

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Efeito das gorduras interesterificadas sobre o
perfil lipídico plasmático e do tecido hepático
em camundongos LDLr-KO**

**Giovana Marson Ferreira de Brito
Marina Lage Gomes Demasi**

**Trabalho de Conclusão apresentado ao
LXX Curso de Graduação em Nutrição da
Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo.**

**Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Maria
Lottenberg**

**São Paulo
2016**

Efeito das gorduras interesterificadas sobre o perfil lipídico plasmático e do tecido hepático em camundongos LDLr-KO

**Giovana Marson Ferreira de Brito
Marina Lage Gomes Demasi**

**Trabalho de Conclusão apresentado ao
LXX Curso de Graduação em Nutrição da
Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo.**

**Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Maria
Lottenberg**

**São Paulo
2016**

Estudo realizado no Laboratório de Lípidos (LIM 10) do Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP (CAPPesq) e Comissão de Biossegurança (026/12) e recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) 11/50443-0

Dedicamos este trabalho de conclusão de curso da graduação em
Nutrição à todos os nossos familiares e amigos.
Giovana Marson Ferreira de Brito e Marina Lage Gomes Demasi

Primeiramente gostaríamos de agradecer aos nossos pais, por toda a dedicação em nos proporcionar tantos aprendizados e estudos, nossa graduação não teria sido nada sem todo o apoio e suporte deles.

Às nossas famílias, que sempre estiveram ao nosso lado em todos os momentos das nossas vidas.

À todos os nossos professores, mentores, tutores que nos acompanharam por todo este longo caminho, muito obrigada por todos os ensinamentos!

À nossa principal mentora, Prof. Dra. Ana Maria Pita Lottenberg, por toda a confiança, ensinamentos e aulas incríveis, além da orientação dos nossos projetos de iniciação científica e deste TCC. Agradecemos por toda dedicação e ensinamentos que foram além da nutrição durante todo este tempo.

À todos os nossos amigos do LIM 10, ao Sergio Catanozi e à Valéria, que nos apoiaram no desenvolvimento deste projeto e ao grupos de nutricionistas, Maria Silvia, Milessa, Lis e Sharon, que sempre nos incentivaram, ensinaram e nos ajudaram a chegar até aqui.

Ao Rafael, namorado da Marina, que esteve presente em todos os momentos da graduação, assim como em todos os obstáculos que apareceram.

Às incríveis e inseparáveis amigas Beatriz, Teca, Sarah, Taynara e Alexia, amigas da Marina e Camila, Clara, Julia, Marcela, Natasha e Tatiana, amigas da Giovana, por toda a paciência, incentivo e colo sempre disponível.

“Nenhum sonho é maior que minha determinação e
nenhum desafio é mais forte do que a minha força de
superação.”
(Autor desconhecido)

Brito, GMF, Demasi, MLG. Efeito das gorduras interesterificadas sobre o perfil lipídico plasmático e do tecido hepático em camundongos LDLr-KO. [Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Graduação em Nutrição]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2016.

RESUMO

As gorduras interesterificadas, ricas em ácidos graxos saturados, são utilizadas atualmente pela indústria de alimentos em substituição à gordura trans. Entre os ácidos graxos saturados utilizados no processo de interesterificação, o ácido palmítico é o mais comum consumido na dieta e seus efeitos deletérios já estão bem estabelecidos. O ácido esteárico, consumido em menor frequência, tem efeito neutro sobre os lipídios plasmáticos, entretanto seu consumo ocorre em pequenas concentrações e não se tem dados sobre a implicação do seu consumo em grandes concentrações. Ao contrário dos óleos vegetais, as gorduras interesterificadas contém ácido palmítico ou esteárico na posição sn-2 da molécula de triglicérides. Entretanto, os seus efeitos sobre parâmetros metabólicos e relacionados ao desenvolvimento da aterosclerose, não foram investigados até o momento. Com a finalidade de elucidar o efeito destas gorduras, camundongos machos LDLr-KO foram distribuídos em cinco grupos alimentados com dieta rica em gordura (40% de calorias totais) contendo ácidos graxos poliinsaturados (POLI), palmítico (PALM), palmítico interesterificado (PALM INTER), esteárico (ESTEAR) ou esteárico interesterificado (STEAR INTER) durante 16 semanas. Foram avaliados a ingestão alimentar, composição corporal, peso do fígado e do tecido adiposo, concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicérides (TG), glicose, insulina. Em razão do efeito destas gorduras não estarem elucidadas na literatura, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a sua ação em camundongos LDLr-KO.

Descritores: ácidos graxos, gordura interesterificada, tecido hepático, tecido adiposo

Sumário

1. Introdução.....	07
2. Justificativa.....	09
3. Objetivo Geral.....	10
4. Objetivo Específico.....	10
5. Material e Métodos.....	10
5.1 Animais Experimentais.....	10
5.2 Extração do fígado e do tecido adiposo.....	11
5.3 Análises Bioquímicas	12
5.4 Avaliação da concentração de colesterol e de triglicérides no tecido hepático.....	12
5.5 Comitê de Ética.....	12
5.6 Análises Estatísticas.....	12
6. Resultados.....	13
7. Discussão.....	15
8. Conclusões.....	18
9. Referências Bibliográficas.....	19

INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis, como doença cardiovascular, diabetes tipo 2 e obesidade, é o hábito alimentar (Fitzgerald et al., 2013). O consumo de dietas hiperlipídicas induz o aumento de ácidos graxos e triglicérides circulantes, hipertrofia dos adipócitos e induz depósito de lipídeos em outros tecidos e órgãos como músculo, fígado e pâncreas, gerando um estado de lipotoxicidade e apoptose, condições implicadas na patogênese dessas doenças (Boden & Shulman, 2002). Em relação ao consumo de gorduras alimentares, já está demonstrado que tanto a quantidade quanto o tipo de ácidos graxos da dieta são capazes de influenciar a lipogênese hepática, a resistência à insulina e inflamação local e sistêmica de grau leve. (Fernandez-Real *et al*, 2003).

