

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde**

Isabela Cristina Mol Dueli

**Influência do consumo de diferentes fontes de gordura no perfil  
bioquímico e imunológico**

Belo Horizonte

2016

Isabela Cristina Mol Dueli

**Influência do consumo de diferentes fontes de gordura no perfil bioquímico e imunológico**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde, Linha de Pesquisa Bioquímica e Imunologia Nutricional.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Maria Caetano de Faria

Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tatiani Uceli Maioli

Belo Horizonte

2016

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida, proteção e coragem concedidas diariamente.

Aos meus pais Nirce e Geraldo pelo amor, pela confiança depositada, pelo colo onde sempre me senti segura. Obrigada por terem me passado valores tão importantes!

Ao Roger, meu marido querido, pelo apoio incondicional, acolhida, paciência e cuidado. Obrigada por tudo! Sem você eu não teria conseguido concluir essa etapa.

Aos meus irmãos Rodrigo e Giovana pela amizade e compreensão das minhas ausências. Vocês sempre serão meus exemplos. Obrigada!

Aos meus sobrinhos lindos Túlio e Ana Clara que cercam nossas vidas de luz e alegria. Obrigada por existirem e deixarem tudo mais leve!

A minha orientadora Ana Maria por todos os ensinamentos disponibilizados. Obrigada pela confiança, tranquilidade e condução de todas as adversidades passadas!

A minha coorientadora Tatiani pela doação dos seus conhecimentos, tempo e carinho. Obrigada por toda dedicação!

A família LIB. Obrigada a todos pelas inúmeras ajudas, conselhos, risadas. Tudo ficou melhor quando passei mais tempo com vocês!

As novas amigadas com que fui presenteada Elândia, Natália e Eloisa pelo apoio constante e carinho. Estarei sempre com vocês!

A professora Denise Carmona pela grande acolhida. Você foi o início de tudo!

A professora Aline e a Patrícia pela colaboração.

A CAPES e CNPq pelos recursos financeiros.

A todos que participaram de alguma forma dessa construção, meu muito obrigada!

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IMC	Índice de Massa Corporal
TAG	Triacilglicerol
TNF-alfa	Fator de Necrose Tumoral alfa
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
SNC	Sistema Nervoso Central
RNAm	Ácido Ribonucléico mensageiro
AIN 93G	Dieta padrão para roedores
W9	Ômega 9
W3	Ômega 3
W6	Ômega 6
SPF	Specific Pathogen Free
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
HSB	High Sugar and Butter
HSL	High Sugar and Lard
HSO	High Sugar and Olive Oil
TA	Tecido Adiposo
PBS	Salina Tamponada
kcal	Calorias
g	Gramas
ANOVA	Análise de Variância

CEUA Comitê de Ética no uso de Animais

HDL High Density Lipoprotein

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Armazenamento lipídico .....	14
Figura 2 – Infiltração de macrófagos no tecido adiposo .....	16
Figura 3 – Estrutura química de ácidos graxos .....	20
Figura 4 – Delineamento do estudo experimental.....	26
Figura 5 – O ganho de peso dos animais é influenciado pela fonte de lipídeo presente na dieta .....	31
Figura 6 - O consumo de dieta é influenciado pelo tipo de gordura presente. ....	32
Figura 7– Aspecto histológico do tecido adiposo dos animais .....	33
Figura 8 – Influência das diferentes fontes de lipídeos nos parâmetros bioquímicos dos animais.....	34
Figura 9 – Influência da gordura dietética na produção de citocinas no tecido adiposo dos animais.....	35
Figura 10 – Influência das diferentes fontes de lipídeos na concentração sérica de adipocinas.....	36
Figura 11 – Aspecto histológico do fígado.....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos das diferentes fontes lipídicas .....	21
Tabela 2 – Composição das dietas experimentais .....	26

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Obesidade.....	12
1.2. Tecido adiposo.....	13
1.3. Obesidade e Inflamação .....	16
1.4. Modelos experimentais de obesidade .....	18
1.5. Lipídeos dietéticos.....	19
2. JUSTIFICATIVA.....	23
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo geral .....	24
3.2. Objetivos específicos .....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
4.1. Camundongos e delineamento experimental .....	25
4.2. Dietas .....	26
4.3. Índice de adiposidade .....	27
4.4. Medida de citocinas e adipocinas séricas .....	27
4.5. Histologia do tecido adiposo e do fígado.....	28
4.6. Análise Estatística .....	28
4.7. Aspectos Éticos.....	29
5. RESULTADOS .....	30
5.1. Ganho de peso de acordo com a fonte de lipídeos presente na dieta .....	30
5.2. O consumo de dieta é influenciado pelo tipo de gordura presente .....	31
5.3. Aspecto histológico do tecido adiposo .....	32
5.4. Influência das diferentes fontes de lipídeos nos parâmetros bioquímicos dos animais.....	33
5.5. Influência da gordura dietética na produção de citocinas no tecido adiposo.....	35
5.6. Influência das diferentes fontes de lipídeos na concentração sérica de adipocinas.....	35
5.7. Aspecto histológico do fígado .....	37
6. DISCUSSÃO.....	38
7. CONCLUSÃO.....	42
8. PERSPECTIVAS .....	43
9. REFERÊNCIAS .....	44
ANEXO .....	48

## RESUMO

A obesidade é conceituada como acúmulo excessivo de gordura corporal, originado de um balanço energético positivo, sendo associada com uma inflamação crônica nos tecidos metabólicos caracterizada por secreção anormal de mediadores da resposta imune e pela ativação de vias de sinalização de processos inflamatórios. Muitos estudos têm mostrado que fatores associados à dieta são importantes na modulação do aumento da adiposidade, destacando-se o elo existente entre nutrição, metabolismo e sistema imune. Assim, o presente estudo objetiva avaliar se o perfil bioquímico e imunológico em camundongos da linhagem C57BL/6 estão correlacionados com as principais fontes de gordura ingeridas. Camundongos C57BL/6 foram divididos nos grupos AIN93G (dieta normal), HSB (dieta com alto teor de açúcar e manteiga), HSL (dieta com alto teor de açúcar e banha de porco) e HSO (dieta com alto teor de açúcar e azeite de oliva). Após 8 semanas de tratamento, os animais foram eutanasiados. Avaliou-se ganho de peso, adiposidade, parâmetros bioquímicos e imunológicos (citocinas e adipocinas). Os dados apresentados sugerem que o tipo de gordura ingerida interfere nos perfis bioquímicos e imunológicos dos animais, mas há a necessidade de estudos mais detalhados, quanto à função isolada e em conjunto com outros nutrientes, dos ácidos graxos que compõem as gorduras dietéticas.

Palavras-chaves: obesidade, lipídeos, parâmetros bioquímicos, resposta imune

## **ABSTRACT**

Obesity is defined as an excessive accumulation of body fat, originated from a positive energy balance. It is associated with a chronic inflammation in the metabolic tissues characterized by abnormal secretion of mediators of the immune response and activation of inflammatory signaling pathways. Many studies have shown that factors associated with diet are important in the modulation of the adiposity increase, highlighting the link between nutrition, metabolism and immune system. Thus, the present study aimed to evaluate the biochemical and immunological profile in mice of the strain C57BL/6 correlated with the main sources of ingested fat. C57BL/6 mice were divided into 4 groups: AIN93G (normal diet), HSB (diet high in sugar and butter), HSL (diet high in sugar and lard) and HSO (diet high in sugar and olive oil olive). After 8 weeks of treatment, animals were euthanized. Weight gain, adiposity, biochemical and immunological parameters (cytokines and adipokines) were assessed. Our data suggest that the type of the fat ingested interfere with biochemical and immunologic profiles in animals, but there is still a need for more detailed studies regarding the function of each lipid component by itself as well as in conjunction with other nutrients that comprise dietary fats.

Keywords: obesity, lipids, biochemical, immune response

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Obesidade

A obesidade é conceituada como acúmulo excessivo de gordura corporal, originado de um balanço energético positivo, que ocorre quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto (MIAO *et al.*, 2016) (PINHEIRO *et al.*, 2004) (LO *et al.*, 2016). Após o processo de transição nutricional, firmou-se a adoção de um padrão dietético com elevado teor de gordura saturada e açúcar que afetam diretamente o estilo de vida e o perfil de saúde da população (SANTOS *et al.*, 2013). Muitos estudos têm mostrado que fatores associados à dieta são importantes na modulação do aumento da adiposidade, destacando o elo existente entre nutrição, metabolismo e sistema imunológico (MAIOLI *et al.*, 2015). O grau de excesso de gordura, sua distribuição pelo corpo e as consequências acarretadas para a saúde apresentam variação entre os indivíduos obesos (PINHEIRO *et al.*, 2004).

O número de adultos obesos é cada vez mais alarmante, tanto em países desenvolvidos, como aqueles em desenvolvimento. A Organização Mundial de Saúde considera a obesidade como um problema de saúde pública tão preocupante quanto a desnutrição (WHO, 2000).

Dados do VIGITEL de 2014 apontaram que no Brasil 53% da população apresentavam excesso de peso, 10% a mais que em 2006, além de 17,9% das pessoas estavam na faixa de obesidade. No mundo, o Brasil, em 2014, assumia a terceira posição em percentual de indivíduos com excesso de peso e a quinta, quanto aos indivíduos na faixa de obesidade.

A obesidade é mais prevalente em mulheres de baixa renda com a tendência a se estabilizar nas classes de renda mais elevada. Esse fato pode ser esclarecido pela falta de alimentação adequada, atividade física reduzida e pelo consumo de alimentos muito calóricos, de baixo custo, como derivados de cereais, gorduras e carboidratos simples. O problema da obesidade tende a crescer menos na população de maior renda devido ao maior acesso a informações sobre as possíveis consequências que este estado pode trazer, maior acesso à orientação e renda para melhoria dos hábitos alimentares e à prática regular de atividade física (MALIK *et al.*, 2013).

As consequências da obesidade para a saúde são muitas e variam de um maior risco de morte prematura a graves doenças não letais, porém debilitantes, que afetam diretamente a qualidade de vida. Como consequências deste estado, pode-se destacar: distúrbios cardiovasculares (hipertensão arterial sistêmica, doença cérebro-vascular, trombose venosa profunda), distúrbios endócrinos (diabetes mellitus tipo II, dislipidemia, hipotireoidismo), distúrbios respiratórios (apneia obstrutiva do sono, síndrome da hipoventilação, doença pulmonar restritiva) (TAVARES *et al.*, 2010), além de doença hepática gordurosa não alcoólica. Essa é a principal causa de doenças hepáticas crônicas em países desenvolvidos e abrange as doenças caracterizadas pelo aumento do acúmulo de lipídeos nos hepatócitos que podem variar de esteatose hepática benigna para esteato-hepatite não alcoólica, intimamente relacionada à síndrome metabólica, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (JOVICIC *et al.*, 2015).

