade como uma pandemia, que vem crescendo a cada ano. Segundo a OMS, em 2016, mais de 1,9 bilhão da população adulta no planeta tinha excesso de peso, destes, mais de 650 milhões eram obesos. Ou seja, 39% dos adultos,

apresentaram excesso de peso e, cerca de 13% da população adulta mundial (11% dos homens e 15% das mulheres) eram obesas em 2016. Dados estes que confirmam o aumento da prevalência mundial de obesidade, que quase triplicou entre 1975 e 2016.

No Brasil, dados da vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), revelaram que o excesso de peso foi de 53,8%, sendo maior entre homens (57,7%) do que entre mulheres (50,5%). Enquanto que a frequência de adultos obesos foi de 18,9%, ligeiramente maior em mulheres (19,6%) do que em homens (18,1%). Em ambos os sexos, a frequência da obesidade aumenta duas vezes da faixa de 18 a 24 anos para a faixa de 25 a 34 anos de idade (VIGITEL, 2016).

Por conseguinte, existem diversos fatores que ajudam explicar a etiologia da obesidade, a qual é considerada de natureza multifatorial. O peso corporal é determinado pela interação de diversos fatores, entre estes, genéticos, ambientais e psicossociais. Eventos esses, que atuam através de sinais fisiológicos, interferem desde a ingestão de alimentos até o gasto energético e, posteriormente, afetam a deposição de gordura (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013). Entre os fatores que podem contribuir para o desenvolvimento da obesidade estão o avanço da idade, o gênero, etnia, carga genética, influências pré-natais, microbiota, disruptores endócrinos e ambiente termoneuro (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013).

Entretanto, mesmo pré-disposição genética favorável ao acúmulo de massa adiposa, os indivíduos expostos a um ambiente obesogênico são os que tem maiores condições para o desenvolvimento da obesidade. O desbalanço energético, quando a quantidade de quilocalorias ingeridas é superior a quantidade de energia gasta, é facilitado pelas condições urbanas da atualidade (KOPELMAN, 2000).

A inatividade física é influenciada pelo desenvolvimento tecnológico. As formas de trabalho urbanas, que utilizam máquinas, promovem diminuição do esforço. Ademais, a mudança nos meios de transporte favorece o sedentarismo, pois, não requisita grande gasto energético para deslocamento de grandes distâncias. Assim, a exposição a oferta abundante de alimentos e comportamento sedentário, preponderam e se sobressaem aos outros fatores, culminando em um balanço energético positivo (KOPELMAN, 2000).

1.2 PADRÃO ALIMENTAR

A urbanização decorreu junto com a transição nutricional, que no Brasil foi evidenciada a partir de 1950. A mudança no padrão alimentar é atrelado ao aumento da ingestão de alimentos industrializados, com alta densidade energética (SCHIMIDT et al., 2011).

Os alimentos são ricos em gordura, especialmente saturada, com adição de carboidratos refinados, como açúcar de mesa e frutose. Assim, concomitante ao predomínio da alimentação industrial, houve também a redução no consumo de frutas, verduras e feijão. Estes alimentos *in natura*, de baixa densidade calórica, fonte de fibras e micronutrientes, cujo consumo é fator proteção para desenvolvimento da obesidade (GUILHERME et al., 2008).

Alterações na estrutura da dieta e na composição corporal dos indivíduos, resulta em importantes modificações no perfil de saúde da população (MAZIDI et al., 2018). A mudança na ingestão alimentar no mundo ocorre principalmente no que diz respeito à gordura, carboidratos refinados e alimentos de origem animal. Estes aditivos predominam na indústria, sendo incorporados na maioria dos alimentos processados (MONTEIRO et al., 2010).

O comportamento alimentar brasileiro acompanha o cenário mundial. Estudos da última década revelam o padrão alimentar baseado em alimentos com alto valor energético, baixo teor de nutrientes e altos teores de sódio e de gorduras saturadas, gorduras *trans* e carboidratos refinados, ademais, houve a redução do consumo de fibras como, leguminosas, raízes, tubérculos, frutas e hortaliças (LEVY-COSTA et al., 2005; 2012).

A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) acompanhou o comportamento alimentar dos Brasileiros. Em 2008-2009 revelou consumo aumentado de gordura saturada, açúcares e alimentos processados e diminuição na disponibilidade e consumo de alimentos minimamente processados em relação a POF anterior (2002- 2003). Para este padrão alimentar houve a contribuição, principalmente, das carnes, óleos, gorduras, refrigerantes, doces, pão francês, bebidas alcoólicas e refeições prontas (ENES; SILVA, 2009).

Dados atuais corroboram a trajetória alimentar baseada no aumento do consumo alimentos ricos em gordura, especialmente saturada e ricos em quilocalorias ao longo da história. A pesquisa de 2016 revelou piora no consumo alimentar em todos os quesitos alimentares analisados (VIGITEL, 2016). Pois, houve diminuição na frequência de consumo recomendado de frutas e hortaliças (24,4%), aumento no consumo de

carnes com excesso de gordura (32,0%), sendo esta condição cerca de duas vezes mais frequente em homens (43,1%) do que em mulheres (22,5%). Ademais, a ingestão de leite integral foi de 54,8% e a frequência do consumo de alimentos doces em cinco ou mais dias da semana foi de 18,0% (VIGITEL, 2016).

Este padrão de consumo está intimamente relacionado com o desenvolvimento da obesidade, sendo apontado pela organização mundial de saúde como um fator determinante para o acúmulo de gordura corporal (OMS, 2018). Assim, a comunidade científica vem estudando os mecanismos pelos quais este padrão alimentar contribui para aumento da adiposidade e, principalmente, adiposidade visceral.

1.3 FATORES RELACIONADOS A EXPANSÃO DO TECIDO ADIPOSEO

O excesso de nutrientes ingeridos promove a expansão do tecido adiposo, que ocorre de forma diferente nas fases do desenvolvimento humano. (SPALDING et al., 2008). Após o nascimento até o período pré-púbere, a expansão ocorre pelo aumento do número de adipócitos (hiperplasia) e na idade adulta há um predomínio da expansão do tamanho dos adipócitos (hipertrofia) (ARNER et al., 2010).

Assim, quando há ingestão de nutrientes, por ação da insulina, hormônio que possui efeitos anabólicos, as vias de síntese serão estimuladas. Quando ocorre ingestão calórica excessiva, a energia excedente é armazenada, na forma de triacilgliceróis no tecido adiposo (GUILHERME et al., 2008).

A expansão deste tecido resulta em adaptações locais para acompanhar o processo de expansão. Quando o aumento ocorre excessivamente, dificulta a formação de novos vasos, assim, a diminuição da angiogênese neste local favorece a uma menor disponibilidade de oxigênio para os adipócitos hipertrofiados, e, conseqüentemente, gera hipóxia local (RODRÍGUEZ et al., 2012).

Esta situação de menor disponibilidade de oxigênio pode desencadear morte celular por apoptose, através da ativação do fator de transcrição que induz apoptose (Fator induzido por hipóxia alpha - HIF1- α) (RODRÍGUEZ et al., 2012).

Durante a expansão, a matriz que envolve os adipócitos se remodela para acomodar o crescimento. Porém, a expansão exacerbada do tecido adiposo promove uma remodelação anormal, processo que contribui para danos na função dos adipócitos (MUTCH et al., 2009).

Este enrijecimento e fibrose da rede de suporte dos adipócitos promovem respostas pró-inflamatórias com liberação de TNF- α , IL-1 β e IL-6 e quimiocinas, como a proteína (MCP) -1, que promovem a mobilização de macrófagos para o tecido (CINTI et al., 2005). Por conseguinte, os macrófagos sofrem mudança de fenótipo M2 para M1 que também contribui para a produção de citocinas pró- inflamatórias (CINTI et al., 2005).

Além desta sinalização, existe outro fator que contribui para ampliar a resposta pró-inflamatória. Os ácidos graxos livres (AGL), armazenados sob a forma de triglicerídeos no tecido adiposo, são liberados a partir de adipócitos hipertrofiados através da lipólise durante o jejum. Os AGL que não foram desviados para o fígado e armazenados em gotículas lipídicas ou oxidados são reesterificados localmente em adipócitos (THOMPSON et al., 2010).

No entanto, os AGL também podem interagir com receptores de superfície celular tipo “*toll-like*”, especialmente TLR4, ativando assim uma resposta inflamatória as concentrações locais de lipídios extracelulares, o que exacerba a resposta quimiotática de atração de macrófagos (UNGER et al., 2010). Altas taxas de lipólise ou influxo de AGL saturados também podem causar inflamação temporária ao interagirem com receptores em diversos tecidos (SHI et al., 2006).

Entretanto, pesquisa recente demonstrou que evidências de que o TLR4 não é um receptor de ácidos graxos saturados, mas medeia a inflamação induzida por lipídios ao reprogramar o metabolismo dos macrófagos (LANCASTER et al., 2018).

Ademais, existem outros fatores que também interferem negativamente no quadro de excesso de peso. Por exemplo a microbiota intestinal, que pode encontrar-se alterada em indivíduos obesos devido a alimentação característica desta população ser rica em alimentos ricos em gordura saturada, açúcares e pobre em fibras (SHI et al., 2006).

Assim, estes alimentos favorecem crescimento de populações de bactérias que promovem disbiose intestinal. Por conseguinte, ocorre o aumento da permeabilidade intestinal, o qual permite que os lipopolissacarídeos (LPS) presentes nas paredes celulares das bactérias gram-negativas tenham acesso a corrente sanguínea. Os LPS podem interagir com receptores tipo TLR, que também contribuem para o desenvolvimento de respostas pró-inflamatórias, potencializando os demais efeitos negativos do aumento da massa adiposa (LEE et al., 2008).

O balanço energético positivo pode gerar uma sobrecarga nas organelas celulares. No processo de metabolização dos nutrientes, o aumento na demanda energética pode contribuir para a produção de

espécies reativas de oxigênio na mitocôndria, conseqüentemente, disfunção mitocondrial (PATTERSON et al., 2015). Ademais, a sobrecarga pode atingir o retículo endoplasmático (RE), que em estado de estresse, responde com a perda ou diminuição da função.

1.3.1 Sensibilidade à Insulina

A insulina estimula a absorção da glicose pelo músculo esquelético, inibe a gliconeogênese e a produção hepática de lipoproteínas de muito baixa densidade, além de diminuir a lipólise no tecido adiposo (PESSIN; SALTIEL, 2000).

No músculo esquelético e no tecido adiposo, a sinalização da insulina começa com sua ligação a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade tirosina cinase intrínseca, composta por duas subunidades alfa e duas subunidades beta, denominada receptor de insulina (IR). A secreção de insulina pelas células beta pancreáticas pode ser alterada para adequar os diferentes graus de sensibilidade à insulina, em indivíduos saudáveis, cuja função das células beta pancreáticas está normal (LEAN et al., 2018).

Assim, os valores glicêmicos são mantidos na faixa de normalidade em condições fisiológicas. Entretanto, indivíduos que apresentam uma menor sensibilidade à insulina necessitam uma maior secreção do hormônio nas células beta pancreáticas. A secreção aumentada de insulina pode ou não ser suficiente para normalização das concentrações glicêmicas, quando a hipersecreção não atinge valores fisiológicos de glicemia, o indivíduo é classificado como resistente a ação da insulina (LEAN et al., 2018).

A ativação do IR resulta em fosforilação em tirosina de diversos substratos, incluindo substratos do receptor de insulina 1 e 2 (IRS-1 e IRS-2). A fosforilação das proteínas IRS cria sítios de ligação para outra proteína citosólica, denominada fosfatidilinositol 3-cinase (PI3k), promovendo sua ativação. A ativação da PI3k aumenta a fosforilação em serina da proteína cinase B (Akt) e isso permite o transporte de glicose através da translocação da proteína GLUT-4 para a membrana celular, permitindo a entrada da glicose por difusão facilitada. Os GLUT-4 são os principais responsáveis pela captação da glicose circulante no tecido adiposo e músculo esquelético (SALTIEL; KAHN 2001).

Outro mecanismo envolvido com a homeostase energética é a ativação da AMPK (proteína cinase ativada por AMP) e é ativada pela fosforilação do resíduo de treonina 172. A AMPK é ativada condições em

que a demanda de energia celular está aumentada ou quando a disponibilidade de combustível é menor (redução do ATP intracelular e/ou aumento dos níveis de AMP (ROSSMEISL et al., 2004).

Uma vez ativada, AMPK exerce efeitos sobre o metabolismo da glicose e lipídios em diversos órgãos. No fígado, diminui a síntese de lipídios e estimula a queima de gordura, além de reduzir a produção hepática de glicose. Na musculatura esquelética, estimula a captação da glicose plasmática aumentando a translocação do GLUT-4 e a sensibilidade à insulina (SCHIMMACK et al., 2006). Ainda atua na regulação da síntese de insulina e sua secreção pelas células beta pancreáticas, melhora também a sensibilidade à insulina nos tecidos hepáticos e musculares (HARDIE, 2003).

Entretanto, quando citocinas pró-inflamatórias TNF- α e a IL-6 são produzidas no processo de expansão do tecido adiposo, podem interagir na via de sinalização da insulina. Por exemplo, podem dificultar a transmissão do sinal e, posteriormente, a homeostase glicêmica. As citocinas podem estimular a fosforilação do substrato do receptor de insulina, IRS-1 e 2 em resíduos de serina e não em tirosina. Assim, o resultado é uma menor sinalização da via que, conseqüentemente, pode causar menor sensibilidade à insulina (HAK et al., 2001; MAEDLER et al., 2002).

A expansão do tecido adiposo também pode contribuir para menor sensibilidade à insulina, pois em condições fisiológicas desempenha um importante papel no tamponamento do fluxo de AGL circulantes (FRAYN, 2002). No período pós-prandial, a insulina suprime a ação da lipase hormônio-sensível, assim diminuindo a lipólise, e estimula a captação de ácidos graxos a partir das lipoproteínas séricas por meio da ação da lipase lipoproteica. Estimula ainda a captação de glicose e a lipogênese nos adipócitos.

Quando o acúmulo de triacilglicerol ocorre de forma anormal outros tecidos são expostos a um fluxo excessivo de lipídios e podem acumulá-los, desencadeando a formação de metabólitos tóxicos para as células (diacilglicerol e ceramidas).

Ademais, os metabólicos lipídios podem alterar cascatas de sinalização e gerar uma série de processos danosos intracelularmente. Por exemplo, tem o potencial de promover a ativação da proteína-quinase PKC, a qual inibe a sinalização da insulina através da fosforilação inibitória em resíduos de serina do IRS1 e 2 (MAGKOS et al., 2012; HASSAN; BOURRON; HAJDUCH, 2014).

Portanto, o processo de adaptação do organismo frente ao acúmulo excessivo de massa adiposa pode gerar respostas fisiopatológicas.

Consequências essas que culminam na ativação de vias de sinalização pró-inflamatórias que se correlacionam com prejuízo na sinalização da insulina.

1.3.2 Dislipidemias

As lipoproteínas são compostas por lipídeos e proteínas (Apolipoproteínas – apo), as quais auxiliam a solubilização e permitem o transporte de triacilglicerol (TG), colesterol e fosfolipídios no plasma. As lipoproteínas podem ser divididas em quatro grandes classes: as que possuem maior conteúdo de TG e são menos densas, como os quilomícrons e as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL, sigla do inglês *very low density lipoprotein*) (KIDAMBI; PATEL, 2008).

Por conseguinte, as lipoproteínas ricas em colesterol, a lipoproteína de baixa densidade (LDL sigla do inglês *low density lipoprotein*) e as de alta densidade (HDL, do inglês *high density lipoprotein*). Contudo, ainda existe uma classe de Lipoproteínas de Densidade Intermediária (IDL, do inglês *intermediary density lipoprotein*) e a Lipoproteína (a) – Lp (a), que resulta da ligação de uma partícula de LDL à Apo (a) (NORDESTGAARD; LANGSTED, 2016).

O transporte de lipídeos no organismo ocorre pela via endógena e exógena. A via exógena representa o transporte de lipídeos da dieta, que após absorção intestinal são carregados até o fígado. Ademais, o transporte das lipoproteínas sintetizadas nos hepatócitos para os tecidos periféricos ocorre a via endógena (HUSSAIN, 2014).

Os ácidos graxos de cadeia longa são reesterificados nos enterócitos para formar TG, e, então, incorporados à Apolipoproteína B-48, formando os quilomícrons, lipoproteínas ricas em TG de origem dietética. Posteriormente, são excitados através da membrana basolateral, e chegam aos capilares linfáticos das vilosidades e na circulação. Enquanto circulam, os quilomícrons sofrem hidrólise pela Lipase Lipoproteica (LPL) presente no endotélio dos capilares, cujos produtos são a liberação de ácidos graxos, glicerol e de colesterol não esterificado da superfície destas partículas (OLIVECRONA, 2016).

Os ácidos graxos, produtos da ação da LPL são capturados e utilizados pelos tecidos periféricos ou reesterificados e armazenados sob a forma de TG, principalmente nos adipócitos. Assim, o teor de TG dos quilomícrons diminui gradativamente após sofrerem ação da LPL, o que dá origem aos remanescentes de quilomícrons (RQM) (OLIVECRONA, 2016).

Os RQM adquirem mais apolipoproteínas, principalmente a apoE,

que tem alta afinidade pelo receptor de LDL. Nas células hepáticas, os receptores de LDL captam os RQM mediados pela proteína relacionada com o receptor LDL (LRP). Portanto, no estado após a ingestão alimentar, o sentido do fluxo de ácidos graxos vai dos capilares para as células (GOLDSTEIN; BROWN, 2009).

O transporte de ácidos graxos sob a forma livre, provenientes dos adipócitos, é realizado no plasma principalmente pela albumina. A forma esterificada dos ácidos graxos TG, éster de colesterol e fosfolípidios, provenientes principalmente do fígado, é transportada pelas VLDL, LDL e HDL (KIDAMBI; PATEL, 2008).

Os quilomícrons e ácidos graxos são capturados pelo fígado e utilizados para a formação de VLDL. A proteína de transferência de TG microsomal (MTP, do inglês *microsomal triglyceride transfer protein*) é responsável pela transferência dos TG para a ApoB, permitindo a formação da VLDL. Os TG das VLDL, assim como no caso dos quilomícrons, são então hidrolisados pela LPL, assim, os ácidos graxos também são liberados por esta lipoproteína e redistribuídos para os tecidos, nos quais podem ser armazenados no tecido adiposo, ou prontamente utilizados, como nos músculos esqueléticos (OLIVECRONA, 2016).

As VLDL sofrem ação da LPL que diminui o conteúdo de TG, assim, transformam-se em remanescentes, que são removidas da circulação, pelo fígado, por receptores específicos, sendo que uma parte das VLDL dá origem às IDL. A lipase hepática, pode atuar nas VLDLs e IDL, dando origem as LDL. Durante a hidrólise das VLDL pode haver trocas lipídicas, pois estas lipoproteínas podem interagir com HDL e LDL. Por ação da Proteína de Transferência de Ésteres de Colesterol (CETP, do inglês *cholesteryl ester transfer protein*), as VLDL trocam TG por ésteres de colesterol com as HDL e LDL (MABUCHI et al., 2009).

As LDL são recolhidas por células hepáticas ou periféricas quando estas lipoproteínas interagem com receptores de LDL (LDLR). Após a interação com células, o colesterol contido nas LDL, pode ser esterificado, sofrendo ação da enzima Acil-CoA:Colesterol Aciltransferase (ACAT) (OSSOLI et al., 2016) . A expressão dos LDLR, especialmente os B, E, nos hepatócitos auxilia no controle dos níveis de colesterol circulante, pois o fígado é um importante órgão que atua na regulação da concentração de lipídeos circulantes. O controle é depende da ingesta de lipídeos da dieta e da produção endógena (OSSOLI et al., 2016).

A enzima Hidroximetilglutaril Coenzima A (HMG CoA) redutase, é uma enzima- chave para a síntese intracelular do colesterol hepático. A diminuição do conteúdo celular de colesterol é estímulo para o aumento

da expressão de LDLR nos hepatócitos e a maior captura de LDL, IDL e VLDL circulantes (O'DRISCOLL; GREEN; TAYLOR, 1997).

As partículas de HDL são formadas no fígado, no intestino e na circulação e o colesterol livre da HDL, que foi recolhido das membranas celulares, é esterificado por meio da ação da Lecitina Colesterol Aciltransferase (LCAT). O processo de esterificação do colesterol, que ocorre principalmente nas HDL, é fundamental para seu transporte (TRIGATTI et al., 2017).

A HDL faz o transporte reverso do colesterol, da periferia para o fígado, no qual ela é captada pelos receptores SR-B1 (do inglês *Scavenger receptor class B type 1*). A HDL também atua na prevenção de lesões vasculares, pois atua na remoção de lipídeos oxidados da LDL. A lipoproteína inibe a fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio e estimula a liberação de óxido nítrico (TRIGATTI et al., 2017).

O acúmulo de quilomícrons e/ou de VLDL no compartimento plasmático resulta em hipertrigliceridemia e decorre da diminuição da hidrólise dos TG destas lipoproteínas pela LPL ou do aumento da síntese hepática de VLDL. Variantes genéticas das enzimas ou Apo relacionadas as lipoproteínas podem causar essas alterações metabólicas, aumento de síntese ou redução da hidrólise. Além da influência genética, a resistência à ação da insulina e a obesidade, especialmente a visceral tem forte influência sobre as dislipidemias (WOLSKA et al., 2017).

Por conseguinte, dois fatores preponderantes influenciam a maior concentração circulante de TG, a ingesta de lipídeos e exportação hepática. Quando o balanço energético é positivo e ocorre o aumento da energia ingerida, as quilocalorias excedentes serão armazenadas na forma de TG pelo tecido adiposo. Nestas condições há aumento processamento e exportação hepática destes lipídeos, que contribuem para o aumento na concentração plasmática de TG (WOLSKA et al., 2017).

O quadro de menor sensibilidade à insulina ocasiona efeitos lipogênicos diminuídos, assim, sob efeito catabólico predominante, o tecido adiposo libera ácidos graxos na circulação, que serão captados pelo fígado. Após a captação e processamento, os ácidos graxos esterificados dão origem aos TG que compõem as VLDL, fato que contribui para aumento da concentração de TG circulante (RODRÍGUEZ et al., 2012).

O acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol, como a LDL no compartimento plasmático, resulta em hipercolesterolemia. Este acúmulo pode se dar por doenças de origem genética, em particular, por defeito no gene do LDLR ou no gene APOB100. Mutações do LDLR já foram detectadas em portadores de Hipercolesterolemia Familiar (HF), algumas causando redução de sua expressão na membrana, outras, deformações

em sua estrutura e função. Mutações no gene que codifica a APOB pode também causar hipercolesterolemia por conta da deficiência no acoplamento da LDL ao receptor celular (ABIFADEL et al., 2003).

A ingestão de ácidos graxos saturados contribui para a hipercolesterolemia, pois reduzem receptores celulares B-E, inibindo a remoção das partículas de LDL da circulação. Ademais, a gordura saturada possui estrutura retilínea, que favorece a compactação e acúmulo de vários ácidos graxos saturados e colesterol nas LDLs (LEBENTHAL et al., 2009).

A ingestão de gordura saturada é a principal causa alimentar de elevação do colesterol do plasma, pois contribui de forma significativa para síntese endógena de colesterol. Entretanto, o colesterol alimentar tem pouca influência sob os níveis plasmáticos de colesterol pois este sofre influência da excreção nas fezes e metabolização hepática (SPOSITO et al., 2007).

Os ácidos graxos trans são sintetizados durante o processo de hidrogenação dos óleos vegetais na produção de margarinas. Como descrito nas gorduras saturadas, as gorduras trans também apresentam estrutura retilínea, assim, o consumo de gorduras trans, favorece a deposição de colesterol nas LDL (BAIGENT et al., 2005).

Ademais, a gordura trans aumenta a atividade da proteína de transferência de ésteres de colesterol, enzima responsável pela transferência de ésteres de colesterol de moléculas de HDL para LDL e para VLDL. Portanto, o transporte reverso do colesterol é desfavorecido e, ocorre aumento da deposição de LDL rico em colesterol na circulação (BAIGENT et al., 2005).

1.3.3 Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma das principais causas da doença hepática crônica em todo o mundo (VERNON et al., 2011). A DHGNA é definida como a acumulação ectópica de gordura no fígado (esteatose hepática) quando não existem outras causas de acumulação secundária de gordura no fígado (SPENGLER; LOOMBA, 2015).

Em adultos saudáveis, pode ocorrer uma pequena deposição de gordura, porém, quando incidir em pelo menos 5% de hepatócitos é considerada patológica. A esteatohepatite não alcoólica é diagnosticada através de uma biópsia hepática quando há evidências de atividade inflamatória e lesão de hepatócitos (SPENGLER; LOOMBA, 2015).

A obesidade é considerada um fator determinante no desenvolvimento de DHGN, pois a maioria dos pacientes acometidos são obesos ou possuem excesso de peso (VERNON et al., 2011). Além da obesidade ter uma forte associação com DGHNA, a síndrome metabólica, que inclui obesidade, diabetes mellitus tipo 2 ou hiperinsulinemia, hipertensão e dislipidemia, também se relaciona com o acúmulo ectópico de gordura no fígado (MARCHESINI et al., 2003). Cerca de três quartos dos pacientes com resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2 apresentam a doença hepática gordurosa, com maior chance de progressão para cirrose (SHARMA; JOHN, 2017).

A doença hepática gordurosa não alcoólica pode estar ligada ao acúmulo de gordura em locais como cintura e pescoço. Assim, a obesidade visceral pode desempenhar um papel importante na DHGNA, inclusive em indivíduos eutróficos, mas com acúmulo de gordura visceral.

Acredita-se que nem toda gordura corporal excessiva é prejudicial, mas a obesidade visceral parece ser prejudicial ao metabolismo, sendo a principal fonte de ácidos graxos e mediadores da esteatose, inflamação e fibrose. A expansão do tecido adiposo no processo de aumento da massa gorda ocorre e o depósito deste tecido é dividido em dois depósitos principais: gordura visceral e subcutânea (GERHARD et al., 2014).