Os ácidos graxos saturados em comparação aos poli-insaturados elevam o colesterol plasmático e, conseqüentemente, aumentam o risco cardiovascular (Kromhout et al., 1995). Isto ocorre por diversas ações, entre elas: 1) redução da atividade, síntese proteica e até expressão do mRNA (RNA mensageiro) de receptores hepáticos B/E das *low density lipoproteins* (LDL) (Srivastava et al., 1995); 2) por apresentarem estrutura retilínea, os ácidos graxos saturados se empacotam com coesão o que lhes confere maior ponto de fusão. A disposição destes ácidos graxos nas moléculas de LDL aumenta a capacidade destas partículas em interagir com colesterol, aumentando o conteúdo destes nas lipoproteínas (Spritz & Mishkel, 1969).

Os ácidos graxos trans apresentam diversas implicações metabólicas, pois são fortemente associados ao aumento de processos inflamatórios e da concentração plasmática de TG e colesterol, associado com a redução de (HDL-c) (Mensink et al, 2003). Induzem maior risco cardiovascular, por elevarem a concentração plasmática do LDL-col, contribuindo com o desenvolvimento da placa aterosclerótica (Machado et al., 2010). Em menores proporções, o consumo de ácidos graxos saturados, quando comparados aos poli-insaturados também elevam o colesterol plasmático e, conseqüentemente o risco cardiovascular (Kromhout et al., 1995; Hooper et al., 2015).

Diante dos efeitos deletérios dos ácidos graxos trans sobre o risco cardiovascular e metabólico, diversos produtos industrializados estão sendo preparados com as gorduras interesterificadas, produzidas a partir de óleos vegetais (Hunter, 2006), como o óleo de palma. As gorduras interesterificadas são obtidas principalmente pela mistura de um óleo com uma gordura completamente hidrogenada, ou misturas de frações sólidas como estearina de palma.

Este processo possibilita o preparo de gorduras plásticas com baixos teores ou ausência de isômeros trans, uma vez que no seu preparo ocorre a hidrogenação total dos óleos. Os ácidos graxos mais frequentemente utilizados para o preparo dessas gorduras são o ácido palmítico e o esteárico. Durante o preparo dessas gorduras ocorre o rearranjo dos ácidos graxos na molécula de glicerol formando triglicérides com novas propriedades físicas, organolépticas e químicas (Tarrago-Trani et al.; 2006).

Geralmente, a posição sn-2 dos óleos vegetais é ocupada por um ácido graxo insaturado (AGI), sendo que com o processo de interesterificação, esta posição é ocupada predominantemente por um ácido graxo saturado, fato que pode ser relevante para o metabolismo lipídico, uma vez que as lipases hidrolisam triglicérides nas posições 1 e 3 do glicerol (Storch J, Zhou XY; Lagakos WS, 2008). Desta forma, grande quantidade de monoacilglicerol enriquecido com ácidos graxos saturados será captado pelo fígado (Mortimer et al., 1988 & Shi Y, Burn P, 2004).

Em relação à influência dessas gorduras sobre o metabolismo lipídico, alguns estudos conduzidos em humanos têm mostrado resultados controversos. Um deles demonstrou que o consumo tanto da gordura parcialmente hidrogenada quanto da interesterificada levou ao aumento da razão de LDL/HDL e da glicemia de jejum quando comparados ao grupo que consumiu óleo de palma (Sundram et al., 2007). No entanto, indivíduos hipercolesterolêmicos que consumiram margarina contendo óleo de palma ou óleo de palma interesterificado, apresentaram aumento das concentrações de LDL-col no plasma (Nestel et al.; 1995). Os autores atribuíram esta ação deletéria à presença do ácido graxo saturado na posição 2 do glicerol. Verificou-se também que as gorduras interesterificadas não influenciam o perfil de lipoproteínas em indivíduos saudáveis (Meijer GW, Weststrate JA, 1997), mas aumenta a concentração de triglicérides pós-prandiais (85%) em indivíduos obesos (Robinson et al.; 2009).

Com relação ao efeito da gordura interesterificada sobre a concentração plasmática de triglicérides (TG) também observa-se resultados contraditórios. Demonstrou-se em humanos saudáveis que o consumo de gordura interesterificada rica em ácido palmítico elevou (Yli-Jokipii et al., 2001) ou diminuiu os (TG) (Sanders et al.; 2011), no período pós prandial. Um único trabalho avaliou o efeito na lipemia pós prandial com o consumo da gordura interesterificada rica em esteárico na posição sn-2. Os resultados apontaram menor elevação da trigliceridemia. No entanto, este estudo comparou o efeito da gordura interesterificada com óleo de soja (rico em ácido graxo insaturado) à manteiga de cacau (rico em esteárico; sn-1 e sn-3) (Sanders et al., 2003). Recentemente, Sanders et al. (2011) demonstraram que o ácido palmítico na posição sn-2 induziu menor concentração plasmática de triglicérides pós-prandial em indivíduos saudáveis quando comparados a controles consumindo a mesma gordura não interesterificada.