## **1.2. Tecido adiposo**

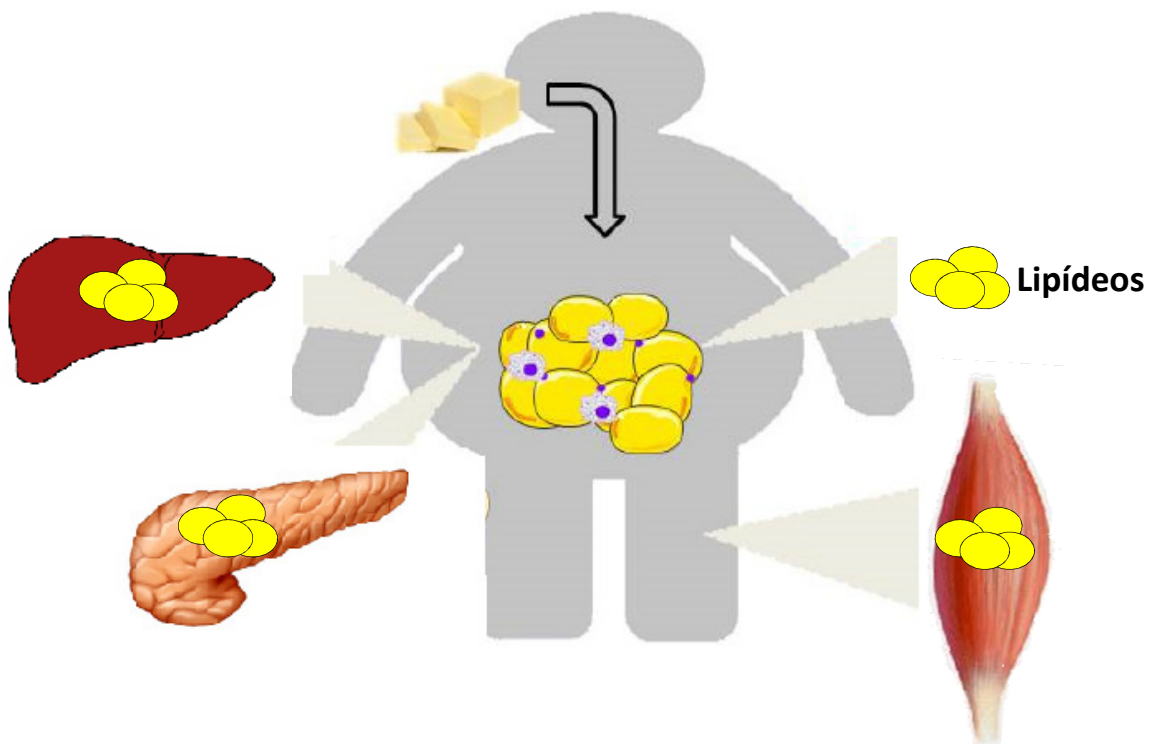
O tecido adiposo é um modulador crítico do metabolismo energético e pode ser dividido em três tipos principais em humanos e roedores: tecido adiposo branco, tecido adiposo marrom e tecido adiposo bege (STANFORD e GOODYEAR, 2016). O primeiro constitui a maioria do tecido adiposo em adultos e é onde ocorre o armazenamento energético na forma de triglicerídeos (TAG). Já o segundo, é encontrado em neonatos de espécies mamíferas mantendo-se presente em quantidades consideráveis somente em indivíduos adultos de espécies hibernantes, sendo relacionado com a termogênese (FANTUZZI, 2005) (LO *et al.*, 2016). O terceiro tipo de tecido adiposo, o bege, é semelhante à gordura marrom e é encontrado em alguns depósitos de gordura branca, sendo também relacionado com a termogênese (LO *et al.*, 2016).

O tecido adiposo branco é composto por muitos tipos de células, sendo os adipócitos os mais abundantes. Além de adipócitos, ele é composto de fibroblastos, pré-adipócitos, macrófagos residentes de tecido e constituintes vasculares (BERG e SCHERER, 2005). Trata-se de um tecido essencial para o balanço energético, uma vez que possui toda a maquinaria necessária para a síntese de ácidos graxos (lipogênese) estocando-os como TAG em períodos de abundância de energia e para

a mobilização dos ácidos graxos para fornecimento de energia (lipólise) quando há déficit calórico (AHIMA e FLIER, 2000).

O armazenamento de TAG nos adipócitos é eficaz sob condições normais de peso. Entretanto, essa capacidade de estocagem é excedida no estado obeso, ocasionando depósito lipídico em tecidos metabólicos, como músculo esquelético, fígado e pâncreas, causando lipotoxicidade (**Figura 1**). Dessa forma, o estado de obesidade atua como um fator de estresse nutricional modificando o metabolismo do tecido adiposo assim como de outros órgãos (LYONS *et al.*, 2016).

O aumento da massa de tecido adiposo branco (adiposidade) está diretamente associado com a crescente taxa de doenças metabólicas em consequência da obesidade (STANFORD e GOODYEAR, 2016).



**Figura 1 – Armazenamento lipídico.** Ingestão excessiva de gordura, com consecutiva capacidade de estocagem do tecido adiposo excedida no estado obeso, ocasionando depósito lipídico em tecidos metabólicos, como fígado e pâncreas, causando lipotoxicidade. Fonte: Lyons *et al.*, 2016, adaptada.

A expansão do tecido adiposo pode ser realizada de duas maneiras: hiperplasia (aumento do número de adipócitos) e hipertrofia (aumento do tamanho dos adipócitos), sendo a primeira a melhor para atender a demanda de armazenamento de lipídeos em excesso, estando associada com maior

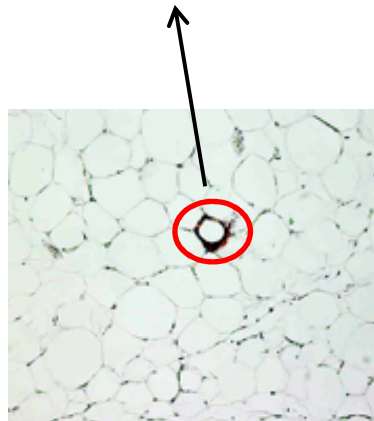
sensibilidade à insulina (LYONS *et al.*, 2016). O consumo de gordura saturada influencia positivamente na hipertrofia do tecido adiposo, enquanto que a gordura monoinsaturada favorece a expansão do tecido adiposo como hiperplasia (FINUCANE, *et al.*, 2015).

No entanto, é importante analisar a localização corporal da adiposidade para determinar o grau de prejuízo metabólico. Segundo Stanford e Goodyear, 2016, o tecido adiposo branco pode estar depositado de duas formas: visceral (que circunda os órgãos internos) e subcutâneo, sendo a primeira forma a de maior risco no desenvolvimento de doenças metabólicas.

O processo de expansão do tecido adiposo é auxiliado por células residentes do sistema imune através de um processo de remodelação extracelular, favorecendo maior angiogênese para garantia da vasculatura e fornecimento de sangue adequado para completar o processo de expansão.

Após o processo de expansão, ocorre infiltração de células imunes devido ao aumento do estresse, secundário ao aumento da carga de trabalho dos adipócitos, ocasionando morte celular por necrose e ativação de macrófagos. Essa infiltração inicial é vista como um mecanismo protetor devido ao remodelamento tecidual realizado pelos macrófagos através do processo de fagocitose. Os macrófagos infiltrados se aglomeram numa estrutura conhecida como estrutura em forma de “coroa” em volta dos adipócitos necrosados (**Figura 2**) (CINTI *et al.*, 2005). O número de células imunes infiltradas é diretamente correlacionado com o tamanho dos adipócitos em camundongos e inversamente correlacionado com a perda de peso em humanos obesos.

### Estrutura em “coroa”



**Figura 2 – Infiltração de macrófagos no tecido adiposo.** Fonte: CINTI *et al.*, 2005, adaptada.

Além da função de estoque lipídico, o tecido adiposo é considerado um órgão dinâmico envolvido em uma variedade de processos fisiológicos e metabólicos, exaltando sua função endócrina a partir da secreção de adipocinas, com destaque especial para a leptina, além de adiponectina e resistina, citocinas como TNF-alfa (fator de necrose tumoral), IL-6 e IL-10 (interleucinas 6 e 10). Essa propriedade permite uma interação do tecido adiposo com outros sistemas (WAJCHENBERG, 2000) (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006) (COSTA e DUARTE, 2006).

### 1.3. Obesidade e Inflamação

A obesidade está associada com uma inflamação crônica nos tecidos metabólicos sendo referida como inflamação metabólica ou “meta-inflamação” caracterizada por secreção anormal de mediadores da resposta imune e pela ativação de vias de sinalização de processos inflamatórios (LYONS *et al.*, 2016) (GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011). Há um aumento no número de células dendríticas e macrófagos no tecido adiposo e fígado, o que contribui para alterações metabólicas ocasionadas (JOVICIC *et al.*, 2015). Essas alterações metabólicas são decorrentes da secreção inadequada de citocinas e adipocinas secretadas tanto pelos adipócitos, tanto pelas células do sistema imune que infiltram o tecido adiposo.

As adipocinas desempenham importantes funções na homeostase de vários processos fisiológicos, como ingestão alimentar, regulação do equilíbrio energético,

metabolismo de glicose, resposta imune, entre outros (COSTA e DUARTE, 2006) (SÁNCHEZ-MUÑOZ, 2005). As principais adipocinas são leptina, adiponectina e resistina.

A leptina é um hormônio peptídico, pró-inflamatório, cujo nome é derivado do grego *leptos*, que significa magro. Uma de suas funções é ser um sinal aferente para o sistema nervoso central (SNC) por uma retroalimentação negativa que inibe a expressão da leptina, controlando o apetite e, conseqüentemente, a ingestão alimentar. Por isso, é conhecido como “hormônio da saciedade” (SILVEIRA *et al.*, 2009). A leptina é produzida pelo tecido adiposo entre outros tecidos e a expressão de RNAm (ácido ribonucléico – mensageiro) para sua síntese pode ser aumentada sob a influência de algumas citocinas, como TNF-alfa e IL-6 (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006). A expressão do gene da leptina está diretamente relacionada com o tamanho da massa de gordura corporal total, ou seja, quanto maior a quantidade de tecido adiposo, maior a concentração de leptina produzida e liberada na circulação (WAJCHENBERG, 2000).