O depósito subcutâneo é caracterizado pelo armazenamento de lipídios, secreção de adipocinas, como a leptina e adiponectina. Os efeitos metabólicos desse perfil de armazenamento são predominantemente positivos, dentre eles a oxidação lipídica, aumento da ação da insulina e funções anti-inflamatórias. Entretanto, o armazenamento excessivo de gordura visceral está associado à síndrome metabólica, resistência à insulina e complicações cardiometabólicas (MATHIEU et al., 2010).

Por conseguinte, o balanço energético positivo tem papel fundamental no desenvolvimento da DHGNA, pois contribui duplamente, inicialmente para acúmulo de gordura corporal e, também favorece a resistência à ação da insulina. Quando o excesso de quilocalorias é derivado do consumo de açúcares simples e gorduras saturadas, o consumo favorece a formação e acúmulo de TG hepático, via lipogênese de novo (TRAYHURN, 2013).

Quando há excedente nutrientes sendo consumidos, esta energia excedente é armazenada, sob influência do hormônio insulina, na forma de TG nos adipócitos, que hipertrofiam. Contudo, quando a expansão do tecido é exacerbada, esta sobrecarga na capacidade do tecido de armazenar os lipídeos circulantes promove realojamento destes lipídeos. Assim, inicia-se o processo de formação e acúmulo de gordura ectópica,

no qual os lipídeos passam a ser depositados em órgãos, fora do tecido adiposo. O fígado é um alvo importante nesta condição, pois controla a concentração de lipídeos circulantes, portanto, é alvo principal do armazenamento destes lipídeos (OGAWA et al., 2015).

Ademais, o tecido adiposo com menor responsividade aos efeitos lipogênicos da insulina, mobiliza as reservas de TG quebrando-os e liberando ácidos graxos na circulação. Estes ácidos graxos também irão contribuir para o acúmulo ectópico de gordura no fígado, que por sua vez também influencia o desenvolvimento da resistência à insulina (OGAWA et al., 2015).

No período pós-prandial há o estímulo para a secreção de insulina pelas células β -pancreáticas, que secretam inicialmente grande quantidade de insulina. O fígado é o primeiro órgão a entrar em contato com a quantidade elevada de insulina, que, em condições normais, favorece a glicogênese, lipogênese e inibe a gliconeogênese hepáticas. Assim, o fígado deve entrar em contato com a concentração elevada de insulina secretada pelas células beta pancreáticas para que estes processos metabólicos sejam favorecidos. Por conseguinte, o fígado depura boa parte da insulina, que após segue na circulação para efeitos periféricos (TILG et al., 2010).

Entretanto, quando há gordura ectópica hepática, as mesmas consequências disfuncionais do tecido adiposo ocorrem no fígado. Entre as consequências estão lipotoxicidade, liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6, atração de macrófagos e disfunção mitocondrial, com a formação de peróxidos lipídicos.

Após acúmulo ectópico de lipídeos, a resistência à insulina hepática envolve aumentos de intermediários lipídicos (DAG e ceramidas) que ativam a cinase PKC e, portanto, comprometem, entre outras funções, a fosforilação de FoxO1, fator de transcrição que regula a expressão de enzimas gliconeogênicas (SAJAN et al., 2015). Assim, a ativação de vias pró-inflamatórias também afeta a sensibilidade hepática à insulina, o que resulta em estímulos para ativação da gliconeogênese, glicogenólise e β -oxidação (TILG et al., 2010).

1.4 MODELOS EXPERIMENTAIS PARA INDUÇÃO OBESIDADE

A obesidade é condição desencadeada por inúmeros fatores com taxa alarmante de prevalência nos dias de hoje. Assim, o estabelecimento de modelos animais experimentais apropriados, que mimetizam esta condição em humanos, é crucial para resolver as dificuldades na avaliação de mecanismos fisiopatológicos envolvidos (WONG et al., 2016).

Entre os modelos experimentais para indução da obesidade, estão os dietéticos, genéticos e farmacológicos. Assim, há uma diversidade de modelos experimentais já estabelecidos que auxiliam nas pesquisas e investigações.

Os modelos que utilizam dietas para indução da obesidade possuem diferentes formas de apresentação e composição destas dietas. Entre as opções que aparecem com frequência nas pesquisas científicas estão a dieta de cafeteria, dietas com alto teor de lipídeos e/ou carboidratos e adição de açúcares simples. Também incluem o uso de um único tipo de dieta ou uma combinação de dietas, como alta frutose, alto teor de sacarose na água de beber (WONG et al., 2016).

Abordagens dietéticas capazes de induzir obesidade são utilizadas com frequência em pesquisas pois além de serem efetivas no desenvolvimento do quadro, possuem curso fisiológico muito similar ao encontrado em humanos. Por exemplo, além da obesidade, os animais também podem desenvolver comorbidades associadas como diabetes mellitus tipo II, hipertensão arterial e dislipidemias (ZIVKOVIC et al., 2007).

Assim, os estudos que utilizam dietas se tornaram uma ferramenta importante para a investigação da obesidade porque a dieta afeta o metabolismo e a regulação da homeostase através de efeitos hormonais, metabolismo da glicose e vias metabólicas dos lipídios.

Entre os modelos experimentais mais utilizados para indução da obesidade estão as dietas hiperlipídicas (high fat diet), que variam de 20-60% do valor calórico total representado por lipídeos (BUETTNER et al., 2007). Na Tabela 1 são apresentados alguns modelos experimentais para indução da obesidade.

Ghibaudi et al., (2002) objetivaram avaliar o efeito da ingestão de diferentes teores de gorduras (10, 32 e 45%) na adiposidade corporal e metabolismo em ratos. Os resultados demonstraram que a ingestão de energia, ganho de peso, massa gorda, glicose no plasma, colesterol, triglicerídeos, ácidos graxos livres, leptina e insulina aumentaram de forma dose-dependente com o aumento da gordura na dieta.

Tabela 1 - Modelos experimentais de obesidade induzida por dieta

Autores	Animal	Idade (semanas)	Duração do protocolo (semanas)	Tipo de dieta
Privitera et al., 2011	Ratos SD	3	13	Hiperlipídica 60%
Watanabe et al., 2012	Machos C57BL/6	6 a 7	14	Hiperlipídica 60%
Calligaris et al., 2013	Machos C57BL/6	5	64	Hiperlipídica 60%
Krüger et al., 2013	Machos C57BL/6	10-12	10	Hiperlipídica
Borengasse et al., 2014	Ratos e Ratas SD	9	12	Hiperlipídica 72%
Lalanza et al., 2014	Ratos e Ratas SD	3	8	Hiperlipídica 40- 45% Cafeteria
Shao et al., 2014	Machos C57BL/6	8	12	Hiperlipídica 40%
Tillman et al., 2014	Machos C57BL/6	NI	14	Hiperlipídica 67% e Hiperlipídica e Hiperlipídica
Guan et al., 2015	Ratos SD	NI	13	Hiperlipídica 21%
Mc pherson et al., 2015	Machos C57BL/6	5	9	Hiperlipídica 60%, Hiperlipídica e Hiperlipídica
Robertstole et al., 2015	Machos C57BL/6	6	16- 22	Hiperlipídica 70%
Fujita & Maki et al., 2015	Machos C57BL/6	ND	4	Hiperlipídica 60%, Hiperlipídica e Hiperlipídica
Sarma et al., 2017	Machos Swiss	8	16	Hiperlipídica 45%, Hiperlipídica e Hiperlipídica
Prieto et al., 2018	Machos Swiss	6	12	Hiperlipídica 35%

ND valores não informados. Adaptado de Fernandes et al., (2016 p.842).

Por conseguinte, camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (60%) apresentaram massa corporal significativamente aumentada, gordura total, triglicérides plasmáticas, colesterol LDL e esteatose hepática (FRAULOB et al., 2010). Outro modelo animal alimentado com dieta hiperlipídica apresentou elevação do colesterol total, colesterol LDL e colesterol não esterificado (GRAHAM et al., 2010). LOHR et al., (2016) em estudo pré-clínico utilizando ratos adultos alimentados com uma dieta rica em gorduras, durante 16 semanas identificou não só obesidade, resistência à insulina, mas também esteatose hepática.

Ademais, as utilizações de modelos experimentais possuem a capacidade de monitorar alterações histológicas, funcionais, bioquímicas e morfológicas da obesidade, que é difícil de ser realizada em humanos (WONG et al., 2016). Portanto modelos experimentais são estratégias plausíveis para a investigação de condições clínicas como a obesidade.

1.5 INTERVENÇÕES NÃO FARMACOLÓGICAS

Para o tratamento da obesidade e prevenção das morbidades apresentadas, diferentes estratégias estão em teste. Entre as intervenções

mais simples e de baixo custo utilizadas, estão o aumento do gasto energético com exercícios físicos e intervenções nutricionais. Dieta, padrões alimentares e outros fatores ambientais, como exposição a toxinas presentes em plásticos como bisfenol A, em agrotóxicos a base de glifosato, entre outras, estão desempenhando um papel importante no desenvolvimento de muitas doenças, como obesidade, diabetes tipo 2, eventos cardiovasculares, exemplo, e conseqüentemente sobre o estado de saúde dos indivíduos (GARCIA-CANAS et al., 2012; IBANEZ et al., 2012).

A restrição calórica é uma intervenção que consiste na diminuição de quilocalorias fornecidas aos indivíduos e é amplamente utilizada na prática clínica para em reverter ou prevenir os efeitos da obesidade (PIPER; BARTKE, 2008; ROTH; POLOTSKY, 2012).

Estudos com animais, mostraram que a restrição calórica alimentar (RCA) de 40% foi efetiva na redução de dislipidemias. Em conjunto, a RCA reduziu pressão arterial e frequência cardíaca de repouso, melhorando a saúde cardiovascular. Por conseguinte, houve melhora nos marcadores inflamatórios, como TNF- α , IL-6, proteína C-reativa, dano oxidativo em proteínas e lipídeos, revertendo quadros de esteatose hepática (LEE et al., 2002; JUNG et al., 2009).

Outra intervenção nutricional utilizada é a modificação da qualidade da dieta. Exemplos são a inclusão de alimento in natura, ricos em fibras, com baixa densidade calórica e mudanças no perfil de ácidos graxos ingeridos. A Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica recomenda a redução de 0,5-1Kg de massa corporal por semana para indivíduos obesos. Para esta intervenção, a redução de quilocalorias ingeridas, principalmente as provenientes de gorduras saturadas, é recomendada para indivíduos obesos (ABESO, 2016).

Ademais, a utilização de diferentes ácidos graxos tem sido estudada para prevenir ou atenuar complicações metabólicas presentes na obesidade e morbidades relacionadas.

Estudos que utilizaram suplementação com ácido palmitoleico isolado em doses entre 300-600g/Kg mostram efeitos considerados positivos sobre: perfil lipídico plasmático, hepático, marcadores inflamatórios, parâmetros de esteatose e perfil glicêmico (YANG et al., 2011; GUO et al., 2014; SOUZA et al., 2014; 2016). Na Figura 1 são representados efeitos do ácido palmitoleico nos diversos sistemas.

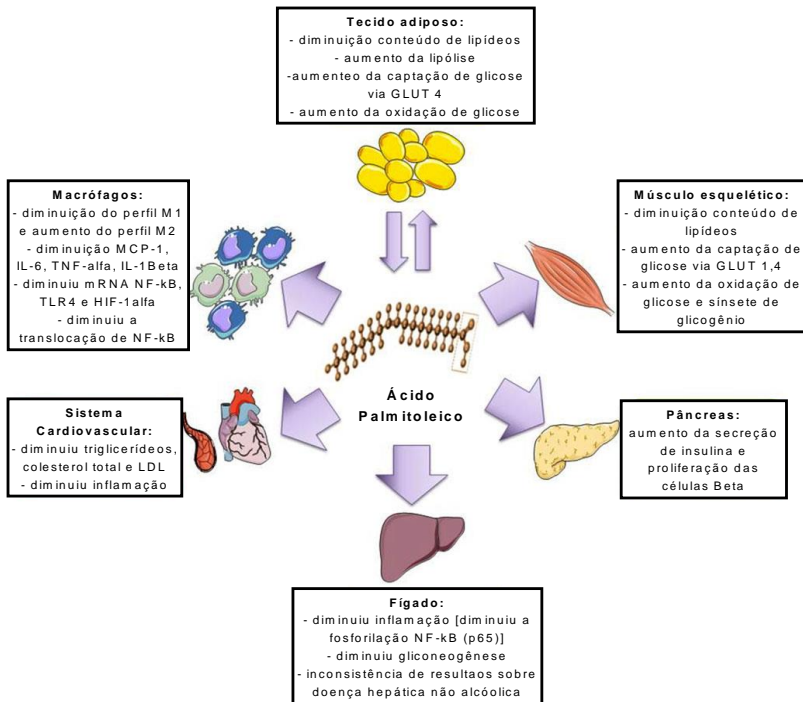
Tabela 2 - Efeitos metabólicos do ácido palmítico isolado ou óleo rico em palmítico em estudos com culturas de células ou animais.

Referência	Modelo Experimental	Principais Resultados
Maedler et al., (2001)	Células do pâncreas de ratos expostas ao ácido palmítico [0,5mmol/l]	↑ Proliferação e função das células β
Gravena et al., (2002)	Células do músculo esquelético de ratos. Ácido palmítico [0,5mmol/l]	↑ Absorção de glicose, ↑ oxidação de glicose, ↑ síntese de glicogênio e ↑ GLUT 1 e 4
Yang; Miyahara e Hatanaka, (2011)	Camundongos obesos, diabéticos, alimentados com ácido palmítico (300 mg/Kg/dia), 4 semanas	↓ Hiperlipemia e hipertriglicidemia, ↑ sensibilidade à insulina, ↓ expressão de TNF- α no tecido adiposo
Guo et al., (2012)	Hepatócitos de ratos alimentados com dieta hiperlipídica (HFD) e ácido palmítico (600 mg/Kg/dia), 4 semanas	↑ SREBP-1 e ↓ SCD1 no fígado
Yang et al., (2013)	Ratos machos, em jejum, alimentaram três doses de ácido palmítico	↓ Resistência à insulina, ↓ células de Kupffer, ↓ fosforilação de NFkB (p65), ↓ expressão de citocinas pro-inflamatórias (TNF- α , IL-6) ingestão alimentar
Bolsoni-Lopes et al., (2013)	Células 3T3-L1 de camundongos WT e PPAR α KO alimentados com ácido palmítico (300 mg/Kg/dia), 10 dias	↑ Lipólise no tecido adiposo, ↑ lipase sensível a hormônios
Bolsoni-Lopes et al., (2014)	Células epididimais do tecido adiposo de camundongos que foram alimentados com ácido palmítico (300 mg/kg/dia) por 10 dias	↑ Absorção de glicose com e sem estímulo por insulina
Souza et al., (2014)	Camundongos WT versus PPAR α KO, expostos à HFD, alimentados com ácido palmítico (300 mg/Kg/dia), por 14 dias	↓ Resistência à insulina, ↑ captação de glicose, ↓ inflamação hepática (IL-1 β)
Duckett et al., (2014)	Ovinos obesos foram expostos à de ácido palmítico (10 mg/Kg/dia) via intravenosa por 28 dias	↑ Ganho de peso, ↓ insulina, ↓ teor lipídico total
Çimen et al., (2016)	Camundongos APOE ^{-/-} alimentados com HFD e ácido palmítico (400 mg/Kg/dia) por 28 dias	↑ mRNA para ACC e AMPK no fígado, ↑ mRNA para GLUT4 e CPT1B
Souza et al., (2017)	Fígado de camundongos expostos a HFD e alimentados com ácido palmítico (300 mg/Kg/dia) durante 14 dias	↓ placa aterosclerótica e lesões, ↓ células espumosas
		↓ Gliconeogênese, ↑ Glucocinase, ↓ SREBP, ↑ AMPK

Fonte: Adaptado de Souza et al., (2018, p.8).

ACC, acetil-coA carboxilase; AKT, proteína cinase B; AMPK, cinase ativada por AMP; CPT, carnitina palmitoiltransferase; CCK, colecistoquinina; FAS, ácido graxo sintase; GLUT, transportador de glicose; HFD, *high fat diet* - dieta hiperlipídica; KO, nocaute; LPS, lipopolissacarídeo; NFkB, fator nuclear kB; NOS, óxido nítrico sintase; PPAR, receptor ativado por proliferador de peroxissoma; SCD, esteroil coA-dessaturase; SREBP, esteroil proteínas de ligação a elementos reguladores; WT, *wild-type*.

Figura 1 - Efeitos imuno-metabólicos do ácido palmítoico em diferentes tecidos.



Ácido palmítoico da dieta ou sintetizado no tecido adiposo. Os efeitos benéficos do ácido palmítoico derivam principalmente de estudos realizados em modelos animais. DNL, lipogênese de novo; GLUT, transportador de glicose; HIF fator induzível por hipóxia; IL, interleucina; LDL, lipoproteína de baixa densidade; MCP, proteína quimioatrativa de monócitos; DHGNA, doença hepática gordurosa não alcoólica; NFκB, fator nuclear kappa b; TLR, receptor do tipo toll; TNF, fator de necrose tumoral.

Fonte: Adaptado SOUZA et al., (2018, p.5).

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

A Organização Mundial de Saúde aponta a obesidade como um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. A projeção é para que daqui sete anos o mundo tenha mais de 700 milhões de adultos obesos e 75 milhões de crianças com sobrepeso e obesidade.

A obesidade, particularmente aquela localizada na região abdominal, pode elevar o risco da ocorrência de diabetes tipo II em dez vezes. A hipertensão arterial prevalece seis vezes mais em obesos do que em não obesos. Doenças crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes mellitus e hipertensão arterial, compõem um grupo de patologias que se caracterizam por apresentar longo período de latência, tempo de evolução prolongado, lesões irreversíveis. Ademais, estas doenças podem apresentar complicações, gerando incapacidade ou ainda óbito.

Estudos que utilizem intervenções não farmacológicas para prevenir ou atenuar os efeitos da obesidade devem ser incentivados. Por exemplo, a potencial utilização de intervenções com óleos comestíveis fonte de ácido palmítico. Apesar de efeitos promissores sob alterações metabólicas relacionadas à obesidade, ainda não são conhecidos os efeitos biológicos da ingestão de óleos com teor de ácido palmítico maior de 35% em modelos de disfunções metabólicas.

Assim, este estudo pretende unir diferentes intervenções e avaliar os potenciais efeitos individuais e aditivos destas em modelo de obesidade. As intervenções testadas envolvem a reversibilidade do modelo de indução da obesidade e a ingestão de óleo com teor 50% de ácido palmítico. Ademais, investigamos a ingestão do óleo em diferentes momentos a fim de investigar possíveis efeitos preventivos nos parâmetros ligados a esteatose, dislipidemia e homeostase glicêmica.

As principais hipóteses utilizadas assumem que suplementação com óleo e a retirada da dieta hiperlipídica atenuem de forma independente as disfunções causadas pelo modelo de obesidade aplicado. Adicionalmente, espera-se que a administração de óleo como preventivo possa retardar as alterações metabólicas induzidas pela dieta hiperlipídica.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se a ingestão de óleo 50% ácido palmitoleico pode ser uma estratégia não farmacológica para modificar alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica e na reversibilidade com dieta normocalórica e normolipídica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a indução da obesidade e comorbidades através de parâmetros metabólicos;
- Verificar a reversibilidade do modelo de indução da obesidade após exposição dos camundongos à dieta normocalórica;
- Avaliar o efeito da suplementação de óleo 50% ácido palmitoleico sobre esteatose hepática, dislipidemias, massa corporal e homeostase glicêmica;
- Avaliar se a administrações de óleo 50% palmitoleico em diferentes momentos muda o curso das alterações metabólicas decorrentes da exposição à dieta hiperlipídica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos machos da linhagem Swiss provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado no Campus Trindade, Florianópolis, Santa Catarina. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno com dimensões de 41x34x16cm coletivas, com 6 animais por caixa e em ambiente com temperatura controlada ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo de iluminação claro- escuro (06:00-18:00 claro, 18:00-06:00 escuro). Os animais receberam água filtrada ad libitum. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC com protocolo CEUA nº 6151080317.

4.2 O MODELO EXPERIMENTAL

O modelo experimental avaliou o efeito do óleo composto por ácido palmitoleico (50%) sob diferentes intervenções em três diferentes lotes. Para indução da obesidade o modelo experimental foi caracterizado com dois diferentes tipos de dieta, uma, padrão (dieta controle fornecida pelo biotério Biobase®) e, outra, hipercalórica e hiperlipídica PragSoluções® (*high fat diet*).

Tabela 3 - Composição de macronutrientes e quilocalorias das dietas.

	Dieta Controle	Dieta Hiperlipídica
Carboidratos (% das Kcal)	59	26,4
Proteínas (% das Kcal)	29	15
Lipídeos (% das Kcal)	12	58,6
Kcal/g	3	5,4

Tabela 4 - Composição da dieta hiperlipídica segundo fornecedor PragSoluções®

Produto	Quantidade	Fornecedor	Quantidade (g/ml)	Kcal	% das Kcal
Amido de milho	11,550%	Ingredion	300,3	462	8,5%
Caseína	20,000%	PL	520,0	800	14,8%
Amido dextrinizado	13,200%	Ingredion	343,2	528	9,8%
Sacarose	10,000%	GA	260,0	400	7,4%
Óleo de soja	4,000%	Cargil	104,0	360	6,7%
Celulose microcristalina	5,000%	Synth	130,0	0	0,0%
Mix mineral AIN 93 g	3,500%	PragSoluções	91,0	0	0,0%
Mix vit AIN 93	1,000%	PragSoluções	26,0	40	0,7%
L cistina	0,300%	Via Pharma	7,8	12	0,2%
Bitartrato de colina	0,250%	Embrafarma	6,5	0	0,0%
BHT	0,003%	Oficinallis	0,073	0	0,0%
Banha	31,200%	Estrela	811,2	2808	51,9%
TOTAL	100,003%		2.600	5,410	100%

Os animais chegaram no biotério com aproximadamente 21 dias de vida e foram alocados nas caixas, seis animais por caixa. O período de ambientação e envelhecimento dos animais totalizou 13 semanas, idade na qual os animais iniciaram o protocolo experimental.

Os animais foram submetidos a duas fases de protocolo experimental, ambas com duração de 28 dias (FASE I – indução da obesidade e FASE II suplementação com óleo rico em palmitoleico). O desenho experimental do estudo é apresentado na Figura 2. Em ambas as fases os animais receberam dieta e água *ad libitum*.

Na FASE I – indução da obesidade, os animais foram divididos em dois grandes grupos, os que receberam dieta controle (n=18) e os que receberam dieta hiperlipídica (n=30 HFD). Na quarta e última semana de indução da obesidade, foram realizados testes funcionais de tolerância à glicose e à insulina. Após os 28 dias, uma amostra de 12 animais foram eutanasiados (seis animais de cada grupo) para verificar os efeitos de 28 dias da exposição à dieta hiperlipídica. A Figura 3 representa a linha do tempo do protocolo experimental.

Posteriormente, os animais remanescentes iniciaram a FASE II – suplementação com óleo 50% palmitoleico. Após os 28 dias de indução da obesidade, os animais foram divididos em seis grupos experimentais: Controle; Controle + Óleo; HFD; HFD + Óleo (HFD0); Reversibilidade (REV) e Reversibilidade + Óleo (REVO). Os animais Controle e Controle + Óleo; receberam dieta padrão nos 28 dias da FASE I e continuaram recebendo dieta controle na FASE II. Os animais HFD e HFD + Óleo

receberam dieta hiperlipídica nos 28 dias da FASE I e permaneceram recebendo dieta hiperlipídica na FASE II. Entretanto, os animais Reversibilidade (REV) e Reversibilidade + Óleo (REVO) receberam dieta hiperlipídica na FASE I e iniciaram dieta controle na FASE II.

O protocolo experimental foi refeito, novamente, com outro lote de 48 animais, para verificar a reprodutibilidade dos dados, totalizando 96 animais.

Figura 2 - Desenho experimental dos lotes 1 e 2.

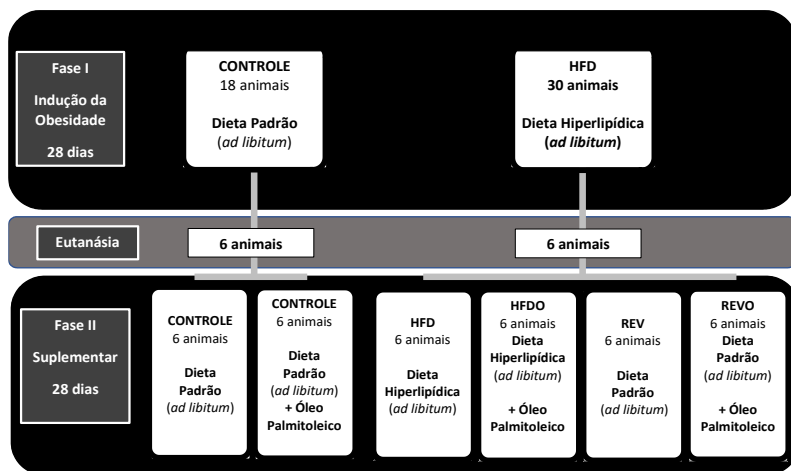
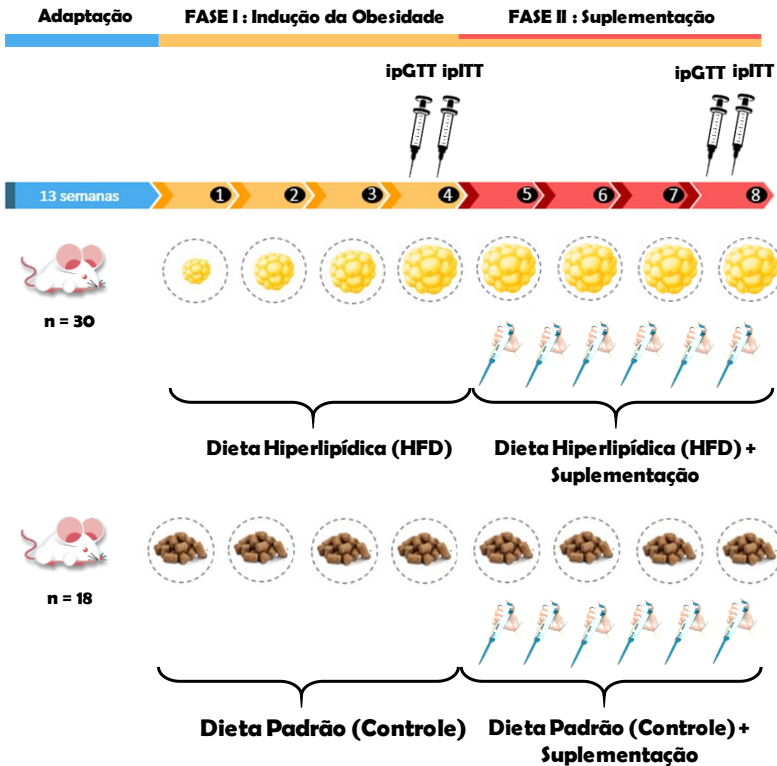


Figura 3 - Representação das linhas de tempo e procedimentos aos quais os animais foram submetidos nos dois primeiros lotes de animais.