JUSTIFICATIVA

Atualmente diversos produtos industrializados são preparados com gorduras interesterificadas, as quais são processadas com diferentes tipos e quantidades de ácidos graxos, sendo ricas em saturados, como o palmítico, o qual sabidamente eleva o risco cardiovascular. Outro ácido graxo saturado utilizado é o esteárico, que embora não eleve a colesterolemia, a sua possível ação sobre outros fatores de risco foi pouco investigada, especialmente em função do seu baixo consumo na dieta. Desta forma, além do uso destas gorduras aumentar o consumo de ácidos graxos saturados, não está elucidado até o momento as possíveis implicações fisiopatológicas após o processo de interesterificação. Adicionalmente, os poucos estudos publicados na literatura apresentam resultados controversos.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do consumo de dietas hiperlipídicas contendo gordura interesterificada, enriquecidas com ácido graxo esteárico ou palmítico sobre aspectos metabólicos em animais com ablação gênica para receptor de LDL.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a influência da ingestão alimentar sobre:

- Peso do fígado e do tecido adiposo;
- Concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicérides, glicose e insulina;
- As concentrações de colesterol e triglicérides no tecido hepático.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados camundongos LDLr-KO (C57BL/6J; Jackson Laboratory, Bar Harbor, EUA). Este modelo animal foi escolhido por apresentarem perfil de lipoproteína e suscetibilidade à aterosclerose semelhante a humanos em decorrência do consumo de dietas hiperlipídicas, sendo um importante modelo para estudo de parâmetros relacionados à síndrome metabólica (Srivastava et al. 2006; Bell et al, 2007; Wang et al. 2009; Subramanian et al. 2008; Machado et al., 2010; Bieghe et al, 2012).

Após o desmame os animais foram distribuídos em cinco grupos de 20 animais, submetidos às seguintes dietas: Poliinsaturados (POLI); Palmítico (PALM), Esteárico (ESTEAR), Palmítico interesterificado (PALM INTER) e Esteárico Interesterificado (ESTEAR INTER). Após o processo de interesterificação, maior porcentagem de ácido palmítico ou esteárico estarão presentes na posição sn-2 na molécula de triglicérides. (Figura 1)

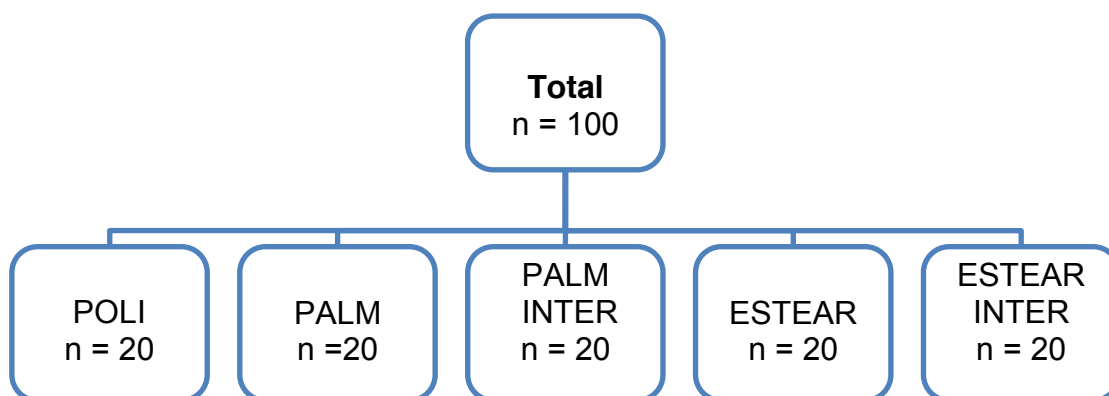


Figura 1: Resumo do protocolo experimental

O consumo alimentar e o peso dos animais foram monitorados semanalmente durante todo o experimento. Após a eutanásia dos animais, o fígado foi coletado para verificação do peso e análise dos lípides.

Após 16 semanas de dieta hiperlipídica, os animais foram mantidos em privação alimentar por 12h e anestesiados com Ketamina (100 mg/kg, ip, Ketalar; Parke-Davis, São Paulo, SP, Brazil) e Xylazina (10 mg/kg, ip, Rompum; Bayer S.A, São Paulo, SP, Brazil). Em seguida, os animais foram dessangrados pela veia subclávia e o sangue coletado em tubos contendo EDTA (0,1%). Após dessangrados, foram perfundidos com solução gelada de cloreto de sódio a 0,9% pelo ventrículo esquerdo.

EXTRAÇÃO DO FÍGADO E DO TECIDO ADIPOSEO

Após laparotomia, o fígado e o tecido adiposo visceral (região epididimal) foram extraídos, pesados e um fragmento de aproximadamente 1,0 cm³ foi retirado e colocado em frasco contendo formol a 10% em banho para adequada fixação.

Imediatamente, após este processo os tecidos foram congelados em nitrogênio líquido e estocados em ultracongelador (-80°C).

ANÁLISES BIOQUÍMICAS

O plasma do sangue foi obtido por centrifugação e foi armazenado a -80°C . As concentrações de colesterol total (CT) e TG foram determinadas por Kit enzimático-colorimétricos (Roche Diagnostics, Alemanha). A insulina e glicose foram determinadas com a utilização de kits enzimático-colorimétricos (Labitest Diagnóstica, Brasil).