A adiponectina é uma proteína plasmática, secretada especificamente pelo tecido adiposo (FANTUZZI, 2005) (COSTA e DUARTE, 2006). Ela circula em concentrações bem mais elevadas que a leptina no sangue humano (FANTUZZI, 2005). Ao contrário da leptina, a expressão de adiponectina é inversamente proporcional ao tecido adiposo, ou seja, quanto mais o tecido adiposo aumenta, menor a expressão dessa adipocina (COSTA e DUARTE, 2006). A adiponectina possui atividade anti-inflamatória e estimula a expressão de citocinas como a IL-10. As citocinas TNF-alfa e IL-6 inibem a secreção e expressão de adiponectina (SILVEIRA *et al.*, 2009).

A resistina é um hormônio peptídico que tem sido associado à obesidade e sua desregulação endócrina e metabólica, sendo seus níveis significativamente aumentados em indivíduos obesos (ANDREAS *et al.*, 2016) e encontrada na zona inflamatória dos adipócitos (DEGAWA-YAMAUCH *et al.*, 2003). Seu nome é atribuído ao fato da resistina favorecer a resistência à ação da insulina (COSTA e DUARTE, 2006). Em humanos, os macrófagos são os principais responsáveis pela sua liberação, enquanto que o tecido adiposo parece contribuir apenas com uma mínima fração (SOUKI *et al.*, 2016) (COSTA e DUARTE, 2006).

Sabe-se que indivíduos obesos apresentam um perfil de citocinas alterado, sendo diversas destas expressas ou secretadas por células presentes no tecido

adiposo (DENG e SCHERER, 2010). As citocinas TNF-alfa, IL-6 e IL-10 têm sido as mais relatadas em estudos de obesidade (PEREIRA, *et al.*, 2014).

TNF-alfa, citocina pró-inflamatória secretada por células do sistema imune, como monócitos, macrófagos, linfócitos e células *natural killer*, assim como por adipócitos, tem a função de induzir apoptose e toxicidade em células tumorais, bem como ativação de monócitos (HOTAMISLIGIL, 1993). TNF-alfa é amplamente expresso no tecido adiposo e sua ação pode interferir no processo de armazenamento de gordura corporal. O aumento na concentração de TNF-alfa promove a expressão de outras citocinas pró-inflamatórias e reduz a expressão daquelas anti-inflamatórias, resultando em um estado pró-inflamatório global (BAKER *et al.*, 2011).

A IL-6 também é uma citocina com perfil pró-inflamatório, secretada por células presentes no tecido adiposo. A concentração elevada de IL-6 é observada em indivíduos obesos, com correlação positiva com o Índice de Massa Corporal (IMC) (CRUZ-DOMÍNGUEZ, *et al.*, 2014).

Secretada por linfócitos, macrófagos e monócitos ativados, a IL-10 possui propriedades anti-inflamatórias, atuando na modulação da resposta imune e inflamatória por diversos mecanismos, entre eles suprimindo citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF-alfa (PEREIRA, *et al.*, 2014). A IL-10 é negativamente relacionada ao IMC e a diminuição de sua concentração está diretamente associada à obesidade (ESPOSITO, *et al.*, 2003).

#### **1.4. Modelos experimentais de obesidade**

Nos últimos 30 anos, têm surgido vários estudos experimentais para se avaliar os efeitos de dietas ricas em gordura (MAIOLI *et al.*, 2015). A maioria desses estudos utilizam animais adultos e os alimentam com dietas com concentrações extremamente baixas (<20%) ou extremamente altas de lipídeos (>40%) (FLANAGAN *et al.*, 2008).

Muitos estudos utilizam ratos Wistar machos como modelo experimental. Kretschmer e colaboradores (2005) trataram os animais com dieta padrão (10,8% lipídeos), dieta com alto teor de lipídeos e carboidratos (24% lipídeos) e dieta de cafeteria (que promove o aumento de peso nos animais através do fornecimento de alimentos altamente palatáveis que constituem parte dos hábitos alimentares das

peças de países ocidentais). Prada e colaboradores (2005) alimentaram os ratos com dieta padrão (10% lipídeos) e dieta de cafeteria (46,5% lipídeos), encontrando maior ganho de peso nos animais alimentados com a dieta rica em lipídeos. Lionetti e colaboradores (2014) e Cavaliere e colaboradores (2016) trataram os animais com dieta padrão (10,6% lipídeos), dieta com alto teor lipídico, utilizando, como fonte de lipídeos, a banha de porco (40% lipídeos) por 6 semanas e observaram maior ganho de peso nos animais alimentados com dieta com alto teor de banha.

Outros estudos utilizando camundongos C57BL/6 machos tratados com dieta padrão (10% lipídeos) ou dieta com alto teor lipídico (60% lipídeos), por 24 semanas conseguiram induzir obesidade experimental (Jovicic *et al.*, 2015). Maioli e colaboradores (2015) utilizaram dieta padrão (AIN 93G) e dieta com alto teor de açúcar e lipídeo (48% lipídeos), tendo como principal fonte lipídica, a manteiga, para alimentar os camundongos por 11 semanas e encontraram ganho de peso significativo nos animais alimentados com dieta rica em manteiga, bem como uma diferença nos marcadores bioquímicos e inflamatórios. Finucane e colaboradores (2015) observaram também ganho de peso em camundongos alimentados com dieta com alto teor de lipídeos (45%) advindos de ácido oléico, ômega 9 (w9) quando comparados com camundongos controle alimentados com dieta padrão contendo 5,2% de lipídeos, por 24 semanas.

### 1.5. Lipídeos dietéticos

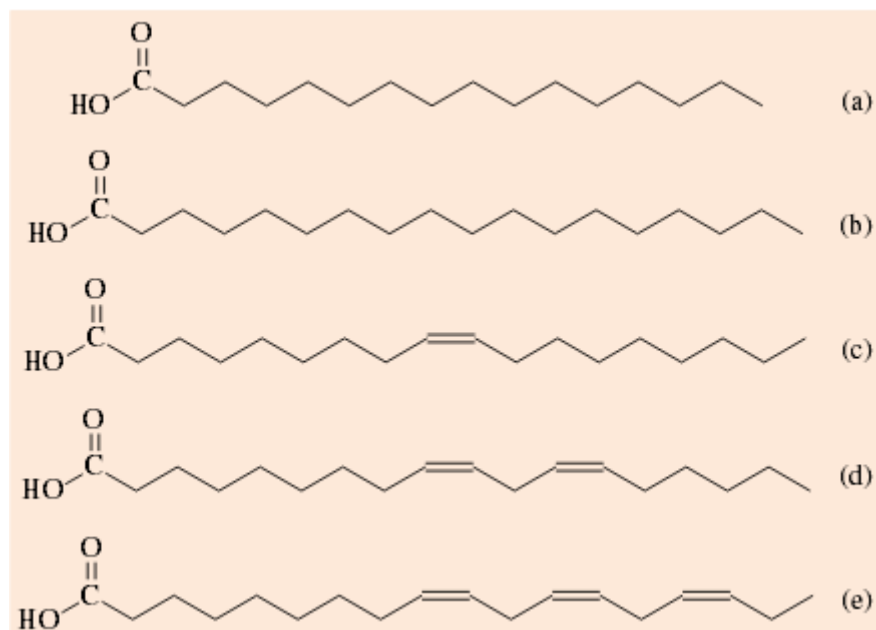
Os lipídeos são uma classe de substâncias químicas cuja principal característica é a hidrofobia, ou seja, não serem solúveis em água. Os exemplos mais conhecidos de lipídeos são os ácidos graxos e seus derivados, esteróis, ceras e carotenóides (RAMALHO E SUAREZ, 2013).

Os ácidos graxos são classificados pelo comprimento da cadeia de carbono, além de número de duplas ligações na cadeia de carbono e pela configuração das duplas ligações (RAMALHO E SUAREZ, 2012). Essas características químicas, associadas à quantidade de gordura ingerida na alimentação, são determinantes do efeito da ingestão dos ácidos graxos no organismo (SANTOS *et al.*, 2013).

Os ácidos graxos podem ser divididos em saturados e insaturados (**Figura 3**). Ácidos graxos saturados são encontrados em produtos de origem animal, como leite e derivados e carnes. Também são encontrados no óleo de coco e óleo de

dendê. Possuem apenas ligações simples e, normalmente encontram-se sólidos à temperatura ambiente (SANTOS *et al.*, 2013).

Já os ácidos graxos insaturados são encontrados em produtos de origem vegetal, na forma líquida à temperatura ambiente e possuem duplas ligações além de ligações simples. Têm sua classificação em razão do número de duplas ligações, em monoinsaturado ou poliinsaturado. Além desse fator, leva-se em conta a localização da primeira dupla ligação a partir do grupo metila da cadeia de carbono para identificar a série do ácido graxo  $\omega$  (ômega), sendo os principais,  $\omega 3$ ,  $\omega 6$  e  $\omega 9$ , sendo o último encontrado em abundância no azeite de oliva.



**Figura 3 – Estrutura química de ácidos graxos.** a Palmítico (saturado). b Esteárico (saturado) c Oléico –  $\omega 9$  (monoinsaturado). d Linoléico –  $\omega 6$  (poliinsaturado). e Linolênico –  $\omega 3$  (poliinsaturado). Fonte: RAMALHO E SUAREZ, 2012.

Na **Tabela 1** é demonstrada a composição de ácidos graxos em diferentes alimentos fontes.

Segundo a ANVISA, o óleo de soja é o óleo comestível obtido de sementes de soja (*Glycinemax L.*) através de processos tecnológicos de refino (ANVISA, 1999). Apresenta em sua composição maior quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, destacando o ácido graxo linoléico, seguido de ácidos graxos monoinsaturados e saturados (ALMEIDA *et al.*, 2011).

**Tabela 1 – Composição de ácidos graxos das diferentes fontes lipídicas (% ácidos graxos).** <sup>1</sup>Valores apresentados em média. Fonte: ANVISA, 1999; <sup>2</sup>Fonte: ALMEIDA et al, 2011.