O terceiro lote de animais sofreu modificação do protocolo experimental para avaliar se a modificação do tempo e início da suplementação trariam repercussões metabólicas diferentes. Assim, foram utilizados 40 animais divididos em seis grupos experimentais (Figura 4).

- HFD (n=12)
- HFD + Óleo Palmitoleico (n=12)
- 28 dias HFD + Óleo Palmitoleico (n=8)
- 56 dias HFD + Óleo Palmitoleico (n=8)

Os animais HFD (*high fat diet*) receberam dieta hipercalórica e hiperlipídica PragSoluções®. Os animais Controle + Óleo Palmitoleico e HFD + Óleo Palmitoleico iniciaram a suplementação com óleo rico em

palmitoleico após 28 dias, igual ao protocolo descrito anteriormente. Os animais 28 dias HFD + Óleo Palmitoleico iniciaram a suplementação com óleo rico em palmitoleico no primeiro dia de intervenção, junto com o início da dieta HFD e a suplementação permaneceu por 28 dias, logo após os animais foram eutanasiados (Figura 5.A). O grupo 56 dias HFD + Óleo Palmitoleico iniciou a suplementação com óleo rico em palmitoleico no primeiro dia de intervenção, junto com o início da dieta HFD e a suplementação permaneceu por 56 dias, logo após os animais foram eutanasiados (Figura 5.C).

Figura 4 - Desenho experimental Lote 3.

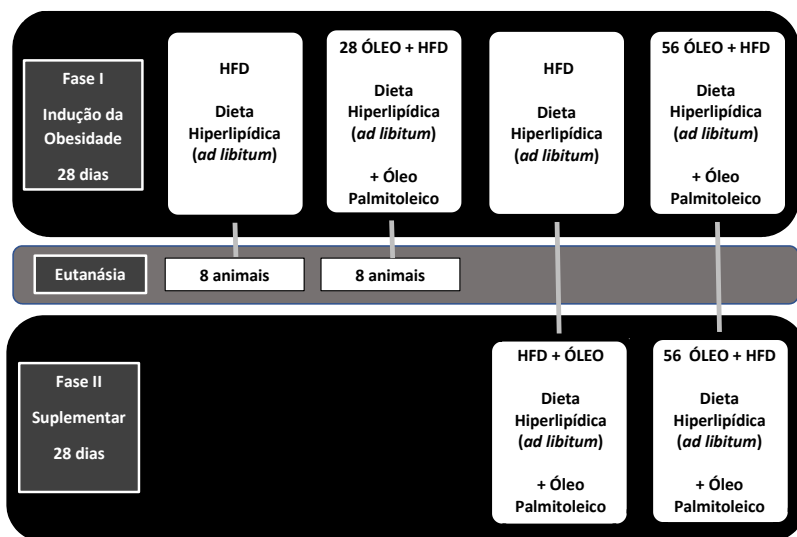
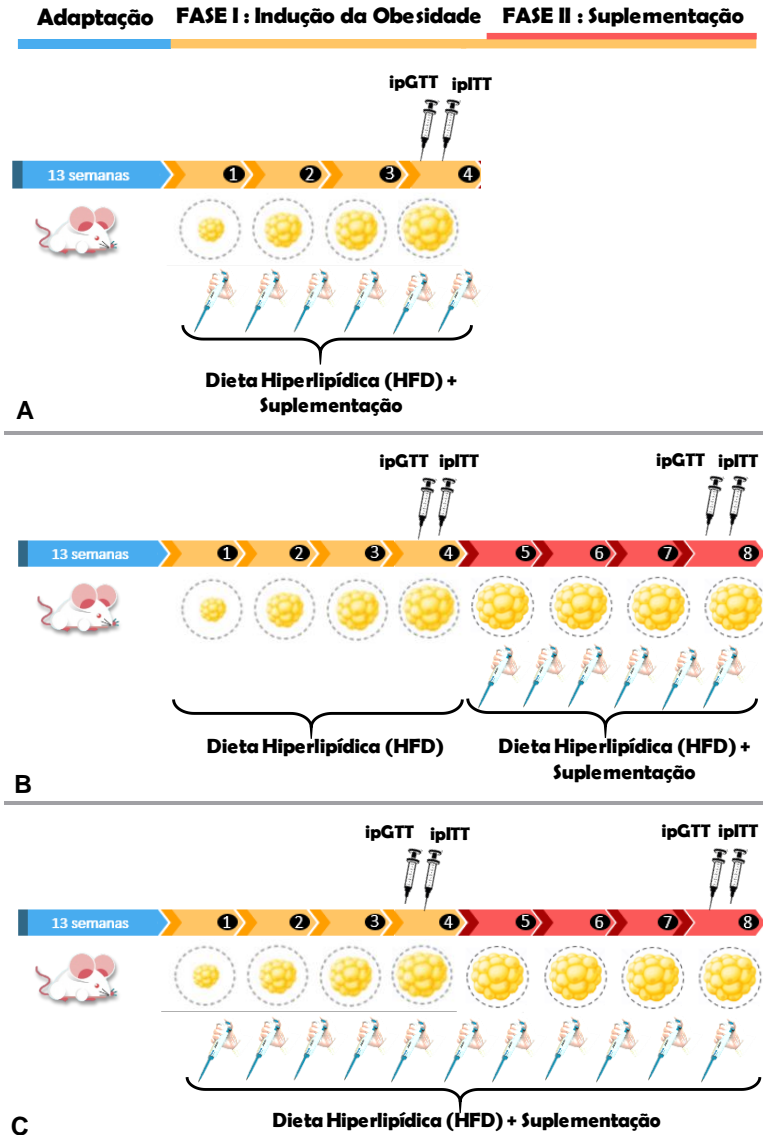


Figura 5 - Linha do tempo dos animais após modificação do protocolo experimental.



28 dias HFD + Óleo rico em palmitoleico (A). Protocolo original 28 dias HFD e 28 dias HFD + Óleo rico em palmitoleico (B). 56 dias HFD + Óleo rico em palmitoleico (C). ipGTT: teste intraperitoneal de tolerância à glicose. ipITT: teste intraperitoneal de tolerância à insulina.

4.3 SUPLEMENTAÇÃO

Os grupos controle para a suplementação receberam: dieta padrão (grupos Controle e Reversibilidade) e óleo mineral (50µl por animal) ou dieta hiperlipídica e hipercalórica (*high fat diet*) e óleo mineral (50µl por animal). O óleo mineral foi escolhido como veículo pois não é absorvido no trato gastrointestinal. A dose de 50µl foi estabelecida pela média do peso dos animais (1g de óleo por Kg de massa corporal). Os outros grupos receberam óleo composto por 50% de ácido palmitoleico na forma - etil ester (1g de óleo para cada Kg do animal) todos os dias, entre às 8:00 e 10:00 horas. O óleo 50% palmitoleico utilizado contém 555,8mg de ácido palmitoleico. A dose estipulada para o óleo 50% ácido palmitoleico foi baseada na média de suplementação em trabalhos cuja dose se mostrou efetiva para provocar repercussões metabólicas em modelos de obesidade (YANG; MIYAHARA; HATANAKA, 2011; GUO et al., 2012).

O óleo 50% palmitoleico utilizado é da marca ALASK OMEGA™, (informações disponíveis em: http://alaskomega.com/wpcontent/uploads/2015/08/300004_Palmitoleic500_07272015.pdf). A matéria prima para fabricação deste óleo é o peixe Alaska Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*). A determinação dos ácidos graxos presentes no óleo foi realizada por cromatografia gasosa (Tabela 5). Os óleos foram administrados via oral com o auxílio de uma micropipeta, processo este que é menos invasivo e agressivo que gavagem.

Tabela 5 - Composição dos principais ácidos graxos presentes no óleo rico em palmitoleico ALASKOMEGA©

	Quantidade (mg/g)
Ácido Palmitoleico – Etil Ester	558
Ácido Palmítico – Etil Ester	257
Ácido Oleico – Etil Ester	1

4.4 CONSUMO DE RAÇÃO E MASSA CORPORAL

O consumo de ração ingerida foi verificado duas vezes por semana segundas e quintas-feiras. O peso de ração foi mensurado por caixa, determinado pela pesagem da ração remanescente descontada do total da ração disponibilizada no momento anterior.

Os resultados foram expressos em gramas de ração ingerida/animal/dia. A mensuração da massa corporal foi realizada semanalmente, sempre nas segundas-feiras.

4.5 PARÂMETROS METABÓLICOS *IN VIVO*

4.5.1 Avaliação da tolerância à glicose intraperitoneal (ipGTT e ipITT)

No 24º dia de tratamento da primeira fase e segunda fase foram realizados os ipGTT. Após cinco horas de restrição alimentar, a partir das 9:00 horas da manhã, os animais foram submetidos ao teste. Inicialmente, a extremidade da cauda foi seccionada para a coleta de gota de sangue e aferição da glicemia de jejum. Para a determinação da glicemia, foi utilizado o sistema de fitas (monitor digital) “G-Tech Free Lite”, no qual uma fita é acoplada ao aparelho e uma gotícula de sangue é suficiente para aferição da glicemia. A glicemia foi aferida primeiramente no tempo 0 (glicemia de jejum). Logo após, foi administrada uma solução de glicose 50% (2 g/kg de massa do animal) via intraperitoneal com auxílio de uma seringa com capacidade de 1ml. O cronômetro foi acionado e, então, a glicemia foi verificada nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos após avaliação da sensibilidade à insulina *in vivo* (ANDRIKOPOULOS et al., 2008).

No 26º dia de tratamento da primeira fase e segunda fase foi realizado a sensibilidade à insulina. Os animais alimentados foram submetidos ao teste de tolerância à insulina. Inicialmente, foi verificada a glicemia no tempo 0, como descrito no tópico anterior, por método de fitas. Logo após, foi injetado Insulina humana recombinante (Biohulin[®]) equivalente a 0,75U/kg de massa do animal via intraperitoneal e a glicemia foi verificada nos tempos 10, 15, 20, 30 e 60 minutos após a aplicação (HIGA et al., 2014).

4.6 EUTANÁSIA

Após jejum de 5 horas cada animal foi eutanasiado por decapitação direta com guilhotina. Após a retirada do sangue, foi realizado processo da retirada dos órgãos dos animais. A carcaça do animal foi congelada e mantida no freezer até o dia do recolhimento e descarte.

4.7 ANÁLISE DOS TECIDOS E BIOQUÍMICAS

4.7.1 Pesagem de órgãos e tecidos

Imediatamente após a morte dos animais, os órgãos e tecidos de interesse foram coletados (fígado, tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e inguinal, coração, pulmão, estômago, intestino, pâncreas e baço). Após a remoção, os órgãos e tecidos foram pesados em balança eletrônica analítica digital (TECNAL, SP, Brasil). Fragmentos de fígado foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido para posterior armazenagem em freezer -80°C.

4.7.2 Análise bioquímica plasmática

O sangue foi coletado em micro tubos previamente lavados com solução salina. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 400 x g por 10 min em temperatura ambiente (KASVI - K14-1215, Curitiba, PR, Brasil) e o soro foi retirado com auxílio de micropipetas, alíquotado e armazenado a -80 °C. Estas amostras foram utilizadas para determinar as concentrações de triacilglicerol, colesterol total e insulina de acordo com as recomendações do fabricante Biotécnica[®]. O conteúdo de insulina também foi determinado no soro, por meio do kit AlphaLISA[®] (AL204C) (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA).

4.7.3 Conteúdo de triacilglicerol e colesterol total hepático

Para determinação do conteúdo de triacilglicerol e colesterol total hepático, 100±5 mg de fígado foram retirados da região central do lobo inferior logo após a morte e transferidos micro tubos de plástico. Após a retirada, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em freezer -80°C. Por conseguinte, após serem descongeladas, foram transferidas para tubos de ensaio e foi acrescentado 1ml de solução de NaCl 1M e homogeneizados em UltraTurrax[®] - IKA[®] Staufen, Alemanha. Após homogeneização, foi adicionado clorofórmio/metanol (2:1) em cada amostra, as quais passaram por processo de centrifugação a 5000 x g por 5 min. Esta etapa forma 3 fases, sendo a fase inferior, metanólica foi retirada para posterior secagem em banho-maria fervente. Em seguida, a amostra foi ressuspensa em

Triton/Metanol (2:1) e agitada em vórtex (TRINH et al., 1998). Após esta etapa, foi realizada a dosagem de triacilgliceróis e colesterol total por ensaio colorimétrico enzimático de acordo com instruções do fabricante (Biotécnica[®]). Os dados foram obtidos foram normalizados pela massa de fragmento coletado e pela massa total de fígado, assim, foram apresentados em mg/g de fígado.

4.7.4 Conteúdo hepático de glicogênio

Para determinação do glicogênio hepático aproximadamente 300 mg de fígado foram coletados em tubos de ensaio contendo solução de 2ml de KOH 30%. Por conseguinte, os tubos com as amostras foram imersos em banho maria com água fervente por 1 hora para completa digestão. Posteriormente, foi acrescido Na_2SO_4 e etanol, as amostras foram então homogeneizadas e novamente submetidas ao banho- maria fervente por 15 segundos. Após este processo, as amostras foram centrifugadas a 800g por 10 minutos a 21°C e o sobrenadante foi descartado. O pellet depositado no fundo do tubo foi ressuspensionado em água destilada quente. Posteriormente, etanol foi adicionado e novamente o material foi homogeneizado, rapidamente aquecido e centrifugado. Após diluição do precipitado em água destilada, o conteúdo de glicogênio foi quantificado por espectrofotometria (490 nm) em reação com reagente fenol (LO; RUSSEL; TAYLOR, 1970).

4.8 ANÁLISE DOS DADOS

A análise estatística dos dados foi realizada no programa estatístico Graphpad Prism v.6.01 (Graphpad Inc.; La Jolla, USA). Foi utilizado teste de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Simirnov junto coeficiente de variação para avaliação da distribuição normal dos dados. As variáveis quantitativas foram descritas e apresentadas em média e desvio padrão da média quando a distribuição for simétrica ou em mediana e intervalo interquartil quando assimétrica. Para testar a diferença entre os grupos no estudo foi utilizado o Teste t de Student (para Fase I, comparações entre HFD e Controle e também HFD e 28 dias HFD + Óleo rico em ácido palmítoleico). Análise de Variância de uma via (One Way – ANOVA) seguido de pós teste Holm-Sidak (para comparar os grupos com 56 dias de tratamento: HFD; HFDO e 56 HFD Óleo rico em ácido palmítoleico).

Análise de variância de duas vias (*two way*- ANOVA) seguida de pós teste Holm-Sidak para comparação múltipla e interação de dois fatores nos grupos da segunda fase de intervenção: Controle, Controle + Óleo, HFD, HFDO e, separadamente, HFD, HFDO, REV e REVO. Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MODELO EXPERIMENTAL: FASE I

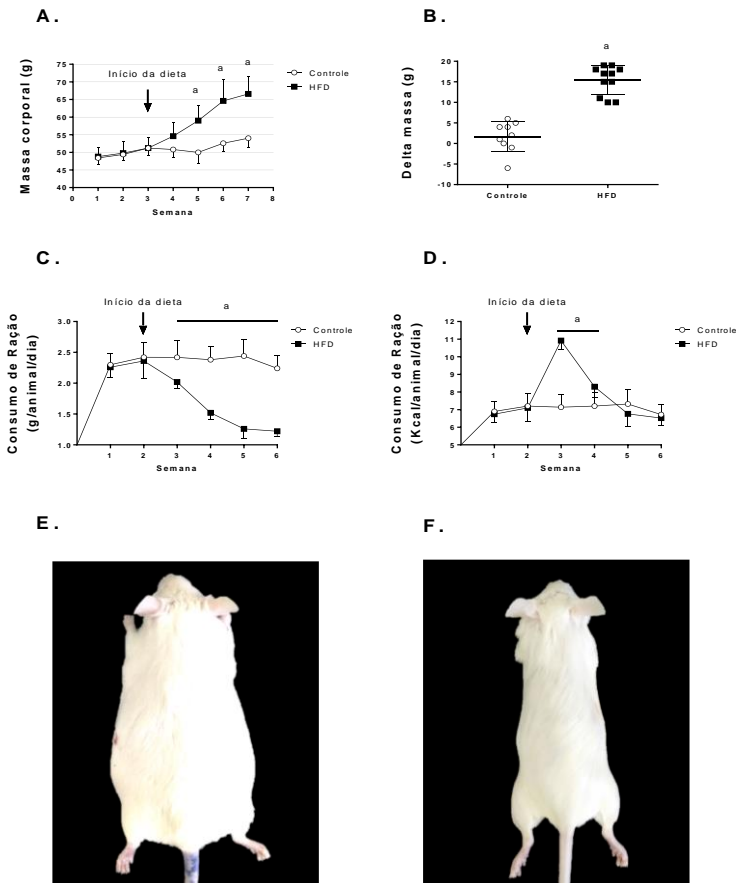
Os dados apresentados nesta sessão referem-se aos doze animais do lote A (seis controles e seis HFD) e doze animais do lote B (seis controles e seis HFD), que foram expostos a dieta hiperlipídica (grupo HFD) ou dieta padrão (Controle) durante 28 dias (FASE I).

5.1.1 Massa Corporal e Consumo Alimentar

Os dados apresentados nesta sessão referem-se aos doze animais do lote A e doze animais do lote B, que foram expostos a dieta hiperlipídica (grupo HFD) ou dieta padrão (Controle). Na primeira semana após a introdução da dieta hiperlipídica não houve diferença entre a massa corporal entre os grupos experimentais Controle e HFD (Figura 6.A).

A partir da segunda semana até a quarta semana, final da fase de indução da obesidade, houve aumento significativo da massa corporal do grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo Controle ($p < 0,05$), resultando em aumento médio de massa ao final do tratamento de $15,3 \pm 3,5$ g para HFD e $1,6 \pm 3,0$ g no grupo Controle ($p < 0,05$) (Figura 6.B). Por conseguinte, a ingestão de dieta (Figura 6.C), foi menor ao longo das quatro semanas no grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao controle, quando considerado o consumo em gramas normalizadas para a massa de cada animal ($p < 0,05$). Entretanto, quando comparado o consumo calórico dos animais (Figura 6.D), o grupo que recebeu dieta hiperlipídica apresentou um aumento significativo de ingestão, somente nas duas primeiras semanas após início da intervenção, quando comparado com grupo que recebeu dieta controle ($p < 0,05$). Na Figura 6.E e F são apresentadas fotos dos animais após o final do tratamento, caracterizando o aumento da massa corporal após a exposição à dieta hiperlipídica (F) em relação à dieta controle (E). Após análise do consumo de quilocalorias provenientes dos macronutrientes, os animais que receberam dieta controle apresentaram maior ($p < 0,05$) consumo de quilocalorias provenientes das proteínas e carboidratos nas quatro semanas de tratamento da Fase I (Figura 7.A e B, respectivamente).

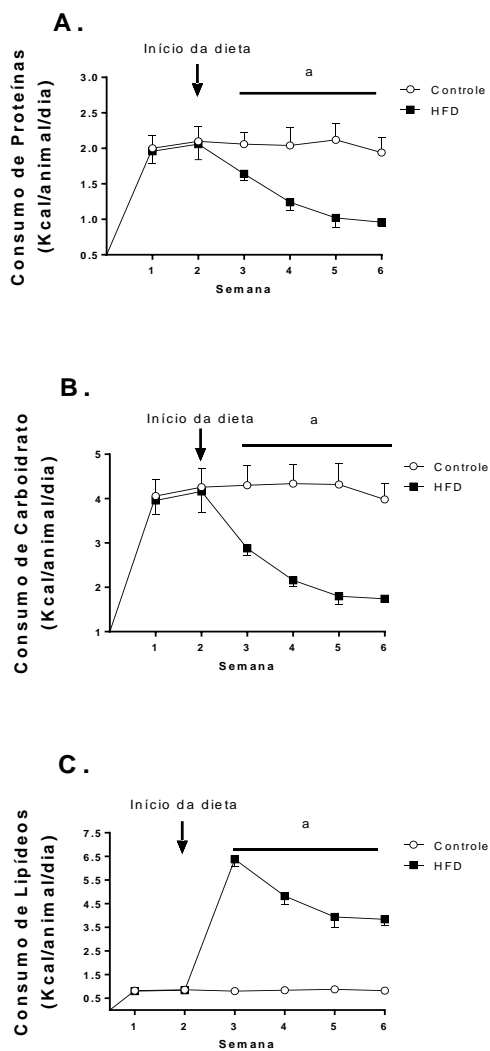
Figura 6 - Massa corporal.



(A), diferença entre a massa final e inicial do tratamento (B), ingestão em gramas (C) ingestão calórica (D) ao longo de 28 dias de tratamento (E) foto representativa de um animal controle (F) foto representativa de um animal que recebeu dieta hiperlipídica. Dados são média \pm DP. Letra "a" indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle. Utilizado teste *t Student*, $p < 0,05$, $n = 12$ por grupo.

Entretanto, quanto ao consumo de quilocalorias proveniente de lipídeos (Figura 7.C), os animais que receberam dieta hiperlipídica apresentaram maior ingestão durante as quatro semanas, quando comparados com o controle ($p < 0,05$).

Figura 7 - Ingestão de quilocalorias provenientes de proteínas.



(A) Ingestão de quilocalorias provenientes de carboidratos, (B) Ingestão de quilocalorias provenientes de lipídeos, (C) ao longo de 28 dias de tratamento.

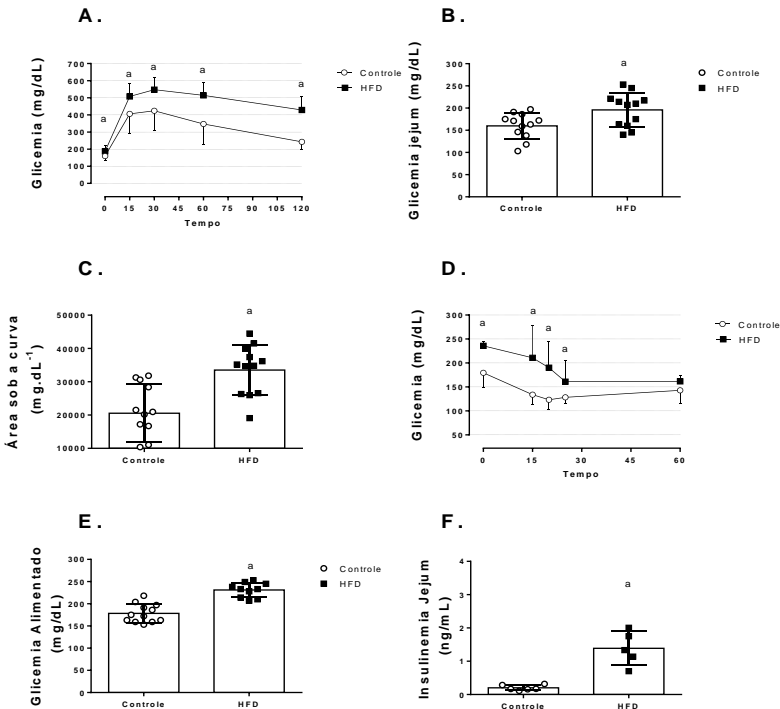
Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle.

Utilizado teste t *Student*, $p < 0,05$, $n = 12$ por grupo.

5.1.2 Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina

No 24º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (Figura 8.A), o qual revelou diminuição da tolerância à glicose nos animais que receberam dieta hiperlipídica, ou seja, aumento estatisticamente significativo na concentração de glicose sanguínea nos quatro pontos de coleta (15, 30, 60 e 120 minutos) em relação ao grupo controle. Aumento este que refletiu em uma área sob a curva glicêmica 63,2% maior ($p < 0,05$) no grupo HFD em relação ao controle (Figura 8.B).

Figura 8 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.



(A) e a respectiva área-sob-a-curva. (B) e glicemia de jejum coletada no teste após 5 horas de jejum (C). Insulinemia de jejum (D). Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose (E) e glicemia dos animais alimentados coletada no teste ipGTT (F). Dados são média \pm DP. Letra "a" indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle.

Utilizado teste t Student, $p < 0,05$, $n = 12$ por grupo.

Neste teste também é possível avaliar a glicemia de jejum dos

animais (Figura 8.C), que também se mostrou aumentada nos animais que receberam dieta hiperlipídica em relação aos controles, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). O aumento da glicemia de jejum e menor tolerância à glicose foi acompanhado hiperinsulinemia de jejum ($p < 0,05$) não compensatória nos animais do grupo HFD ($1,38 \pm 0,5$) em relação ao Controle ($0,2 \pm 0,8$) (Figura 8.D). No 28º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (Figura 8.E), cujos resultados revelaram uma menor sensibilidade à insulina nos animais expostos à dieta hiperlipídica. Esta diferença foi identificada nos três pontos de coleta da glicemia, que se apresentou elevada nos animais HFD quando comparados com os controles ($p < 0,05$). Este parâmetro foi acompanhado de um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) na glicemia dos animais alimentados, no grupo HFD ($241,0 \pm 18,0$ mg/dL) quando comparado com controle ($178,3 \pm 20,7$ mg/dL), após quatro semanas de tratamento (Figura 8.F).