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E DE TRIGLICÉRIDES NO TECIDO HEPÁTICO

A extração de lípides hepático foi realizada segundo Carr TP *et al* (1993). Aproximadamente 200 mg de fígado foram homogeneizados e os lípides extraídos com solução (2:1) de clorofórmio:metanol (6 mL). As fases foram separadas pela adição de H_2SO_4 (0,05%). A fase inferior foi removida e adicionado clorofórmio (1mL) contendo 0,5% de Triton X-100 para solubilização dos lípides. Em seguida os tubos foram mantidos sob nitrogênio em temperatura ambiente para evaporação total do solvente. Os tubos foram lavados com clorofórmio e em seguida submetidos a evaporação e, após adição de 1 mL de água destilada, foram submetidos a banho com agitação (37°C por 15 min), vortexados e a mistura foi utilizada para determinação do conteúdo lipídico com o uso de *kits* enzimático-colorimétricos (Roche Diagnostics-Mannheim, Alemanha).

COMITÊ DE ÉTICA

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Faculdade de Medicina – USP; Capepesq:026/12.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram apresentados em média \pm desvio padrão. A significância estatística foi testada por ANOVA e foi considerado o nível de significância de 5% para todas as análises ($P < 0,05$). A avaliação dos dados foi feita com uso do programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

RESULTADOS

A média de peso inicial dos animais não diferiu entre os grupos. O consumo alimentar durante as 16 semanas de tratamento também não apresentou diferença entre os 5 grupos estudados. (Tabela 1)

A formação de tecido adiposo visceral e subcutâneo dos animais do grupo PALM INTER foi significativamente maior quando comparado aos demais. (Tabela 1)

Em contrapartida, os animais do grupo ESTEAR apresentaram menor formação de tecido adiposo tanto visceral quanto subcutâneo comparado aos demais, sem diferença no ganho de peso em relação a POLI e ESTEAR INTER.

As concentrações plasmáticas de colesterol dos animais que consumiram ambas dietas ricas em ácido palmítico foram maiores quando comparadas aos grupos POLI, ESTEAR E ESTEAR INTER. Os grupos ESTEAR e ESTEAR INTER apresentaram menor concentração plasmática de colesterol quando comparados aos demais grupos ricos em gordura saturada, PALM e PALM INTER.

As concentrações plasmáticas de triglicérides foram maiores nos animais que consumiram dietas enriquecidas com ácidos graxos saturados (ESTEAR, ESTEAR INTER, PALM e PALM INTER) quando comparados ao grupo POLI. Assim, o maior consumo de ácido graxo esteárico, com ou sem esterificação, não elevou a concentração plasmática de colesterol como os demais saturados, no entanto exercem efeito semelhante a estes na concentração plasmática de triglicérides. (Tabela 3)

Tabela 1. Peso inicial, Consumo alimentar, Ganho de peso, Peso relativo do fígado e do tecido adiposo de camundongos LDLr-KO submetidos às diferentes dietas experimentais por 16 semanas.

	POLI	PALM	PALM INTER	ESTEAR	ESTEAR INTER
PESO INICIAL (g)	13,45±2,55	13,46±3,18	13,93±3,27	13,7±2,66	14,58±2,68
CONSUMO (g)	2,88± 0,3	3,15± 0,77	3,16± 0,44	3,48± 0,51	3,3±0,21
GANHO DE PESO (g)	16,01±3,06 ^{a,b}	16,12±2,9 ^{a,b}	20,05±2,65 ^a	14,1±2,65 ^b	14,32±3,00 ^b
TA VISCERAL (g/100g de peso corporal)	3,22±0,76 ^b	3,33±0,80 ^b	4,04±0,45 ^a	2,01±0,61 ^c	2,76±0,91 ^b

Legenda: n = 18; * n=10. Dados apresentados em média±DP; médias na mesma linha com letras distintas são significativamente diferentes (p<0,05), sendo a<b<c;. O teste estatístico: One-way ANOVA, seguindo de pós-teste de Newman-Keuls.

Tabela 2. Análises do fígado: peso do órgão, conteúdo de colesterol e triglicérides.

	POLI	PALM	PALM INTER	ESTEAR	ESTEAR INTER
Peso do Fígado (g/100g peso corporal)	4,35±0,60	4,72±1,09	4,48±0,57	4,51±0,43	4,37±0,73
Colesterol g/100g fig	1,67± 0,3	2,06± 0,6	1,7± 0,38	1,65± 0,42	1,88± 0,43
Triglicérides g/100g fig	15,02±7,73	16,67±11,19	15,63±5,42	16,45±8,43	13,5±5,42

Dados apresentados em média ±DP; * = p<0,05; n = 14–19; o teste estatístico: One-way ANOVA, pós-teste: Newman-Keuls.

Tabela 3. Concentração plasmática de colesterol, triglicérides, glicemia e insulina no plasma em camundongos LDLr-KO submetidos às diferentes dietas experimentais por 16 semanas.