Fonte lipídica/Ácidos graxos	Óleo de soja	Manteiga	Banha de porco	Azeite de oliva
<i>Saturados</i>	14,3 <sup>2</sup>	75,0 <sup>2</sup>	45,0 <sup>2</sup>	16,5 <sup>1</sup>
Palmítico (C 16:0)	9,9 <sup>2</sup>	43,7 <sup>2</sup>	30,0 <sup>2</sup>	13,7 <sup>1</sup>
Mirístico (C 14:0)	-	12,3 <sup>2</sup>	-	-
Esteárico (C 18:0)	3,6 <sup>2</sup>	11,2 <sup>2</sup>	13,1 <sup>2</sup>	2,7 <sup>1</sup>
<i>Monoinsaturados</i>	22,3 <sup>2</sup>	23,2 <sup>2</sup>	40,0 <sup>2</sup>	70,9 <sup>1</sup>
Oléico (C 18:1)	21,8 <sup>2</sup>	19,1 <sup>2</sup>	37,1 <sup>2</sup>	69,0 <sup>1</sup>
<i>Poliinsaturados</i>	63,2 <sup>2</sup>	1,5 <sup>2</sup>	14,7 <sup>2</sup>	12,2 <sup>1</sup>
Linoléico (C 18:2)	56,8 <sup>2</sup>	1,5 <sup>2</sup>	13,7 <sup>2</sup>	12,2 <sup>1</sup>

A manteiga é um produto formado a partir da batidura do creme gorduroso obtido do desnate do leite (BRASIL, 2013). Esse produto tem como característica um agradável aroma e sabor. Os responsáveis por tal característica são os ácidos graxos de cadeia curta (C4-C12), principalmente o ácido butírico, devido a alta volatilidade apresentada por esses ácidos graxos encontrados na gordura do leite (HALL *et al.*). É um produto rico em ácidos graxos saturados, correspondendo a aproximadamente 70% dos ácidos graxos totais, tendo como principal componente o ácido palmítico. Quanto à composição de ácidos graxos insaturados, a manteiga apresenta 23,2% de ácidos graxos monoinsaturados e menos de 2% de poliinsaturados (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Gorduras presentes em tecido adiposo de mamíferos como porco e boi, como a banha de porco, são consideradas ricas em gordura saturada, ou como gordura saturada, devido a algumas características apresentadas por elas, como por exemplo, serem sólidas à temperatura ambiente (SANTOS *et al.*, 2013). Porém, a banha de porco não apresenta em sua composição apenas ácidos graxos saturados. Estes representam em torno de 45% dos ácidos graxos totais, sendo 30% de ácido palmítico e 13,1% de ácido esteárico. Os 55% restantes são de ácidos graxos insaturados, sendo 40% mono e aproximadamente 15% poliinsaturados (ALMEIDA *et al.*, 2011).

O azeite de oliva é originado da oliveira (*Olea europaea* L.). Seu nome olea vem do latim *oliva* (azeitona) ou do grego *elai* (óleo). Do seu fruto, a azeitona, mais

especificamente das sementes de azeitona, é extraído o azeite através de prensagem mecânica. Devido ao seu processo de extração pouco invasivo, o azeite de oliva é considerado um produto natural de alta qualidade. Quanto à composição do azeite de oliva, sabe-se que as variedades de azeitonas mais comuns utilizadas para extração do óleo podem apresentar até 80% de ácido oléico, ácido graxo monoinsaturado (MELLO E PINHEIRO, 2012). O azeite de oliva apresenta ainda, em sua composição, aproximadamente 16% de ácidos graxos saturados, quantidade esta superior à quantidade de ácidos graxos poliinsaturados (12,2%), considerados importantes para o organismo, adquiridos somente através da alimentação (ANVISA, 1999).

## **2. JUSTIFICATIVA**

Já é bem relatado na literatura que a obesidade leva a um estado inflamatório que gera várias co-morbidades associadas e níveis variáveis de citocinas e adipocinas circulantes. No entanto, ainda não está completamente claro o papel de cada fonte de gordura alimentar no desenvolvimento desse processo inflamatório. Assim, o presente estudo propõe avaliar se o perfil bioquímico e imunológico de camundongos da linhagem C57BL/6 estão correlacionados com as principais fontes de gordura ingeridas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito do consumo de diferentes tipos de gorduras no perfil bioquímico e imunológico de camundongos C57BL/6.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Avaliar o efeito de dietas contendo diferentes fontes de lipídeos no perfil bioquímico e imunológico de camundongos C57BL/6.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

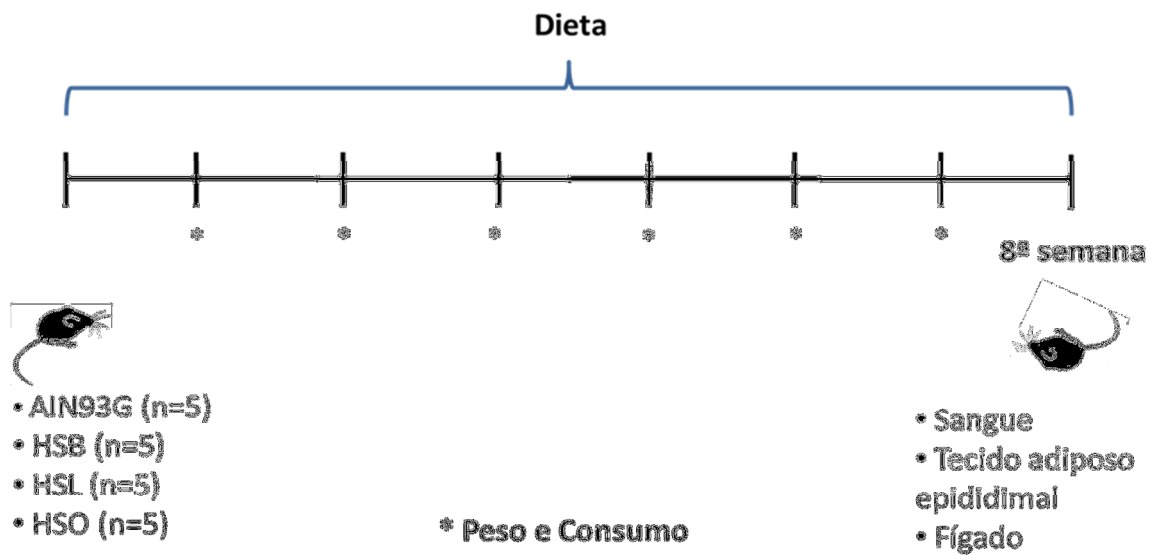
### 4.1. Camundongos e delineamento experimental

Foram utilizados 20 camundongos C57BL/6 machos com idade entre 6 a 8 semanas obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais em condições SPF (*Specific Pathogen Free*). Os animais foram mantidos e submetidos aos ensaios experimentais no Biotério do Laboratório de Imunobiologia pertencente ao Departamento de Imunologia e Bioquímica do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os 20 camundongos foram divididos em 4 grupos e mantidos em gaiolas separadas (5 animais por gaiola) por 8 semanas, com livre acesso à água filtrada e dieta. Os grupos foram:

1. Dieta AIN-93 (controle);
2. Dieta HSB (*High Sugar and Butter* – alto teor de açúcar e manteiga);
3. Dieta HSL (*High Sugar and Lard* – alto teor de açúcar e banha de porco);
4. Dieta HSO (*High Sugar and Olive Oil* – alto teor de açúcar e azeite de oliva).

O peso de cada animal foi aferido a cada sete dias e o consumo da dieta calculado com a mesma frequência (oferta menos sobra).

Após 8 semanas, os animais foram anestesiados com solução de ketamina (70 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), diluídos em PBS (salina tamponada). O anestésico foi administrado por via intraperitoneal. Foi realizada uma incisão abdominal longitudinal para coleta de sangue, para análises bioquímicas. Posteriormente, os animais foram eutanasiados através de deslocamento cervical. Foram coletados o tecido adiposo epididimal para medida de citocinas, histologia e cálculo de adiposidade e o fígado para histologia. As etapas do delineamento experimental estão apresentadas na **Figura 4**.



**Figura 4 – Delineamento do estudo experimental.**

#### 4.2. Dietas

Os animais foram alimentados por oito semanas com a dieta AIN 93-G, controle, e demais dietas experimentais contendo elevadas quantidades de açúcar e lipídeos, de acordo com a **Figura 4**. Todas as dietas utilizadas foram feitas de forma artesanal, no próprio laboratório de Imunobiologia, sendo a composição das mesmas apresentada na **Tabela 2**.

**Tabela 2 – Composição das dietas experimentais**

<b>Dieta/Ingredientes</b>	<b>AIN 93-G</b>	<b>HSB</b>	<b>HSL</b>	<b>HSO</b>
Amido de milho	397.486	208.586	208.586	208.586
Caseína	200	200	200	200
Amido dextrinizado	132	0	0	0
Açúcar	100	232	232	232
Óleo de soja	70	70	70	70
Celulose	50	50	50	50
Mix minerais	35	35	35	35
Mix vitaminas	10	10	10	10

Cistina	3	3	3	3
Bitartarato de colina	2.5	2.5	2.5	2.5
Bht	0.014	0.014	0.014	0.014
Manteiga sem sal	0	188.9	0	0
Banha de porco	0	0	188.9	0
Azeite de oliva extra virgem	0	0	0	188.9
<b>Total (g)</b>	1000	1000	1000	1000
<b>kcal/g</b>	4	4,6	4,9	4,8
<b>Composição centesimal energética</b>				
<b>Carboidratos</b>	63,5	38,3	35,8	36,1
<b>Proteínas</b>	20,5	17,6	16,5	16,7
<b>Lipídeos</b>	16	44,1	47,7	47,2

*HSB* elevado teor de açúcar e manteiga.

*HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco.

*HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

#### 4.3. Índice de adiposidade

Ao final do tratamento dietético o tecido adiposo branco epididimal foi recolhido e pesado. Os resultados foram demonstrados como índice de adiposidade (Peso do tecido adiposo epididimal / Peso corporal).

#### 4.4. Medida de citocinas e adipocinas séricas

Para a coleta de sangue, os animais ficaram em jejum por 6 horas. O sangue foi centrifugado para a obtenção do soro e armazenado em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Níveis de glicose, colesterol e triglicérides foram detectados com a utilização de kits enzimáticos (Bioclin Belo Horizonte, MG, Brasil). Os níveis de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 foram dosados em extrato do tecido adiposo epididimal. Foi adicionado tampão para extração de citocina e, após, o tecido foi homogeneizado e centrifugado. Para a detecção dos níveis de citocinas foi utilizada a técnica de ELISA conforme instruções do fabricante (R&D systems). As adipocinas leptina e resistina foram dosadas do soro dos animais, através da técnica de ELISA conforme instruções do fabricante (R&D systems).

#### **4.5. Histologia do tecido adiposo e do fígado**

O tecido adiposo epididimal e o fígado foram removidos, lavados em solução salina e fixado em formaldeído tamponado a 10%. Posteriormente, as amostras foram transferidas para uma solução de etanol 70%. As amostras foram, então, desidratadas e embebidas em parafina e coradas com hematoxilina-eosina. As fotografias foram obtidas em um microscópio óptico (Olympus Bx40) acoplado a uma câmera digital, com ampliação de 100x para o tecido adiposo e 200x para o fígado. Para medição da área dos adipócitos, foi utilizado o software ImageJ.