5.1.3 Massa órgãos e tecidos

Após a eutanásia os órgãos e tecidos foram pesados, dados apresentados na Tabela 6. Os órgãos coração, intestino, baço, pâncreas, rins e pulmão não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos Controle e HFD ($p < 0,05$). Somente o estômago do grupo HFD apresentou diferença ($p < 0,05$) quando comparado com controle.

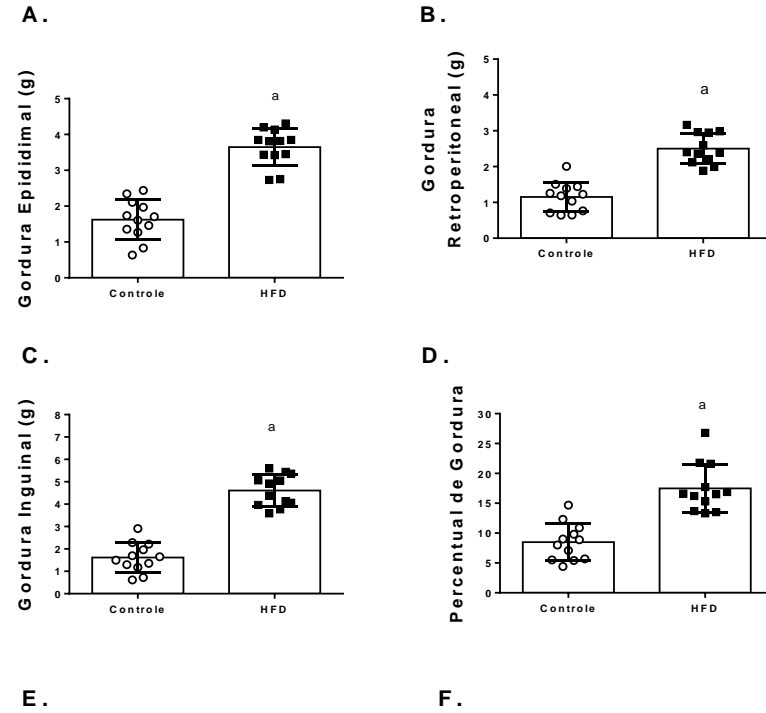
Tabela 6 - Massa absoluta dos órgãos (g) após 28 dias de dieta hiperlipídica.

	Controle	HFD
Coração	0,2±0,0	0,2±0,0
Estômago	0,8±0,2	0,6±0,1 ^a
Intestino	4,6±0,9	6,0±0,9
Baço	0,2±0,0	0,2±0,0
Pâncreas	0,4±0,1	0,3±0,1
Rins	0,7±0,1	0,7±0,1
Pulmão	0,3±0,0	0,3±0,1

Dados são média ± DP. As letras indicam diferença significativa.

Utilizando teste *t* de Student, $p < 0,05$. HFD: High Fat Diet (Dieta Hiperlipídica).

a = representa diferença entre HFD e controle.

Figura 9 - Massa de tecido adiposo epididimal.

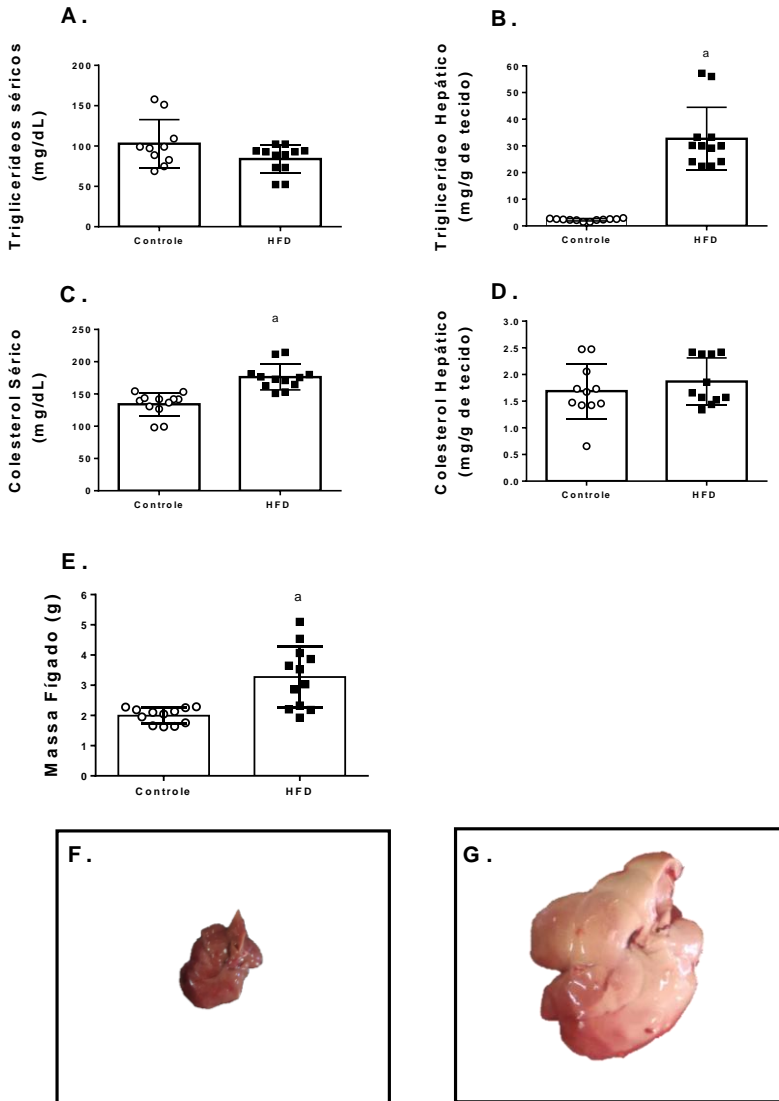
(A) Massa de tecido adiposo retroperitoneal (B) Massa de tecido adiposo inguinal (C). Percentual de gordura (D). Foto representativa do grupo Controle do tecido adiposo epididimal (E) Foto representativa do grupo HFD do tecido adiposo epididimal (F) após 28 dias de exposição à dieta padrão ou hiperlipídica. Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle. Utilizado teste t *Student*, $p < 0,05$, $n = 12$ por grupo.

Quando analisadas as massas das gorduras epididimal, retroperitoneal e inguinal (Figura 9.A, B, C respectivamente), todas apresentaram aumento significativo nos animais que receberam dieta hiperlipídica após quatro semanas comparados com os animais que receberam dieta padrão ($p < 0,05$). Este aumento global no tecido adiposo refletiu na diferença do percentual de gordura dos animais HFD, que totalizou 17,49% enquanto que o grupo controle apresentou 8,47% de gordura ($p < 0,05$), dados mostrados na (Figura 9.D). Ainda na Figura 9. do tecido adiposo epididimal dos animais são retratadas (E controle e F HFD).

5.1.4 Perfil lipídico sérico e hepático

Foram analisados o perfil lipídico sérico dos animais no soro coletado na eutanásia. Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de triacilgliceróis (TG) circulante entre os grupos controle e HFD após a Fase I (Figura 10.A). Dado este que corrobora o acúmulo hepático de TG no grupo que recebeu dieta hiperlipídica durante as quatro semanas (Figura 10.B). Assim, houve uma diferença estatisticamente significativa na concentração de TG hepático, este acúmulo corresponde a 14 vezes mais TG no grupo HFD, quando comparado com controle ($p < 0,05$). Por conseguinte, quando analisadas as concentrações de colesterol total, foi observado uma cinética diferente, na qual as concentrações séricas apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os grupos Controle ($134 \pm 18,1$ mg/dL) e HFD ($176,18 \pm 19,7$ mg/dL) (Figura 10.C). Ademais, não houve acúmulo hepático de colesterol, portanto não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos Controle e HFD (Figura 10.D). O aumento na concentração hepática de TG refletiu no aumento da massa dos fígados do grupo HFD ($3,27 \pm 1$ g), diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparada com grupo Controle ($1,99 \pm 0,2$ g) (Figura 10.E). Para melhor representação do acúmulo hepático de TG, na Figura 10, foram retratadas as fotos dos fígados dos animais Controle (F) e HFD (G).

Figura 10 - Concentração de triacilgliceróis séricos.



(A) Concentração de triacilgliceróis hepáticos (B) Concentração de colesterol sérico (C). Concentração de colesterol hepático (D). Foto representativa do grupo Controle do fígado (E) Foto representativa do grupo HFD do fígado (F). Dados são média \pm DP. Letra "a" indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle. Utilizado teste t *Student*, $p < 0,05$, $n = 12$ por grupo.

5.2 RESULTADOS DA INTERVENÇÃO COM ÓLEO RICO EM PALMITOLEICO: FASE II

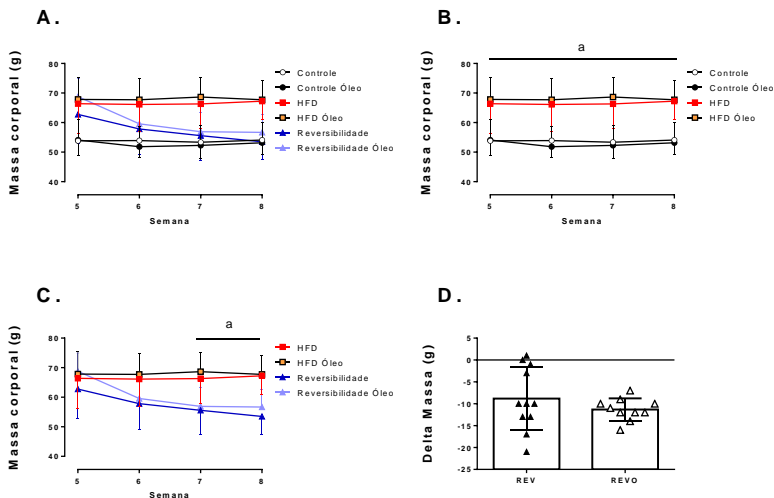
Os dados apresentados nesta sessão referem-se aos animais submetidos a Fase I (indução da obesidade – 28 dias) e prosseguiram para a Fase II (fase de suplementação – 28 dias). Ao final da Fase II os animais totalizaram 56 dias de tratamento. Os dados apresentados nesta sessão referem-se ao lote A e B. No lote A foram utilizados 34 animais, todos os grupos foram compostos por 6 animais, exceto o grupo HFD, composto por 4 animais, pois dois animais foram retirados do tratamento. No lote B foram utilizados 42 animais, 6 animais por grupo, exceto o grupo HFD, composto por 12 animais. Portanto, 12 animais compõem cada grupo experimental, exceto o grupo HFD que possui 16 animais.

5.2.1 Massa Corporal e Consumo Alimentar

Os animais HFD, ao terminarem a primeira fase, não apresentam diferença estatisticamente significativa de massa corporal entre si, assim, não houve diferença estatisticamente significativa na massa corporal dos animais que continuaram a receber dieta hiperlipídica (HFD e HFD Óleo) e os que iniciaram dieta padrão (Reversibilidade e Reversibilidade Óleo). A evolução da massa corporal ao longo das 4 semanas da segunda Fase de intervenção está representada na Figura 11.A. Durante os 28 dias houve a manutenção da diferença média de 11g ($p < 0,05$) da massa corporal entre os grupos HFD e Controle. Não houve diferença entre os grupos Controle e Controle Óleo (CO) e, também não houve diferença na massa corporal dos grupos HFD e HFDO (HFD Óleo) (Figura 11.B). Quando comparadas as massas do grupo HFD com Reversibilidade (REV) não houve diferença estatisticamente significativa nas duas primeiras semanas da segunda fase de intervenção. Assim, a troca da dieta hiperlipídica por ração padrão no grupo reversibilidade só promoveu diminuição da massa corporal, estatisticamente significava ($p < 0,05$), na terceira (HFD 66,3g) e (REV 55,6g) quarta semanas (HFD 67,3g) (REV 53,5g), ou seja, uma diferença média de 11g e 14g na terceira e quarta semana respectivamente (Figura 11.C). Não houve diferença entre os grupos REV e Reversibilidade Óleo (REVO) (Figura 11.C). Portanto, a suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico, durante 4 não promoveu alterações na massa corporal de nenhum grupo experimental. A redução da massa corporal entre os grupos REV e REVO não diferiu é apresentada na Figura 11.D, que mostra a diferença da massa no final das 4 semanas em relação ao início

do tratamento. A redução média da massa corporal no grupo REV foi de 9g e no grupo REVO foi 11g, dados estes que suportam a substituição da dieta hiperlipídica pela dieta padrão como o fator causal na redução da massa corporal.

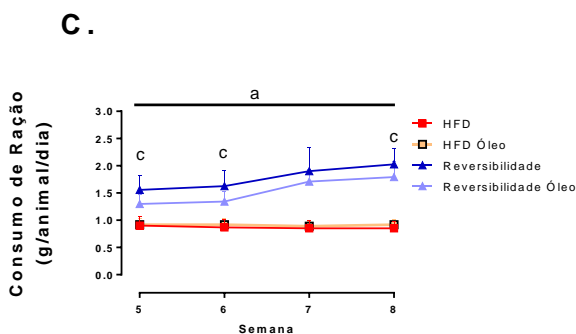
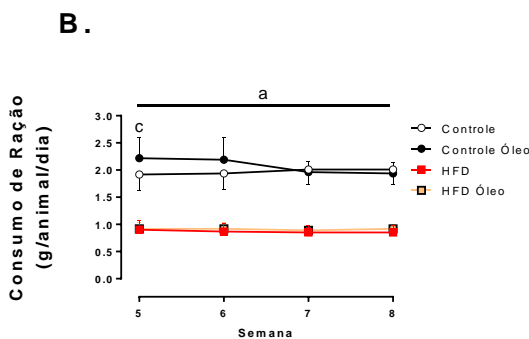
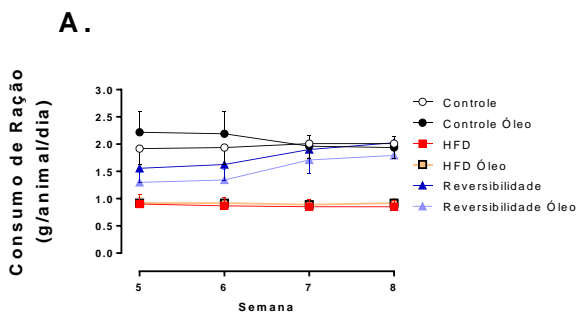
Figura 11 - Massa corporal Fase II.



(A), Massa corporal dos grupos C; CO; HFD e HFDO (B), Massa corporal dos grupos HFD; HFDO; REV; REVO (C) diferença entre a massa final e inicial do tratamento nos grupos REV e REVO (D). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença, significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste Holm- Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

O consumo médio de ração em gramas é apresentado na Figura 12.A. Nas 4 semanas de intervenção da segunda Fase houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do consumo médio de ração entre o grupo HFD e Controle, esta diferença, em gramas, totalizou aproximadamente 1g/dia/animal (Figura 12.B). Após a introdução do óleo não houve alteração estatisticamente significativo no consumo de ração entre os grupos Controle e Controle suplementado com óleo (CO) durante as 4 semanas de tratamento. Entre os grupos HFD e HFDO também não houve efeito do óleo na redução ou aumento do consumo alimentar, que permaneceram sem diferença estatisticamente significativa ao longo das 4 semanas de tratamento.

Figura 12 - Ingestão em gramas durante Fase II.



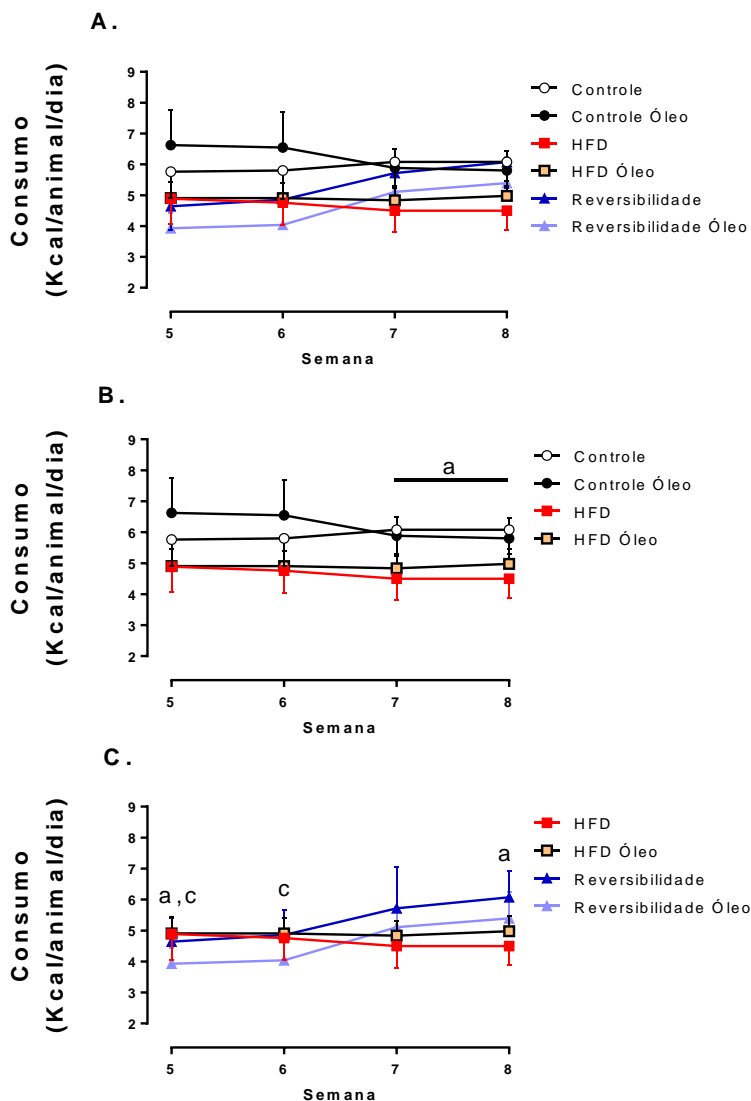
(A), Ingestão em gramas entre os grupos C; CO; HFD e HFDO (B), Ingestão em gramas entre os grupos HFD; HFDO; REV; REVO (C). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; “c” indica diferença significativa entre grupo reversibilidade e reversibilidade óleo. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

Assim, a suplementação com óleo não exerceu alteração no consumo

alimentar dos grupos CO e HFDO. Na Figura 12.C são apresentados o consumo do grupo HFD e REV, que, ao longo das quatro semanas obtiveram diferença gradual no consumo de ração, em gramas/animal/dia. As diferenças foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$) na primeira, segunda e quarta semanas sendo de 0,6g; 0,7g e 1,1g respectivamente. Assim, a troca da dieta hiperlipídica por dieta padrão promoveu um aumento estatisticamente significativo no consumo alimentar dos animais dos grupos REV e REVO. Quando comparado o consumo em gramas dos animais REV e REVO, a intervenção com o óleo reduziu o consumo alimentar dos animais na primeira, (REV $1,5 \pm 0,2g$ e REVO $1,3 \pm 0,1g$) segunda (REV $1,6 \pm 0,2g$ e REVO $1,3 \pm 0,1g$) e quarta (REV $2,0 \pm 0,2g$ e REVO $1,7 \pm 0,2g$) semanas de intervenção e esta diminuição do consumo foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

O consumo médio de ração em Kcal é apresentado na Figura 13. A. Quando comparado o consumo Kcal dos animais, só houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) a partir da terceira semana, que se manteve até o final do tratamento, quando comparado o consumo dos animais HFD com Controle (Figura 13.B). Esta diferença deve-se ao fato da redução do consumo Kcal nos animais HFD da terceira ($4,7 \pm 0,7Kcal$) para quarta semana ($4,5 \pm 0,6Kcal$). Após a introdução do óleo não houve alteração estatisticamente significativa no consumo de Kcal ração entre os grupos Controle e Controle suplementado com óleo (CO) durante as 4 semanas de tratamento. Entre os grupos HFD e HFDO não houve efeito do óleo na redução ou aumento do consumo de Kcal, que permaneceram sem diferença estatisticamente significativa ao longo das 4 semanas de tratamento. Na Figura 13. C são apresentados o consumo Kcal dos grupos HFD e REV. Ao longo do tratamento a introdução da dieta padrão no grupo REV não promoveu diferença no consumo de Kcal quando comparado com HFD, somente na última semana, quando houve redução do consumo de kcal no grupo HFD e aumento no consumo Kcal no grupo REV, assim, a diferença média ficou em torno de $2,5Kcal/animal/dia$ entre os grupos e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). A suplementação provocou efeito no grupo REVO, que apresentou redução no consumo de Kcal nas duas primeiras semanas em relação ao grupo REV ($p < 0,05$), diferença média de 0,7 e 0,8 Kcal/animal/dia na primeira e segunda semanas, respectivamente. Porém, esta diferença desapareceu nas duas últimas semanas de tratamento.

Figura 13 - Ingestão em Kcal durante Fase II.

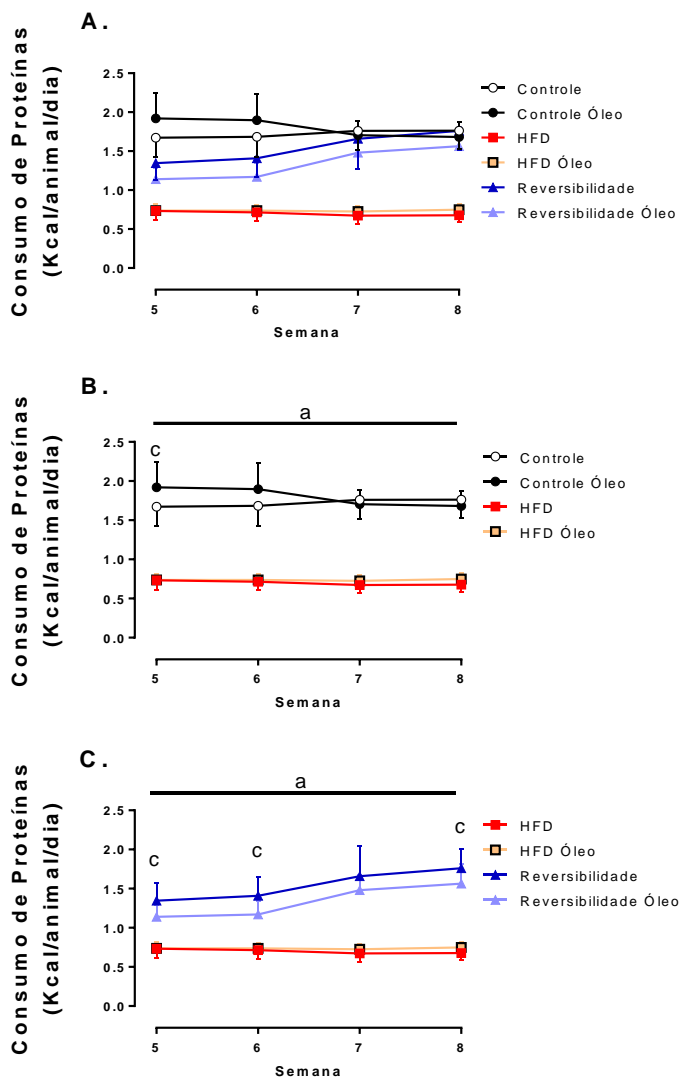


(A), Ingestão em Kcal entre os grupos C; CO; HFD e HFDO (B), Ingestão em Kcal entre os grupos HFD; HFDO; REV; REVO (C). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; “c” indica diferença significativa entre grupo reversibilidade e reversibilidade óleo. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

O consumo de Kcal provenientes das proteínas é apresentado na

Figura 14. A. Nas 4 semanas de intervenção da segunda Fase houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no consumo médio de Kcal provenientes das proteínas entre o grupo HFD e Controle, esta diferença, em Kcal, totalizou aproximadamente 1,1Kcal/animal/dia ou 0,27g de proteína/animal/dia (Figura 14.B). Após a introdução do óleo não houve alteração estatisticamente significativa no consumo de Kcal provenientes das proteínas entre os grupos Controle e Controle suplementado com óleo (CO) durante as 4 semanas de tratamento. Entre os grupos HFD e HFDO também não houve efeito do óleo na redução ou aumento de Kcal provenientes das proteínas, que permaneceram sem diferença estatisticamente significativa ao longo das 4 semanas de tratamento. Na Figura 14. C são apresentados o consumo do grupo HFD e REV ao longo das quatro semanas. Estes grupos obtiveram diferença gradual no consumo de Kcal provenientes das proteínas, sendo de 0,6 Kcal; 0,7 Kcal; 0,9 Kcal e 1 Kcal na primeira, segunda, terceira e quarta semanas, respectivamente ($p < 0,05$). Assim, a troca da dieta hiperlipídica por dieta padrão promoveu um aumento estatisticamente significativo no consumo de Kcal provenientes das proteínas, assim, similar ao aumento no consumo em gramas, dos animais dos grupos REV. Quando comparado o consumo de Kcal provenientes das proteínas dos animais REV e REVO, a intervenção com o óleo reduziu este consumo nos animais REVO, esta redução foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), na primeira, segunda e quarta semanas, ambas com redução de 0,2Kcal/animal/dia em relação ao grupo REV. A redução acompanhou também a redução no consumo alimentar, em gramas, do grupo REVO em relação ao REV.

Figura 14 - Ingestão em Kcal provenientes de proteínas durante Fase II.