	POLI	PALM	PALM INTER	ESTEAR	ESTEAR INTER
COLESTEROL (mg/dL)	320,7± 47,37	499,2 ± 89,91^a	526,8 ± 90,0^a	342,6± 81,7	363,9 ± 92,6
TG (mg/dL)	129,9± 46,27	308,8±188,2^a	302,8± 141,1^a	238,7±105,9^a	236,9±112,2^a
GLICOSE (mg/dL)	231,7±46,75	336,2±112,4^a	328,1±110,5^a	210,5±72,3	287,7±58,6
INSULINA (mg/dL)	0,33±0,11	0,84±0,47^a	0,71±0,39^a	0,28±0,17	0,23±0,1

Dados apresentados em média ±DP; a = p<0,05; n = 14–19. O teste estatístico: One-way ANOVA, pós-teste: Newman-Keuls.

DISCUSSÃO

O consumo de gordura PALM INTER levou ao maior ganho de peso, induziu maior formação de tecido adiposo visceral. A ação do ácido palmítico sobre a concentração plasmática de colesterol já está bem estabelecida na literatura e uma das explicações é o fato de esses ácidos graxos reduzirem a expressão de receptores hepáticos B/E, responsáveis pela captação de partículas de LDL da circulação (Srivastava et al., 1995). Nossos dados corroboraram esta ação do ácido palmítico, pois também elevou a colesterolemia e, adicionalmente, verificou-se que o processo de interesterificação não influenciou neste resultado, tanto com o ácido palmítico como com o esteárico.

A ação da gordura interesterificada sobre a concentração plasmáticas de colesterol é controversa na literatura. Reena et al., (2011) demonstraram efeito hipocolesterolemizante da gordura interesterificada, decorrente de maior expressão hepática do receptor de LDL em comparação com a gordura não interesterificada (Reena et al., 2011). No entanto, neste estudo, o processo de interesterificação foi realizado por método enzimático, diferente do método atual que utiliza catalisadores como metóxido de sódio. Além disso, a gordura foi preparada com quantidade menor de ácidos graxos saturados (30% das calorias totais) e maior de poli-insaturados (32%). Outro estudo demonstrou que o consumo tanto da gordura parcialmente hidrogenada quanto da interesterificada levou ao aumento da razão de LDL/HDL e da glicemia de jejum quando comparados ao grupo que consumiu óleo de palma (Sundram et al., 2007). Um único trabalho avaliou o efeito na lipemia pós-prandial do consumo da gordura interesterificada rica em esteárico. Os resultados apontaram menor aumento na concentração de TG. No entanto, este estudo comparou o efeito da gordura interesterificada com óleo de soja (rico em ácido graxo insaturado) e à manteiga de cacau (rico em esteárico; sn-1 e sn-3) (Sanders et al., 2003).

No processo de interesterificação podem ser utilizados diferentes tipos e quantidades de ácidos graxos, condição que muitas vezes dificulta a comparação do resultado de diferentes estudos. No entanto, sabe-se que na prática industrial os ácidos graxos palmítico e esteárico são os mais utilizados atualmente.

Os resultados do presente estudo mostram que a concentração plasmática de TG foi maior com a dietas enriquecidas com todos os ácidos graxos saturados em

comparação a POLI, não havendo diferença entre os grupos (PALM, PALM INTER, ESTEAR E ESTEAR INTER). Realmente, os ácidos graxos saturados induzem maior trigliceridemia por ativar vias lipogênicas hepáticas mediadas pelos fatores de transcrição PPAR γ e pelo PGC1 β , o qual é co-ativador do SREBP-1c (Yamazaki et al, 2011; Lin J et al., 2005). Corroborando nossos resultados, Zock et al. (1995), não encontrou diferenças nas concentrações plasmáticas de TG no jejum após 3 semanas do consumo de dieta com óleo de palma e óleo de palma interesterificado (Zock et al.,1995). Entretanto, estudos com indivíduos saudáveis apontam que o consumo agudo de dieta interesterificada preparada com ácido palmítico induziu menor pico pós-prandial de TG (Yli-Jokipii, et al., 2001), com redução de até 32% da área sob a curva das concentrações plasmáticas de TG (Hall et al., 2014). Este efeito foi demonstrado tanto em jovens saudáveis (Sanders et al., 2011) quanto em adultos com elevação da concentração plasmática de triglicérides (Hall et al., 2014).

Nas duas investigações foram utilizadas refeições preparadas com 50 a 75g de gordura interesterificada rica em ácido palmítico ou óleo de palma (~65% Kcal em gordura/refeição). Este estudo com avaliação do efeito agudo da gordura interesterificada enriquecida com o ácido esteárico também apresentou efeitos contrários aos nossos, a qual também induziu menor aumento de TG. A comparação da gordura interesterificada foi com óleo de soja (rico em ácido graxo insaturado) e à manteiga de cacau (rico em esteárico; sn-1 e sn-3) (Sanders et al., 2003).

Nesta investigação, as gorduras PALM e PALM INTER também induziram maior concentração plasmática de glicose e insulina de em comparação às demais. Já o consumo de dieta normolipídica enriquecida com, ácido palmítico não elevou a glicemia em humanos (Sundram et al., 2007). Nesse estudo, os autores compararam o efeito do ácido palmítico ao da gordura interesterificada preparada com ácido esteárico e observaram que o processo de interesterificação elevou a glicemia de jejum. Não obstante, não se observou alteração na insulinemia (Sundram et al., 2007).

Como era esperado, o ácido graxo esteárico não induziu elevação da concentração plasmática de colesterol (Kris-Etherton et al., 2005), uma vez que este ácido graxo é o principal substrato para a enzima SCD-1, que atua na desaturação do ácido esteárico em ácido oleico no fígado (Bennett et al., 1995), a qual induz a atividade microssomal da enzima acilCoA:1,2-diacylglicerolaciltransferase com maior formação de TG.