#### **4.6. Análise Estatística**

As análises foram realizadas utilizando o Graph Pad Prism 6.01. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). Quando a ANOVA indicou significância, os dados foram analisados utilizando o pós-teste de Tukey. Two-way ANOVA foi utilizado para análise do gráfico de linha para verificar interações entre as variáveis independentes tempo e grupos. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes.

#### **4.7. Aspectos Éticos**

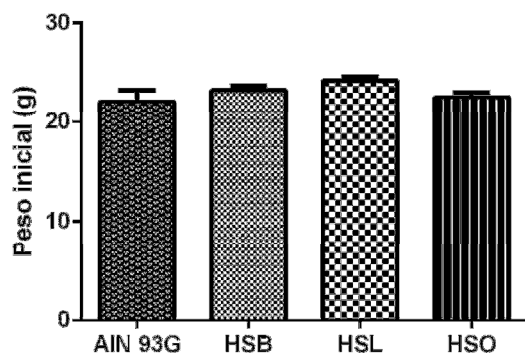
O projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG sob o protocolo de submissão número 338/2012 (**Anexo**).

## 5. RESULTADOS

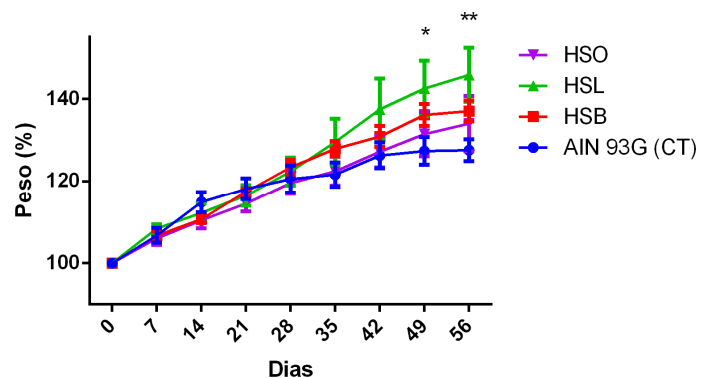
### 5.1. Ganho de peso de acordo com a fonte de lipídeos presente na dieta

No início do experimento, antes da separação dos grupos, os 20 camundongos C57BL/6 apresentaram pesos corporais semelhantes (**Figura 5A**). Houve ganho de peso em todos os grupos ao longo do tempo sendo que na sétima e na oitava semanas após o consumo de dietas hipercalóricas, os camundongos do grupo HSL apresentaram peso corporal significativamente maior quando comparados aos animais do grupo controle (**Figura 5B**). A **Figura 5C** retirada no último dia de experimento, com os animais com maior peso de cada grupo, sugere uma diferença na distribuição de gordura corporal entre os grupos, sendo que o grupo HSL apresenta gordura mais centralizada que o grupo HSO. Quanto à adiposidade, houve diferença estatística entre os grupos HSL e HSO, sendo maior no grupo tratado com banha de porco (**Figura 5D**).

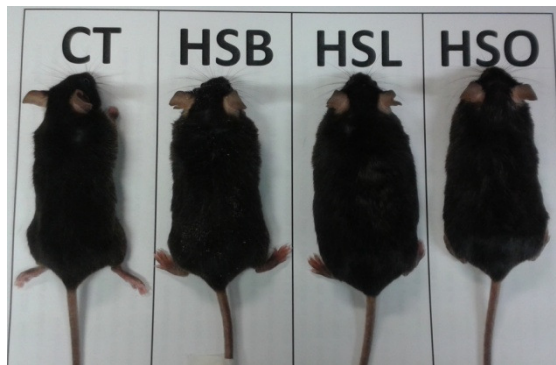
**A**



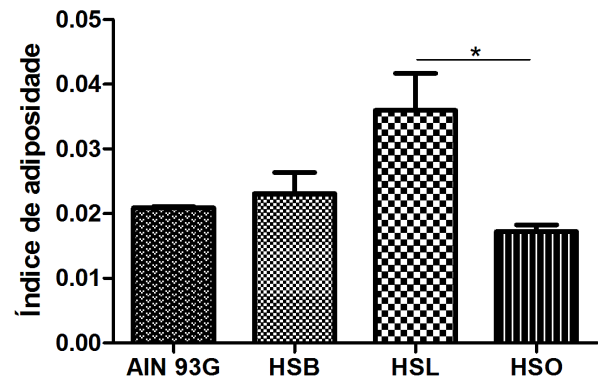
**B**



C



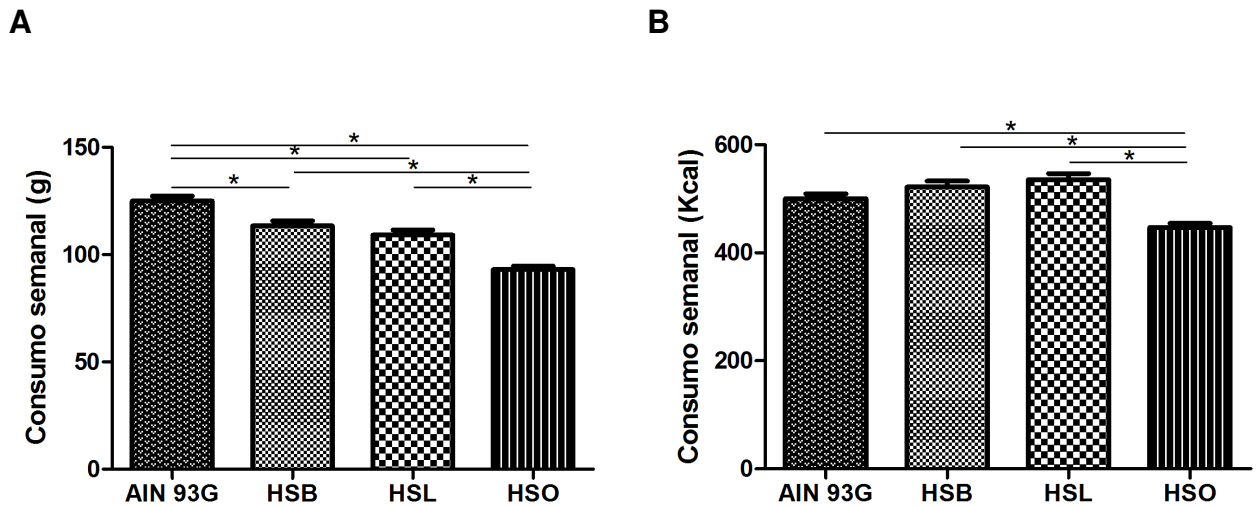
D



**Figura 5 – O ganho de peso dos animais é influenciado pela fonte de lipídeo presente na dieta.** A. Peso inicial dos animais. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). B. Ganho de peso. Foi utilizado o teste Two-way ANOVA para análise dos resultados para verificar interações entre as variáveis independentes tempo e grupos. C. Distribuição corporal de gordura. D. Adiposidade. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). \*  $p < 0,05$ . *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

## 5.2. O consumo de dieta é influenciado pelo tipo de gordura presente

Com relação ao consumo de dieta pelos animais, medido em gramas, houve diferença significativa entre os grupos, não havendo diferença apenas entre os grupos HSB e HSL (**Figura 6A**). Já quanto ao consumo em calorias, também houve diferença entre os grupos sendo que o menor consumo foi encontrado no grupo tratado com azeite de oliva (**Figura 6B**).



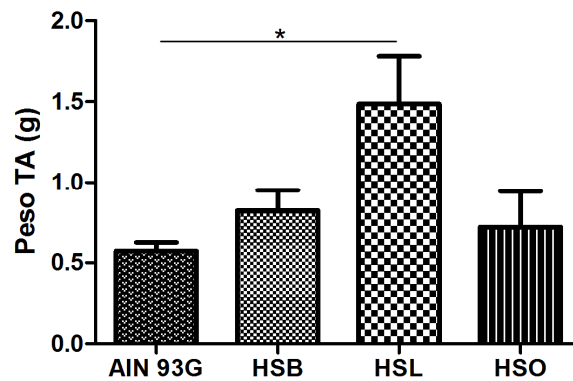
**Figura 6 - O consumo de dieta é influenciado pelo tipo de gordura presente.** A. Consumo semanal em gramas. B. Consumo semanal em calorias. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). \*  $p < 0,05$ . *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

### 5.3. Aspecto histológico do tecido adiposo

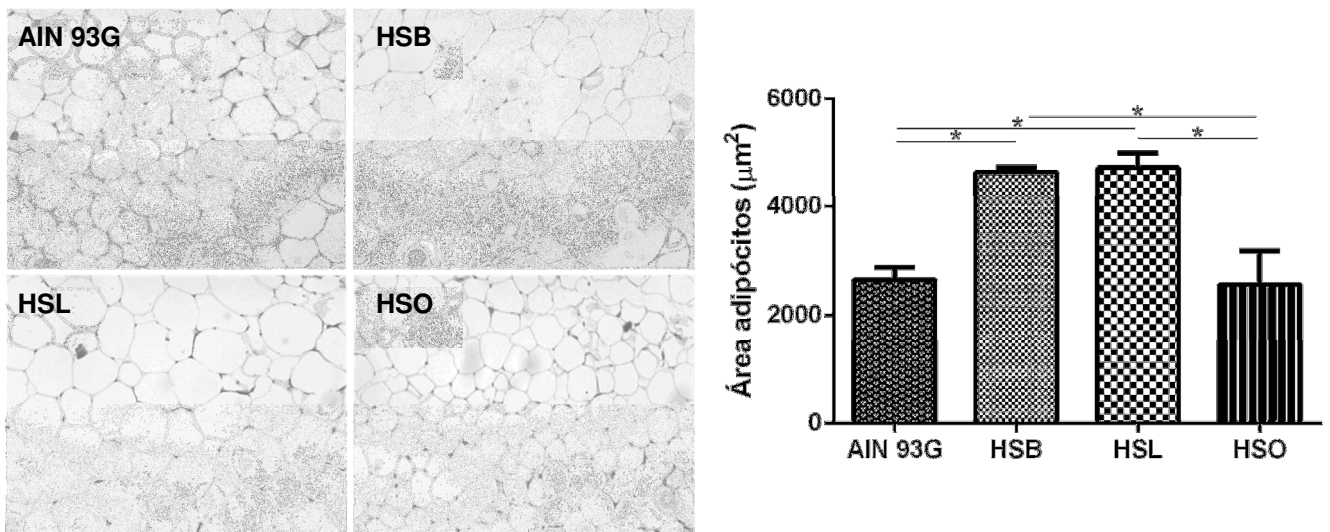
Para avaliação do tecido adiposo, foi obtido o peso do tecido adiposo epididimal e foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos AIN93G e HSL. O grupo alimentado com dieta com alto teor de banha obteve maior peso do tecido adiposo (**Figura 7A**).

A análise histológica do tecido adiposo epididimal em conjunto com a área dos adipócitos mostrou aumento do tamanho dos adipócitos dos grupos HSB e HSL, comparados ao grupo controle. Já o grupo HSO tem como característica adipócitos menores quando comparados com os adipócitos dos grupos HSB e HSL. Não foram encontradas diferenças entre o tamanho dos adipócitos do grupo controle e grupo HSO (**Figura 7B**).

A



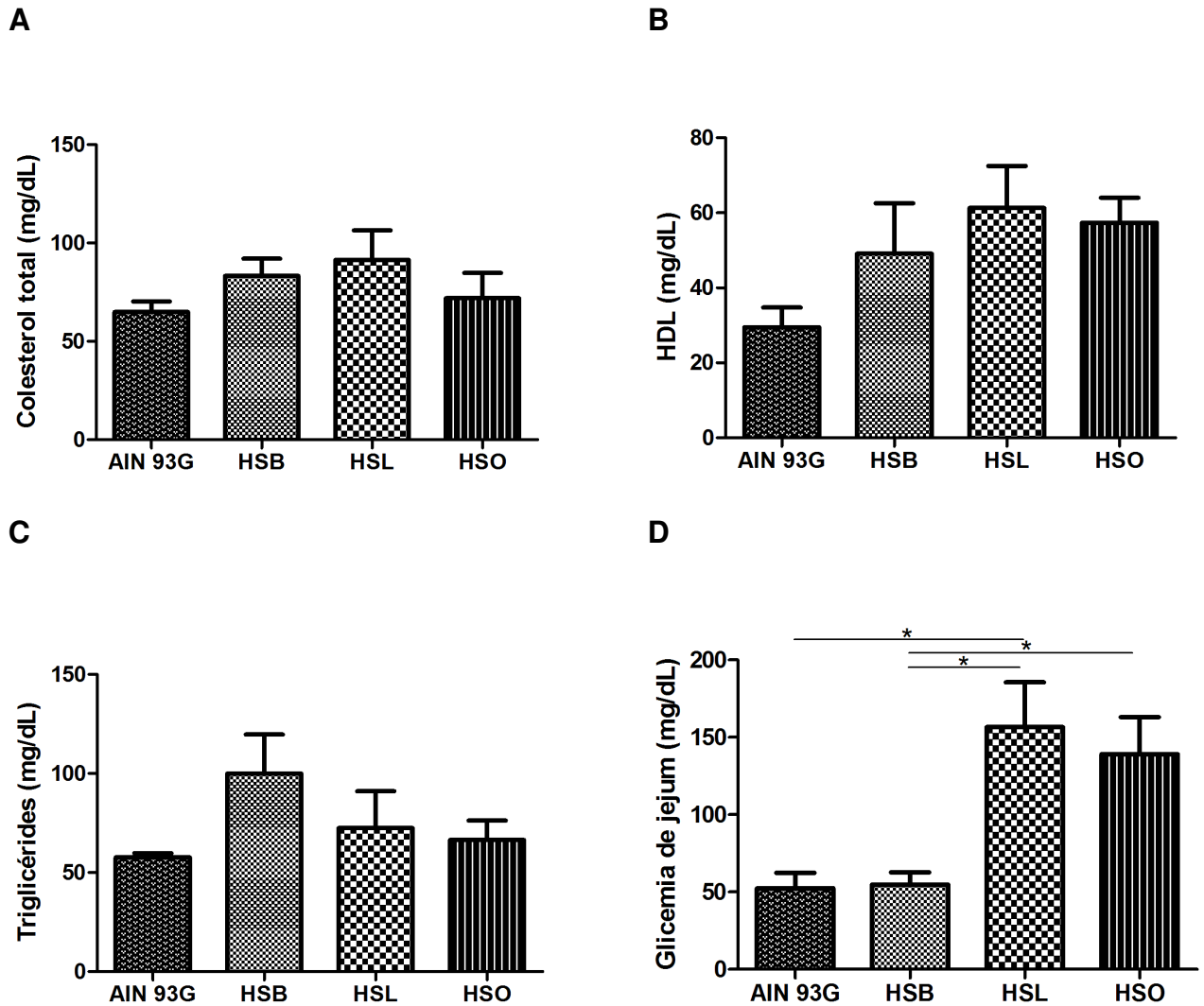
B



**Figura 7– Aspecto histológico do tecido adiposo dos animais.** A. Peso do tecido adiposo epididimal. B. Histologia do tecido adiposo epididimal e área dos adipócitos. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). \* $p < 0,05$ . As fotografias foram obtidas em um microscópio óptico acoplado a uma câmera digital, com ampliação de 100x. Para medida área dos adipócitos, foi utilizado o software ImageJ. *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

#### 5.4. Influência das diferentes fontes de lipídeos nos parâmetros bioquímicos dos animais

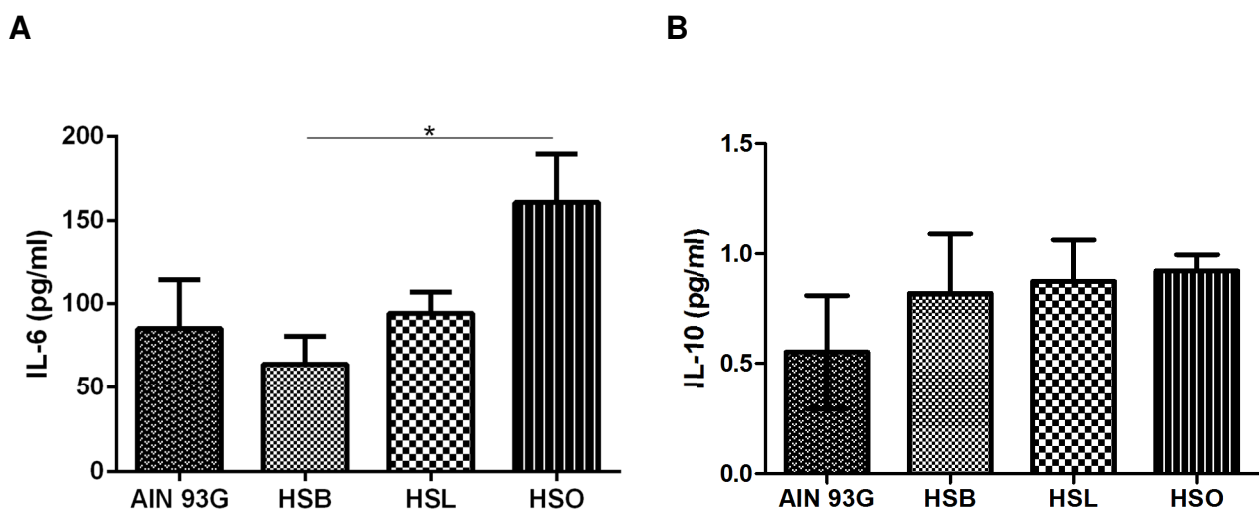
Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à medida de colesterol total (**Figura 8A**), colesterol HDL (**Figura 8B**) e triglicérides (**Figura 8C**). Já quanto à glicemia de jejum, houve diferença entre os grupos. Pode-se observar que os níveis mais altos foram encontrados nos grupos HSL e HSO (**Figura 8D**).



**Figura 8 – Influência das diferentes fontes de lipídeos nos parâmetros bioquímicos dos animais.** A. Colesterol total. B. Colesterol HDL. C. Triglicérides. D. Glicemia de jejum. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). \*  $p < 0,05$ . *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

### 5.5. Influência da gordura dietética na produção de citocinas no tecido adiposo

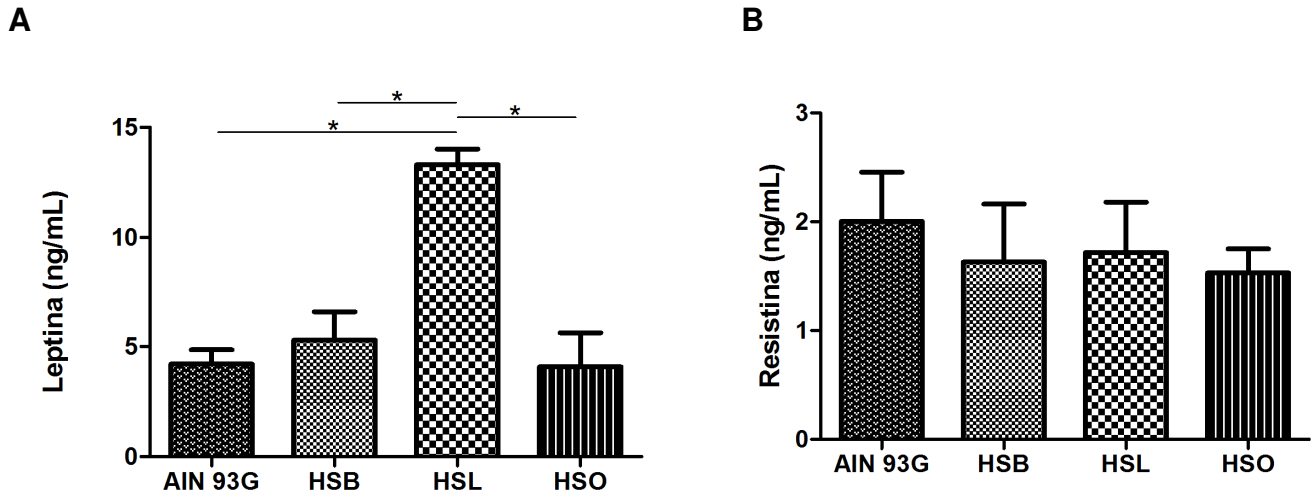
De acordo com os dados avaliados houve diferença significativa entre HSB e HSO quanto à IL-6, sendo que os níveis maiores da citocina foram encontrados no grupo tratado com a dieta com alto teor de azeite de oliva (**Figura 9A**). Quanto à medida da citocina IL-10, não foi observada diferença significativa entre os grupos (**Figura 9B**).



**Figura 9 – Influência da gordura dietética na produção de citocinas no tecido adiposo dos animais.** A. IL-6. B. IL-10. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). \*  $p < 0,05$ . *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

### 5.6. Influência das diferentes fontes de lipídeos na concentração sérica de adipocinas

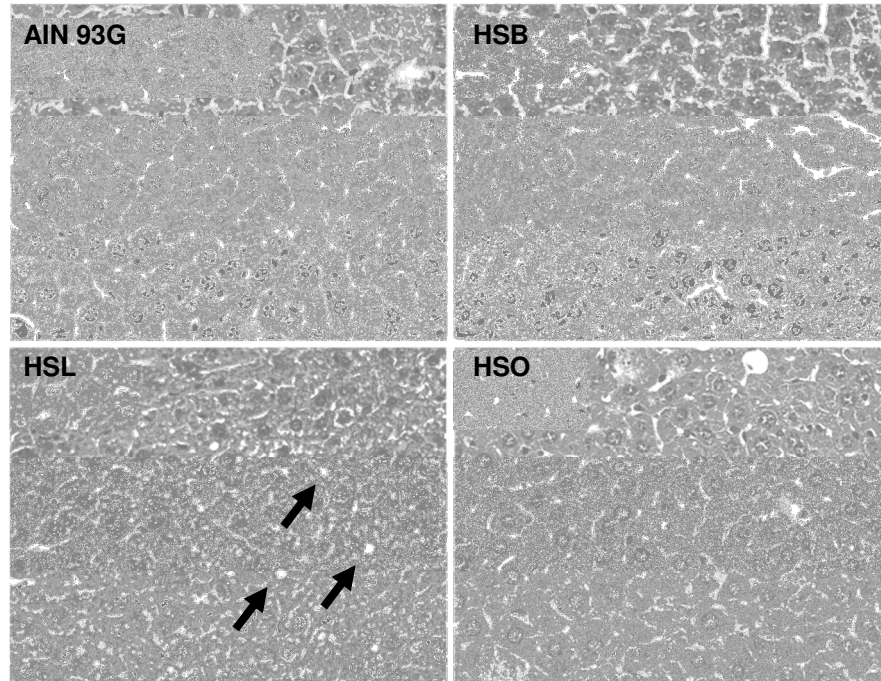
Ao se avaliar a concentração sérica de leptina, observou-se que houve diferença significativa entre o grupo alimentado com banha de porco e todos os demais grupos (controle e experimentais), sendo as maiores concentrações dessa adipocina encontradas no grupo HSL (**Figura 10A**). Quanto à resistina, não houve diferença entre os grupos, de acordo com a **Figura 10B**.



**Figura 10 – Influência das diferentes fontes de lipídeos na concentração sérica de adipocinas.** A. Leptina. B. Resistina. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A comparação entre os grupos foi feita utilizando-se a análise de variância (ANOVA). \*  $p < 0,05$ . *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

### 5.7. Aspecto histológico do fígado

Na **Figura 11** estão apresentadas imagens da histologia do fígado. Nota-se uma discreta esteatose no grupo HSL. Não houveram alterações nos demais grupos.



**Figura 11 – Aspecto histológico do fígado.** As fotografias foram obtidas em um microscópio óptico acoplado a uma câmera digital, com ampliação de 200x. As setas indicam os pontos de esteatose hepática. *AIN 93G* dieta padrão. *HSB* elevado teor de açúcar e manteiga. *HSL* elevado teor de açúcar e banha de porco. *HSO* elevado teor de açúcar e azeite de oliva extra virgem.

## 6. DISCUSSÃO

Desordens metabólicas como obesidade, doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 são influenciadas por processo inflamatório crônico, que podem ser altamente dependentes da composição dietética (VAUGHAN *et al.*, 2015). A obesidade leva a um estado inflamatório com co-morbidades associadas e níveis variáveis de citocinas e adipocinas circulantes (LYONS *et al.*, 2016) (DENG e SCHERER, 2010). A adoção de um padrão dietético com aumento do consumo de gordura tem favorecido o ganho de peso da população (MALIK *et al.*, 2013). Contudo, ainda não está completamente claro o papel de cada fonte de gordura alimentar no desenvolvimento desse processo inflamatório. Dessa forma, o presente trabalho experimental teve como objetivo verificar se o consumo de diferentes tipos de lipídeos, banha de porco, manteiga ou azeite de oliva interfere no metabolismo de camundongos C57BL/6.

A banha de porco, composta por, quase 50% de ácidos graxos saturados é comumente presente em dietas de estudos experimentais e induz ganho de peso nos animais, como demonstrado por Lionetti e colaboradores (2014) e por Cavaliere e colaboradores (2016) que encontraram maior ganho de peso em animais tratados com dietas contendo banha de porco, comparados aos animais alimentados com dietas contendo como principal fonte lipídica o óleo de peixe (composto em maior parte por ácidos graxos poli-insaturados – w3). Da mesma maneira, no presente estudo o tratamento de camundongos com dieta rica em gordura proveniente de banha de porco resultou em ganho de peso maior que o grupo controle a partir da sétima semana de tratamento, sem ganho de peso significativo dos demais grupos, diferentemente de Vaughan e colaboradores (2015) que apesar de também terem encontrado maior ganho de peso nos animais tratados com dieta contendo banha de porco, comparados aos animais do grupo controle, se depararam também com ganho de peso equivalente nos animais alimentados com dieta rica em w9, ácido graxo monoinsaturado, advindo do azeite de oliva e do óleo de canola. O consumo em gramas não variou entre os grupos deste estudo citado e o consumo calórico foi maior em todos os grupos comparados ao controle. Já no presente trabalho, foi observado um menor consumo em gramas no grupo alimentado com a dieta rica em azeite de oliva, com conseqüente consumo calórico menor e assim, sem ganho de peso significativo.

As características químicas dos ácidos graxos constituintes das gorduras dietéticas associadas à quantidade de gordura ingerida na alimentação são determinantes para os efeitos gerados no organismo (SANTOS *et al.*, 2013). Assim, estes determinantes não somente influenciam o ganho de peso, como podem, aparentemente, impactar na distribuição de gordura corporal, sugerindo no presente estudo, que a banha de porco pode ter influenciado no acúmulo centralizado de gordura dos animais que a consumiram. Essa influencia da banha de porco surgiu também nos valores de adiposidade dos animais. O grupo tratado com a dieta contendo banha de porco apresentou maior adiposidade.

Ao se avaliar os níveis de colesterol total, colesterol HDL e triglicérides observou-se que as concentrações plasmáticas foram semelhantes entre todos os grupos. Outros estudos avaliaram os níveis de marcadores bioquímicos em animais após a oferta de dietas hiperlipídicas e encontraram maiores níveis de colesterol total e triglicérides nos grupos tratados com banha de porco, comparado aos grupos controle (CAVALIERE *et al.*, 2016) e maiores níveis desses marcadores bioquímicos nos animais tratados com dietas ricas em manteiga (MAIOLI *et al.*, 2015). As diferenças apresentadas podem ter sido influenciadas pelo consumo desigual das dietas pelos animais dos diferentes grupos experimentais no presente trabalho, sendo que nos estudos citados, o consumo de dieta em gramas foi similar entre os grupos. Quanto à avaliação da glicemia de jejum, foram encontrados maiores níveis de glicose plasmática nos grupos HSL e HSO quando comparados ao grupo controle e ao grupo alimentado com dieta rica em manteiga, divergindo da literatura quanto ao consumo de azeite de oliva. Trata-se de um óleo rico em ácidos graxos monoinsaturados, mais especificamente em ácido oléico (w9). Já é descrito na literatura, por meio de estudos com a dieta mediterrânea, que o consumo de ácidos graxos monoinsaturados, pela ingestão de azeite de oliva e de sementes oleaginosas que essa dieta não está relacionada ao ganho de peso excessivo e que exerce maior controle glicêmico (BRESSAN *et al.*, 2009).

O peso do tecido adiposo epididimal foi maior no grupo tratado com dieta contendo banha de porco. Esse resultado está de acordo com o resultado de ganho de peso corporal, sendo que o grupo HSL teve também maior peso que os demais grupos. Os resultados obtidos pela análise histológica do tecido adiposo em associação ao cálculo da área dos adipócitos e peso do tecido adiposo epididimal, sugerem que os grupos tratados com manteiga ou banha apresentaram obesidade

do tipo hipertrófica, enquanto que o grupo alimentado com azeite de oliva apresentou hiperplasia no tecido adiposo.

A esteatose hepática caracteriza-se por um acúmulo de partículas de VLDL, ocasionando um aumento do peso do fígado. Essa característica é resultado direto do tipo de fonte lipídica consumida. Através da análise histológica do fígado, pode-se observar que o grupo tratado com banha de porco apresentou pontos de esteatose. Os fígados dos animais do grupo HSB não apresentaram aspecto completamente normal, mas não houve evidência de presença de esteatose nesse grupo. Já o grupo alimentado com dieta contendo azeite de oliva apresentou características hepáticas semelhantes ao grupo controle. Estudos como de Almeida e colaboradores, (2011) encontraram características de esteatose nos fígados de animais alimentados com banha de porco e manteiga, sendo o consumo das dietas semelhante entre os grupos.

Ao avaliar os níveis de IL-6 no tecido adiposo dos animais, foi observado que o grupo HSO apresentou maior concentração de IL-6 que os demais grupos. Isso sugere que a composição de ácidos graxos do azeite (principalmente ácido oléico) possa induzir um processo inflamatório. O mesmo resultado foi encontrado por Vaughan e colaboradores (2015). Quando foi avaliada a produção de IL-10 no tecido adiposo, não foi verificada diferença significativa entre os grupos.

Na avaliação dos níveis plasmáticos de adipocinas, pode-se observar maiores níveis de leptina nos animais tratados com dieta com alto teor de banha de porco. Esse resultado está em conformidade com o ganho de peso dos animais, já que o grupo HSL apresentou o maior, e com o peso do tecido adiposo e adiposidade, maior no mesmo grupo experimental. A expressão do gene da leptina está diretamente relacionada com o tamanho da massa de gordura corporal total, ou seja, quanto maior a quantidade de tecido adiposo, maior a concentração de leptina produzida e liberada na circulação (WAJCHENBERG, 2000). Quanto aos níveis de resistina, não houve diferença entre os grupos.

De maneira geral, as gorduras são erroneamente classificadas em boas ou ruins e o critério de classificação é baseado na composição de ácidos graxos em saturados e insaturados, sendo considerados ruins os ácidos graxos saturados e bons, os insaturados. Ao mesmo tempo, é comum a generalização da composição de gorduras e óleos como gordura saturada ou óleo insaturado. Como exemplo, podemos citar a banha de porco que é conhecida como gordura saturada,

provavelmente por ser de origem animal. Entretanto, em sua composição de ácidos graxos, menos da metade dos ácidos graxos totais (aproximadamente 45%) são saturados. Os outros 55% são de ácidos graxos insaturados. Isto não significa que a banha seja um produto a ser indicado simplesmente por conter ácidos graxos insaturados.

Assim, é necessário conhecer melhor a ação de cada ácido graxo isoladamente e em conjunto com outros nutrientes para que se possa falar com responsabilidade sobre o que se deve ou não ser consumido, no que diz respeito aos lipídeos dietéticos.

## **7. CONCLUSÃO**

A fonte lipídica que apresentou resultados em maior ganho de peso, alterações metabólicas, índice de adiposidade, níveis de leptina e esteatose hepática foi a banha de porco. O azeite de oliva obteve destaque quanto ao aumento de IL-6 e glicemia. Porém, o consumo das dietas não foi uniforme entre os animais dos grupos experimentais, o que dificulta a análise da real influência das fontes lipídicas no metabolismo e sistema imune. Para isso, é necessária repetição do experimento e estudos mais detalhados são indispensáveis sobre a ação isolada e conjunta com outros nutrientes dos ácidos graxos.

## 8. PERSPECTIVAS

- Realizar novos experimentos para reavaliar o impacto exercido pelos ácidos graxos componentes da manteiga, banha de porco, azeite e óleo de soja no metabolismo e sistema imune de camundongos C57BL/6.

## 9. REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. Resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999.
- Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2548–56.
- de Almeida MEF, de Queiroz JH, Costa NMB, Matta SLP. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). *Rev Nutr.* 2011;24(1):143–52.
- Andreas NJ, Hyde MJ, Herbert BR, Jeffries S, Santhakumaran S, Mandalia S, Holmes E, Modi N. Insulin, ghrelin and resistin in breast milk across a single feed: a longitudinal cohort study. *BMJ Open* 2016 July 15; 6:e010778.
- Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, Inflammation, and Metabolic Disease. *Cell Metab* [Internet]. 2011;13(1):11–22. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S155041311000450X>
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res.* 2005;96(9):939–49.
- Brasil. Ministério da agricultura do abastecimento e da reforma agrária. Regulamento técnico de identidade e qualidade de manteiga. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Brasília, 2013.
- Brasileira S. I D iretriz I D iretriz. 2013; 100.
- Bressan J, Hermsdorff HHM, Zulet MÁ, Martínez JA. Impacto hormonal e inflamatório de diferentes composições dietéticas: ênfase em padrões alimentares e fatores dietéticos específicos. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009;53(5):572–81.
- Campbell KJ, Abbott G, Spence AC, Crawford DA, McNaughton SA, Ball K. Home food availability mediates associations between mothers' nutrition knowledge and child diet. *Appetite* [Internet]. 2013;71:1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2013.07.006>
- Cavaliere G, Trinchese G, Bergamo P, De Filippo C, Raso GM, Gifuni G, et al. Polyunsaturated fatty acids attenuate diet induced obesity and insulin resistance, modulating mitochondrial respiratory uncoupling in rat Skeletal muscle. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(2):1–19. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0149033>
- Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA study. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(1):152–8.

- Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 2005;46(11):2347–55.
- Costa JV., Duarte JS. Tecido Adiposo E Adipocinas. *Acta Med Port.* 2006;19:251–6.
- Cruz -Domínguez MP, Cortés DH, Zarate A, Tapia-González M de L, et al. Relationship of ghrelin, acid uric and proinflammatory adipocytokines in different degrees of obesity or diabetes. *Int J Clin Exp Med.* 2014 May 15;7(5):1435-41.
- Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE, Watson W, Kerr K, Jones R, et al. Serum Resistin (FIZZ3) Protein Is Increased in Obese Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5452–5.
- Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G, et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(3):1055–8.
- Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(5):911–20.
- Finucane OM, Lyons CL, Murphy AM, Reynolds CM, Klinger R, Healy NP, et al. Monounsaturated fatty acid-enriched high-fat diets impede adipose NLRP3 inflammasome-mediated IL-1?? secretion and insulin resistance despite obesity. *Diabetes.* 2015;64(6):2116–28.
- Flanagan AM, Brown JL, Santiago CA, Aad PY, Spicer LJ, Spicer MT. High-fat diets promote insulin resistance through cytokine gene expression in growing female rats. *J Nutr Biochem.* 2008;19(8):505–13.
- FONSECA-ALANIZ MH. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. *Arq Bras Endocrino Metab.* 2006;50(2):216–29.
- Frollini AB. Correlação entre obesidade , adipocinas e sistema imunológico  
Correlation between obesity , adipokines and the immune system. 2009.
- Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annu. Rev. Immunol.* 2011. 29:415-45.
- Hall RM, Colla E, Boschi K. Caracterização físico-química de manteiga elaborada na presença de lipase microbiana de *Rhizopus oryzae*.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor alpha: direct role in obesity linked insulin resistance. *Science.* 1993 Jan 1;259(5091):87-91.
- Jovicic N, Jeftic I, Jovanovic I, Radosavljevic G, Arsenijevic N, Lukic ML, et al. Differential immunometabolic phenotype in Th1 and Th2 dominant mouse strains in response to high-fat feeding. *PLoS One [Internet].* 2015;10(7):1–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134089>
- Kretschmer BD, Schelling P, Beier N, Liebscher C, Treutel S, Krüger N, et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sci.* 2005;76(14):1553–73.

Lo KA, Ng PY, Kabiri Z, Virshup D, Sun L. Wnt inhibition enhances browning of mouse primary white adipocytes. *Adipocyte* [Internet]. 2016;5(2):224–31. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21623945.2016.1148834>

Lionetti L, Mollica MP, Sica R, Donizzetti I, Gifuni G, Pignalosa A, et al. Differential effects of high-fish oil and high-lard diets on cells and cytokines involved in the inflammatory process in rat insulin-sensitive tissues. *Int J Mol Sci*. 2014;15(2):3040–63.

Lyons C, Kennedy E, Roche H. Metabolic Inflammation-Differential Modulation by Dietary Constituents. *Nutrients* [Internet]. 2016;8(5):247. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/8/5/247>

Maioli TU, Gonçalves JL, Miranda MCG, Martins VD, Horta LS, Moreira TG, et al. High sugar and butter (HSB) diet induces obesity and metabolic syndrome with decrease in regulatory T cells in adipose tissue of mice. *Inflamm Res*. 2015;65(2):169–78.

Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2013;9(1):13–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23165161>

Mello LD, Pinheiro MF. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. *Aliment e Nutr* [Internet]. 2012;23(4):537–48. Available from: <http://seer.unipampa.edu.br/index.php/siepe/article/view/1417>

Miao Y, Warner M, Gustafsson J-Å. Liver X receptor  $\beta$ : new player in the regulatory network of thyroid hormone and “browning” of white fat. *Adipocyte* [Internet]. 2016;5(2):238–42. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21623945.2016.1142634>

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Vigitel Brasil 2013: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*. Brasília, 2014a, 120p

Pereira S, Teixeira L, Aguilar E, Oliveira M, Savassi-Rocha A, Pelaez JN, et al. Modulation of adipose tissue inflammation by FOXP3+ Treg cells, IL-10, and TGF- $\beta$  in metabolically healthy class III obese individuals. *Nutrition* [Internet]. 2014;30(7-8):784–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2013.11.023>

Pinheiro ARO, de Freitas SFT, Corso ACT. Uma abordagem epidemiológica da obesidade An epidemiological approach to obesity. *Rev Nutr* [Internet]. 2004;17(4):523–33. Available from: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&amp;p;src=google&amp;base=LILACS&amp;lang=p&amp;nextAction=lnk&amp;exprSearch=393362&amp;indexSearch=ID>

Prada PO, Zecchin HG, Gasparetti AL, Torsoni MA, Ueno M, Hirata AE, et al. Western diet modulates insulin signaling, c-jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. *Endocrinology*. 2005;146(3):1576–87.

Ramalho HF, Suarez PAZ. A Química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. *Rev Virtual Quim.* 2013;5(1):2–15.

Sánchez-Muñoz F, García-Macedo R, Alarcón-Aguilar F, Cruz M. Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gac Méd Méx.* 2005. 141. 6.

Silva RC da, Diniz M de FHS, Alvim S, Vidigal PG, Fedeli LMG, Barreto SM. Physical Activity and Lipid Profile in the ELSA-Brasil Study. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2016;10–9. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20160091>

Stanford KI, Goodyear LJ. Exercise regulation of adipose tissue. *Adipocyte* [Internet]. 2016;5(2):153–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27386159>

Souki A, Arraíz N, Prieto C, Jiménez FP, Valero P, Amell A, Cano-Ponce C. Asociación de la resistina com variables de dimensión y composición corporal en eutróficos y obesos. *Rev Med Chile* 2016; 144: 307-316.

Tavares TB, Nunes SM, Santos MO. Obesidade e qualidade de vida: revisão da literatura. *Rev Med Minas Gerais* 2010; 20(3): 359-366.

Välimäki IA, Vuorimaa T, Ahotupa M, Vasankari TJ. Strenuous physical exercise accelerates the lipid peroxide clearing transport by HDL. *Eur J Appl Physiol* [Internet]. 2016;116(9):1683–91. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00421-016-3422-y>

Vaughan RA, Garrison RL, Stamatikos AD, Kang M, Cooper JA, Paton CM. A High Linoleic Acid Diet does not Induce Inflammation in Mouse Liver or Adipose Tissue. *Lipids* [Internet]. 2015;50(11):1115–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11745-015-4072-2>

Wajchenberg BL. Tecido adiposo como glândula endócrina. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2000;44(1):1–32.

World Health Organization/WHO. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva: World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, 894).

World Health Organization/WHO. World health statistics 2014. Disponível em: <http://www.who.int/gho/en/>.

## ANEXO – APROVAÇÃO DO PROTOCOLO EXPERIMENTAL PELO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
CEUA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº. 338 / 2012, relativo ao projeto intitulado "A obesidade induzida por dieta é capaz de alterar os mecanismos de leishmaniose em camundongos?", que tem como responsável Tatiani Uceli Maioli, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 01/10/2013. Esta certificação expira-se em 01/10/2016.

### CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº. 338 / 2012, related to the Project entitled "Is there influence of diet induced obesity in mouse leishmaniosis?", under the supervision of Tatiani Uceli Maioli, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 01/10/2013. This certificate expires in 01/10/2016.

FRANCISNETE GRACIANE ARAUJO MARTINS  
Coordenadora da CEUA/UFMG  
Belo Horizonte, 01/10/2013.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG  
<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592  
[www.ufmg.br/bioetica/cetea](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)