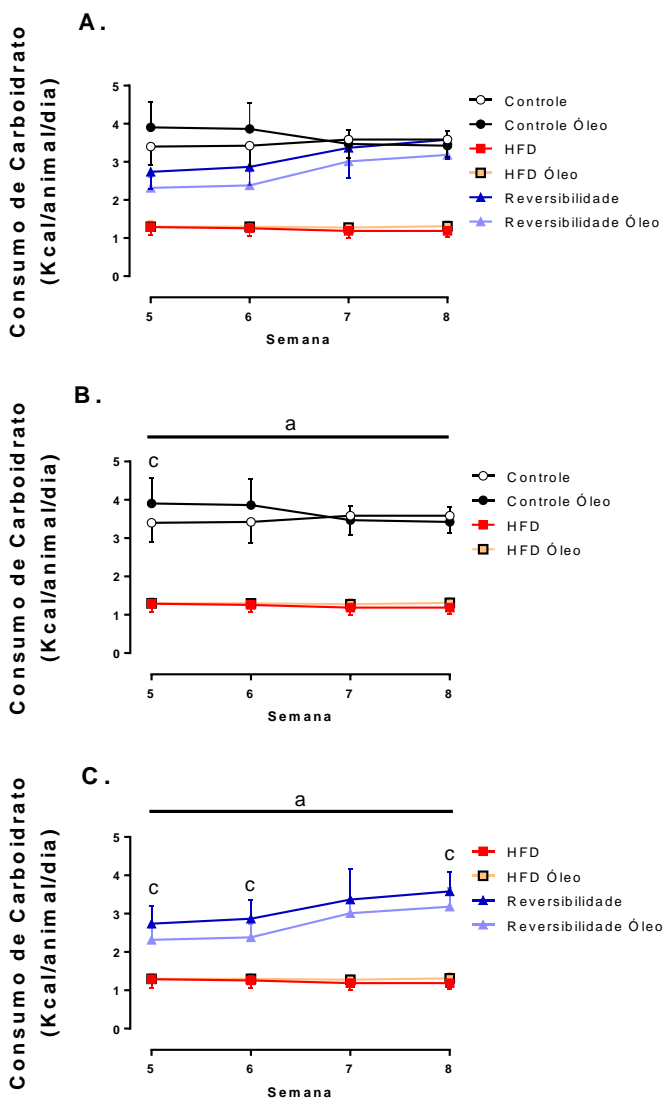


(A), Ingestão em Kcal provenientes de proteínas entre os grupos C; CO; HFD e HFDO (B), Ingestão em Kcal provenientes de proteínas entre os grupos HFD; HFDO; REV; REVO (C). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; “c” indica diferença significativa entre grupo reversibilidade e reversibilidade óleo. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

O consumo de Kcal provenientes de carboidratos (CHO) encontra-se na Figura 15.A. Durante todo o tratamento de intervenção da segunda Fase houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no consumo médio de Kcal provenientes de CHO entre o grupo HFD e Controle, esta diferença, em Kcal, totalizou aproximadamente 2,1Kcal/animal/dia ou 0,53g de carboidrato/ animal/dia (Figura 15.B). Após a introdução do óleo não houve alteração estatisticamente significativa no consumo de Kcal provenientes de CHO entre os grupos Controle e (CO) durante as 4 semanas de tratamento. Entre os grupos HFD e HFDO também não houve efeito estatisticamente significativo do óleo na redução ou aumento de Kcal provenientes de CHO ao longo das 4 semanas de tratamento.

Na Figura 15.C o consumo do grupo HFD e REV é apresentado. Em três semanas (primeira, segunda e quarta) houve uma diferença gradual e estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no consumo de Kcal provenientes de CHO, assim como no consumo em gramas e Kcal proveniente das proteínas anteriormente apresentados. As diferenças entre os grupos REV e HFD foram de 1,4 Kcal; 1,5 Kcal; 2,2 Kcal e 2,3 Kcal na primeira, segunda, terceira e quarta semanas, respectivamente. Assim, a troca da dieta hiperlipídica por dieta padrão promoveu um aumento estatisticamente significativo no consumo de Kcal provenientes das proteínas, assim, similar ao aumento no consumo em gramas, dos animais dos grupos REV. Quando comparado o consumo de Kcal provenientes das proteínas dos animais REV e REVO, a intervenção com o óleo reduziu este consumo nos animais REVO, esta redução foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), na primeira, segunda e quarta semanas, ambas com redução média de 0,4 Kcal/animal/dia em relação ao grupo REV. A redução acompanhou também a redução no consumo alimentar, em gramas, do grupo REVO em relação ao REV.

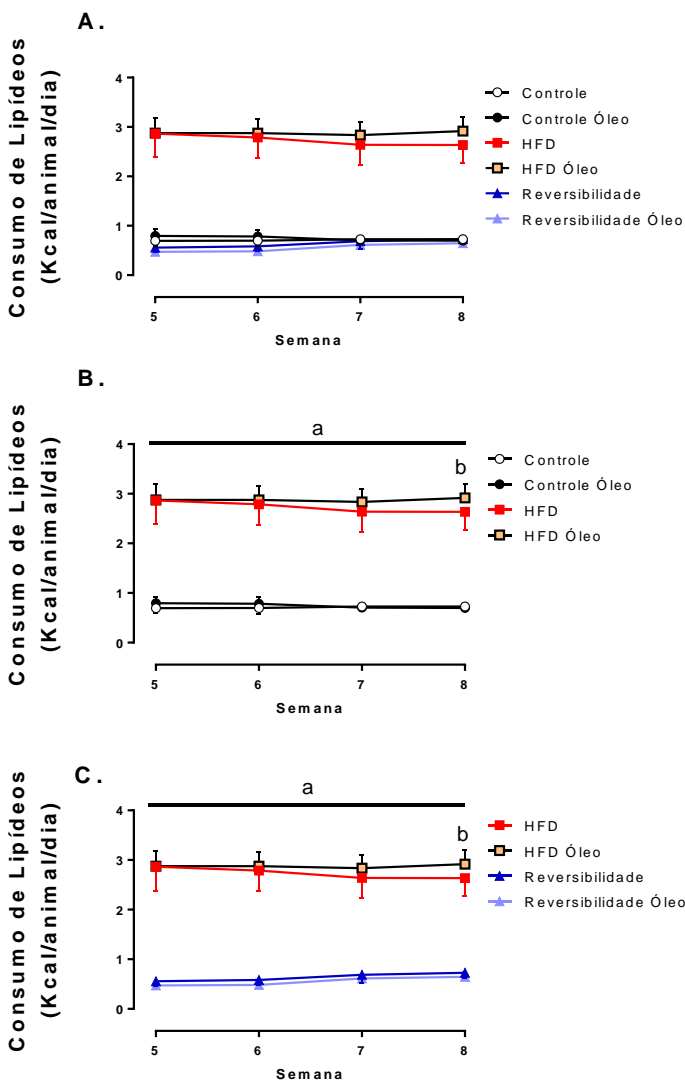
Figura 15 - Ingestão em Kcal provenientes de carboidratos durante Fase II.



(A), Ingestão em Kcal provenientes de carboidratos entre os grupos C; CO; HFD e HFDO (B), Ingestão em Kcal provenientes de carboidratos entre os grupos HFD; HFDO; REV; REVO (C). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; “c” indica diferença significativa entre grupo reversibilidade e reversibilidade óleo. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

O consumo médio de Kcal provenientes dos lipídeos é apresentado na Figura 16.A. Quando comparado o consumo Kcal provenientes dos lipídeos dos animais, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) ao longo das quatro semanas da Fase II, quando comparado o consumo dos animais HFD com Controle (Figura 16.B). O percentual de Kcal provenientes de lipídeos na dieta hiperlipídica implicou no consumo médio de 2,2 Kcal/animal/dia a mais no grupo HFD quando comparado com Controle. Após a introdução do óleo não houve alteração estatisticamente significativa no consumo de Kcal provenientes dos lipídeos entre os grupos Controle e CO durante as 4 semanas de tratamento. Não houve efeito do óleo na redução ou aumento do consumo de Kcal provenientes de lipídeos entre os grupos HFD e HFDO nas três primeiras semanas após o início da suplementação. Porém, na última semana houve uma redução no consumo de Kcal provenientes dos lipídeos no grupo HFD ($2,6 \pm 0,35$ Kcal/animal/dia) que provocou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando com parado com grupo HFDO ($2,9 \pm 0,2$ Kcal/animal/dia). Na Figura 16.C são apresentados o consumo Kcal provenientes dos lipídeos dos grupos HFD e REV. A introdução da dieta padrão no grupo REV promoveu uma redução no consumo de Kcal provenientes dos lipídeos estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparado com HFD. Esta redução média de aproximadamente 2,3 Kcal/animal/dia foi estatisticamente significativa ao longo de todo o tratamento. A suplementação com óleo não provocou diferença estatisticamente significativa no consumo de Kcal provenientes dos lipídeos no grupo REVO quando comparado com REV, em nenhum momento das quatro semanas de tratamento (Figura 16.C).

Figura 16 - Ingestão em Kcal provenientes de lipídeos durante Fase II.



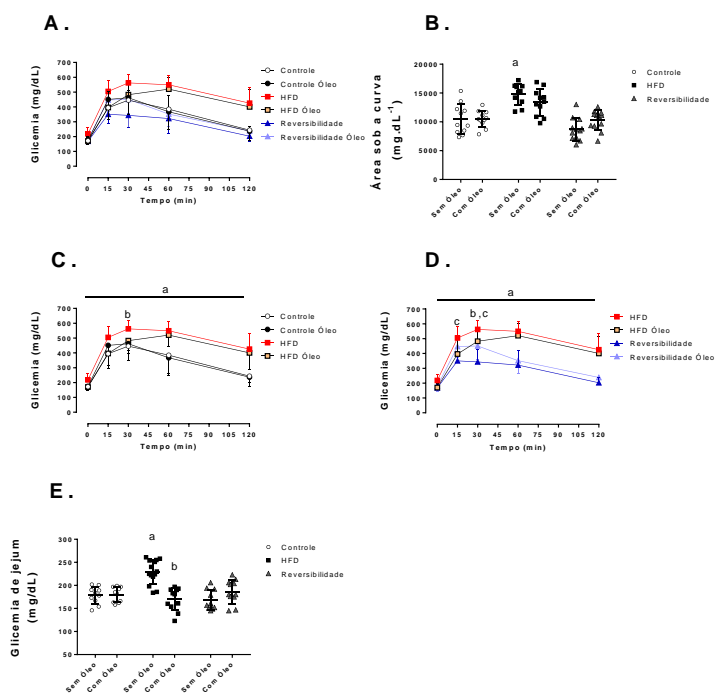
(A), Ingestão em Kcal provenientes de lipídeos entre os grupos C; CO; HFD e HFDO (B), Ingestão em Kcal provenientes de lipídeos entre os grupos HFD; HFDO; REV; REVO (C). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; “b” indica diferença significativa entre grupo HFD e HFDO. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

5.2.2 Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina

No 54º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (Figura 17.A). Quando comparados os grupos HFD e Controle, o teste revelou a manutenção da tolerância à glicose diminuída nos animais HFD, assim como na primeira fase do tratamento (Figura 16.C). Esta diminuição da tolerância à glicose foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) e percebida em todos os pontos de verificação da glicemia, os quais resultaram em menor área sob a curva glicêmica $10461 \pm 2618 \text{mg/dL} \cdot \text{min}^{-1}$ no grupo Controle e $14777 \pm 1849 \text{mg/dL} \cdot \text{min}^{-1}$ no grupo HFD, diferença também estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 17.B). A diferença também permaneceu quando comparadas as glicemias de jejum do grupo controle ($178,4 \pm 19 \text{mg/dL}$) e HFD ($227,8 \pm 30 \text{mg/dL}$), diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 17. E). A suplementação com óleo palmitoleico não produziu alterações estatisticamente significativas na tolerância à glicose durante o teste (Figura 17.C) ou na glicemia de jejum (Figura 17.E) ou na área sob a curva (Figura 17.B), quando comparados grupo Controle e Controle Óleo. Quando comparados, os grupos HFD e HFDO a suplementação de óleo palmitoleico reduziu a concentração da glicemia de jejum no grupo HFDO $170,2 \pm 24 \text{mg/dL}$ comparado com HFD $227,8 \pm 30 \text{mg/dL}$ e esta redução na glicemia de jejum foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 17.E). O grupo que recebeu dieta hiperlipídica e óleo palmitoleico também apresentou redução na glicemia de pico, nos 15 minutos após a aplicação da solução de glicose ($p < 0,05$). Nesta mensuração, concentração média de glicose no grupo HDF foi $489,8 \pm 85 \text{mg/dL}$ enquanto que no grupo HFDO foi $396,5 \pm 104 \text{mg/dL}$ (Figura 17.C). Entretanto, estas atenuações provocadas pelo consumo de óleo palmitoleico não foram suficientes para reduzir, de forma estatisticamente significativa, a área sob a curva de glicose, neste teste, quando comparados com grupo HFD. No grupo REV, quando comparado com HFD, a inversão de dieta hiperlipídica por dieta padrão provocou uma melhora da tolerância à glicose em todos os pontos de coleta, inclusive na glicemia de jejum e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 17.D, E). Esta melhora na tolerância à glicose pôde ser observada na área sob a curva de glicose (Figura 17.B), a qual foi menor no grupo REV ($8698 \pm 1942 \text{mg/dL}/120 \text{min}$) quando comparado com HFD ($14777 \pm 1849 \text{mg/dL}$) ($p < 0,05$). Por conseguinte, a suplementação com óleo palmitoleico prejudicou a normalidade glicêmica de pico no grupo REVO quando comparado com REV. Nos minutos 15 e 30 o grupo REVO apresentou glicemias de $346,8 \pm 75$ e $451,1 \pm 94 \text{mg/dL}$ enquanto que o

grupo REV apresentou glicemias similares ao controle $350,4 \pm 60$ e $343,3 \pm 84$ mg/dL, diferenças essas que foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Entretanto, estas alterações na glicemia de pico não foram estatisticamente significativas a ponto de provocar uma menor tolerância à glicose, pois as áreas sob as curvas foram semelhantes (Figura 17.B). A ingestão de óleo palmitoleico também não afetou a glicemia de jejum no grupo REVO, que quando comparada com REV, a diferença não foi estatisticamente significativa.

Figura 17 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.



(A) e a respectiva área-sob-a-curva. (B) Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose nos grupos C; CO; HFD e HFDO (C). Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose nos grupos HFD, HFDO, REV e REVO (D) glicemia de jejum coletada no teste após 5 horas de jejum (E) Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; “b” indica diferença significativa entre grupo HFD e HFDO; letra “c” indica diferença significativa entre grupo REV e REVO Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 12-16$.

No 56º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de sensibilidade à insulina (Figura 18.A). Quando comparados os grupos

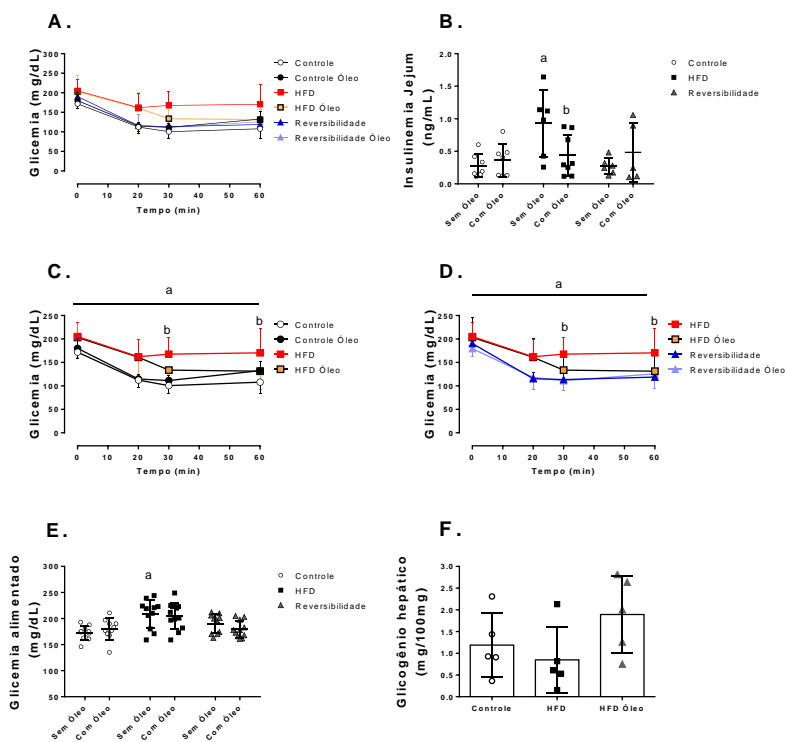
HFD e Controle, o teste revelou a permanência de uma menor sensibilidade à insulina nos animais HFD, assim como na primeira fase do tratamento (Figura 18.C). Esta diminuição da sensibilidade à insulina foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) e percebida em todos os pontos de verificação da glicemia. A diferença também permaneceu quando comparadas as glicemias dos animais alimentados, grupo controle (171 ± 13 mg/dL) e HFD (206 ± 26 mg/dL, $p < 0,05$) (Figura 18.E). Após 56 dias, a dieta hiperlipídica

manteve o estímulo de hipersecreção de insulina, confirmada pela hiperinsulinemia de jejum no grupo HFD ($0,92 \pm 0,5$ ng/mL) quando comparado com Controle ($0,24 \pm 0,2$ ng/mL) ($p < 0,05$). A suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico não produziu alterações estatisticamente significativas na sensibilidade à insulina durante o teste (Figura 18.C) ou na glicemia dos animais alimentados (Figura 18.E) ou insulinemia de jejum (Figura 18.B), quando comparados grupo Controle e Controle Óleo.

Quando comparados, os grupos HFD e HFDO a suplementação de óleo rico em ácido palmitoleico não atenuou a concentração da glicemia dos animais alimentados no grupo HFDO comparado com HFD (Figura 18.E). Por conseguinte, o grupo que recebeu dieta hiperlipídica e óleo rico em ácido palmitoleico também apresentou melhora na sensibilidade à insulina (Figura 18.C). Esta redução foi confirmada por cálculo da constante de decaimento KITT, $0,78 \pm 0,63\%/min$ no grupo HFD e $1,30 \pm 0,71\%/min$ no grupo HFDO ($p < 0,05$). Ademais, a melhora da sensibilidade à insulina não foi acompanhada hiperinsulinemia nos animais suplementados com óleo palmitoleico HFDO ($0,43 \pm 31$ ng/dL) quando comparados com HFD ($0,92 \pm 0,5$ ng/mL), valores com diferença estatisticamente significativa na insulinemia de jejum (Figura 18.B). No grupo REV, quando comparado com HFD, a inversão de dieta hiperlipídica por dieta padrão provocou uma melhora na sensibilidade à insulina em todos os pontos avaliados após a aplicação da injeção com solução de glicose (Figura 18.D), inclusive na glicemia dos animais alimentados (Figura 18.E), todas essas diferenças foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A insulinemia de jejum foi afetada pela troca da dieta, que no grupo REV ($0,27 \pm 12$ ng/mL), quando comparado com HFD ($0,92 \pm 0,5$ ng/mL), apresentou redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Por conseguinte, não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na sensibilidade à insulina dos animais REVO quando comparados com REV. Ambos os grupos melhoraram a sensibilidade à insulina em todos os pontos de coleta do teste (Figura 18.D) devido à retirada da dieta hiperlipídica e exposição à dieta padrão. A

glicemia dos animais alimentados e a insulinemia de jejum também não sofreram interferência da suplementação com óleo palmitoleico, não apresentando diferenças estatisticamente significativas no grupo REV quando comparado com REVO (Figura 18.E). Ademais, não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo de glicogênio hepático entre os grupos Controle, HFD e HFDO (Figura 18.F).

Figura 18 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina.



(A) Insulinemia de jejum (B) Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina nos grupos C; CO; HFD e HFDO (C). Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina nos grupos HFD, HFDO, REV e REVO (D) glicemia dos animais alimentados (E) Concentração de glicogênio hepático (F). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença , estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle e reversibilidade; “b” indica diferença significativa entre grupo HFD e HFDO. Utilizado teste ANOVA de duas vias com pós teste de Holm-Sidak *nas* figuras B; C; D e E $p < 0,05$, $n = 12-16$. Utilizado teste ANOVA de uma via com pós teste de Holm-Sidak na figura E $p < 0,05$, $n = 5$.

5.2.3 Massa órgãos e tecidos

Após a eutanásia os órgãos e tecidos foram pesados, dados apresentados na Tabela 7. Os órgãos baço, coração, intestino, baço, pulmões, rins e pâncreas, não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos Controle e HFD; Controle e CO; HFD e HFDO; HFD e REV; REV e REVO. A massa do fígado também apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na segunda fase de intervenção, assim, a massa hepática permaneceu aumentada no grupo HFD em relação ao Controle. A retirada da dieta hiperlipídica também promoveu uma redução na massa hepática do grupo reversibilidade e esta redução foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). O estômago do grupo REV apresentou redução da massa em relação ao grupo HFD e essa diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). O grupo REVO também apresentou redução da massa do estômago foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), quando comparada com REV.

Tabela 7 - Massa absoluta dos órgãos após segunda Fase de intervenção (gramas).

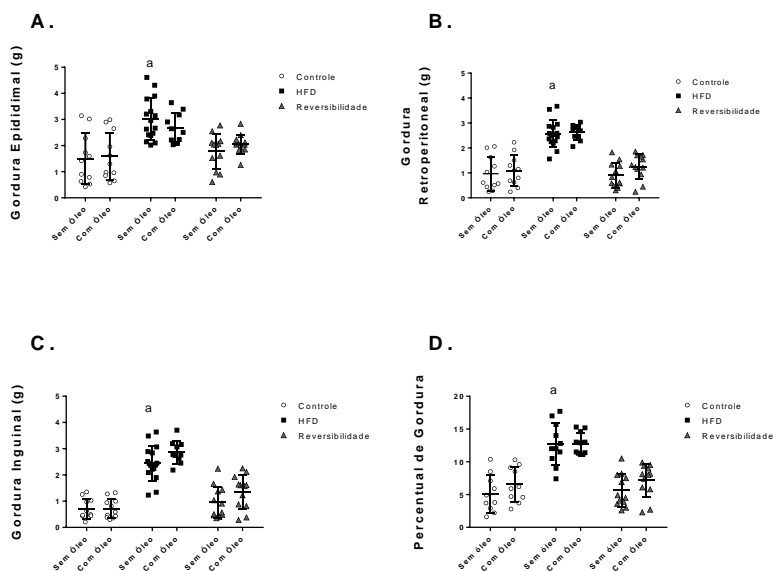
	Controle	Controle Óleo	HFD	HFD Óleo	Rev.	Rev. Óleo
Fígado	2,2±0,6	2,2±0,6	2,9±0,9 ^a	3,0±0,6	2,2±0,6 ^b	2,2±0,6
Baço	0,2±0,0	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,0	0,3±0,	0,2±0,0
Coração	0,2±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0	0,2±0,1	0,2±0,0	0,2±0,0
Intestino	4,9±0,5	5,2±0,6	5,0±0,8	5,6±0,9	4,7±1,5	4,9±0,5
Pulmões	0,3±0,1	0,3±0,0	0,3±0,1	0,2±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0
Rins	0,7±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	0,6±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1
Pâncreas	0,4±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1
Estômago	1,0±0,2	1,0±0,2	0,7±0,3	0,7±0,2	1,2±0,2 ^b	0,9±0,1 ^c

Dados são média ± DP. As letras indicam diferença significativa utilizado ANOVA de duas vias com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$. HFD: High Fat Diet (Dieta Hiperlipídica). Rev: Reversibilidade. a = representa diferença entre HFD e respectivo grupo dieta padrão; b = representa diferença entre HFD e Reversibilidade; c = representa diferença entre Reversibilidade e Reversibilidade Óleo

A massa do tecido adiposo epididimal (Figura 19.A), retroperitoneal (Figura 19.B), e inguinal (Figura 19.C), apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) somente entre os grupos HFD quando comparado com Controle. A exposição a dieta hiperlipídica manteve o acúmulo de gordura visceral e subcutânea após 56 dias de exposição. Ademais a retirada da dieta hiperlipídica promoveu redução no tecido adiposo epididimal, retroperitoneal e inguinal do grupo REV quando comparado com HFD ($p < 0,05$). Por conseguinte, o percentual de gordura também foi maior no grupo HFD 12,7% e estatisticamente

significativo quando comparado com controle (5,1%) (Figura 19.D). Ainda quando comparado os percentuais de gordura, a retirada da dieta hiperlipídica no grupo reversibilidade promoveu uma redução na massa adiposa (5,6%) quando o grupo HFD (12,7%) ($p < 0,05$) (Figura 18.D). A suplementação com óleo palmitoleico não modificou a massa adiposa nem o percentual de gordura (Figura 19.A, B, C, D), de nenhuma comparação entre grupos Controle e CO; HFD e HFDO; REV e REVO na massa dos três tecidos adiposos não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Figura 19 - Massa de tecido adiposo epididimal.



(A) Massa de tecido adiposo retroperitoneal (B) Massa de tecido adiposo inguinal (C). Percentual de gordura (D). Foto representativa do grupo Controle do tecido adiposo epididimal (E) Foto representativa do grupo HFD do tecido adiposo epididimal (F). Dados são média \pm DP. Letra "a" indica diferença estatisticamente significativa entre grupo quando comparado com respectivo grupo dieta padrão e reversibilidade; "i" indica diferença estatisticamente significativa entre grupo quando comparado com respectivo grupo dieta padrão óleo e reversibilidade óleo. Utilizado teste ANOVA de duas vias, com pós teste Holm-Sidak $p < 0,05$, $n = 12-16$.