Os animais do grupo PALM INTER induziram maior formação de tecido adiposo. Desde 1993, estudos já demonstraram superprodução de TNF α pelo tecido adiposo hipertrofiado (Hotamisligil, 1993). Rapidamente, demonstrou-se que o tecido adiposo de animais obesos produzia quantidades elevadas de outros marcadores inflamatórios (Olefsky, 2008; Olefsky & Glass, 2010). Assim, a obesidade caracterizada pela exacerbada formação de tecido adiposo e presença de adipócitos hipertrofiados, (Coenen et al., 2007; Tynan et al., 2014), apresenta cenário propício para desenvolvimento da resistência à insulina no tecido adiposo (Chen et al., 2016) que tem como consequência imediata a lipólise descontrolada, à medida que no estado de resistência à insulina, entre outras consequências metabólicas, a insulina não é mais capaz de inibir a fosforilação da lipase hormônio sensível (Gutierrez, Puglisi & Hasty, 2009), enzima limitante no processo de lipólise.

Estes resultados também demonstram que o consumo das gorduras interesterificadas, com maior proporção de ácidos graxos saturados na posição sn-2 da molécula de TG, aumentam risco de obesidade e comorbidades, induzindo maior grau de inflamação. Em animais, já foi demonstrado que o consumo de gordura interesterificada por fêmeas durante gestação e lactação causa efeitos adversos dos filhotes machos, ou seja, estas gorduras podem interferir na programação metabólica da prole (Magri et al., 2014), levando ao maior ganho de peso com hipertrofia dos adipócitos (Magri et al., 2014).

Já está documentado que o consumo de gordura saturada induz maior formação de tecido adiposo que consumo de gordura poli-insaturada, seguido de maior grau de inflamação e hipertrofia dos adipócitos (Westerbacka et al., 2005; Malhi et al., 2006). No entanto, os resultados deste estudo são os primeiros a demonstrar que o ácido graxo saturado quando se encontra na posição sn-2 do TG, faz com que esta alteração metabólica ocorra em maior magnitude.

O que já está bem documentado, é que o ácido esteárico apresenta menor taxa de absorção que demais saturados, por apresentar ponto de fusão elevado, superior à temperatura corporal (Mattson, Nolen & Webb, 1979), formando menos tecido adiposo (Gouk et al., 2013; Gouk et al., 2014). Além disso, “in vitro” adipócitos incubados com ácido esteárico demonstraram maior expressão da LHS, enzima limitante na hidrólise de triglicérides no tecido adiposo (Manickam, Sinclair & Cameron-Smith, 2010).

CONCLUSÃO

As gorduras interesterificadas não alteram a concentração plasmática de colesterol e triglicérides e aquelas enriquecidas com ácido palmítico induziram maior peso de gordura visceral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bell TA, Iii, Kelley K, Wilson MD, Sawyer JK, Et al. Dietary Fat-Induced Alterations In Atherosclerosis Are Abolished By Acat2-Deficiency In Apob100 Only, Ldlr-/- Mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27:1396–1402.

Bennett AJ, Billett MA, Salter AM, White Da. Regulation Of Hamster Hepatic Microsomal Triglyceride Transfer Protein Mrna Levels By Dietary Fats. *Biochembiophys Res Commun.* 1995 Jul 17;212(2):473-8.

Bieghs V, Van Gorp PJ, Wouters K, Hendriks T, Et al. Ldl Receptor Knock-Out Mice Are A Physiological Model Particularly Vulnerable To Study The Onset Of Inflammation In Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Plos One.* 2012;7(1):E30668.

Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin Resistance: A Metabolic Pathway To Chronic Liver Disease. *Hepatology.* 2005 Nov;42(5):987-1000.

Boden G, Shulman, GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32: 14–23

Chen J, Chen L, Sanseau P, Freudenberg JM, Rajpal DK. Significant obesity-associated gene expression changes occur in the stomach but not intestines in obese mice. *Physiol Rep.* 2016 May;4(10).

Coenen KR, Gruen ML, Chait A, Hasty AH. Diet-Induced Increase In Adiposity, But Not Plasma Lipids, Promote Macrophage Infiltration Into White Adipose Tissue. *Diabetes.* 2007;56(3):564–573.

DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal Muscle Insulin Resistance Is The Primary Defect In Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2009 Nov;32 Suppl 2:S157-63.

Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients*. 2013 Feb 7;5(2):498-508. doi: 10.3390/nu5020498. Review.

Fernández-Quintela A, Churrua I, Portillo MP. The Role Of Dietary Fat In Adipose Tissue Metabolism. *Public Health Nutr*. 2007 Oct;10(10a):1126-31. Review.

Fernandez-Real JM, Broch M, Vendrell J, Ricart W. Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition. *Diabetes Care*. 2003; 26(5):1362–1368.

Fitzgerald N, Morgan KT, Slawson DL. Practice paper of the Academy of Nutrition and Dietetics abstract: the role of nutrition in health promotion and chronic disease prevention. *J Acad Nutr Diet*. 2013 Jul;113(7):983.

Gouk SW, Cheng SF, Mok JS, Ong AS, Chuah CH. Long-Chain Sfa At The Sn-1, 3positions Of Tag Reduce Body Fat Deposition In C57bl/6 Mice. *Br J Nutr*. 2013 Dec 14;110(11):1987-95.

Gouk SW, Cheng SF, Ong AS, Chuah CH. Stearic Acids At Sn-1, 3 Positions Of Tagare More Efficient At Limiting Fat Deposition Than Palmitic And Oleic Acids Inc57bl/6 Mice. *Br J Nutr*. 2014 Apr 14;111(7):1174-80.

Gutierrez DA, Puglisi MJ, Hasty AH. Impact Of Increased Adipose Tissue Mass On Inflammation, Insulin Resistance, And Dyslipidemia. *Curr Diab Rep*. 2009 Feb;9(1):26-32.

Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011; 23: 415-445.

Gluckman PD, Hanson M, Zimmet P, Forrester T. Losing the war against obesity: the need for a developmental perspective. *Sci Transl Med*. 2011;3(93):93cm19.

Hall WL, Fiuza Brito M, Huang J, Et al. An Interesterified Palm Olein Test Meal Decreases Early-Phase Postprandial Lipemia Compared To Palm Olein: A Randomized Controlled Trial. *Lipids*. 2014;49(9):895-904.

Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BS. Adipose Expression Of Tumor Necrosis Factor-Alpha: Direct Role In Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science*. 1993 Jan 1;259(5091):87-91.

Hunter, JE. Dietary Trans Fatty Acids: Review Of Recent Human Studies And Food Industry Responses. *Lipids*. 2006; 41: 967-92.

Hooper L, Martin N, Abdelhamid A, Davey Smith G. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jun 10;(6):CD011737. doi: 10.1002/14651858.CD011737. Review.

Ibrahim A, Natarajan S, Ghafoorunissa. Dietary Trans–Fatty Acids Alter Adipocyte Plasma Membrane Fatty Acid Composition And Insulin Sensitivity In Rats. *Metabolism*. 2005; 54: 240–246.

Kris-Etherton PM, Griel AE, Psota TL, Gebauer SK, Zhang J, Et al. Dietary Stearic Acid And Risk Of Cardiovascular Disease: Intake, Sources, Digestion, And Absorption. *Lipids*. 2005; 40(12):1193-200. Review.

Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, Aravanis C, et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Prev Med*. 1995; 24(3):308-15.

Lin J, Yang R, Tarr PT, Wu PH, Handschin C, Li S Et al. Hyperlipidemic Effects Of Dietary Saturated Fats Mediated Through Pgc-1 Coactivation Of Srebp. *Cell*. 2005; 120: 261–273.

Machado RM, Stefano JT, Oliveira CPMS, Mello ES, Et al. Intake Of Trans Fatty Acids Causes Nonalcoholic Steatohepatitis And Reduces Adipose Tissue Fat Content. *J. Nutr*. 2010; 140: 1127–1132.

Magri TP, Fernandes FS, Souza AS, Langhi LG, Barboza T, Misan V, Mucci DB, Santos RM, Nunes TF, Souza SA, De Mello Coelho V, Tavares Do Carmo MD. Interesterified Fat Or Palm Oil As Substitutes For Partially Hydrogenated Fat In Maternal Diet Can Predispose Obesity In Adult Male Offspring. Clin Nutr. 2015 Oct;34(5):904-10.

Malhi H, Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ. Free Fatty Acids Induce Jnk Dependent Hepatocyte Lipoapoptosis. J Biol Chem. 2006; 281: 12093-12101.

Manickam E, Sinclair AJ, Cameron-Smith D. Suppressive Actions Of Eicosapentaenoic Acid On Lipid Droplet Formation In 3t3-L1 Adipocytes. Lipids Health Dis. 2010; 9: 57.

Mattson FH, Nolen GA, Webb MR. The Absorbability By Rats Of Various Triglycerides Of Stearic And Oleic Acid And The Effect Of Dietary Calcium And Magnesium. J Nutr. 1979;109(10):1682-7.

Meijer GW, Weststrate JA. Interesterification Of Fats In Margarine: Effect On Blood Lipids, Blood Enzymes, And Hemostasis Parameters. Eur J Clin Nutr. 1997; 51: 527-534.

Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. Am J Clin Nutr. 2003; 77: 1146- 1155.

Mortimer BC, Simmonds WJ, Joll CA, Stick RV, Redgrave TG. Regulation Of The Metabolism Of Lipid Emulsion Model Lipoproteins By A Saturated Acyl Chain At The 2-Position Of Triacylglycerol. J Lipid Res. 1988;29(6):713-20.

Nestel PJ, Noakes M, Belling GB, Mcarthur R, et al. Effect On Plasma Lipids Of Interesterifying A Mix Edible Oils. Am J Clin Nutr. 1995; 62: 950-955.

Olefsky JM. Fat talks, liver and muscle listen. *Cell*. 2008 Sep19;134(6):914-6.

Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, Inflammation, And Insulin Resistance. *Annu Rev Physiol*. 2010; 72: 219-46.

Reena MB, Lokesh BR. Effect Of Feeding Blended And Interesterified Vegetable Oils On Antioxidant Enzymes In Rats. *Food Chem Toxicol*. 2011 Jan;49(1):136-43.

Robinson DM, Martin NC, Robinson LE, Ahmadi L, et al. Wright Aj. Influence Of Interesterification Of A Stearic Acid-Rich Spreadable Fat On Acute Metabolic Risk Factor. *Lipids*. 2009; 44: 17-26.

Rosselli M, Lotersztajn S, Vizzutti F, Arena U, Pinzani M, Marra F. The Sanders TA, Berry SE, Miller GJ. Influence Of Triacylglycerol Structure On The Postprandial Response Of Factor Vii To Stearic Acid-Rich Fats. *Am J Clin Nutr*. 2003; 77:777–82.

Sanders TA, Filippou A, Berry SE, Baumgartner S, Et al. Palmitic Acid In The Sn-2 Position Of Triacylglycerols Acutely Influences Postprandial Lipid Metabolism. *Am J Clin Nutr*. 2011.

Saravanan N, Haseeb A, Ehtesham NZ, Ghafoorunissa. Differential Effects Of Dietary Saturated And Trans-Fatty Acids On Expression Of Genes Associated With Insulin Sensitivity In Rat Adipose Tissue. *Eur J Endocrinol*. 2005; 153: 159–165.

Shi Y, Burn P. Lipid Metabolic Enzymes: Emerging Drug Targets For The Treatment Of Obesity. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(8):695-710. Review.

Spritz N, Mishkel MA. Effects of dietary fats on plasma lipids and lipoproteins: an hypothesis for the lipid-lowering effect of unsaturated fatty acids. *J Clin Invest*. 1969 Jan;48(1):78-86.

Srivastava Ra, Ito H, Hess M, Srivastava N, Schonfeld G. Regulation Of Lowdensity Lipoprotein Receptor Gene Expression In Hepg2 And Caco2 Cells By Palmitate, Oleate, And 25-Hydroxycholesterol. J Lipid Res. 1995

Srivastava RA, Jahagirdar R, Azhar S, Sharma S, Bisgaier CI. Mol Cell Biochem. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha Selective Ligand Reduces Adiposity, Improves Insulin Sensitivity And Inhibits Atherosclerosis In Ldl Receptor-Deficient Mice. Mol Cell Biochem. 2006;285(1-2):35-50.

Storch J, Zhou YX, Lagakos WS. Metabolism Of Apical Versus Basolateral Sn-2-Monoacylglycerol And Fatty Acids In Rodent Small Intestine. J Lipid Res. 2008;49(8):1762-9.

Subramanian S, Han CY, Chiba T, Mcmillen TS Et al. Dietary Cholesterol Worsens Adipose Tissue Macrophage Accumulation And Atherosclerosis In Obese Ldl Receptor-Deficient Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28(4):685-91.

Sundram K, Karupaiah T, Hayes KC. Stearic Acid-Rich Interesterified Fat And Trans-Rich Fat Raise The Ldl/Hdl Ratio And Plasma Glucose Relative To Palm Olein In Humans. Nutr Metab. 2007; 4:3.

Sutter AG, Palanisamy AP, Lench JH, Eskilsen S, Geng T, Lewin DN, Cowart LA, Chavin KD. Dietary Saturated Fat Promotes Development Of Hepatic Inflammation Through Toll-Like Receptor 4 In Mice. J Cell Biochem. 2016.

Tarrago-Trani, M.T.; Phillips, K.M.; Lemar, L.E.; Holden JM. New And Existing Oils And Fats Used In Products With Reduced Trans-Fatty Acid Content. J Am Diet Assoc, V.106, P.867-80, 2006.

Tynan GA, Hearnden CH, Oleszycka E, Lyons CL, Coutts G, O'connell J, Corrigan MA, Lynch L, Campbell M, Callanan JJ, Mok KH, Geoghegan J, O'farrelly C, Allan SM, Roche HM, O'shea DB, Lavelle EC. Endogenous Oils

Derived From Human Adipocytes Are Potent Adjuvants That Promote Il-1 α -Dependent Inflammation. Diabetes. 2014 Jun;63(6):2037-50.

Wang S, Wu D, Matthan NR, Lamon-Fava S, Lecker JL, Lichtenstein AH. Reduction In Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids: Eicosapentaenoic Acid Plus Docosahexaenoic Acid Ratio Minimizes Atherosclerotic Lesion Formation And Inflammatory Response In The Ldl Receptor Null Mouse. Atherosclerosis. 2009;204(1):147-55.

Westerbacka J, Kolak M, Kiviluoto T, Arkkila P, Et al. Genes Involved In Fatty Acid Partitioning And Binding, Lipolysis, Monocyte/Macrophage Recruitment And Inflammation Are Overexpressed In The Human Fatty Liver Of Insulin-Resistant Subjects. Diabetes. 2007; 56: 2759-2765.

Westerbacka J, Lammi K, Häkkinen AM, Rissanen A, Salminen I, Et al. Dietary Fat Content Modifies Liver Fat In Overweight Nondiabetic Subjects. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90: 2804-2809.

WHO. 2008. Global Infobase: data on overweight and obesity, mean BMI, healthy diets and physical inactivity. <http://www.who.int/mediacentre/>

Yamazaki T, Shiraishi S, Kishimoto K, Miura S, Ezaki O. An Increase In Liver Ppar γ 2 Is An Initial Event To Induce Fatty Liver In Response To A Diet High In Butter: Ppar γ 2 Knockdown Improves Fatty Liver Induced By High-Saturated Fat. J Nutr Biochem. 2011;22(6):543-53.

Yli-Jokipii K, Kallio H, Schwab U, Mykkänen H, Et al. Effects Of Palm Oil And Transesterified Palm Oil On Chylomicron And Vldl Triacylglycerol Structures And Postprandial Lipid Response. J Lipid Res. 2001; 42: 1618–1625.

Zock PL, Katan MB, Mensink RP. Dietary Trans Fatty Acids And Lipoprotein