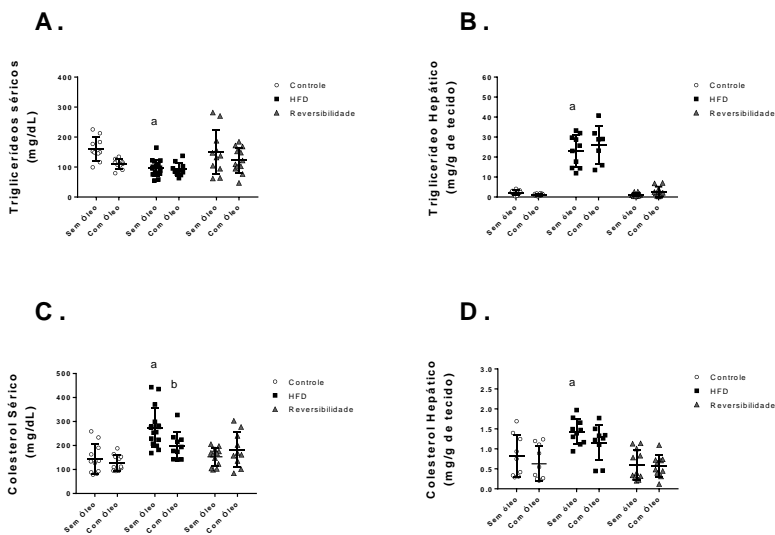
5.2.4 Perfil lipídico sério e hepático

Foram analisados o perfil lipídico sério dos animais no soro coletado na eutanásia. Houve diferença estatisticamente significativa

($p < 0,05$) na concentração de triacilgliceróis (TG) circulante entre os grupos HFD e Controle e HFD e REV (Figura 20 A). Ambos efeitos de concentração sérica de TG devem-se a dieta, que grupo HFD ($97 \pm 6,8$) houve uma redução estatisticamente significativa, tanto quando comparado com Controle (161 ± 39 mg/dL) e HFD quando com REV (145 ± 71 mg/dL). A suplementação com óleo palmitoleico não produziu uma alteração estatisticamente significativa na concentração sérica de TG (Figura 20.A), de nenhuma comparação entre grupos Controle e CO; HFD e HFDO; REV e REVO. Quando o colesterol sérico foi analisado, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na concentração de colesterol circulante entre os grupos HFD (274 ± 8 mg/dL) e Controle (144 ± 61 mg/dL), também quando o grupo HFD (274 ± 8 mg/dL) foi comparado com REV (153 ± 37 mg/dL) (Figura 20. C). Os efeitos das concentrações sérica de colesterol devem-se a dieta, que grupo HFD houve a permanência do aumento das concentrações, similar a fase I. Ademais, as mesmas diferenças foram encontradas na concentração hepática de colesterol, aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no grupo HFD quando comparado com Controle e uma redução na concentração hepática de colesterol no grupo REV quando comparado com HFD ($p < 0,05$) (Figura 20.D). No grupo REV a introdução da dieta controle conseguiu reverter a concentração elevada de colesterol na circulação.

A suplementação com óleo palmitoleico não produziu uma alteração estatisticamente significativa na concentração sérica e hepática de colesterol na comparação entre grupos Controle e CO; REV e REVO. Entretanto, a ingestão de óleo palmitoleico conseguiu atenuar a concentração sérica de colesterol no grupo tratado com dieta hiperlipídica, HFDO (197 ± 57 mg/dL), quando comparado com o grupo HFD (274 ± 8 mg/dL), esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Porém, a concentração hepática de colesterol não foi afetada, não foi estatisticamente significativa, pelo óleo no grupo HFDO quando comparado com HFD.

Figura 20 - Concentração de triacilgliceróis séricos.



(A) Concentração de triacilgliceróis hepáticos (B) Concentração de colesterol sérico (C). Concentração de colesterol hepático (D). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica em relação ao grupo controle e reversibilidade; “b” indica diferença significativa entre grupo HFD e HFDO “i” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo quando comparado com respectivo grupo dieta padrão óleo e reversibilidade óleo. Utilizado teste ANOVA de duas vias, com pós teste Holm-Sidak $p < 0,05$, $n = 12-16$.

5.3 RESULTADOS DA SUPLEMENTAÇÃO CONCOMITANTE A INDUÇÃO DA OBESIDADE POR 28 E 56 DIAS

Após estes experimentos realizados, surgiram questionamentos relacionados ao tempo e início de intervenção com o óleo palmitoleico. Então, iniciaram protocolos de suplementação realizados para investigar os possíveis efeitos preventivos da suplementação com óleo palmitoleico concomitante a indução de obesidade. Assim, foram adotados protocolos com 28 dias (primeiro dia de dieta hiperlipídica junto com primeiro dia de suplementação, que manteve até o final dos 28 dias) e 56 dias (primeiro dia de dieta hiperlipídica junto com primeiro dia de suplementação, que manteve até o final dos 56 dias). No segmento a seguir, serão apresentados os dados decorrentes desta proposta da exposição ao óleo concomitante a indução de obesidade.

5.4 VINTE E OITO DIAS DE DIETA HIPERLIPÍDICA E SUPLEMENTAÇÃO

Os dados apresentados a seguir referem-se à seis animais do grupo 28 HFD Óleo, pois dois animais foram retirados do protocolo experimental por motivo de briga, e, portanto, prejuízo na homeostase social da caixa. Estes dados foram comparados com os 12 animais que passaram pelos 28 dias de exposição à dieta hiperlipídica (HFD) isolada.

5.4.1 Massa corporal e consumo alimentar

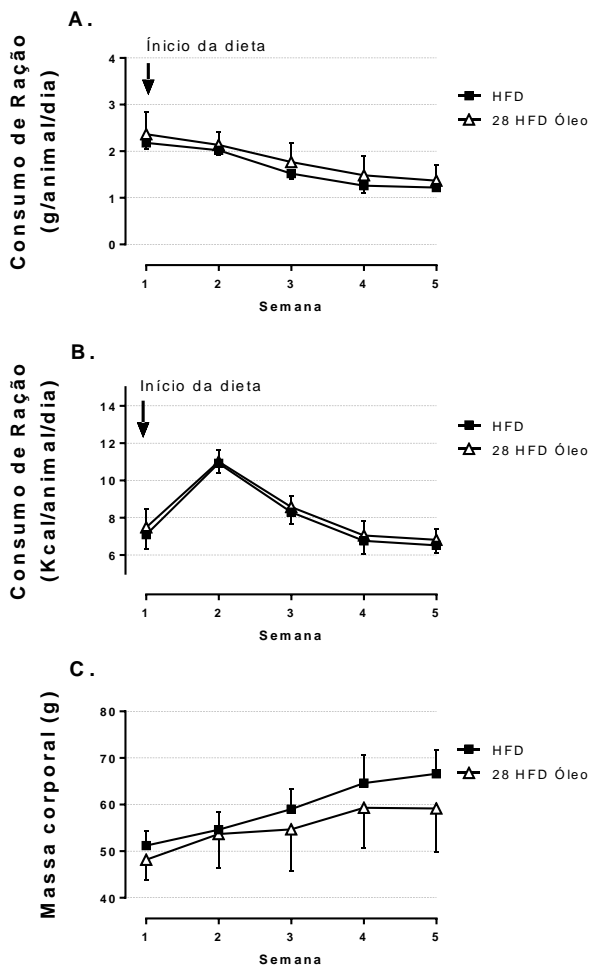
Na Figura 21.A são apresentados dados de consumo alimentar em gramas, o qual não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) durante as quatro semanas de intervenção, assim o óleo palmitoleico ingerido no início da exposição à dieta hiperlipídica, grupo 28 HDF Óleo, não modificou o consumo alimentar em gramas, quando comparado com HFD. A mesma ausência de diferença estatisticamente significativa ocorreu quando comparado ao consumo quilocalórico (Figura 21.B) e a massa corporal (Figura 21.C) do grupo 28 HFD Óleo e HFD.

5.4.2 Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina

No 24º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (Figura 22.A), o qual revelou melhora na tolerância à glicose nos animais que receberam dieta hiperlipídica e óleo palmitoleico, ou seja, diminuição estatisticamente significativa na concentração de glicose sanguínea nos quatro pontos de coleta (15, 30, 60 e 120 minutos) em relação ao grupo HFD. Aumento este que refletiu em uma área sob a curva glicêmica menor (11433 ± 1700) no grupo 28 HFD Óleo quando comparado com grupo HFD (34830 ± 6258), esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 22.B). Assim, a suplementação de 28 dias de óleo palmitoleico com dieta hiperlipídica atenuou os efeitos da dieta hiperlipídica sobre a tolerância à glicose. Entretanto estes efeitos da suplementação não se estenderam à glicemia de jejum dos animais (Figura 22.C), na qual não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 28 HFD Óleo e HFD. No 28º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (Figura 22.D). Não houve diferença estatisticamente significativa

na sensibilidade à insulina durante teste ipITT. A ausência de diferença foi confirmada pelo cálculo da constante de decaimento, KITT, no grupo HFD ($1,7 \pm 1,0\%$) e 28 HFD Óleo ($1,4 \pm 0,5\%$). Porém, este parâmetro foi acompanhado de redução da glicemia dos animais alimentados, no grupo 28 HFD Óleo ($183,3 \pm 20$ mg/dL) quando comparado com HFD (241 ± 18 mg/dL), após quatro semanas de tratamento ($p < 0,05$) (Figura 21.E).

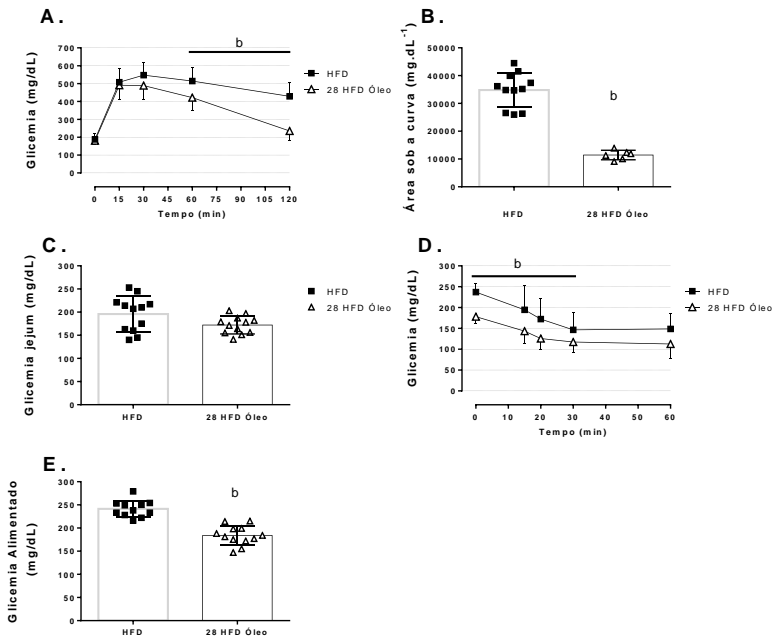
Figura 21 - Ingestão em gramas.



(A) ingestão calórica (B) massa corporal (C) ao longo de 28 dias de tratamento. Utilizado teste *t Student*, $p < 0,05$, $n = 6-12$.

Figura 22 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à

glicose.



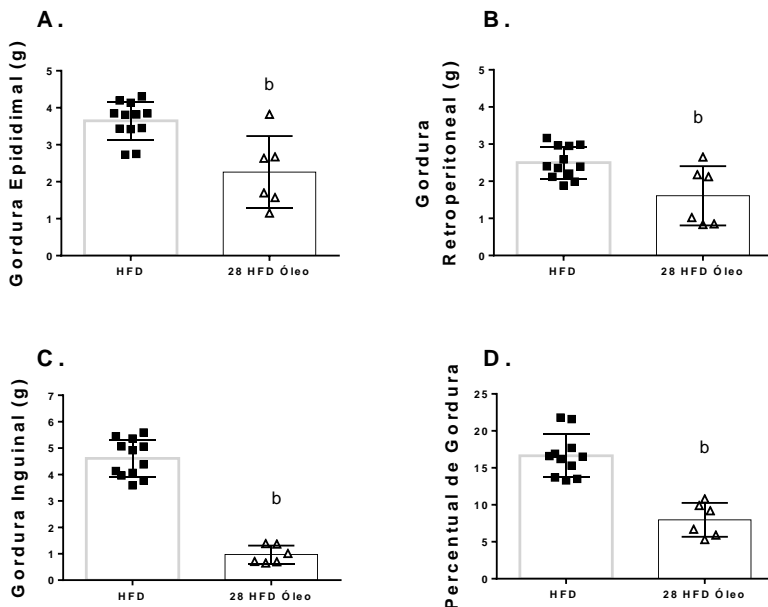
(A) e a respectiva área-sob-a-curva mg/dL em 120 minutos (B) e glicemia de jejum coletada no teste após 5 horas de jejum (C). Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina (D) e glicemia dos animais alimentados coletada no teste (E). Dados são média \pm DP. Letra “b” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica (HFD) em relação ao grupo 28 HFD Óleo. Utilizado teste t *Student*, $p < 0,05$, $n = 6-12$ por grupo.

5.4.3 Massa adiposa

Quando analisadas as massas das gorduras epididimal, retroperitoneal e inguinal (Figura 23.A, B, C respectivamente), todas apresentaram redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos animais 28 HFD Óleo quando comparados com os animais que receberam somente dieta hiperlipídica durante quatro semanas. A massa do tecido adiposo epididimal (HFD $3,6 \pm 0,5$ g e 28 HFD Óleo $2,2 \pm 0,9$ g); retroperitoneal (HFD $2,5 \pm 0,4$ g e 28 HFD Óleo $1,6 \pm 0,7$ g) e inguinal (HFD $4,6 \pm 0,7$ g e 28 HFD Óleo $0,97 \pm 0,3$ g) tiveram menor desenvolvimento por efeito da ingestão com óleo palmitoleico. Esta redução global no tecido adiposo refletiu na diferença do percentual de gordura dos animais, que no grupo

HFD totalizou 17,49% enquanto que o grupo controle 28 HFD Óleo apresentou 7,9% de gordura, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), dados mostrados na (Figura 23.D).

Figura 23 - Massa de tecido adiposo epididimal.



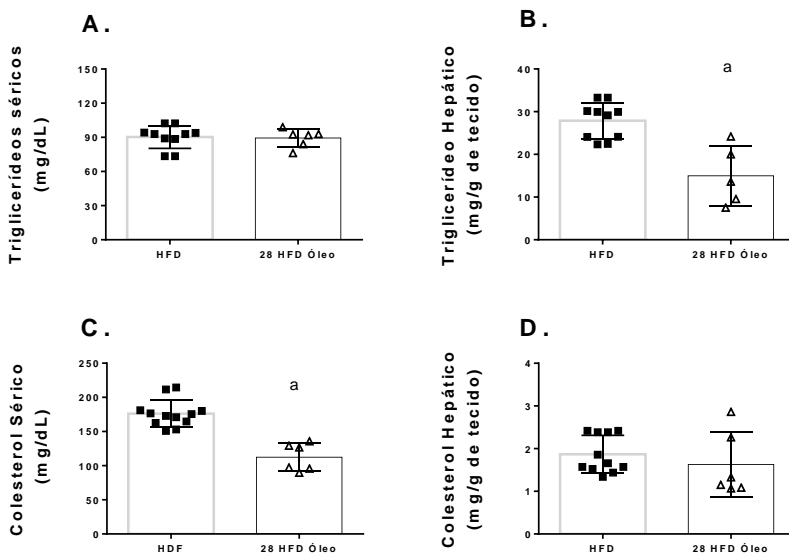
(A) Massa de tecido adiposo retroperitoneal (B) Massa de tecido adiposo inguinal (C). Percentual de gordura (D). Dados são média \pm DP. Letra “b” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica (HFD) em relação ao grupo 28 HFD Óleo. Utilizado teste t *Student*, $p < 0,05$, $n = 6-12$ por grupo.

5.4.4 Perfil lipídico sério e hepático

Foram analisados o perfil lipídico sério dos animais no soro coletado na eutanásia. Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de triacilgliceróis (TG) circulante entre os grupos controle e HFD e 28 HFD Óleo. (Figura 24.A). Entretanto, a suplementação com óleo rico em ácido palmítoleico preveniu a esteatose hepática em 28 dias de suplementação quando comparado com o grupo HFD ($p < 0,05$) (Figura 24.B). Por conseguinte, quando analisadas as concentrações de colesterol total, foi observado uma cinética diferente, na

qual as concentrações séricas apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) (Figura 24.C). Ou seja, a suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico preveniu o aumento das concentrações de colesterol total nos camundongos expostos a dieta hiperlipídica. Embora o efeito não permaneceu quando analisadas as concentrações de colesterol total no fígado, ou seja, quando comparados HFD e 28 dias HFD óleo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para colesterol total hepático (Figura 24.D).

Figura 24 - Concentração de triacilgliceróis séricos.



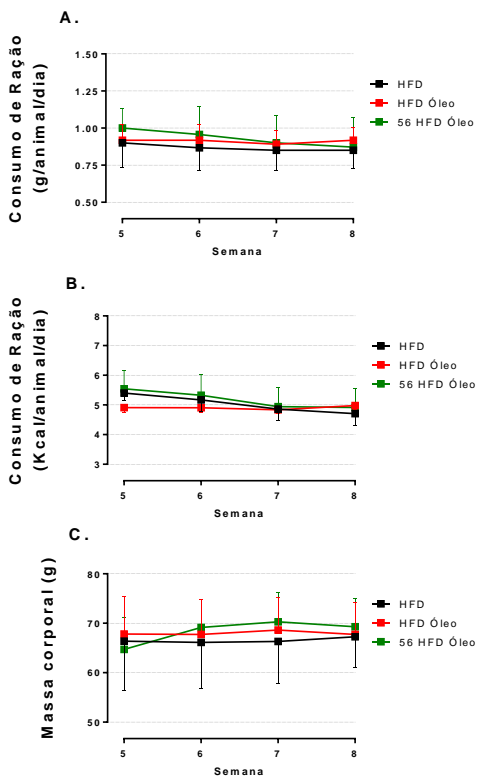
(A) Concentração de triacilgliceróis hepáticos (B) Concentração de colesterol sérico (C). Concentração de colesterol hepático (D). Dados são média \pm DP. Letra “a” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica e óleo em relação ao grupo que recebeu somente dieta hiperlipídica. Utilizado teste *t student*, $p < 0,05$, $n = 6-16$.

5.5 CINQUENTA E SEIS (56) DIAS DE DIETA HIPERLIPÍDICA E SUPLIMENTAÇÃO

Os dados apresentados nesta sessão referem-se à sete animais do grupo 56 HFD Óleo, pois um animal fora retirado do protocolo experimental por motivo de briga, e, portanto prejuízo na homeostase social da caixa. Estes dados foram comparados com os dos 12 animais expostos à dieta hiperlipídica (HFD) por 56 dias e 12 animais expostos à dieta hiperlipídica por 28 e 28 dias recebendo óleo palmitoleico somado a dieta hiperlipídica (HFDO).

5.5.1 Massa corporal e consumo alimentar

Figura 25 - Ingestão em gramas.



(A) ingestão calórica (B) massa corporal (C), ao longo de 56 dias de tratamento. Utilizado teste ANOVA de uma via com pós teste Holm-Sidak $p < 0,05$, $n = 7-12$.

Na Figura 25.A são apresentados dados de consumo alimentar em gramas, o qual após 56 dias não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), assim o óleo palmitoleico ingerido durante todo o protocolo experimental no grupo 56 HFD Óleo, não modificou o consumo alimentar em gramas, quando comparado com HFD e HFDO.

A mesma ausência de diferença estatisticamente significativa ocorreu quando comparado ao consumo quilocalórico (Figura 25.B) e a massa corporal (Figura 25.C) do grupo 28 HFD Óleo e HFD, assim, a ingestão de óleo palmitoleico por 56 dias, em conjunto com dieta hiperlipídica não alterou o consumo nem massa dos animais, quando comparados com HFD e HFDO.

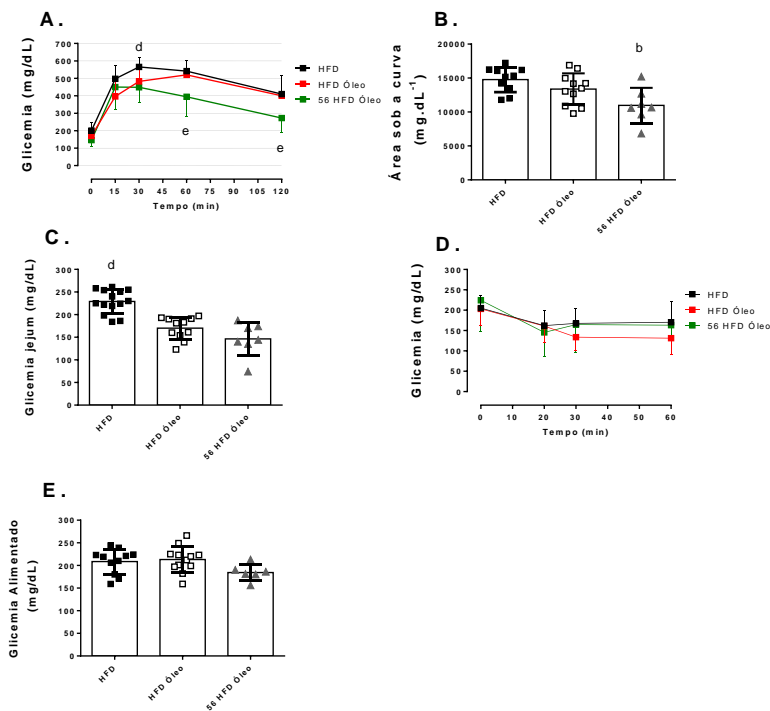
5.5.2 Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina

No 52º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (Figura 26.A), o qual revelou melhora na tolerância à glicose nos animais que receberam dieta hiperlipídica e óleo palmitoleico, estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Quando o óleo palmitoleico foi ingerido na segunda fase (HFDO) houve melhora somente na glicemia de pico, no minuto 15. Entretanto, quando o óleo foi ingerido por 56 dias houve melhora na tolerância à glicose desde a avaliação no minuto 15, 30, 60 e 120, esta redução na concentração de glicose circulante durante o teste foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo HFD. A melhor tolerância provocada pela suplementação com óleo refletiu em área sob a curva glicêmica menor ($10968 \pm 2588 \text{mg/dL}/120 \text{min}$) no grupo 56 HFD Óleo quando comparado com grupo HFD (147760 ± 1849) e HFDO (13372 ± 2313), esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 26. B). Ademais, estes efeitos da suplementação se estenderam à glicemia de jejum dos animais (Figura 26.C). A menor glicemia de jejum ocorreu quando a suplementação iniciou após 28 dias de dieta hiperlipídica no grupo HFDO ($170 \pm 24,5 \text{ mg/dL}$). Porém, os efeitos de redução na concentração da glicemia de jejum foram potencializados quando a suplementação ocorreu de forma integral, 56 dias HFD + Óleo ($146,3 \pm 37 \text{ mg/dL}$) ($p < 0,05$) quando comparados com grupo que recebeu somente dieta hiperlipídica durante 56 dias ($229 \pm 26 \text{ mg/dL}$). Assim, ambos os protocolos de suplementação, somente na segunda fase do protocolo ou durante os 58 dias, atenuaram os efeitos da dieta hiperlipídica sobre a glicemia de jejum.

No 56º dia de tratamento, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (Figura 26.D), cujos resultados revelaram ausência

de efeito óleo sobre a sensibilidade à insulina nos animais expostos à dieta hiperlipídica. A glicemia verificada nos pontos de coleta após aplicação de solução de glicose não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparados os grupos HFD; HFD Óleo e 56 HFD Óleo.

Figura 26 - Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à glicose.



(A) e a respectiva área-sob-a-curva. (B) e glicemia de jejum coletada no teste após 5 horas de jejum (C). Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina (D) e glicemia dos animais alimentados coletada no teste (E). Dados são média \pm DP. Letra “d” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica (HFD) em relação ao grupo HFD Óleo e 56 HFD Óleo. Letra “b” indica diferença estatisticamente significativa do grupo 56 HFD óleo quando comparado com grupo HFD e HFD Óleo. Utilizado teste ANOVA de uma via, com pós teste Holm-Sidak $p < 0,05$, $n = 7-12$ por grupo. HFD grupo que recebeu somente dieta hiperlipídica por 56 dias. HFD Óleo grupo que recebeu dieta hiperlipídica por 28 dias e após recebeu 28 dias dieta hiperlipídica e suplementação com óleo. 56 HFD Óleo grupo que recebeu dieta hiperlipídica e suplementação com óleo por 56 dias.

A constante de decaimento (KITT), quando calculada, também não

apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (dados não mostrados). Quando a glicemia dos animais alimentados foi avaliada, este parâmetro também não apresentou diferença, não houve efeito da suplementação com óleo, estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparados os grupos HFD; HFDO e 56 HFD Óleo (Figura 26.E).

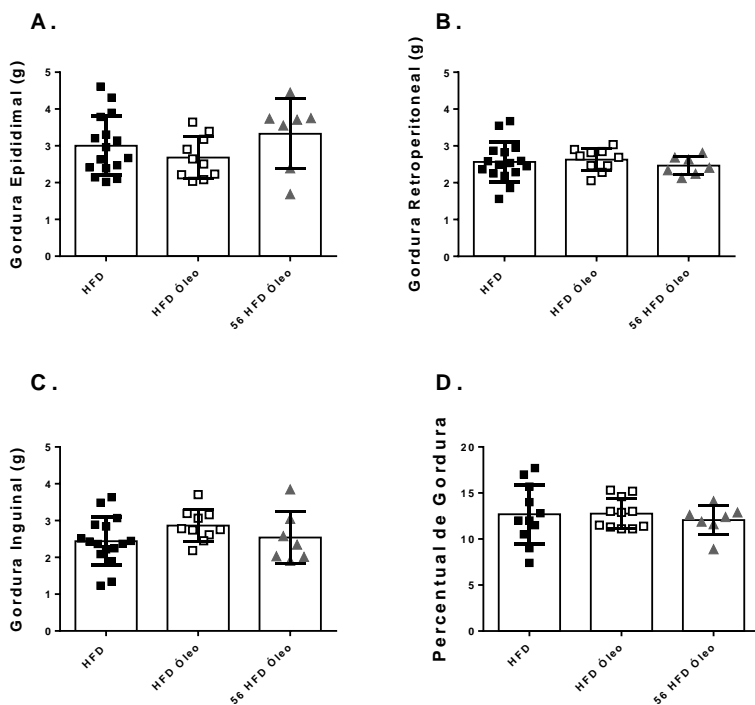
5.5.3 Massa adiposa

Quando analisadas as massas das gorduras epididimal, retroperitoneal, inguinal e o percentual de gordura (Figura 27.A, B, C, D respectivamente), nenhum dos parâmetros apresentou redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos animais, independente do protocolo de suplementação (somente na segunda fase, grupo HFDO ou durante 56 dias, grupo 56 HFD Óleo) quando comparados com os animais que receberam somente dieta hiperlipídica durante todo o protocolo. Portanto, a ingestão de óleo não foi capaz de prevenir ou atenuar o ganho de massa adiposa induzida por dieta hiperlipídica.

5.5.4 Perfil lipídico sério e hepático

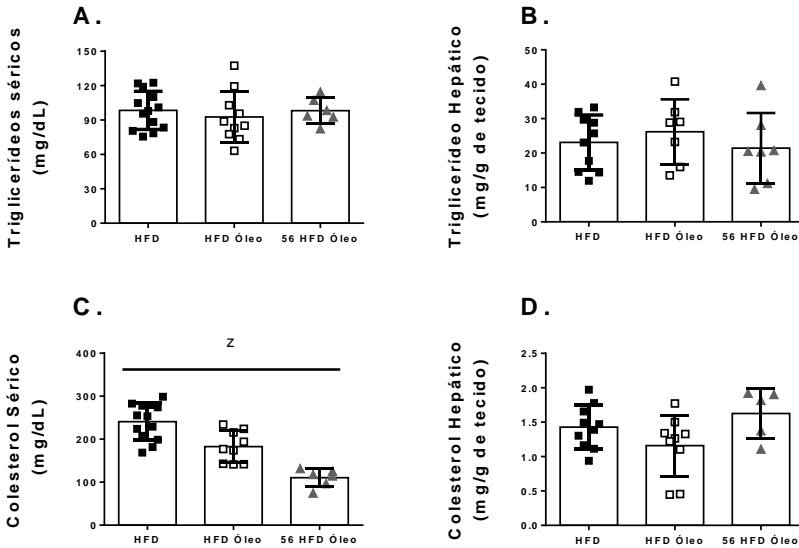
Foram analisados o perfil lipídico sério dos animais no soro coletado na eutanásia. Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de TG sério (Figura 28.A) nem hepático (Figura 28.B) quando comparados os grupos HFD; HFDO e 56 HFD Óleo. Por conseguinte, a suplementação com óleo não preveniu ou atenuou o acúmulo de triacilgliceróis no soro nem no fígado, induzidos por dieta hiperlipídica. Entretanto, a suplementação com óleo rico em ácido palmítico preveniu o aumento nas concentrações séricas de colesterol total ($p < 0,05$) (Figura 28.C). Embora o efeito não permaneceu quando analisadas as concentrações de colesterol total no fígado, ou seja, quando comparados HFD, HFDO e 56 dias HFD óleo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para colesterol total hepático (Figura 28.D.)

Figura 27 - Massa de tecido adiposo.



(A) Massa de tecido adiposo retroperitoneal (B) Massa de tecido adiposo inguinal (C). Percentual de gordura (D). Foto representativa do grupo Controle do tecido adiposo epididimal (E) Foto representativa do grupo HFD do tecido adiposo epididimal (F). Dados são média \pm DP. Letra “d” indica diferença estatisticamente significativa entre grupo que recebeu dieta hiperlipídica (HFD) em relação ao grupo HFDO e 56 HFD Óleo. Utilizado teste ANOVA de uma via com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 7-12$ por grupo.

Figura 28 - Concentração de triacilgliceróis séricos.



(A) Concentração de triacilgliceróis séricos (B) Concentração de colesterol hepático (C). Concentração de colesterol sérico (D). Dados são média ± DP. Letra “z” indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos HFD e HFDO e 56 HFD Óleo. Utilizado teste ANOVA de uma via com pós teste Holm-Sidak, $p < 0,05$, $n = 7-16$.

Tabela 8 - Resumo dos resultados.

	HFD 28 e 58	REVERS.	HFD Óleo*	28 HFD Óleo #	56 HFD Óleo*
Adiposidade	Induziu aumento	Reverteu	Não alterou	Preveniu desenvolvimento	Não alterou
[TG] sérico	Não alterou	Não alterou	Não alterou	Não alterou	Não alterou
[Colesterol total sérico]	Induziu aumento	Reverteu	Reduziu	Preveniu aumento	Atenuou aumento
Esteatose hepática	Induziu	Reverteu	Não alterou	Preveniu desenvolvimento	Não alterou
Tolerância à glicose	Reduziu	Reverteu	Não alterou	Preveniu redução	Atenuou redução
Sensibilidade à insulina	Reduziu	Reverteu	Aumentou	Não alterou	Não alterou
Insulinemia	Induziu aumento	Reverteu	Reduziu	Não avaliado	Não avaliado

* Quando comparado com grupo que recebeu somente dieta hiperlipídica por 56 dias

Quando comparado ao respectivo grupo que recebeu somente dieta hiperlipídica por 28 dias.

REVERS.: Reversibilidade.

6 DISCUSSÃO

6.1 FASE I: INDUÇÃO DA OBESIDADE

Os animais alimentados com dieta hiperlipídica obtiveram ganho de massa corpórea, tecido adiposo e maior percentual de gordura. Assim, quatro semanas de exposição à dieta promoveram o desenvolvimento de um modelo viável e reprodutível de obesidade induzida por dieta hipercalórica e hiperlipídica em camundongos Swiss.

Além da indução da obesidade, observou-se também prejuízo no metabolismo de carboidratos e lipídeos: resistência à ação da insulina, alta glicemia de jejum, menor tolerância à glicose, maior acúmulo hepático de lipídeos e aumento das concentrações séricas de colesterol total. Embora os animais que receberam a dieta hiperlipídica tenham consumido uma quantidade menor de ração em gramas, e uma quantidade semelhante de ração em quilocalorias, eles apresentaram maior consumo de quilocalorias provenientes de lipídeos, especialmente gordura saturada.

O aumento do consumo energético nas duas primeiras semanas contribuiu para o balanço energético positivo e, conseqüentemente, aumento da massa adiposa. Entretanto, o aumento de ingestão energética não é o único fator que favorece aumento da adiposidade, que pode estar relacionada com a maior ingesta de lipídeos, especialmente ácidos graxos saturados. Como demonstrado por Vessby et al. (2001) e Buettner et al., (2006), que avaliaram o efeito da ingestão de dietas hiperlipídicas e concluíram que as dietas compostas por banha de porco, contendo alto teor de gordura saturada, são capazes de promover, de forma mais pronunciada, obesidade e resistência à insulina quando comparadas às dietas normolipídicas e normocalóricas.

O consumo de ácidos graxos saturados como o palmítico, presente na banha de porco, comumente utilizado em dietas hiperlipídicas, contribui diretamente para aumento da lipogênese e depósito de microvesículas de gordura no fígado (BUETTNER et al., 2006). Portanto a utilização de dieta hiperlipídica por 4 semanas em camundongos *Swiss* é capaz de promover um modelo experimental viável para o estudo da obesidade e comorbidades associadas, informações estas condizentes com a literatura (FUJITA; MAKI, 2015; YKI JÄRVINEN et al., 2014).

6.2 FASE II: REVERSIBILIDADE DO QUADRO DE OBESIDADE E INTERVENÇÃO COM SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO RICO EM ÁCIDO PALMITOLEICO

A interrupção da dieta hiperlipídica e retorno à dieta padrão reverteu os efeitos metabólicos da dieta em todos os parâmetros analisados. Entre as consequências da retirada da dieta hiperlipídica estão: diminuição da massa corporal e adiposa; aumento da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina, redução da insulinemia de jejum, redução da esteatose hepática (concentrações sérias e hepáticas de TG), redução nas concentrações séricas e hepáticas de colesterol total e redução no percentual de gordura em todas os tecidos adiposos analisados.

A dieta hiperlipídica com 58% das Kcal provenientes de gordura produziu efeitos metabólicos durante a Fase I e, estes efeitos, permaneceram nos animais cuja exposição à dieta foi mantida. Assim, é esperado que a retirada do insulto de lipídeos, fator causal das perturbações metabólicas, provoque a reversibilidade do quadro.

No grupo REV a redução da massa corporal e adiposa foi acompanhada de aumento no consumo (em gramas) de ração e consumo similar em Kcal, porém menor em Kcal proveniente de lipídeos. Para a redução da massa corporal, melhora na sensibilidade à insulina e redução das concentrações plasmáticas de colesterol total e TG, recomenda-se a redução do consumo de gordura saturada, totalizando até 10% do valor calórico diário (ABESO, 2016).

A redução na ingesta de gorduras, especialmente saturada, reduz a sobrecarga e lipotoxicidade nas organelas celulares mitocôndria e retículo endoplasmático. A redução da sobrecarga diminui a produção de ERO e ativação de vias pró-inflamatórias, que anteriormente prejudicavam à sinalização da via insulínica. Assim, a sensibilidade à insulina é reestabelecida (PARK et al., 2017). No fígado a sensibilidade à insulina é acompanhada de redução da gliconeogênese, aumento da glicogênese e, portanto, redução da glicemia de jejum. No músculo e tecido adiposo, a sensibilidade à insulina promove a incorporação de transportadores GLUT4 na membrana celular, por conseguinte a sinalização via insulina melhora a captação de glicose nestes tecidos (THORENS; CHARRON; LODISH, 1990).

O tecido adiposo, nestas condições, além de receber menor teor de lipídeos da dieta, deixa de exportar em concentrações patológicas os ácidos graxos que se acumulariam em tecidos não adiposos. Ademais, a melhora na sensibilidade à insulina promove adipogênese, favorecendo a hiperplasia de adipócitos e não a hipertrofia (ROSEN; SPIELGEMAN,

2006).

A mudança na qualidade da dieta, que fornece percentual adequado de macronutrientes e Kcal parece realmente ser determinante para reverter as complicações metabólicas apresentadas. Os animais dos grupos HFD e REV não apresentaram diferenças nas Kcal ingeridas durante a maior parte do tratamento. Somente na última semana a ingestão quilocalórica foi maior no grupo REV.

Fato este que reforça a importância da qualidade e densidade energética das dietas, pois mesmo sem restrições energéticas, 4 semanas foram suficientes para reestabelecimento da normalidade dos parâmetros avaliados. Estudos que utilizam a restrição calórica (RC), definida como uma redução da ingestão calórica abaixo do *ad libitum*, sem desnutrição observam redução da gordura corporal, melhora na sinalização da insulina, dislipidemias e atenuação de danos oxidativos (PARK et al., 2017).

O presente estudo, mesmo sem alterar significativamente o consumo quilocalórico total, atingiu este padrão de resultados. Dietas com alto teor de lipídeos são pró- inflamatórias (BAER et al., 2004). A alteração de dieta com menor teor de lipídeos, por fornecer baixa quantidade de gordura saturada e promover redução da massa adiposa, pode interferir na expressão de genes pró-inflamatórios (MCP-1, TNF- α e IL-1 β) no fígado e tecido adiposo e reduzir intermediários lipídicos (BAER et al., 2004). Assim, o quadro inflamatório de baixo grau pode ser revertido, que, conseqüentemente contribui para melhora na sensibilidade à insulina, sinalização que é diretamente afetada por citocinas pró-inflamatórias (FRAYN, 2002).

Outro mecanismo responsável pelo menor acúmulo de ácidos graxos e utilização dos mesmos como fonte de energia, está envolvido com a maior expressão de genes envolvidos na oxidação de AG, como CPT-1 α e PPAR- α . Assim, há a redução de lipídeos circulantes, acúmulo no tecido adiposo e tecidos não-adiposos. Mecanismo este que pode estar presente no modelo na reversibilidade, assim como observado em estudo com RC de 15% (FAN et al., 2003).

A suplementação com óleo rico em palmitoleico não provocou nenhuma alteração nos animais que receberam dieta padrão após indução da obesidade. O reestabelecimento da normalidade dos parâmetros metabólico nos grupos Reversibilidade deram-se somente a mudança da composição e qualidade da dieta. Nesta fase os animais foram avaliados apenas após 4 semanas de tratamento. Assim, no transcorrer das quatro semanas a suplementação pode ter exercido algum efeito temporário que não pôde ser detectado neste protocolo. Os efeitos da suplementação com

óleo rico em ácido palmitoleico como tratamento das alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica envolvem: redução da glicemia de jejum, aumentou a sensibilidade à insulina, redução da insulinemia de jejum e redução da concentração sérica de colesterol total. A redução da glicemia de jejum no grupo HFO não foi associada à maior concentração de glicogênio hepático.

Estudo realizado em 2014 por Souza et al. indicou que a camundongos tratados com HFD durante 12 semanas e tratados com ácido palmitoleico nas últimas duas semanas apresentaram redução na glicemia de jejum, melhora da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina, independente da ativação da via clássica da insulina (IRS e Akt) no fígado. No mesmo estudo, os autores não observaram modulação das enzimas envolvidas na gliconeogênese, somente na secreção de insulina.

Embora a suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico não tenha influenciado a área sob a curva total durante o teste de tolerância à glicose, ocorreu retardo na glicemia de pico durante ipGTT. Este efeito pode estar relacionado ao mecanismo de secreção de insulina de primeira fase, no qual as vesículas contendo o hormônio são prontamente liberadas pelas células β -pancreáticas (CAUMO; LUZI, 2004). É possível que os animais tratados com o óleo apresentassem melhor secreção nos minutos iniciais do teste. Contudo, isto ainda necessita ser demonstrado experimentalmente. A maior sensibilidade à insulina no grupo suplementado com óleo rico em ácido palmitoleico nos 28 dias finais de exposição à dieta é outro fator que pode auxiliar a explicar os resultados do teste de ipGTT. Uma maior sensibilidade pode em potencial retardar picos glicêmicos por maior captação da glicose que entra na corrente sanguínea nos minutos iniciais do teste. A maior captação de glicose no músculo esquelético e no tecido adiposo depende de insulina, através da translocação do transportador de glicose GLUT-4. Com resposta mais eficiente destes tecidos, captando maior quantidade de glicose, reduzem as concentrações séricas e contribuem para redução da glicemia de pico (DIMOPOULOS et al., 2006). A sensibilidade hepática à insulina também influencia a redução da glicemia de pico, pois a insulina estimula a gliconeogênese. Neste efeito anabólico as moléculas de glicose são adicionadas a cadeia de glicogênio, estímulo que reduz a glicemia. Esta via também é ativada no músculo esquelético pelo ácido palmitoleico, ou seja, também contribui para a redução da glicemia (SOUZA et al., 2006). Ambos os fatos de retardo na glicemia de pico e aumento da sensibilidade à insulina interferem diretamente na produção de insulina na célula β -pancreática. Nestas condições, menor quantidade de hormônio é necessário para exercer efeitos biológicos. No entanto, como o pico tardio

de glicemia é equivalente ao do grupo HFD não tratado por óleo, é possível que distúrbios na secreção de insulina ou na sensibilidade ao hormônio ainda estejam presentes nos animais que receberam o óleo. Assim, existem diferentes mecanismos que necessitam de investigação adicional para podermos afirmar com maior exatidão como a suplementação com o óleo, na configuração em discussão, promoveram os efeitos observados.

Quando células beta pancreáticas foram expostas à ácido palmítico e sua função foi prejudicada, a exposição ao ácido palmitoleico aumentou a produção e secreção de insulina, nas células beta (MAEDLER et al., 2003). Ademais, o ácido palmitoleico promoveu uma maior secreção de insulina das ilhotas pancreáticas, tanto em humanos quanto em camundongos expostas a várias concentrações de glicose (GRAVENA et al., 2002).

O mesmo grupo de pesquisadores, Souza et al., (2016) reproduziu o modelo experimental, ou seja, camundongos tratados com HFD durante 12 semanas e tratados com ácido palmitoleico nas últimas duas semanas. Por conseguinte, os animais também apresentaram melhora na tolerância à glicose e sensibilidade à insulina, independente da ativação da via clássica da insulina (IRS e Akt) no fígado, entretanto os efeitos foram acompanhados de aumento na secreção de insulina. No mesmo estudo, os autores demonstraram que a captação de glicose foi afetada pela expressão de glicocinase nos grupos tratados com ácido palmitoleico. Assim, a suplementação nas duas últimas semanas de tratamento indica uma melhor resposta à insulina e maior captação de glicose no fígado dos camundongos HFD. Os autores também mostraram que a captação de glicose hepática foi relacionada a maior fosforilação da AMPK em animais suplementados com ácido palmitoleico. Outros estudos mostraram aumento da fosforilação da AMPK em adipócitos e macrófagos expostos ao ácido palmitoleico, assim, as células apresentaram aumento no metabolismo oxidativo (BOLSONI-LOPES et al., 2014; CHAN et al., 2015). A ativação da AMPK aumenta a glicólise, a fosforilação oxidativa, a β -oxidação de ácidos graxos; enquanto inibe a produção de glicose e a síntese de proteínas relacionadas a síntese de lipídios (HARDIE et al., 2012). Outros autores mostraram que o ácido palmitoleico melhorou a captação e oxidação de glicose no tecido adiposo (BOLSONI-LOPES et al., 2014; CAO et al., 2008; YANG et al., 2011a) e músculo esquelético (DIMOPOULOS et al., 2006). Entretanto, os efeitos na captação de glicose hepática ainda não estão esclarecidos.

No presente estudo, a suplementação com ácido palmitoleico não reduziu o acúmulo hepático de TG nem reduziu as concentrações séricas

de TG, somente de colesterol total sérico. Souza et al., (2014) também não encontraram alterações na esteatose hepática, concentrações séricas de TG e colesterol total e LDL. Embora a suplementação com ácido palmitoleico tenha diminuído a inflamação hepática nos camundongos, diminuindo os níveis de IL-1 β e IL-12, reduzido os níveis de mRNA hepático e a proteína TLR4. Ademais, diminuiu a fosforilação da serina de NF κ B p65. Algo similar também foi demonstrado em outros estudos. Guo et al., (2012) submeteu camundongos C57BL/6 à dieta hiperlipídica (60%) por 12 semanas e nas últimas 4 semanas administrou palmitoleico na dose de 600mg/Kg. Os pesquisadores não observaram redução da concentração plasmática de TG que foi acompanhada de aumento da esteatose hepática, expressão de mRNA para enzima FAS, responsável pela síntese de ácidos graxos. Embora a suplementação tenha reduzido a fosforilação NF-kB p65 e expressão de citocinas pró- inflamatórias em hepáticos.

Observamos que as concentrações séricas de colesterol total foram reduzidas no grupo que recebeu dieta hiperlipídica e óleo rico em ácido palmitoleico. Os efeitos associados a redução do colesterol podem estar relacionados a ligação do palmitoleico com ligantes de elementos reguladores os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs), reduzindo a expressão de proteínas reguladoras de elementos de esteróis (SREBPs) e promovendo ativação da proteína AMPK (SOUZA et al., 2016). Estes efeitos estão relacionados a adipogênese, menor formação de VLDL hepática e aumento da β - oxidação, por conseguinte estes estímulos poderiam atuar na normalização do perfil lipídico sérico, reduzindo o risco cardiovascular (FERNANDEZ; WEST, 2005).

6.3 SUPLEMENTAÇÃO CONCOMITANTE A INDUÇÃO DA OBESIDADE POR 28 E 56 DIAS

A mudança do protocolo experimental provocou mudanças importantes decorrentes da ingestão com óleo concomitante a exposição a dieta hiperlipídica. Inicialmente, no protocolo de 28 dias de suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico foram observadas alterações na prevenção do ganho de massa adiposa; aumento da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina e prevenção do desenvolvimento de esteatose hepática somada a redução da concentração de colesterol total sérico.

Entretanto, com o protocolo de 56 dias de HFD e ingestão de óleo

rico em ácido palmitoleico os efeitos não foram robustos quanto no protocolo anterior. Observa-se que, após 56 dias, a ingestão de óleo não atenua o ganho de massa adiposa ou esteatose hepática e não interfere nas concentrações de TG sérico ou colesterol total hepático. Entretanto, a suplementação com óleo impede o aumento das concentrações séricas de colesterol total, melhora a tolerância à glicose mesmo sem melhorar a sensibilidade aparente à insulina.

No protocolo de 28 dias, mesmo os animais do grupo HFD e 28 dias HFD Óleo não apresentarem diferença no consumo de dieta hiperlipídica e massa corporal, a diferença no percentual de gordura é marcante. Assim, a suplementação com óleo palmitoleico junto com a exposição à dieta hiperlipídica preveniu o acúmulo de massa adiposa.

O menor ganho de massa adiposa pode ser um fator importante que contribuiu para o perfil glicêmico dos animais suplementados com óleo. Pois, a expansão do tecido adiposo na obesidade é um fator que influencia o desencadeamento do quadro inflamatório de baixo grau, observado em indivíduos com menor sensibilidade à insulina (DUCKETT et al., 2014). Assim, prevenir o ganho de massa influencia diretamente na produção de citocinas pró-inflamatórias e intermediários lipídicos que irão prejudicar a sinalização da via da insulina. Entretanto, neste modelo de suplementação como prevenção do desenvolvimento de distúrbios metabólicos, a ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico não aumentou a sensibilidade à insulina.

A obesidade resulta do aumento no tamanho e no número de adipócitos. O balanço entre adipogênese e adiposidade determina o grau de obesidade do indivíduo. Adipócitos maduros secretam adipocinas, tais como TNF α , IL-6, leptina e adiponectina, e lipocina, o ácido palmitoleico ω -7. A produção de adipocinas é maior na obesidade, o que contribui para o estabelecimento de resistência periférica à insulina. O alto teor de gordura da dieta influencia a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos (adipogênese) e promovem obesidade. A ativação do fator de transcrição PPAR γ é essencial na adipogênese. Como citado anteriormente, o ácido palmitoleico pode se ligar em PPARs e pode, assim, controlar a adipogênese. Além disso, esta ligação promove ativação de vias de sinalização, em adipócitos, regulando sua diferenciação ou morte. Dessa forma, a composição lipídica da dieta e os agonistas de PPAR γ podem regular o balanço entre adipogênese e morte de adipócitos e, portanto, a obesidade (TZAMELI et al., 2004). Investigações relacionadas a suplementação com palmitoleico ainda estão sendo desenvolvidas. Estudo que observou a exposição de ácido palmitoleico em adipócitos aumentou a lipólise e a transcrição de genes

para CPT1 e β -oxidação (BOLSONI-LOPES et al., 2013). Assim, a exposição do ácido palmitoleico, neste caso, contribuiu para que ácidos graxos fossem mobilizados e utilizados como fonte de energia.

O efeito protetor na homeostase glicêmica derivado da ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico, encontrado no presente estudo é algo ainda desconhecido na literatura, pois os estudos utilizaram ácido palmitoleico apenas como tratamento. O ácido palmitoleico poderia aumentar a tolerância à glicose por aumentar a sensibilidade à insulina no músculo esquelético e, conseqüentemente a translocação do transportador de glicose, GLUT4 no músculo, oxidação de glicose e síntese de glicogênio (CAO et al., 2008; DIMOPOULOS et al., 2006). Entretanto, no presente estudo, quando a ingestão de óleo palmitoleico foi concomitante a dieta hiperlipídica, ou seja, como preventivo, não foi observada melhora na sensibilidade à insulina. Assim, quando a ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico foi utilizada com intuito de prevenir perturbações na homeostase glicêmica parece que outros mecanismos podem atuar para aumentar a tolerância à glicose, pois em ambos os protocolos (28 e 56 dias) a tolerância a glicose aumentou, com a redução das glicemias de pico. Assim, a inibição da gliconeogênese e glicogenólise hepáticas, aumento secreção de insulina, aumento na captação hepática de glicose via AMPK, poderiam ser mecanismos responsáveis pela maior tolerância à glicose nos animais suplementados (BOLSONI-LOPES et al., 2014; SAOUZA et al., 2016). Há evidências que o prejuízo na fase I de secreção de insulina é muito importante no desenvolvimento de diabetes mellitus tipo II. A insulina exerce *feedback* positivo na sua própria secreção, pela interação com seu receptor em células β pancreáticas e alterações nesses mecanismos moleculares da via de sinalização insulínica sugerem uma associação entre resistência à insulina e diminuição da secreção deste hormônio (GRAVENA et al., 2002; MAEDLER et al., 2003).

Estudos que avaliaram a sensibilidade hepática à insulina e esteatose hepática em modelos com suplementação com ácido palmitoleico ainda apresentam resultados controversos (GUO et al., 2012; SOUZA et al., 2014; SOUZA et al., 2016). Embora no protocolo de 28 dias a ingestão de óleo impediu o acúmulo acentuado de triacilgliceróis no fígado, no protocolo de 56 dias este dado não se repete. Ou seja, após 56 dias o alto teor de lipídeos da dieta parece predominar sobre o efeito protetor da suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico. Eventos estes que reforçam a contribuição da lipotoxicidade no prejuízo a sensibilidade à insulina e o papel do fígado neste processo.

Entretanto, a suplementação com óleo rico em ácido palmitoleico

parece ser efetiva na prevenção do aumento das concentrações séricas de colesterol total. Apesar do estudo não analisar as frações do colesterol, a menor concentração de colesterol total é um potencial indicador de proteção cardiovascular. Estudos em modelos animais com alterações no perfil lipídico e com humanos dislipidêmicos mostram resultados controversos quandoos mesmos foram expostos ao ácido palmitoleico. A ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico atuou tanto na redução de TG, colesterol total, LDL séricos, porém também não modificou estas variáveis quando analisadas em humanos e modelos animais (YANG; MIYAHARA; HATANAKA, 2011; GUO et al., 2012; BERNSTEIN; ROIZEN; MARTINEZ, 2014). Estes estudos, assim como outros publicados avaliaram os efeitos da ingestão de ácido palmitoleico como tratamento. Ou seja, em humanos, modelos experimentais os animais ou células são induzidos à distúrbios metabólicos prévios a exposição e, em humanos, os estudos também são realizados em indivíduos com alguma doença.

No presente trabalho avaliamos o efeito protetor da ingestão de óleo rico em ácido palmitoleico e os dados indicam ser uma estratégia interessante para retardar ou atenuar os efeitos de uma dieta composta por 58% do valor energético proveniente de gordura, especialmente saturada. Contudo, o presente estudo apresentou algumas limitações. Não realizamos dosagens das frações de colesterol sérico par saber em qual delas os efeitos observados foram principalmente significativos. Também não verificamos a incorporação do ácido graxo palmitoleico em amostras biológicas dos animais suplementados e a presença deste ácido graxo nas dietas utilizadas. Por conseguinte, não realizamos a acompanhamento semanal após modificação da dieta, no caso do grupo reversibilidadee da suplementação no caso do grupo HFDO. Este acompanhamento poderia ter revelado diferentes dinâmicas das adaptações a alteração da dieta. Apesar das limitações citadas, não acreditamos que elas comprometem ou diminuem de alguma forma a relevância dos principais achados do trabalho.

7 CONCLUSÕES

Concluimos que a ingestão de óleo rico em ácido graxo palmitoleico na dose de 1g/kg de massa corporal por dia previne, atenua e trata algumas alterações metabólicas induzidas por dieta hiperlipídica. Os efeitos da ingestão parecem ser principalmente relacionados à homeostase glicêmica. Contudo, a eficácia da intervenção é claramente dependente do momento de início e duração da suplementação. Sendo mais evidentes os resultados positivos quando a suplementação com óleo 50% de ácido palmitoleico inicia junto com indução da obesidade por dieta hiperlipídica. Desta forma, a ingestão do óleo atenua eficientemente o aparecimento de comorbidades relacionadas ao excesso de peso. Portanto, estudos adicionais seriam importantes para o entendimento dos mecanismos envolvidos nestes achados. Adicionalmente, estudos em humanos são relevantes para verificar a translação de alguns dos achados e, futuramente, traçar estratégias de inserção desta intervenção nutricional em algumas situações de interesse clínico.

REFERÊNCIAS

ABIFADEL, M. *et al.* Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. **Nature Genetics**, EUA, v. 34, n. 2, p. 154–156, 2003.

ANDRIKOPOULOS, S. *et al.* Evaluating the glucose tolerance test in mice. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, EUA, v. 295, E. 1323–1332, 2008.

ARNER, E. *et al.* Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 59, p. 105–109, 2010.

ARNER, P. *et al.* Variations in the size of the major omentum are primarily determined by fat cell number. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, EUA, v. 98, E. 897–901, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Diretrizes brasileiras de obesidade**. 4. ed. São Paulo, 2016.

BAER, D. J. *et al.* Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. **American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v. 79, p. 969–973, 2004.

BAIGENT, C. *et al.* Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. **The Lancet**, EUA, v. 366, p. 1267–1278, 2005.

BOLSONI-LOPES, A. *et al.* Palmitoleic acid n-7 increases white adipocyte lipolysis and lipase content in a PPAR α -dependent manner. **American Journal Physiologi Endocrinol Metabolism**, EUA, v. 1, n. 305, p. E. 1093–1102, 2013.

BOLSONI-LOPES, A. *et al.* Palmitoleic acid n-7 increases white adipocytes GLUT4 content and glucose uptake in association with AMPK activation. **Lipids in Health and Disease**, EUA, v. 13, n. 199, p. 1–10, 2014.

BUETTNER, R. *et al.* Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **Journal of Molecular Endocrinology**, EUA, v. 36, p. 485–501, 2006.

BUETTNER, R.; SCHOLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, Silver Spring, v. 15, p. 798–808, 2007.

CAUMO, A.; LUZI, L. First-phase insulin secretion: does it exist in real life? Considerations on shape and function. **American Journal Physiologi Endocrinol Metabolism**, EUA, v. 287, E. 371–385, 2002.

CAO, H. *et al.* Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. **Cell**, EUA, v. 134, n. 6, p. 933–944, 2008.

CHALKLEY, S. M. *et al.* Long-term high-fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats. **American Journal Physiologi Endocrinol Metabolism**, EUA, v. 282, E. 1231–1238, 2002.

ÇIMEN, I. *et al.* Prevention of atherosclerosis by bioactive palmitoleate through suppression of organelle stress and inflammasome activation. ed. 358. **Science Translational Medicine**, EUA, v. 8, p. 358ra126, 2016.

CINTI, S. G. *et al.* Obin, Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. **Journal of Lipid Research**, EUA, v. 46, p. 2347–2355, 2005.

CNOP, M. *et al.* Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 50, n. 8, p. 1771–1777, 2001.

CURB, J. D. *et al.* Serum lipid effects of a high-monounsaturated fat diet based on macadamia nuts. **Archives of Internal Medicine**, EUA, v.

160, p. 1154–1158, 2000.

DIMOPOULOS, N. *et al.* Differential effects of palmitate and palmitoleate on insulin action and glucose utilization in rat L6 skeletal muscle cells. **Biochemical Journal**, EUA, v. 399, n. 3, p. 473–481, 2006.

DINU, M. *et al.* Mediterranean diet and multiple health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. **European Journal of Clinical Nutrition**, EUA, v. 72, p. 30–43, 2017.

DUCKETT, S. K. *et al.* Palmitoleic acid reduces intramuscular lipid and restores insulin sensitivity in obese sheep. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, n. 7, p. 553–563, 2014.

ENES, C. C.; SILVA, M. V. Disponibilidade de energia e nutrientes nos domicílios: o contraste entre as regiões Norte e Sul do Brasil. **Revista Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 4, p. 1267–1276, 2009.

ENGIN, A. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *In*: COHEN, I. R. (Ed.). **Advances in Experimental Medicine and Biology**, EUA, v. 960, p. 443–467, 2017.

FAN, J.-G. *et al.* Effects of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia. **World Journal of Gastroenterology**, EUA, v. 9, n. 9, p. 2045–2049, 2003.

FARESE, R. V. *et al.* The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. **Cell Metabolism**, EUA, v. 15, p. 570–573, 2012.

FERNANDES, M. R. *et al.* Animal models of obesity in rodents. An integrative review. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 31, n. 12, p. 840–844, 2016.

FERNANDEZ, M. L.; WEST, K. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. **Journal of Nutrition**, EUA, v. 135, n. 9, p. 2075–2078, 2005.

FRAULOB, J. C. *et al.* A mouse model of metabolic syndrome: insulin

resistance, fatty liver and non-alcoholic fatty pancreas disease (NAFPD) in C57BL/6 mice fed a high fat diet. **Journal Clinical Biochemistry and Nutrition**, EUA, v. 46, p. 212–223, 2010.

FRAYN, K. N. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. **Diabetologia**, EUA, v. 45, n. 9, p. 1201–1210, 2002.

FRIGOLET, M. E.; GUTIÉRREZ-AGUILAR, R. The Role of the Novel Lipokine Palmitoleic Acid in Health and Disease. **Advances in Nutrition**, EUA, v. 8, n. 1, E. 173–181, 2017.

FUJITA, Y.; MAKI, K. High-fat diet-induced obesity triggers alveolar bone loss and spontaneous periodontal disease in growing mice. **BMC Obesity**, EUA, v. 3, n. 1, 2016.

GARCÍA-CAÑAS, V. *et al.*. Present and future challenges in food analysis: foodomics. **Analytical Chemistry**, EUA, v. 84, n. 23, p. 10150–10159, 2012; Epub 2012 sep. 19.

GERHARD, G. S. *et al.* Identification of Novel Clinical Factors Associated with Hepatic Fat Accumulation in Extreme Obesity. **Journal of Obesity**, EUA, Article ID 368210, 8 pages, 2014,

GHIBAUDI, L. *et al.* Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. **Obesity Research**, EUA, v. 10, p. 956–963, 2002.

GOERANSSON, G. The metabolism of fatty acids in the rat. V. Palmitoleic acid. **Acta Physiologia Scand**, EUA, v. 63, p. 428–433, 1965.

GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. The LDL receptor. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, EUA, v. 29, n. 4, p. 431–438, 2009.

GRAHAM, L. S. *et al.* Bone density and hyperlipidemia: the T-lymphocyte connection. **Journal of Bone and Mineral Research**, EUA, v. 25, p. 2460–2469, 2010.

GRAVENA, C. *et al.* Acute effects of fatty acids on insulin secretion

from rat and human islets of Langerhans. **Journal Endocrinol**, EUA, v. 173, n. 1, p. 73–80, 2002.

GUO, X. *et al.* Palmitoleate induces hepatic steatosis but suppresses liver inflammatory response in mice. **PLoS One**, EUA, v. 7, n. 6, p. 2012.

GUILHERME, A. *et al.* Adipocyte dysfunction linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, EUA, v. 9, n. 5, p. 367–377, 2008.

HAGE HASSAN, R.; BOURRON, O.; HAJDUCH, E. Defect of insulin signal in peripheral tissues: Important role of ceramide. **World Journal of Diabetes**, EUA, v. 5, p. 244–257, 2014.

HAK, A. E. *et al.* Markers of inflammation and cellular adhesion molecules in relation to insulin resistance in nondiabetic elderly: the Rotterdam study. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, EUA, v. 86, p. 4398–4405, 2001.

HARDIE, D. G. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. **Endocrinology**, EUA, v. 144, n. 12, p. 5179–5183, 2003.

HORTON, J. D.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. Sterol regulatory element-binding (SREBPs): activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. **Journal of Clinical Investigation**, EUA, v. 109, p. 1125–1131, 2002.

HUSSAIN, M. M. Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. **Current opinion in lipidology**, EUA, v. 25, n. 3, p. 200–206, 2014.

IBÁÑEZ, C. *et al.* Global Foodomics strategy to investigate the health benefits of dietary constituents. **Journal of Chromatography A**, EUA, v. 1248, p. 139–153, 2012.

JUNG, K. J. *et al.* Effect of short term calorie restriction on pro-inflammatory NF- κ B and AP-1 in aged rat kidney. **Inflammation Research**, EUA, v. 58, p. 143–150, 2009.

KAUTZKY-WILLER, A. *et al.* Influence of increasing BMI on insulin sensitivity and secretion in normotolerant men and women of a wide age

span. **Obesity**, Silver Spring, v. 20, p. 1966–1973, 2012.

KHAN, T, *et al.* Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen. V-VI.

Nature Reviews Molecular Cell Biology, EUA, v. 29, n. 6, p. 1575–1591, 2009.

KIDAMBI, S.; PATEL, S. B. Cholesterol and non-cholesterol sterol transporters: ABCG5, ABCG8 and NPC1L1: a review. **Xenobiotica**. The fate of foreign compounds in biological systems, [S.l.], v. 38, n. 7-8, p. 1119–1139, 2008.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Reviews Molecular Cell Biology**, EUA, v. 404, n. 6778, p. 635–643, 2000.

KROTKIEWSKI, M. *et al.* Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. **Journal of Clinical Investigation**, EUA, v. 72, p. 1150–1162, 1983.

KUMAR, R.; MOHAN, S. Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Lean Subjects: characteristics and Implications. **Journal of Clinical and Translational Hepatology**, EUA, v. 5, n. 3, p. 216–223, 2017.

LANCASTER, G. I. *et al.* Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 5, p. 1096–1110, 2018.

LEAN, M. E. *et al.* Primary care-led weight management for remission of type 2 diabetes (DiRECT): an open-label, cluster-randomised trial. **The Lancet**, EUA, v. 391, p. 541–551, 2018.

LEBENTHAL, Y. *et al.* Are treatment targets for hypercholesterolemia evidence based? Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **Archives of Disease in Childhood**, EUA, v. 95, n. 9, p. 673–680, 2010.

LEUNG, J. C. *et al.* Histological severity and clinical outcomes of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese patients. **Hepatology**, EUA, v. 65, p. 54–64, 2017.

LEVY, R. B. *et al.* Disponibilidade de açúcares de adição no Brasil: distribuição, fontes alimentares e tendência temporal. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 15, p. 3–12, 2012.

LEVY, R. B. *et al.* Distribuição regional e socioeconômica da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil em 2008-2009. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 6–15, 2012.

LEVY-COSTA, R. B. *et al.* Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 530–540, 2005.

LISTENBERGER, L. L. *et al.* Triglyceride accumulation protects against fatty acid- induced lipotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, EUA, v. 100, p. 3077–3082, 2003.

LISTENBERGER, L. L.; ORY, D. S.; SCHAFFER, J. E. Palmitate-induced apoptosis can occur through a ceramide-independent pathway. **Journal of Biological Chemistry**, EUA, v. 276, p. 14890–14895, 2001.

MABUCHI, H.; NOHARA, A.; INAZU, A. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency and CETP inhibitors. **Molecules and Cells**, EUA v. 37, n. 11, p. 777–784, 2014.

MAEDLER, K. *et al.* Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on beta-cell turnover and function. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 50, n. 1, p. 69–76, 2001.

MAEDLER, K. *et al.* Glucose-induced beta cell production of IL-beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. **Journal of Clinical Investigation**, EUA, v. 110, p. 851–860, 2002.

MAGKOS, F. *et al.* Intrahepatic diacylglycerol content is associated with hepatic insulin resistance in obese subjects. **Gastroenterology**, EUA, v. 142, p. 1444–1446, 2012.

MAGUIRE, L. S. *et al.* Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. **International Journal of Food Sciences and**

Nutrition, EUA, v. 55, p. 171–178, 2004.

MARCHESINI, G. *et al.* Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. **Hepatology**, EUA, v. 37, p. 917–923, 2003.

MAZIDI, M.; GAO, H.K.; KENGNE, A. P. Lipid accumulation product and visceral adiposity index are associated with dietary patterns in adult americans. **Medicine Baltimore**, EUA, v. 97, n. 19, p. 1–9, 2018.

MCTIGUE, K. M.; GARRETT, J. M.; POPKIN, B. M. The natural history of the development of obesity in a cohort of young U.S. adults between 1981 and 1998. **Annals of Internal Medicine**, UEA, v. 136, p. 857– 864, 2002.

MECHANICK, J. I.; HURLEY, D. L.; GARVEY, W. T. Adiposity-Based Chronic Disease as A New Diagnostic Term: the American Association of Clinical Endocrinologists And American College of Endocrinology Position Statement. **Endocrine Practice**, EUA, v. 23, n. 3, p. 372–378, 2016.

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. **Journal of Neuroscience**, EUA, v. 29, n. 2, p. 359–370, 2009.

MONTEIRO, C. A. *et al.* A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. **Caderno de Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 11, p. 2039–2049, 2010.

MUTCH, D. M. *et al.* Needle and surgical biopsy techniques differentially affect adipose tissue gene expression profiles. **American Journal of Clinical Nutrition**, UEA, v. 89, p. 51–57, 2009.

NORDESTGAARD, B. G.; LANGSTED. A. Lipoprotein(a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. **Journal of Lipid Research**, EUA, v. 57, n. 11, p. 1953–1975, 2016.

NTAMBI, J. M.; MIYAZAKI, M. Regulation of stearyl-CoA desaturases and O'DRISCOLL G, GREEN D, TAYLOR RR - Simvastatin, an HMG-Coenzyme A reductase inhibitor, improves

endothelial function within 1 month. **Circulation**, UEA, v. 95, p. 1126–1131, 1997.

OGAWA, Y. *et al.* Pathogenesis of Non-alcoholic Steatohepatitis and Its Potential Therapeutic Strategies. *In*: NAKAO, Kazuwa; MINATO, Nagahiro; UEMOTO, Shinji (Ed.). **Innovative Medicine: basic Research and Development**. Tokyo: Springer, 2015

OLIVECRONA, G. Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, EUA, v. 27, n. 3, p. 233–241, 2016.

OSSOLI, A. *et al.* Role of LCAT in Atherosclerosis. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, EUA, v. 23, n. 2, p. 119–127, 2016.

PARK, C. Y. *et al.* Effects of mild calorie restriction on lipid metabolism and inflammation in liver and adipose tissue. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, EUA, v. 26, n 490, p. 636–642, 2017.

PARK, S.; PARK, N.-Y.; VALACCHI, G.; LIM, Y. Calorie Restriction with a High-Fat Diet Effectively Attenuated Inflammatory Response and Oxidative Stress-Related Markers in Obese Tissues of the High Diet Fed Rats. **Mediators of Inflammation**, UEA, v. 2012, Article ID 984643, p. 1–11, 2012.

PATTERSON, H. C. *et al.* A respiratory chain controlled signal transduction cascade in the mitochondrial intermembrane space mediates hydrogen peroxide signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, EUA, v. 112, n. 42, E. 5679–5688, 2015.

PATTI, M. E.; KAHN, C. R. The insulin receptor—a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **Journal Basic Clin Physiol Pharmacol**, EUA, v. 9, n. 2-4, p. 89–109, 1998.

PESSIN, J. E.; SALTIEL, A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, EUA, v. 106, n. 2, p. 165–169, 2000.

PIPER, M. D.; BARTKE, A. Diet and aging. **Cell Metabolism**, EUA, v.

8, n. 2, p. 99–104, 2008.

PODRINI, C. *et al.* High-fat feeding rapidly induces obesity and lipid derangements in C57BL/6N mice. **Mamm Genome**, EUA v. 24, n. 5-6, p. 240–251, 2013.

RODRÍGUEZ, A. *et al.* The ghrelin O-acyltransferase-ghrelin system reduces TNF- α -induced apoptosis and autophagy in human visceral adipocytes. **Diabetologia**, EUA, v. 55, p. 3038–3050, 2012.

RODRÍGUEZ, A. *et al.* Visceral and subcutaneous adiposity: are both potential therapeutic targets for tackling the metabolic syndrome? **Current Pharmaceutical Design**, EUA, v.13, p. 2169–2175, 2007.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. **Reviews Molecular Cell Biology**, EUA, v. 444, p. 847–853, 2006.

ROSSMEISL, M.; RIM, J. S.; KOZA, R. A.; KOZAK, L. P. Variation in type 2 diabetes-- related traits in mouse strains susceptible to diet-induced obesity. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 52, p. 1958–1966, 2003.

ROTH, L. W.; POLOTSKY, A. J. Can we live longer by eating less? A review of caloric restriction and longevity. **Maturitas**, EUA, v. 71, n. 4, p. 315–319, 2012.

ROSSMEISL, M. *et al.* Role of energy charge and AMP-activated protein kinase in adipocytes in the control of body fat stores. **International Journal of Obesity**, EUA, v. 28, p. 38–44, 2004.

SAJAN, M. P. *et al.* Hepatic insulin resistance in ob/ob mice involves increases in ceramide, aPKC activity, and selective impairment of Akt-dependent FoxO1 phosphorylation. **Journal of Lipid Research**, EUA, v. 56, p. 70–80, 2015.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Reviews Molecular Cell Biology**, EUA, v. 414, p. 799–806, 2001.

SCHIMMACK, G.; DEFRONZO, R. A.; MUSI, N. AMP-activated

protein kinase: role in metabolism and therapeutic implications. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, EUA, v. 8, n. 6, p. 591–602, 2006.

SCHMIDT, M. I. *et al.* Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **The Lancet** EUA, v. 377, p. 1949–1961, 2011.

SHAI, I. *et al.* Dietary Intervention Rando-mized Controlled Trial (DIRECT) Group. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. **New England Journal of Medicine**, EUA, v. 359, n. 3, p. 229–241, 2008.

TRAYHURN, P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. **Physiological Reviews**, EUA, v. 93, n. 1, p. 1–21, 2013.

SHARMA, B.; JOHN, S. Hepatitis, Nonalcoholic Steatohepatitis. **StatPearls Publishing**, Treasure Island, v. 37, p. 917–923, 2017.

SHARMA, A. M.; CAMPBELL-SCHERER, D. L. Redefining obesity: Beyond the numbers. **Obesity**, EUA, v. 25, p. 660–661, 2017.

SHI, H. *et al.* TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, EUA, v. 116, n. 11, p. 3015–3025, 2006.

SCHMIDT, M. I. *et al.* Chronic noncommunicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **The Lancet**, EUA, v. 377, p 1949–1961, 2011.

SOUZA, C. O. *et al.* Palmitoleic acid (n-7) attenuates the immunometabolic disturbances caused by a high-fat diet independently of PPAR α . **Mediators of Inflammation**, EUA, v. 2014, Article ID 582197, 12 pages, 2014.

SOUZA, C. O. *et al.* Is Palmitoleic Acid a Plausible Nonpharmacological Strategy to Prevent or Control Chronic Metabolic and Inflammatory Disorders? **Molecular Nutrition & Food Research**, EUA, v. 62, n. 1, 2018.

SOUZA CO. Palmitoleic acid reduces the inflammation in LPS-

stimulated macrophages by inhibition of NF κ B, independently of PPARs. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, EUA, v. 44, p. 566–575, 2017.

SOUZA, C. O. *et al.* Palmitoleic Acid Improves Metabolic Functions in Fatty Liver by PPAR α -Dependent AMPK Activation. **Journal of Cellular Physiology**, EUA, v. 232, p. 2168–2177, 2016.

SPALDING, K. L. *et al.* Dynamics of fat cell turnover in humans. **Reviews Molecular Cell Biology**, EUA, v. 453, p.783–787, 2008.

SPENGLER, E. K; LOOMBA, R. Recommendations for Diagnosis, Referral for Liver Biopsy, and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. **Mayo Clinic Proceedings**, EUA, n. 59, p. 233–246, 2005.

SPOSITO, Andrei C. *et al.* Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, IV: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 88, Suplemento 1, p. 2–19, 2007.

TZAMELI, I. *et al.* Regulated production of a peroxisome proliferator-activated receptor γ ligand during an early phase of adipocyte differentiation in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, EUA, v. 279, n. 34, p. 36093–36102, 2004.

TCHERNOF, A.; DESPRÉS, J. P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. **Physiological Reviews**, EUA, v. 93, n. 1, p. 359–404, 2013.

THOMPSON, B. R.; LOBO, S.; BERNLOHR, D. A. Fatty acid flux in adipocytes: the in's and out's of fat cell lipid trafficking. **Molecular and Cellular Endocrinology**, EUA, v. 318, n. 1-2, p. 24–33, 2010.

THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporters. **Diabetes Care**, EUA, n. 13, p. 209–218, 1990.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. **Hepatology**, EUA, n.52, 1836–1846, 2010.

- TRIGATTI, B. L. SR-B1 and PDZK1: partners in HDL regulation. **Current opinion in lipidology**, EUA, v. 28, n. 2, p. 201–208, 2017.
- TSCHÖP, M.; HEIMAN, M. L. Rodent obesity models: an overview. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, EUA, v. 109, n. 6, p. 307–319, 2001.
- TURNER, N. *et al.* Distinct patterns of tissue-specific lipid accumulation during the induction of insulin resistance in mice by high-fat feeding. **Diabetologia**, EUA, v. 56, n. 7, p.1638–1648, 2013.
- UNGER, R. H. *et al.* Lipid homeostasis, lipotoxicity and the metabolic syndrome. **Biochim Biophys Acta**, v.1801, n. 3, p. 209–214, 2010.
- VERNON, G.; BARANOVA, A.; YOUNOSSI, Z. M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. **Aliment Pharmacol Ther**, EUA, n. 34, p. 274–285, 2011.
- VESSBY, B. *et al.* Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. **Diabetologia**, EUA, n. 44, p. 312–319, 2001.
- WHITE, P. A. S. *et al.* Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 57, n. 5, p. 339–345, 2013.
- WOLSKA, A. *et al.* Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. **Atherosclerosis**, Elsevier, n. 267, p. 49–60, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity**: preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization 2000. Series n. 284.
- WONG, S. K. *et al.* Animal models of metabolic syndrome: a review. **Nutrition & Metabolism**, EUA, v. 13, p. 65, 2016.
- YANG, Z. H.; TAKEO, J.; KATAYAMA, M. Oral administration of omega-7 palmitoleic acid induces satiety and the release of appetite-

related hormones in male rats. **Appetite**, Elsevier, v. 65, p. 1–7, 2013.

ZIVKOVIC, A. M.; GERMAN, J. B.; SANYAL, A. J. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, EUA, n.86, p. 285–300, 2007.

ANEXOS

ANEXO A – Certificado Comissão de ética no uso de animais



Universidade Federal
de Santa Catarina

Comissão de Ética no
Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Parâmetros funcionais e balanço redox em modelo de esteatose hepática: efeitos da ingestão de óleo rico em ácido palmítico e restrição calórica", protocolada sob o CEUA nº 6151080317, sob a responsabilidade de **Everson Araújo Nunes e equipe; Natália Engroff do Canto** - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 05/06/2017.

We certify that the proposal "Functional parameters and redox balance in hepatic steatosis model: effects of the ingestion of palmitleic acid rich oil and caloric restriction", utilizing 528 Heterogenis mice (528 males), protocol number CEUA 6151080317, under the responsibility of **Everson A Araújo Nunes and team; Natália Engroff do Canto** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 06/05/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: **de 08/2017 a 12/2019**

Área: **Ciências Fisiológicas**

Origem:	Biotério Central		
Espécie:	Camundongos heterogênicos	sexo:	Machos
Linagem:	Swiss	idade:	35 a 35 dias
		Peso:	30 a 35g
		N:	528

Resumo: Hábitos alimentares inadequados, como o consumo de alimentos ultra-processados, podem contribuir para o desequilíbrio energético. Alimentos com alta densidade energética, ricos em carboidratos simples e gordura (principalmente saturada) auxiliam no desenvolvimento da obesidade. Cronicamente, isso pode levar a modificações metabólicas culminando em hiperglicemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina, dislipidemias e acúmulo de lipídeos hepáticos. Este último, pode progredir para a doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD). A restrição calórica é uma modificação amplamente utilizada na prática clínica e muito eficiente em reverter ou prevenir os efeitos da obesidade. Ademais, a utilização de diferentes ácidos graxos tem sido estudada para prevenir ou atenuar complicações metabólicas presentes na obesidade e morbidades relacionadas. Este estudo pretende unir diferentes intervenções e avaliar os potenciais efeitos individuais e aditivos em modelo de esteatose hepática causado por dieta. As intervenções testadas envolverão a restrição calórica de 40% e a ingestão de óleo teor 50% de ácido palmítico. Serão investigados parâmetros ligados a esteatose, função e balanço redox hepáticos em camundongos Swiss expostos à dieta hipercalórica e hiperlipídica. Esperasse que existae feito independente e aditivo das intervenções sobre as variáveis analisadas.

Local do experimento: Animais serão mantidos no biotério do laboratório de neurobiologia da dor e inflamação (LAND), coordenado pelo professor, doutor Adair Roberto Soares dos Santos, localizado no Campus da Universidade Federal de Santa Catarina - Trindade, Florianópolis, SC. Testes in vivo e pós-eutanásia serão realizados no Laboratório de Investigações de Doenças Crônicas - LIDoC.

Florianópolis, 05 de junho de 2017

Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Alcina Martins de Castro
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina