

MILENE CRISTINA DO CARMO HENRIQUES

**INFLAMAÇÃO PÓS-PRANDIAL: EFEITO DE
DIFERENTES CARBOIDRATOS DIETÉTICOS**

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte, MG

2011

MILENE CRISTINA DO CARMO HENRIQUES

INFLAMAÇÃO PÓS-PRANDIAL: EFEITO DE DIFERENTES CARBOIDRATOS DIETÉTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Adaliene Versiani Matos Ferreira

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte, MG

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

MILENE CRISTINA DO CARMO HENRIQUES

INFLAMAÇÃO PÓS-PRANDIAL: EFEITO DE DIFERENTES
CARBOIDRATOS DIETÉTICOS

APROVADA EM 05 DE AGOSTO DE 2011

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. ANA MARIA CAETANO DE FARIA

Profa. Dra. LEIDA MARIA BOTION

Profa. Dra. MARIA ISABEL TOULSON DAVISSON CORRÊIA

Profa. Dra. ADALIENE VERSIANI MATOS FERREIRA
Orientadora

Dedico este trabalho ao meu marido. No aconchego dos seus braços busco forças para enfrentar cada desafio.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir viver mais esta etapa da minha vida, sendo paz e luz em todos os momentos;

À minha orientadora Prof^a Dr^a Adaliene Versiane Matos Ferreira por acreditar em meu trabalho, em meu esforço, que algumas vezes foi maior que o sucesso de alguns experimentos, por me ensinar todos os dias não somente ciência, mas também valores, por me fazer compreender a importância do que faço e por me ajudar, mesmo quando está incrivelmente ocupada! Obrigada mesmo;

À Prof^a Dr^a Danielle da Glória de Souza por me acolher tão bem em seu laboratório e pela admirável ajuda com este trabalho;

Ao Prof Dr Mauro Martins Teixeira por me receber no seu laboratório e no seu talentoso grupo de pesquisa;

À Prof^a Dr^a Vanessa Pinho pela importante contribuição e análises deste trabalho;

Aos meus pais, meus maiores mestres, pelo apoio cúmplice e incondicional neste e em todos os projetos em que me envolvo. Obrigada por se dedicarem integralmente à realização dos meus sonhos;

Ao meu marido Marconi, exemplo de companheirismo, dedicação e paciência. Obrigada por estar ao meu lado, por tornar os meus dias mais agradáveis, por compreender os momentos de ausência e principalmente pela ajuda fundamental para a execução deste trabalho. Sem você, não seria possível;

À minha Tia e madrinha Soninha, por todas as contribuições pessoais e profissionais, pela confiança e pelo carinho;

À minha irmã Tássia, por sempre acreditar em mim;

Ao meu irmão Daniel, por tornar a minha vida mais colorida;

À minha amiga Annelise, pelas palavras de conforto nos momentos difíceis;

Ao meu irmão Marcelo, pela admiração e confiança no meu trabalho;

À minha amiga Letícia, pelo companheirismo nos momentos de estudo, que permitiram que eu ingressasse no programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos;

Às amigas Zélia, Marina, Renata, Raquel, Juliana e Verena, pelas inúmeras e fundamentais contribuições. Obrigada pelo compromisso com este trabalho e pelos momentos de descontração. Seria impossível realizá-lo sem a ajuda de vocês;

Ao amigo Talles pela disponibilidade;

A todos os membros do grupo IMUNOFAR pelas discussões científicas;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro;

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho. Muito Obrigada!

“Tudo posso naquele que me fortalece”

Filipenses 4:13

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	12
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 O ESTADO PÓS-PRANDIAL	20
2.2 ESTADO PÓS-PRANDIAL x INFLAMAÇÃO	24
2.3 CARBOIDRATOS E RESPOSTA INFLAMATÓRIA	33
3 OBJETIVOS	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Delineamento experimental	39
4.2 Métodos.....	42
4.2.1 Contagem total de células sanguíneas	42
4.2.2 Esfregaço sanguíneo	42
4.2.3 Avaliação do perfil lipídico	42
4.2.3.1 Determinação da concentração sérica de colesterol total	42
4.2.3.1 Determinação da concentração sérica de triglicerídeos	43
4.2.4 Avaliação da glicemia	44
4.2.5 Extração de citocinas de tecidos	44
4.2.6 Determinação de citocinas por Elisa	44
4.2.7 Avaliação do infiltrado celular	45
4.2.7.1 Preparo de amostras para medida da atividade das enzimas MPO, NAG e EPO	46
4.2.7.2 Ensaio enzimático: enzima MPO	47
4.2.7.3 Ensaio enzimático: enzima NAG	47

4.2.7.4 Ensaio enzimático: enzima EPO	47
4.3 Análise Estatísticas	49
5 RESULTADOS	50
5.1 Efeito pós-prandial de diferentes carboidratos sobre metabólitos séricos	50
5.2 Avaliação da inflamação pós-prandial sistêmica	52
5.2.1 Células circulantes	52
5.2.2 PTX3	54
5.2.3 Adiponectina e Resistina	55
5.3 Identificação do(s) possível (is) sítios de ocorrência da inflamação pós-prandial	56
5.3.1 Tecido adiposo	56
5.3.1.1 Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias	56
5.3.2 Fígado	58
5.3.2.1 Células inflamatórias	58
5.3.2.2 Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias	60
5.3.3 Intestino	62
5.3.3.1 Células inflamatórias	62
5.3.3.2 Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias	64
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÃO	74
8 PERSPECTIVAS FUTURAS	75
9 REFERENCIAS	76
A.I APÊNDICE A - Certificado de aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da UFMG	90

LISTA DE TABELAS

1	Composição da dieta AIN-93M formulada para manutenção de roedores adultos	40
2	Composição das dietas AIN-93 controle e modificadas	41

LISTA DE FIGURAS

1	Resposta inflamatória pulsátil nas células metabólicas durante o ciclo jejum/alimentado em condições normais e de hiperalimentação ou obesidade	27
2	Consumo (g) das dietas AIN93 controle (sacarose) ou modificadas (glicose e frutose)	50
3	Concentração sérica de glicose, triacilglicerol e colesterol de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais	51
4	Contagem total (leucócitos) e diferencial (neutrófilos, monócitos e linfócitos) de células sanguíneas de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais	53
5	Concentração sérica de PTX3 de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais	54
6	Concentrações séricas de adiponectina e resistina de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais	55
7	Concentração de IL-6, TNF- α e CCL2 no tecido adiposo epididimal de animais em jejum e duas e quatro horas pós-prandiais	57
8	Atividade das enzimas MPO, NAG e EPO no fígado de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais.....	59
9	Concentração de IL-6, TNF- α e CCL2 no fígado de animais em jejum e duas e quatro horas pós-prandiais	61
10	Atividade das enzimas MPO, NAG e EPO no intestino de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais	63
11	Representação esquemática da inflamação pós-prandial sistêmica e nos sítios adiposo e hepático, intensificada pelo consumo de frutose	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitro
ACC	acetil-CoA carboxilase
AGS	Ácido graxo sintase
AIN93	do inglês <i>American Institute of Nutrition 93</i>
AMPK	do inglês <i>AMP-activated protein kinase</i>
CCL-2	Quimiona ligante 2
CEBIO	Biotério central da UFMG
CETEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
dL	Decilitro
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	do inglês <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
ET-1	Endotelina 1
EPO	Peroxidase de eosinófilos
g	Gramas
GLUT2	Transportador de Glicose 2
GLUT4	Transportador de Glicose 4
GLUT5	Transportador de Glicose 5
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Água oxigenada

H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HDL	Proteína de Alta Densidade
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL1	Interleucina 1
IL6	Interleucina 6
IL8	Interleucina 8
IL10	Interleucina 10
IL 18	Interleucina 18
IRS1	Substrato Receptor de Insulina 1
JNK – C	do inglês <i>C-jun N-Terminal Kinase</i>
KC	Quimiocina para neutrófilos
KCl	Cloreto de potássio
LDL	Proteína de Baixa Densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
M	Mol
mL	Mililitro
min	Minuto
mM	Mili Molar
MCP-1	Proteína quimioatraente para monócitos 1

MPO	Mieloperoxidase
Na ⁺	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disodium
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídio Fosfato
NAG	N-acetilglicosaminidase
NF-κβ	Fator Nuclear κβ
ng	Nanogramas
nm	Nanômetro
nPKC	Proteína Quinase C
OPD	O-phenyldiamine dihidrochloride
PAI-1	do inglês <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>
PAMPs	do inglês <i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PBS	Salina tamponada com fosfato
PCR	Proteína C Reativa
pg	Picogramas
pH	Potencial hidrogeniônico
PI3-kinase	Fosfoinositol kinase-3
PIP3	fosfatidilinositol trifosfato
PKR	do inglês <i>pathogen-sensing kinase</i>
PMN	polimorfonucleares
PTX3	Pentaxina 3

ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
r.p.m.	Rotação por minuto
SGLT1	Proteína de transporte sódio-glicose
SOCS-3	do inglês <i>suppressor of cytokine signalling 3</i>
SREBP	Proteína ligadora do elemento responsivo a esteróis
STAMP2	do inglês <i>six transmembrane protein of prostate 2</i>
STAT-3	Sinal Transdutor e Ativador de Transcrição 3
TG	Triglicérides
TGF- β	Fator de transformação do crescimento beta
TLR	Receptores do tipo Toll
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral
UI	Unidade Internacional
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCAM-1	Molécula de adesão celular-vascular-1
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
VS.	Versus

RESUMO

Estudos recentes sugerem a ocorrência de uma resposta inflamatória sistêmica pulsátil durante o ciclo jejum/alimentado que pode ser responsiva a diferentes composições dietéticas. O presente estudo teve como objetivo avaliar se animais alimentados apresentam inflamação pós-prandial sistêmica e determinar se tecido adiposo epididimal, fígado e intestino seriam possíveis sítios de localização de tal inflamação. Além disso, avaliar diferentes carboidratos dietéticos na resposta pós-prandial. Para tal, camundongos *BALB/c* foram mantidos em jejum ou alimentados com dieta AIN93 controle, contendo sacarose (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F). Os animais foram submetidos à eutanásia em jejum ou uma, duas ou quatro horas pós-prandial. As concentrações séricas de PTX3, adiponectina e resistina, bem como de citocinas e quimiocina no intestino, fígado e tecido adiposo foram determinadas por ELISA. Foi realizada, também, contagem total e diferencial de células sanguíneas. Aumento da concentração de PTX3 foi observado no período de quatro horas pós-prandial nos animais que consumiram C, entretanto, animais que consumiram G ou F tiveram essa resposta antecipada. Animais alimentados com dieta C apresentaram aumento do número de leucócitos quatro horas pós-prandial, enquanto o consumo de G ou F antecipou este efeito. Independente da dieta consumida houve aumento da concentração de resistina e, animais alimentados com G ou F, apresentaram menor concentração de adiponectina. No período pós-prandial, independente da composição da dieta, a concentração de IL-6 no tecido adiposo e de TNF- α no fígado mostrou-se aumentada. Animais alimentados com C ou G apresentaram número similar de neutrófilos no fígado quando comparado a animais no jejum, enquanto animais alimentados com F apresentaram aumento destas células em todos os períodos pós-prandiais. No intestino, embora o número de neutrófilos estivesse aumentado após o consumo de todas as dietas, as concentrações de TNF- α , IL-6 e KC não foram detectadas. Assim, animais no estado alimentado apresentam inflamação sistêmica de baixa intensidade que pode estar associada à inflamação de sítios metabólicos específicos como tecido adiposo e fígado. Diferentes composições de dieta podem influenciar essa resposta uma vez que animais alimentados com frutose apresentaram exacerbação da resposta pós-prandial.

Palavras-chaves: inflamação pós-prandial; consumo de carboidratos; frutose.

ABSTRACT

Recent studies have suggested the occurrence of pulsatile inflammatory response at systemic levels during the feeding/fasting cycle that can be responsive to different dietary compositions. This study aimed to assess whether fed animals have postprandial systemic inflammation and determine if epididymal adipose tissue, liver or intestine could be sites of such inflammation. Furthermore, it was our goal to evaluate different dietary carbohydrates on postprandial response. For that, BALB/c mice were fasted or fed with AIN93 control diet, diet containing sucrose (C), or modified diet containing glucose (G) or fructose (F). The animals were killed at fasted state or one, two and four hours postprandial. Serum concentrations of PTX3, adiponectin and resistin, as well as cytokines and chemokine in the gut, liver and adipose tissue were determined by ELISA. Total and differential count of blood cells was also done. Increased serum of PTX3 levels were observed at four hours postprandial in animals fed with C, however, animals fed with G or F had this response anticipated. Animals fed C diet had high number of systemic leukocytes at four hours postprandial, yet consumption of G and F, once more, anticipated this effect. Independent of the consumed diet the concentration of resistin was increased and, animals fed G or F, had lower levels of adiponectin. In the postprandial period, independently of the diet composition, the concentration of IL-6 in adipose tissue and TNF- α in the liver was increased. Animals fed C or G diet had similar neutrophil numbers in the liver when compared to animals in a fasted state, while animals fed with F had increased of neutrophils at all postprandial periods. In the gut, although the number of neutrophils was increased after the consumption of all diets, the concentration of TNF α , IL-6 and KC was not detected. Animals in the fed state present low-level systemic inflammation that can be associated with specific metabolic sites as adipose tissue and liver. Different dietary compositions may influence this response, since animals fed fructose presented exacerbation of postprandial response.

Keyword: postprandial inflammation; carbohydrate consumption; fructose.

1. INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória pós-prandial produzida por determinados componentes dietéticos é ainda pouco conhecida. Porém, trabalhos recentes sugerem que durante o ciclo jejum/alimentado ocorra reposta inflamatória pulsátil nas células metabólicas e que essa possa ser responsiva a diferentes nutrientes. Alguns estudos, realizados em humanos, têm demonstrado que após ingestão de diferentes composições dietéticas ocorre aumento dos mediadores inflamatórios sistêmicos. No entanto, em modelo animal, apenas um trabalho que investigue a ocorrência da inflamação após a ingestão alimentar foi encontrado na literatura. Ressalta-se que, em grande parte dos trabalhos realizados, tanto em modelos animais como em humanos, os autores não avaliaram o efeito da refeição em si, mas sim o efeito de dietas modificadas em relação ao jejum. Desta forma, ainda é inconclusivo se o efeito da inflamação pós-prandial é decorrente apenas de componentes específicos da dieta ou da resposta pós-prandial à ingestão de alimentos. Na maioria dos trabalhos, a relação da suposta resposta inflamatória pós-prandial é induzida por dietas ricas em gorduras, sendo que o papel dos carboidratos ainda não foi elucidado.

A avaliação do papel dos carboidratos na resposta inflamatória pós-prandial é importante, pois esse nutriente representa as biomoléculas mais abundantes na natureza e constitui a base da nutrição humana. Dentre os carboidratos, estão a sacarose e a frutose, açúcares amplamente consumidos pela população mundial. O papel desses carboidratos em distúrbios metabólicos tem sido consideravelmente averiguado na literatura, entretanto, a investigação provém do consumo em longo prazo.

A frutose é um carboidrato que teve o consumo elevado nos últimos anos, coincidindo com o período de aumento da prevalência da obesidade e da síndrome metabólica. Estudos propõem que tal carboidrato seja capaz de modular a secreção de alguns mediadores inflamatórios e que o consumo excessivo, ao longo do tempo, possa provocar diversas alterações fisiológicas e metabólicas como aumento de peso corporal, de tecido adiposo, das concentrações plasmáticas de triglicérides e das concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres. Apesar de diversas investigações demonstrarem os efeitos deletérios da frutose, estes estudos analisam o consumo

crônico do carboidrato, sendo que o efeito agudo do consumo de frutose é pouco conhecido.

Assim, estudos que investiguem o efeito pós-prandial sobre a inflamação sistêmica, assim como a influência de diferentes componentes dietéticos (carboidratos) sobre essa abordagem é ainda limitado. Ademais, os possíveis sítios da ocorrência da inflamação pós-prandial ainda não foram investigados.

Desta forma, a proposta do presente trabalho é avaliar se animais alimentados apresentam inflamação pós-prandial sistêmica e, determinar se o tecido adiposo epididimal, o fígado e o intestino seriam possíveis sítios de localização de tal inflamação. Além disso, avaliar o papel de diferentes carboidratos dietéticos na resposta pós-prandial, especialmente a frutose.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O ESTADO PÓS-PRANDIAL

O estado pós-prandial é um período dinâmico de tráfego metabólico e biossíntese de macromoléculas a partir de substratos absorvidos, como carboidratos, lipídeos, proteínas e outros componentes dietéticos. Durante esse período, quase todos os principais sistemas biológicos, órgãos e células respondem com mecanismos compensatórios e adaptativos em curto prazo para restaurar o equilíbrio. Em condições normais, o desequilíbrio metabólico e as alterações hormonais pós-prandiais são pequenos, ocorrendo rápida recuperação do sistema, com restabelecimento da homeostase. Entretanto, o acesso fácil a nutrientes altamente palatáveis favorece a ingestão excessiva de energia. Tal fato, associado aos episódios freqüentes de hiperalimentação e ao limitado gasto energético resultam em desequilíbrio oxidativo e imunológico, o que representa oportunidades para ocorrência de disfunção celular e conseqüentemente doenças metabólicas (BURTON-FREEMAN, 2010).

Após a entrada do alimento no organismo, esse é conduzido pelo trato gastrointestinal, local onde é realizada a maior parte do processo de digestão. A digestão das proteínas começa no estômago pela ação das pepsinas. As proteases pancreáticas rapidamente clivam as proteínas no duodeno e jejuno para oligopeptídeos. As enzimas clivadoras de peptídeos da borda em escova da membrana reduzem oligopeptídeos para aminoácidos individuais e para dipeptídeos e tripeptídeos. Os aminoácidos são absorvidos pelo enterócito por um conjunto de proteínas transportadoras de aminoácidos na borda em escova da membrana. Dipeptídeos e tripeptídeos são captados por proteína de transporte de peptídeos da borda em escova, com ampla especificação (THOMSON et. al., 2001). Já a digestão dos lipídeos, inicia-se na boca, por meio da lipase lingual e continua no estômago, catalisada pela lipase gástrica, enzima estável em meio ácido. Ácidos graxos livres, colesterol livre e 2-monoacilgliceróis são os principais produtos da degradação dos lipídeos, que junto com

os sais biliares, formam micelas mistas e são absorvidos na borda em escova, sendo que os ácidos graxos de cadeia curta e média não requerem a assistência de uma micela para a absorção pela mucosa intestinal. Uma vez na célula da mucosa intestinal, os ácidos graxos de cadeia curta e média são diretamente liberados para o sangue portal e transportados ao fígado unidos à albumina. Entretanto, os ácidos graxos de cadeia longa são convertidos novamente em triacilgliceróis e agrupados com o colesterol, fosfolipídeos e proteínas específicas (apolipoproteínas) que os tornam hidrossolúveis. Esses agregados lipoprotéicos são denominados quilomícrons e são liberados para os vasos linfáticos intestinais e a seguir para o sangue (GOODMAN, 2009). Assim como a digestão de lipídeos, a digestão dos carboidratos inicia-se na boca com a mastigação, que fraciona os alimentos e mistura-os com a saliva. As α -amilases da saliva e do suco pancreático clivam o amido ramificado em maltose, maltotriose e dextrinas. Esses produtos da digestão são então reduzidos a moléculas de glicose por glicoamilase e isomaltase, enzimas que digerem carboidrato na borda em escova da membrana plasmática. A borda em escova também contém as dissacaridases sacarase e lactase, que clivam sacarose em glicose e frutose e a lactose em glicose e galactose, respectivamente (SHAPIRO & SHAPIRO, 1979).

Uma vez que os carboidratos sejam clivados pela ação das amilases e das enzimas da membrana da borda em escova, os monossacarídeos são absorvidos pelos enterócitos via proteínas de transporte específicas. Nos enterócitos, a absorção de glicose ocorre por meio de um processo de transporte acoplado ao íon sódio, o qual promove transporte contra gradiente de concentração de glicose e a favor do gradiente de concentração de sódio (Na^+), através de proteínas de transporte sódio-glicose (SGLT1) presentes na borda em escova da célula epitelial. Assim, SGLT1 aproveita o gradiente de Na^+ (ou seja, baixa concentração de Na^+ intracelular) que é criado pelas ATPases na membrana basolateral para trazer hexoses para os enterócitos. Uma vez que SGLT1 move duas moléculas de Na^+ para cada molécula de glicose, há formação de gradiente de concentração de glicose em toda a membrana basolateral de dez mil vezes (ARONSON et. al., 2003). Desse modo, a glicose concentrada no intracelular difunde-se para o extracelular por difusão facilitada por meio do transportador de glicose 2 (GLUT2) presente na membrana basolateral dos enterócitos (BINDER & REUBEN, 2009). Diferentemente do transporte da glicose, a frutose não é transportada pela SGLT1 e a absorção, proveniente do intestino, na circulação porta é realizada pelo

GLUT5, na borda em escova e nas membranas basolaterais do jejuno, o que resulta em grande captação de frutose pelo fígado (HAVEL, 2005).

O epitélio de revestimento do trato gastrointestinal é uma das interfaces do organismo que, delimitando o meio externo do meio interno, permite intercâmbios seletivos ao longo de toda a extensão (MACDONALD et. al., 2011). No intestino, essas trocas se processam através do epitélio transportador, por meio de fluxos resultantes de água e de solutos nos dois sentidos: da luz intestinal (meio externo) para interstício e vasos (meio interno) e vice-versa. O intestino delgado absorve os produtos da digestão proteica, lipídica e glicídica, além de vitaminas e minerais.

Logo após a absorção intestinal, a maior parte dos carboidratos, aminoácidos e uma pequena parte dos triglicerídeos advindos da dieta são diretamente transportados até o fígado pela veia porta. No entanto, a maior parte dos triglicerídeos advindos da dieta, sobre a forma de *quilomícrons*, percorre caminho diferente. Esses não são absorvidos pela circulação porta-hepática e sim pelo duto linfático abdominal, driblando o metabolismo hepático e sendo liberadas na circulação sanguínea ao nível da veia jugular, por meio do duto linfático torácico. Assim chegam ao tecido adiposo, onde deixam grande quantidade de seu conteúdo de triacilgliceróis, retornando como *quilomícrons remanescentes* e são absorvidos pelos hepatócitos para a metabolização dos lipídios que restam em sua molécula, principalmente o colesterol, que é excretado como ácido biliar ou como colesterol livre na bile (NELSON & COX, 2005; HENRY, 1999 e VOET et. al., 2002). De um modo geral, a concentração dos nutrientes no sangue é extremamente controlada pelo fígado, que os capta e posteriormente os distribui. Assim, o fígado é considerado o órgão central da manutenção da homeostase do metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos (NELSON & COX, 2005; HENRY, 1999 e BROSANAN, 2000).

No fígado, há produção de glicogênio a partir de aminoácidos provenientes da dieta, gliconeogênese pós-prandial, que é particularmente estimulada por dietas ricas em proteínas. O tecido hepático é capaz de oxidar aminoácidos, sendo essa importante fonte de energia para o órgão (NELSON & COX, 2005; BROSANAN, 2000 e MARZZOCO & TORRES, 1999), enquanto que a utilização de ácidos graxos pelo fígado acontece em pequenas proporções. No período pós-prandial, estimulado pela insulina, os ácidos graxos podem ser sintetizados em alta velocidade pelo fígado a partir de moléculas de acetil-coA. Os ácidos graxos sintetizados podem ser exportados

por meio das lipoproteínas transportadoras, como a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) até o tecido adiposo, local onde serão armazenados (NELSON & COX, 2005; VOET et. al., 2002; MARZZOCO & TORRES, 1999 e STRYER, 1992). Com relação ao metabolismo glicídico, no fígado o transporte de glicose é realizado pelo GLUT2, o qual, de modo eficiente, mantém a concentração de glicose no hepatócito na mesma proporção com que o nutriente se encontra na circulação sanguínea (NELSON & COX, 2005 e VOET et. al., 2002). No entanto, a glicose só poderá ser utilizada pelo tecido hepático após ser fosforilada. A enzima responsável por essa reação, a glicoquinase, possui baixa afinidade pela glicose. Assim, o fígado só irá fosforilar e garantir a permanência da glicose dentro das células hepáticas, uma vez que haja concentração suficientemente alta de glicose na circulação. Isso ocorre, porque o fígado pode usar outros substratos energéticos como ácidos graxos ou aminoácidos como fonte energética. Apesar da insulina não influenciar a captação de glicose nas células hepáticas, influencia diretamente a utilização da glicose por estas células. A glicose só será utilizada pelo fígado como nutriente preferencial quando a razão insulina/glucagon for alta o suficiente para ativar a via glicolítica. O alto aporte de glicose, juntamente com a presença de insulina, estimula a síntese de glicogênio, e, neste momento, o fígado passa a armazenar glicose (NELSON & COX, 2005; VOET et. al., 2002 e MARZZOCO & TORRES, 1999).

Após metabolização hepática, como forma de garantir a sobrevivência mesmo em condições de escassez, os mamíferos são capazes de estocar nutrientes consumidos e não requisitados para suprir as necessidades metabólicas imediatas de proteínas, lipídeos e carboidratos. O tecido adiposo é o principal reservatório energético do organismo, compreendendo de 15% a 25% do peso corporal em indivíduos eutróficos. Esse tecido localiza-se principalmente na região subcutânea e visceral, porém com tendência em acumular-se na cavidade abdominal (VOET et. al., 2002 e STRYER, 1992). Os adipócitos são células especializadas no acúmulo de grandes quantidades de triglicérides (TG) no citoplasma (NELSON & COX, 2005; VOET et. al., 2002 e MARZZOCO & TORRES, 1999). Grande parte dos ácidos graxos que constituem as moléculas de TG chega ao tecido adiposo transportado pelas lipoproteínas plasmáticas (NELSON & COX, 2005 e VOET et. al., 2002). A síntese de TG, a partir de moléculas de glicerol-3-fosfato e ácidos graxos ou a hidrólise da molécula de TG são processos regulados pela disponibilidade de glicose nas células do tecido adiposo (VOET et. al., 2002 e STRYER, 1992). A entrada de glicose no tecido

adiposo é feita pelos transportadores GLUT4 dependentes da ação da insulina (VOET et. al., 2002) e, assim, quando a concentração desse hormônio está alta, o glicerol-3-fosfato é produzido no tecido adiposo pela redução da dihidroxiacetona fosfato, intermediária da via glicolítica, e novas moléculas de TG podem ser armazenadas (STRYER, 1992).

A absorção de nutrientes induz resposta hormonal complexa e integrada, favorecendo processos anabólicos em detrimento dos catabólicos. No estado alimentado há predomínio das ações da insulina sobre as do glucagon e a chegada de glicose em grandes quantidades determina a captação da molécula com consequente fosforilação. O estímulo da liberação de insulina é resultante da intervenção de fatores neurais, hormonais e metabólicos (LEFÈBVRE & SCHEEN, 1999). A insulina tem efeitos diretamente anabólicos como a síntese de glicogênio e de ácidos graxos, bem como a captação de aminoácidos e síntese proteica. Efeitos anticatabólicos da insulina incluem a diminuição da glicogenólise, da cetogênese, da lipólise, do catabolismo proteico e da gliconeogênese. Alguns fatores endócrinos intestinais com atividade insulínica são estimulados pelos nutrientes, especialmente pelos carboidratos (LA BARRE & STILL, 1930).

2.2 ESTADO PÓS-PRANDIAL x INFLAMAÇÃO

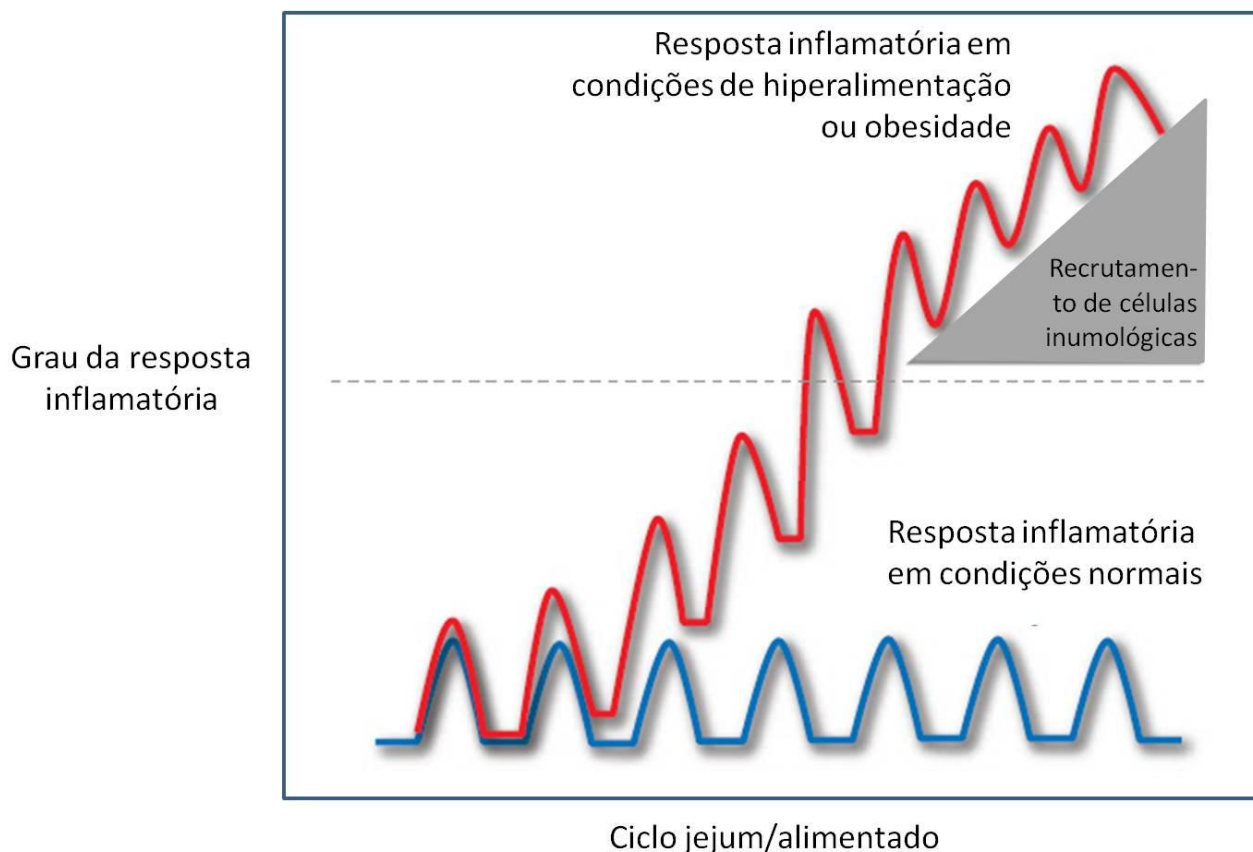
A hiperglicemia pós-prandial induzida por dietas ricas em carboidratos, assim como a hipertrigliceridemia induzida por dietas ricas em lipídeos, podem induzir a ocorrência de estresse oxidativo, com formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (CHUNG et. al., 1998; CERIELLO et. al., 2001; ALIPOUR et. al., 2007 e RIZZO et. al., 2009). Acredita-se que esse estresse oxidativo é acompanhado por inflamação pós-prandial e comprometida função endotelial (CERIELLO et. al., 2002). Algumas evidências sugerem que a resposta inflamatória aguda originada de tal estresse oxidativo pós-prandial pode levar à redução da sensibilidade à insulina (MOHANTY et. al., 2000 e SHOELSON et. al., 2006) e que o estado alimentado, em situações de sobrecarga metabólica, é um fator para o desenvolvimento de doenças crônicas (van OOSTROM et. al., 2004 e ALIPOUR et. al., 2007).

Sugere-se que alguns mediadores inflamatórios por si só podem desencadear insulino-resistência, mesmo na ausência de obesidade e outros fatores (SHOELSON et. al., 2006). Por exemplo, acredita-se que a ingestão de dietas ricas em gordura ou glicose possa provocar resposta inflamatória em curto período de tempo (MOHANTY et. al., 2000; HYSOON et. al., 2002 e BASHAN et. al., 2009). A ingestão excessiva de alimentos altamente energéticos pode representar potente indutor de inflamação pós-prandial (BURTON-FREEMAN, 2010). WATT e colaboradores (2006) mostraram que a administração de lipídeos em camundongos, em poucas horas, resulta em resposta inflamatória, como a ativação de JNK (do inglês *C-Jun N-Terminal Kinase*) no tecido muscular e hepático. Estudos em humanos também indicam que nutrientes possam estar envolvidos em uma resposta inflamatória aguda. ALJADA e colaboradores (2004) observaram, poucas horas após a ingestão de dieta rica em gordura e em carboidratos, aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ativação do fator de transcrição nuclear- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) em leucócitos circulantes.

Evidências propõem a existência de elo entre inflamação sistêmica de baixa intensidade e diversas doenças crônicas (ARNER et. al. e BULLO et. al., 2007), sendo que, na literatura, essa inflamação é conhecida como “metainflamação” (inflamação desencadeada metabolicamente) (HOTAMISLIGIL, 2006), “parainflamação” (MANTOVANI et. al., 2008) ou “inflamação latente” (MEDZHITOV, 2008) e não inclui as características de inflamação clássica (dor, rubor, inchaço e calor). O início da resposta inflamatória tradicional é usualmente descrita em termos de patógenos, no qual uma molécula de um parasita ou um dano tecidual dispara vias de sinalização celular para iniciar resposta imunológica. Entretanto, os fatores que iniciam resposta inflamatória induzida por dieta ainda não são completamente conhecidos. Há relatos na literatura de que os fatores envolvidos na ativação da metainflamação originem-se em células metabólicas especializadas, como em adipócitos, hepatócitos e miócitos. Acredita-se que tais células possuam mecanismos próprios de defesa, uma vez que são capazes de participar na comunicação de vias inflamatórias em resposta a sinais de perigo. Por exemplo, os adipócitos podem executar muitas das cascatas de sinalização inflamatórias como a dos inflamassomas e a da ativação de receptores do tipo Toll (TLR), JNK e de NF- $\kappa\beta$, além da produção de citocinas inflamatórias em resposta a estresse metabólico, papel normalmente conhecido de células imunes profissionais (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011).

Uma vez que o processo desencadeante da resposta inflamatória induzida por dieta ainda não é conhecido, diversas teorias são postuladas para explicá-los. Uma delas é a de que os nutrientes por si só já sejam naturalmente inflamatórios, ou seja, exista resposta fisiológica das células metabólicas frente aos nutrientes o que resulta na ocorrência da inflamação de baixa intensidade (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011). Uma segunda teoria é a de que alimentar-se possa, espontaneamente, unir os nutrientes às moléculas inflamatórias e, assim, desencadear resposta inflamatória. Por exemplo, após a ingestão de alimentos ocorre aumento da permeabilidade intestinal, provavelmente para assegurar a máxima captação de nutrientes. CANI e colaboradores (2007) e ERRIDGE e colaboradores (2007) mostraram que a concentração sérica de lipopolissacarídeo (LPS) estava aumentada no estado alimentado tanto em camundongos quanto em humanos, sugerindo a hipótese que a permeabilidade intestinal libere moléculas inflamatórias na circulação, permitindo a entrada de nutrientes acoplados a essas. Em animais magros, tanto no estado alimentado quanto no jejum, a concentração intestinal de nutrientes ligados a LPS é baixa, indicando que o sistema lidou efetivamente com a carga de nutrientes. Entretanto, o intestino de animais obesos é constantemente mais permeável que de animais magros e a concentração sérica de LPS é maior, indicando que o sistema não funciona mais efetivamente. Isso sugere que pode haver a presença de estímulo constante para os sinais inflamatórios (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011).

Diante dos exemplos descritos acima, GREGOR & HOTAMISLIGIL (2011) formularam a seguinte hipótese: durante o ciclo jejum/alimentado ocorre resposta inflamatória pulsátil nas células metabólicas. Em condições normais, o pico da inflamação de baixa intensidade ocorre com a alimentação e é resolvido logo após os nutrientes serem metabolizados. Entretanto, em condições de hiperalimentação ou obesidade, o estímulo constante da ingestão de nutrientes resulta em ativação da resposta inflamatória mais consistente. Tais sinais, acumulados com o passar do tempo, prejudicam as vias metabólicas normais, podendo chegar a um nível no qual as células imunes profissionais são alertadas e recrutadas para o processo. Uma vez que essas células estejam ativas e participando da resposta inflamatória, a gravidade da resposta aumenta (figura 1).



Adaptado de GREGOR & HOTAMISLIGIL (2011)

Figura 1 - Resposta inflamatória pulsátil nas células metabólicas durante o ciclo jejum/alimentado em condições normais e de hiperalimentação ou obesidade.

Outra teoria para explicar a origem da inflamação encontrada na obesidade é a de que os nutrientes não sejam naturalmente inflamatórios, mas sim que, em excesso, possam acarretar na ativação de vias de patogenicidade clássica ou de repostas imunológicas. Tal hipótese sugere que o organismo seja estimulado a reconhecer o excesso de nutrientes como patológico. A exposição constante do organismo aos nutrientes leva à perda de especificidade e da habilidade do sensor do patógeno em reconhecer estruturas semelhantes, como lipídeos. Alguns trabalhos na literatura demonstram tais hipóteses, principalmente avaliando os TLR's (SHI et. al., 2006) e a PKR (do inglês *pathogen-sensing kinase*) (GARCIA et. al., 2006). Os TLR's são os responsáveis por distinguir várias vias de padrões de reconhecimento de patógenos

(PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*) expressos por amplo espectro de agentes infecciosos, que tem como função o reconhecimento do patógeno e a estimulação da resposta imunológica contra os agentes patológicos. Sugere-se que, como as células metabólicas especializadas possuem sistema próprio de defesa, elas expressem TLR4 e TLR2 funcionais. Estudo em camundongos revelou que TLR4 do tecido adiposo podem ser ativados pela infusão de ácidos graxos saturados e que essa ativação contribui para insulino-resistência (SHI et. al., 2006). Além disso, a concentração de ácidos graxos, elevada por meio de dieta rica em gordura, provoca aumento na expressão de TLR4, enquanto que a perda genética de TLR4, nas mesmas condições, pode melhorar a insulino-resistência (SABERI et. al., 2009 e TSUKUMO et. al., 2007).

O segundo exemplo é o da PKR, proteína conhecida por sinalizar dupla fita de RNA, indicativo de invasão viral na célula, o que é capaz de iniciar resposta inflamatória (GARCIA et. al., 2006). Recentemente NAKAMURA e colaboradores (2010) mostraram que PKR é ativada, na ausência de vírus, durante a obesidade ou por meio da infusão de lipídeos, em camundongos. A PKR por si só pode estimular a atividade da JNK e regular a sinalização de insulina nas células metabólicas, a partir de sinais induzidos por dieta rica em gordura. Portanto, o modelo derivado desses exemplos é o de que sobrecarga de nutrientes promova a ativação de sensores de patogênicos (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011).

Até o momento, alguns estudos com culturas de células identificaram possíveis nutrientes capazes de induzir inflamação metabólica e, os ácidos graxos livres, especialmente os saturados, parecem ativar vias de sinalização inflamatória em vários tipos celulares (BODEN & SHULMAN, 2002 e IYER et al., 2010).

Cabe ressaltar que, embora o processo inflamatório seja principalmente conhecido pelo seu papel destrutivo, causando conseqüências maléficas para o organismo, a inflamação tem finalidade fisiológica. Em geral, a resposta inflamatória controlada pode ser benéfica como, por exemplo, na proteção contra a infecção, mas pode tornar-se prejudicial se desregulada, por exemplo, causando choque séptico. Sugere-se que a inflamação desencadeada pelo mau funcionamento dos tecidos, como ocorre nas doenças cardiovasculares e diabetes melitus tipo II, tem como objetivo a restauração da homeostase e a adaptação a este estresse (MEDZHITOV, 2008).

Assim, todo estado patológico inflamatório tem uma contrapartida fisiológica. No entanto, enquanto a base fisiológica da infecção induzida pela inflamação é clara, outros tipos de resposta inflamatória são conhecidos apenas em ambientes patológicos, não havendo entendimento claro da compensação fisiológica (MEDZHITOV, 2008).

A resposta inflamatória induzida por dieta ainda é pouco conhecida e faltam evidências para o envolvimento direto de nutrientes com os sensores patogênicos ou imunológicos. Assim, existe clara necessidade de estudos que investiguem a associação entre mudanças no metabolismo de macronutrientes durante o período pós-prandial e a ocorrência da inflamação, sendo importante, também, a avaliação da secreção de citocinas pró-inflamatórias (BURDGE et. al., 2003), pois a ingestão alimentar parece alterar as concentrações de citocinas circulantes (BLACKBURN et. al., 2006). ARYA e colaboradores (2010) sugerem que a inflamação pós-prandial é caracterizada somente por aumento pequeno na concentração plasmática de determinados marcadores pró-inflamatórios.

Dentre os marcadores pró-inflamatórios, a interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) são os mais avaliados na resposta pós-prandial. A IL-6 é citocina envolvida na regulação de respostas imunológicas, respostas de fase aguda, hematopoese e inflamação. Tal citocina é produzida por células endoteliais, fibroblastos, monócitos e macrófagos frente a diferentes estímulos como IL-1, IL-17 e TNF- α , durante a ocorrência de inflamação sistêmica. Na imunidade inata, a IL-6 controla o tráfego e ativação de leucócitos, além de controlar a produção de proteínas de fase aguda pelos hepatócitos (HURST et. al., 2001).

O fator de necrose tumoral α é uma citocina pró-inflamatória produzida principalmente por monócitos e macrófagos envolvida em inflamações sistêmicas, estimulando reações de fase aguda. O TNF- α causa a morte apoptótica da célula, proliferação celular, diferenciação, inflamação, combate a tumores e replicação viral (FURUKAWA et. al., 2007). Em modelos animais, a administração de TNF- α parece levar a um grave comprometimento da tolerância à glicose e da sensibilidade à insulina (HOTAMISLIGIL et. al., 1993). Além disso, tem sido sugerido que o TNF- α induz resistência à insulina, pelo menos em parte, pelo aumento da taxa de lipólise do tecido adiposo (BOTION et. al., 2001 e GREEN et. al., 1994). Ácidos graxos saturados, na forma de palmitato, induzem inflamação e aumentam a expressão de IL-6 e TNF- α em

cultura de adipócitos (AJUWON et. al., 2005), células musculares (WEIGERT et. al., 2004) e macrófagos do tecido adiposo (SUGANAMI et. al., 2005), enquanto que o ácido graxo α -linolênico possui atividade anti-inflamatória (BASU et. al., 2006), inibindo a expressão e a secreção de IL-6 em cultura de monócitos humanos (ZHAO et. al., 2005).

Outro marcador que poderia estar associado a processos inflamatórios é a quimiocina ligante 2 (CCL-2), também conhecida como proteína quimioatraente para monócitos 1 (MCP-1). A molécula de CCL-2 é um polipeptídeo monomérico produzido em resposta a estímulos inflamatórios. Trata-se de molécula membro da família das quimiocinas CC, fundamental para o recrutamento de macrófagos e monócitos em vários modelos de inflamação (ROLLINS, 1997), devido à capacidade de recrutar monócitos, células T de memória e células dendríticas para o local de injúria tecidual, infecção e inflamação (CARR et. al., 1994 e XU et. al., 1996). SARTIPY E LOSKUTOFF (2003) demonstraram que essa quimiocina pode contribuir para a ocorrência de doenças associadas à hiperinsulinemia e obesidade, incluindo diabetes tipo II (SARTIPY e LOSKUTOFF, 2003). Outros estudos afirmam, ainda, que concentrações elevadas de CCL-2 estão diretamente relacionadas às vias de indução da resistência à insulina (SARTIPY e LOSKUTOFF, 2003; KANDA et. al., 2006). A possível explicação da ligação do CCL-2 com a resistência à insulina é que, juntamente com outras moléculas inflamatórias expressas pelo tecido adiposo, como TNF α e IL-6, o CCL-2 pode influenciar o metabolismo de glicose e lipídios por ativar vias pró-inflamatórias que interferem na cascata de sinalização da insulina, inibindo a ação desse hormônio (KAMEI *et al*, 2006).

A Pentaxina 3 (PTX3) é uma proteína de fase aguda presente no sangue em pequenas concentrações em condições normais. Contudo, durante o choque séptico, sepse e outras condições inflamatórias e infecciosas aumenta rapidamente e de forma eficaz, correlacionando-se com a gravidade da doença. PTX3 é um marcador primário de ativação local da imunidade inata e inflamação (MULLER et. al., 2001 e FAZZINI et. al., 2001) e assim, podendo ser utilizada para avaliação de inflamação sistêmica.

Além das moléculas clássicas associadas ao processo inflamatório relatadas anteriormente, citam-se algumas adipocitocinas que recentemente também têm sido associadas a papel anti ou pró-inflamatório como a adiponectina e a resistina, respectivamente. A adiponectina é uma adipocina produzida quase que exclusivamente

por adipócitos e está presente no sangue em altas concentrações, representando molécula protetora contra disfunções metabólicas induzidas pela expansão do tecido adiposo (OUCHI et. al., 2003). Essa adipocina é conhecida como um fator sensibilizador à insulina e por ter ação anti-inflamatória, anti-diabética e anti-aterogênica e, a concentração sérica encontra-se diminuída na obesidade, na resistência à insulina e no diabetes tipo II (KERSHAW & FLIER, 2004 e KADOWAKI et al., 2006). Os efeitos benéficos da adiponectina na sensibilidade à insulina são devidos, pelo menos em parte, pela ação em ativar AMPK (do inglês *AMP-activated protein kinase*) no músculo esquelético e fígado. A ativação de AMPK promove aumento da oxidação lipídica, maior captação de glicose no músculo e inibição da gliconeogênese no fígado (YAMAUCHI et al., 2002 e TOMAS et al., 2002). Já a resistina é descrita como um polipeptídeo relacionado à resistência à insulina induzida pela obesidade e a concentração sérica dessa adipocina encontra-se aumentada em animais obesos e diabéticos (STEPPAN et al., 2001). Os efeitos da resistina na modulação do metabolismo de glicose ocorrem em nível do receptor de insulina, como evidenciado pela diminuição da fosforilação desse receptor dependente de insulina e diminuição da transmissão do sinal na cascata de sinalização da insulina, incluindo alterações na fosforilação de IRS-1 (substrato receptor de insulina 1), atividade de PI3K (fosfatidilinositol-3-kinase) associada ao IRS-1, produção de PIP3 (fosfatidilinositol trifosfato) e ativação de Akt (STEPPAN et al., 2005). A ação da resistina é também associada à ativação de SOCS-3 (do inglês *suppressor of cytokine signalling 3*), um inibidor da sinalização da insulina, em adipócitos (STEPPAN et al., 2005).

Existem evidências de que a ingestão de refeição rica em gordura modula a concentração de adipocinas circulantes (MANNING et. al., 2004 e NAPPO et. al., 2006). Entretanto, a associação entre a expressão e a secreção de citocinas após a ingestão de refeição rica em diferentes carboidratos dietéticos ainda não foram investigadas.

Já a investigação da participação de células no processo inflamatório começou a ser destacada na segunda metade do século XIX, quando autores descreveram o papel de células próprias do tecido e células migratórias, bem como o fenômeno da fagocitose durante a ocorrência da inflamação. O acúmulo de leucócitos, principalmente neutrófilos e células derivadas de monócitos, é uma característica importante da reação inflamatória. Durante o processo há aumento local de mediadores

inflamatórios que promovem aumento da permeabilidade capilar e também quimiotaxia, processo químico pelo qual células polimorfonucleares, neutrófilos e macrófagos são atraídos para o local. Essas células, por sua vez, realizam a fagocitose dos elementos que estão na origem da inflamação e produzem mais mediadores químicos, dentre os quais estão as citocinas e as quimiocinas (MOVAT, 1985).

Os neutrófilos são leucócitos granulócitos polimorfonucleares (PMN), formados na medula óssea que fazem parte do sistema imunológico, sendo as primeiras células a chegar às áreas de inflamação, com grande capacidade de fagocitose. Os macrófagos, por sua vez, são células do tecido conjuntivo, ricos em lisossomos e capazes de fagocitar elementos estranhos ao corpo. Os macrófagos são derivados dos monócitos circulantes e de células conjuntivas ou endoteliais, participando do processo de defesa do organismo contra infecções. Secretam diversos mediadores pró-inflamatórios, principalmente citocinas, como TNF- α e interleucinas. Os eosinófilos são células do sistema imune responsáveis pela ação contra parasitas multicelulares e certas infecções, sendo importantes no controle de mecanismos associados com a alergia e a asma. Desenvolvem-se na medula óssea (hematopoiese) antes de migrar para a circulação. Os eosinófilos, uma vez ativos, são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio, fatores de crescimento como o TGF- β e algumas citocinas, como IL-6 e TNF- α . Os linfócitos apresentam grande heterogeneidade morfológica e funcional por possuírem considerável capacidade para mudar de tamanho e formato. Localizam-se em diversos tecidos e órgãos, às vezes aglomerados em folículos linfóides, mais proeminentes nas mucosas digestiva (placas de Peyer) e respiratória, favorecendo assim a resposta imunológica do hospedeiro (MOVAT, 1985).

Estudos prévios demonstraram que indivíduos que consumiram refeição moderada em gordura (40% das calorias provenientes de gordura saturada) apresentam aumento do número de monócitos com ativação plaquetária (HYSON et. al., 2002). No entanto, o papel e o recrutamento de células inflamatórias na resposta pós-prandial ainda são desconhecidos.

Até a presente data, apenas um trabalho utilizando modelo animal propôs investigar a ocorrência da inflamação pós-prandial (MAGNÉ et. al., 2010). Porém, nesse trabalho, os autores avaliaram a resposta pós-prandial duas horas após a ingestão de dietas ricas em gorduras em relação ao jejum, não avaliando o efeito da alimentação em si. Tal fato faz com que o entendimento da inflamação pós-prandial,

bem como o papel de órgãos metabólicos no desenvolvimento da mesma, seja limitado.

Diante das evidências de ocorrência de um processo inflamatório no estado alimentado, existe a necessidade de estudos que investiguem o papel dos macronutrientes no desencadear da resposta inflamatória durante o período pós-prandial.

2.3 CARBOIDRATOS E RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Para entender o papel dos carboidratos em doenças metabólicas, um sistema de classificação foi desenvolvido baseado na digestibilidade e na absorção dos carboidratos, bem como a qualidade e a quantidade do carboidrato contido no alimento. Desta forma, o índice glicêmico (IG) é a medida do potencial de um carboidrato em aumentar a glicose sanguínea e a carga glicêmica (CG) refere-se a um produto do índice glicêmico (IG) e da quantidade de carboidrato presente na porção de alimento consumido, comparado com um alimento padrão (DICKINSON & BRAND-MILLER, 2005), que normalmente é a glicose ou o pão branco. A glicose é considerada um alimento de alto índice glicêmico (138), enquanto a sacarose possui moderado (87) e a frutose baixo índice glicêmico (32). Estudos epidemiológicos mostram que dietas ricas em carboidratos de fácil absorção estão associados ao desenvolvimento de diabetes mellitus do tipo 2 e doenças cardiovasculares (DICKINSON & BRAND-MILLER, 2005 e LIU, 2002). O consumo de carboidratos simples tem crescido acentuadamente ao longo dos últimos anos, especialmente devido ao aumento no consumo de refrigerantes e alimentos processados. Assim, dentre os carboidratos, o papel da sacarose e da frutose em desordens metabólicas tem sido consideravelmente investigado na literatura (ELLIOTT et. al., 2002 e BRAY et. al., 2004).

A frutose, um carboidrato que, devido ao elevado poder de doçura e ao baixo custo, teve grande aumento no consumo nos últimos anos. Algumas evidências sugerem que tal aumento pode ser um fator potencialmente importante nas taxas de crescimento da obesidade e da síndrome metabólica (RUTLEDGE & ADELI, 2007). De forma curiosa, o aumento de 25% do consumo *per capita* de frutose nos últimos 30

anos, coincide com o aumento da prevalência de obesidade e de síndrome metabólica (HAVEL, 2005). O consumo de sacarose foi reduzido de 80% do total de adoçantes calóricos em 1970 para 40% em 1997 devido à substituição da sacarose por xarope de milho rico em frutose. Segundo DUFFEY & POPKIN (2008), a contribuição calórica desses xaropes para a população americana é de 8,3% do total de ingestão energética (189 Kcal/pessoa/dia) e 15,7% do total de carboidratos. Para BANTLE (2009), a contribuição dos xaropes já é de 10% das calorias totais ingeridas por dia e de acordo com RUMESSEN (1992) a ingestão de frutose livre associada ao consumo de xarope pode contribuir com até 50% do total de carboidratos ingeridos. O inquérito avaliado por Bowman, em 1999, a partir de dados do *U.S. Department of Agriculture Continuing Survey of Food Intakes by Individuals* colhidos entre 1994 e 1996 indica que a quantidade de açúcar adicionado consumido nos Estados Unidos é de aproximadamente 316 kcal/dia. Cerca de 43% desses açúcares adicionados são provenientes de refrigerantes e sucos (HAVEL, 2005).

A determinação do consumo de frutose no Brasil não está bem estabelecida. Estima-se que há consumo médio de cerca de 4 g/dia de frutose livre e que o consumo de frutose provinda da sacarose seja de aproximadamente 27 g/dia (IBGE, 1996), o que totalizaria consumo médio de frutose de 12% do total dos carboidratos ingeridos. Entretanto, esse número pode ser ainda maior, pois analisando os dados da Pesquisa de Orçamento Familiares (MINISTERIO, 2003), pode-se notar aumento de 400% no consumo de refrigerantes comparado ao consumo na década de 70.

A frutose esta presente em alimentos pré-preparados, geléias, compotas, xaropes, balas e principalmente em refrigerantes e sucos contendo sacarose (açúcar de mesa constituído por 50% de frutose e 50% de glicose) ou xarope de milho rico em frutose. O xarope de milho rico em frutose é produzido a partir da isomerização de algumas moléculas de glicose do xarope e constitui a maior fonte de frutose da população norte americana, pois, embora a frutose esteja presente em frutas, mel e algumas outras fontes de carboidratos, as quantidades consumidas provenientes dessas fontes não são tão grandes como é encontrada em alimentos e bebidas adoçadas por xaropes de milho (MELANSON et al., 2008).

Sugere-se que o consumo elevado de frutose, 20% das calorias ingeridas, já seja responsável pelo surgimento de efeitos prejudiciais ao organismo (FRANZ et. al., 2002). Além de apresentar relação com o desenvolvimento da obesidade, o aumento

do consumo da frutose tem sido associado à ocorrência de comorbidades como aumento de triglicerídeos, ácidos graxos livres e colesterol. Muitos estudos já demonstram que o consumo em longo prazo de dieta rica em frutose é capaz de desenvolver alterações fisiológicas e metabólicas tanto em modelos animais como em humanos (STANHOPE et. al., 2009; JÜRGENS et. al., 2005; LINGELBACH & MCDONALD, 2000; BANTLE, 2009; STANHOPE & HAVEL, 2008; KELLEY, ALLAN & AZHAR, 2009 and KAWASAKI et. al., 2009). COLLINO e colaboradores (2010) verificaram que animais alimentados com dieta rica em frutose e colesterol apresentaram, após 15 semanas de consumo, aumento de peso corporal, aumento de tecido adiposo epididimal e hepático assim como aumento das concentrações plasmáticas de triglicérides em relação ao grupo alimentado com dieta controle. AXELSEN et. al. (2010) mostraram que animais alimentados com dieta similar (rica em frutose e colesterol) apresentaram, além do aumento de colesterol total, redução das concentrações de HDL plasmáticos.

Trabalhos recentes têm demonstrado que tanto o consumo crônico, de oito a dez semanas (STANHOPE et. al., 2009), como por curtos períodos de tempo, vinte e quatro horas (TEFF et. al., 2004), de dietas ricas em frutose são capazes de aumentar os níveis pós-prandiais de triglicerídeo. Tais evidências sugerem que a hipertrigliceridemia pós-prandial seja uma das primeiras desordens metabólicas associada ao consumo de frutose (STANHOPE & HAVEL, 2008).

Nos hepatócitos, diferentemente do metabolismo da glicose, a frutose é prontamente disponível para a síntese de ácidos graxos, via metabólica denominada lipogênese. A lipogênese hepática é estimulada pelo consumo de frutose devido basicamente a três motivos. Primeiro: o fígado é o lugar principal do metabolismo da frutose (MAYE, 1993); segundo: a entrada de frutose na glicólise via frutose-1-fosfato é independente da taxa de controle da glicólise, catalisada pela fosfofrutoquinase, enzima essa responsável pela regulação da quantidade dos substratos lipogênicos como o acetil-CoA e glicerol-3-fosfato (MAYE, 1993); e terceiro, a frutose pode ativar a proteína 1c ligadora do elemento regulada por esteróis (SREBP-1c) independente de insulina, o que pode ativar genes envolvidos na síntese de enzimas lipogênicas (MATSUZAKA et. al., 2004).

O aumento na síntese de ácidos graxos, estimulado pela frutose, acarreta aumento na síntese de triglicerídeo. Esse, por sua vez, pode ser empacotado na forma

de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) pelo fígado e exportado para a corrente sanguínea (LEWIS, 1997). Os triglicérides presentes nas VLDLs circulantes podem ser hidrolisados pela lipase lipoprotéica em ácidos graxos não esterificados e em monoacilglicerol. O tecido adiposo é capaz de captar esses componentes e reesterificar os ácidos graxos livres em triglicerídeo, armazenando-os. Desta forma, o consumo excessivo de frutose pode aumentar as concentrações plasmáticas tanto de triglicérides como de ácidos graxos livres, bem como propiciar o aumento de adiposidade (RUTLEDGE & ADELI, 2007). Além dos efeitos sobre a lipogênese, estudo recente demonstrou que dietas ricas em frutose são capazes de diminuir a oxidação lipídica em humanos (MILLER & ADELI, 2008) processo esse que, mais uma vez, pode contribuir para o aumento da adiposidade.

STANHOPE & HAVEL (2008) avaliaram indivíduos que mantiveram livre acesso às suas dietas habituais e fizeram uso ou de bebida adoçada com frutose ou bebida adoçada com sacarose durante oito semanas. Ambos os grupos apresentaram aumento em média de 1,5 kg em relação ao peso corporal inicial, no entanto, os indivíduos em uso de bebida rica em frutose apresentaram mais gordura abdominal. Esse resultado sugere que a hipertrigliceridemia pós-prandial induzida pelas dietas ricas em frutose pode promover deposição lipídica, em maior grau, no tecido adiposo visceral (STANHOPE & HAVEL, 2008). Tal evidência é importante devido ao conhecimento da associação entre o aumento da adiposidade visceral e a ocorrência da resistência à insulina (ABATE et. al., 1995 e PAULSON et. al., 2010). Os resultados disponíveis na literatura a respeito da ingestão de frutose analisam o consumo em longo prazo, sendo que as possíveis alterações induzidas pelo consumo de uma única refeição rica em frutose ainda não foram investigadas.

A importância de estudos que levam em consideração o estado pós-prandial dos indivíduos deriva do fato de que a maioria da população está no estado pós-prandial constante (MARGIORIS, 2009), pois estima-se que grande parte da população passe de 14 a 18 horas por dia no estado alimentado (LAIRON, 1996). Porém, contraditoriamente, a maioria dos estudos é realizada nos estado de jejum. Além disso, a integração de alimentos e imunidade inata é um conceito novo, sendo que o termo inflamação pós-prandial surgiu recentemente como um conceito importante na nutrição humana. Assim, é de fundamental relevância a investigação da possível ocorrência de

inflamação pós-prandial sistêmica, bem como a identificação dos sítios de ocorrência de tal inflamação.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar se animais alimentados apresentam inflamação pós-prandial sistêmica e determinar se o tecido adiposo epididimal, fígado e intestino seriam possíveis sítios de localização de tal inflamação. Além disso, avaliar o papel de diferentes carboidratos dietéticos na resposta pós-prandial, especialmente a frutose.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar se animais alimentados com diferentes carboidratos dietéticos apresentam hiperglicemia, hiperlipidemia e hipercolesterolemia pós-prandial;
- Investigar a ocorrência de inflamação pós-prandial sistêmica por meio da avaliação de células inflamatórias circulantes, como leucócitos (linfócitos, monócitos e neutrófilos), da proteína de fase aguda PTX3 e da concentração sérica das adipocinas adiponectina e resistina;
- Investigar se importantes órgãos metabólicos, como tecido adiposo epididimal, fígado e intestino apresentam aumento local na liberação de mediadores pró-inflamatórios e de células no estado pós-prandial, representando possíveis sítios de ocorrência de tal inflamação.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Delineamento experimental

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA- protocolo 63/2010) sob o título de “Inflamação pós-prandial: efeito da obesidade e de dietas ricas em frutose” (ver apêndice A).

Foram utilizados noventa e seis camundongos machos com aproximadamente quatorze semanas de idade da raça BALB/c obtidos do biotério central da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO – UFMG).

Os animais foram submetidos ao jejum noturno, 14 horas, e após esse período, os mesmos foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme se seguem:

(Jejum) animais submetidos à eutanásia em jejum;

(C) animais alimentados com dieta controle (AIN-93, contendo 20% sacarose);

(G) animais alimentados com dieta AIN-93 no qual a sacarose foi substituída por 20% de glicose;

(F) animais alimentados com dieta AIN-93 no qual a sacarose foi substituída por 20% de frutose;

Os grupos C, G e F foram divididos em gaiolas individuais e realimentados durante 1 hora com um grama das respectivas dietas identificadas nos grupos acima. Após esse período, a sobra alimentar foi retirada e quantificada. Os animais foram, então, submetidos à eutanásia por exsanguinação depois de serem anestesiados com 100µl de anestésico ketamina: xilasina: PBS (3:1:4) nos diferentes tempos pós-prandiais: 1, 2 e 4 horas.

A dieta AIN93M é uma dieta formulada para manutenção de roedores adultos, sendo a mesma manipulada a partir de ingredientes isolados, o que permite modificação em componentes específicos da dieta, como pode ser observado na tabela

1. A tabela 2 apresenta a distribuição de macronutrientes da dieta AIN 93 controle (C) e das dietas experimentais modificadas contendo glicose (G) ou frutose (F) utilizadas no protocolo experimental.

Tabela 1 – Composição da dieta AIN-93M formulada para manutenção de roedores adultos

Ingredientes	g/Kg dieta
BHT	0,008 g
Bitartarato de colina	2,50 g
Cistina (metionina)	1,80 g
Mix de vitaminas	10,00 g
Mix de minerais	35,00 g
Celulose	50,00 g
Óleo de soja	40,00 g
Sacarose	100,00 g
Maltodextrina	155,00 g
Caseína	140,00 g
Amido de milho	465,692 g
Água destilada	300,00 g

Tabela 2- Composição das dietas AIN-93 controle e modificadas. Os dados são apresentados em porcentagem (%).

Dietas	AIN-93 (Controle)	AIN-93 Glicose	AIN-93 Frutose
Proteína	14,1	14,1	14,1
Lipídio	10,0	10,0	10,0
Carboidrato	75,9	75,9	75,9
Sacarose	20	-	-
Glicose	-	20	-
Frutose	-	-	20

Fígado, intestino e tecido adiposo epididimal foram removidos e utilizados imediatamente ou conservados em freezer -20°C até o momento do uso. O sangue foi coletado em tubos, centrifugado para a obtenção do soro e armazenado a -20°C para a dosagem de triacilglicerol, colesterol total e glicose.

4.2 Métodos

4.2.1 - Contagem total de células sanguíneas

10 μ L de sangue foram retirados da cauda dos animais, com auxílio de uma pipeta, e colocados em tubos plásticos contendo 90 μ L de solução de Turkey (Sigma, St. Louis, MO, USA). As amostras foram homogeneizadas e 10 μ L do homogenado foram colocados na câmara Neubauer. Os leucócitos foram corados com violeta genciana e quantificados em microscópio com objetiva de 100X.

4.2.2 – Esfregaço sanguíneo

Uma gota de sangue proveniente da cauda do animal foi colocada na extremidade de lâmina de vidro e com auxílio de outra lâmina este sangue foi distribuído uniformemente para contagem diferencial dos leucócitos circulantes. Após secagem, em temperatura ambiente, foi realizado a coloração com Kit panótico e a leitura em microscópio com objetiva de 100X.

4.2.3 – Avaliação do perfil lipídico

4.2.3.1 – Determinação da concentração sérica de colesterol total

A concentração de colesterol total foi determinada pelo método da colesterol oxidase proposto por ALLAIN et. al. (1974). Foi utilizado kit comercial KATAL, Belo Horizonte, MG, Brasil. A técnica consiste na hidrólise de ésteres de colesterol pela enzima colesterol esterase, formando colesterol livre. Este colesterol, na presença da colesterol oxidase e de oxigênio, gera peróxido de hidrogênio que por sua vez, reage com a peroxidase em presença de fenol e 4-aminoantipirina, produzindo um composto

de coloração róseo-avermelhado que possui absorvância máxima de 500nm. Para avaliar as concentrações séricas de colesterol dos animais, após a aplicação do anestésico o sangue foi obtido pelo plexo inguinal, em jejum ou no determinado período pós-prandial. O sangue foi armazenado em tubo eppendorf e centrifugado, a 3000 RPM por quinze minutos para separação do soro. A concentração de colesterol sérico foi determinada por um ensaio em microplacas de 96 poços, conforme FAZIO et. al. (1997). Uma alíquota de 5 µL de cada amostra foi diluída em 495 µL de água deionizada (1:200). Foram plaqueados 100 µL de cada amostra diluída. 100 µL de reagente de colesterol total foram adicionados a cada amostra e a placa foi incubada em estufa a 37°C por 15 minutos. Após a incubação, a absorvância foi lida a 492nm em um leitor de microplaca (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus).

4.2.3.2 – Determinação da concentração sérica de triglicérides

A concentração sérica de triglicérides foi determinada conforme o método enzimático colorimétrico (FOSSATI & PRENCIPE, 1982), utilizando kit comercial KATAL, Belo Horizonte, MG, Brasil. O método consiste na hidrólise dos triglicérides séricos pela lipase lipoproteica produzindo glicerol livre. O glicerol é fosforilado pela glicerol quinase, cujo produto sofre a ação da glicerol fosfato, o qual, em presença de oxigênio, produz o peróxido de hidrogênio. A peroxidase age sobre o peróxido de hidrogênio que em presença de reagente fenólico 4-clorofenol e 4-aminoantipirina, produz composto róseo avermelhado, com absorção máxima a 510nm. Para avaliar as concentrações séricas de triglicérides dos animais, o ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços. Uma alíquota de 5 µL de cada amostra foi diluída em 495 µL de água deionizada (1:100). Foram plaqueados 100 µL de cada amostra diluída. 100 µL de reagente de cor foram adicionados a cada amostra e a placa foi incubada em estufa a 37°C por 15 minutos. Após a incubação, a absorvância foi lida a 492nm em leitor de microplaca (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus).

4.2.4 – Avaliação da glicemia

A concentração sérica de glicose foi dosada por meio do kit enzimático KATAL, Belo Horizonte, MG, Brasil. O teste se baseia na oxidação da glicose a ácido glucônico, por meio da glicose oxidase, liberando peróxido de hidrogênio. A peroxidase, em presença de fenol e 4-aminoantipirina, reage com o peróxido de hidrogênio produzindo composto róseo-avermelhado com absorção máxima a 520nm. Em microplaca, foram plaqueados 2 µL de cada amostra com posterior adição de 200 µL do reagente de glicose em todos os poços. A microplaca foi incubada em estufa a 37°C por 15 minutos. Após a reação, foi feita a leitura da absorbância a 492nm em leitor de microplaca (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus). Para a determinação do padrão foram substituídos 2 µL da amostra por 2 µL de padrão.

4.2.5 - Extração de citocinas de tecidos

Fragmentos do tecido adiposo foram macerados em homogeneizador próprio na presença de 1 mL de solução inibidora de proteases (NaCl 0,4M; Tween 20 0,05%; albumina de soro bovino 0,5%; fluoreto de fenilmetilsufonila 0,1 mM; cloreto de benzetônio 0,1mM; EDTA 10 mM; 20 UI de aprotinina), preparada a partir de solução de tampão fosfato (NaCl 8g, KCl 0,2g e Na₂HPO₄.12H₂O 2,89g diluídos em 1 litro). A solução resultante foi centrifugada por 10min a 10000 r.p.m. a 4°C e o infranadante foi recolhido para a dosagem de citocinas por ELISA.

4.2.6 – Determinação de citocinas por Elisa

As amostras foram diluídas na proporção de 1:4, 1:10, 1:100 e 1:1000 para tecido adiposo, fígado, soro para determinação de PTX3, resistina e adiponectina, respectivamente, em PBS contendo 0,1% de albumina bovina. As concentrações de Adiponectina, Resistina, TNF-α, IL-6, CCL-2, KC e PTX-3 foram determinados

utilizando-se anticorpos obtidos da R&D Systems (DuoSet). As instruções do fabricante para a realização dos ensaios foram seguidas, e estão resumidamente descritas abaixo.

Todos os ensaios foram realizados em placas com 96 poços (Nunc, USA). Os anticorpos de captura foram diluídos em PBS, pH 7,4, sendo que a sensibilização ocorreu durante aproximadamente 18 horas a 4^oC. A placa foi bloqueada com PBS acrescido de 1% de albumina bovina (Sigma) durante 1 hora e as amostras pipetadas na placa. A reação ocorreu durante aproximadamente 18 horas a 4^oC. Os anticorpos de detecção foram diluídos em PBS, pH 7,4, com 0,1% de albumina bovina, sendo que a sensibilização ocorreu durante aproximadamente 2 horas à temperatura ambiente. A reação foi detectada pela incubação com estreptovidina conjugada com peroxidase e revelada com OPD (“o-phenyldiamine-dihydrochloride”-Sigma). A reação foi interrompida com H₂SO₄ a 1M.

A leitura foi realizada no leitor de ELISA com filtro para comprimento de onda de 492nm.

4.2.7 - Avaliação da atividade celular

A avaliação da atividade celular intestinal e hepático consistiu na medida da atividade das enzimas mieloperoxidase (MPO), n-acetilglicosaminidase (NAG) e peroxidase de eosinófilos (EPO), presentes em neutrófilos, macrófagos e eosinófilos, respectivamente.

O intestino delgado foi removido e limpo para remoção do conteúdo intestinal. Aproximadamente 100mg do tecido hepático e intestinal foram utilizados para os ensaios enzimáticos descritos a seguir.

4.2.7.1 – Preparo de amostras para medida da atividade das enzimas MPO, NAG e EPO

Inicialmente, o pellet resultante da extração de citocinas foi homogeneizado em *Buffer 1* gelado (proporção: 1,9 mL/100 mg de tecido) e centrifugado a 10.000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos. O sobrenadante foi desprezado e, em seguida, foram adicionadas soluções de NaCl 0,2% e solução NaCl 1,6% acrescida de glicose 5% (proporção: 1,5 mL/100 mg de tecido) às amostras. Posteriormente, as amostras foram novamente homogeneizadas e o volume foi igualmente dividido em tubos Eppendorf® para o ensaio de MPO, NAG e EPO. A partir desse momento, as amostras receberam tratamentos distintos.

Para ensaio de MPO, o sobrenadante foi removido, e ao remanescente adicionou-se *Buffer 2* em temperatura ambiente (proporção: 1,9 mL/100 mg de tecido). As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e descongeladas em água a temperatura ambiente, alternadamente, por três vezes. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos e o sobrenadante foi utilizado para o ensaio enzimático.

Para ensaio de NAG, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos e o sobrenadante foi desprezado. Ao precipitado, foi adicionada solução salina 0,9% triton x-100 (Sigma-Aldrich®). Novamente, as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 10.000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e utilizado para o ensaio enzimático.

Para ensaio de EPO, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos e o sobrenadante foi desprezado e o precipitado remanescente foi novamente suspenso com HETBA 0,5% (*hexadecyltrimethylammoniumbromide*) diluído em PBS. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas e congeladas em nitrogênio líquido, e descongeladas em água a temperatura ambiente, alternadamente, por três vezes. Após essa etapa, fez-se nova centrifugação (10.000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos) e o sobrenadante foi utilizado para o ensaio enzimático.

4.2.7.2 – Ensaio enzimático: enzima MPO

Alíquota de 25 µL de amostra foi adicionada a placa de 96 poços. Às amostras, foram adicionados 25 µL do substrato 3'3',5'5' – tetrametilbenzidina (Sigma-Aldrich®), previamente diluído em dimetil sulfóxido (DMSO). As amostras foram incubadas a 37°C, por cinco minutos. Em seguida, adicionaram-se 100µL de peróxido de hidrogênio 0,002% a cada poço, e realizou-se nova incubação (37°C, por cinco minutos). Para interromper a reação, foram adicionados 100µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 4M. A absorbância foi medida por espectrofotometria em comprimento de onda de 450nm . Os resultados foram expressos em unidades arbitrárias de acordo com a absorbância obtida.

4.2.7.3 - Ensaio enzimático: enzima NAG

No ensaio enzimático, 100 µL de amostra foram adicionados a placa de 96 poços. Em seguida, 100 µL do substrato p-nitrofenil-N-acetil-β-D-glicosaminida (Sigma-Aldrich®), previamente diluído em tampão citrato/fosato, foram adicionados às amostras. Após incubação das amostras (37°C por 10 minutos), foram adicionados 100 µL (0,2 M, pH 10,6) de tampão glicina em cada poço para interromper a reação. A absorbância foi medida por espectrofotometria em comprimento de onda de 400nm. Os resultados foram expressos em unidades arbitrárias de acordo com o valor de absorbância obtido.

4.2.7.4 – Ensaio enzimático: enzima EPO

No ensaio enzimático, 75 µL de amostra foram adicionadas a placa de 96 poços. Em seguida, adicionou-se 75 µL do cromógeno 1,2 diaminobenzeno, 1,2 fenilenodiamina (OPD) (Sigma-Aldrich®) diluído em tampão tris-HCL (Sigma-Aldrich®) a 0,075mM, em pH 8,0, acrescido de H₂O₂ a 6,6mM. Posteriormente, a placa foi incubada a 37°C por 30 minutos ao abrigo da luz. Após incubação, a reação foi interrompida pela adição de 50 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 1M. A absorbância foi

medida por espectofotometria em comprimento de onda de 492nm. Os resultados foram expressos em unidades arbitrárias de acordo com a absorbância obtida.

4.3 - Análises Estatísticas

Após ter sido realizado o teste de normalidade e verificado que as amostras apresentavam distribuição Gaussiana, as comparações estatísticas entre os vários grupos foram realizadas por ANOVA “one way” seguida de pós-teste Newman-Keuls. Para comparação entre dois grupos foi utilizado o teste “t de student”. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão médio. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Para a realização de todas as análises, foi utilizado o software GraphPad PRISM, GraphPad software Inc. (San Diego, CA, USA).

5. RESULTADOS

5.1 – Efeito pós-prandial de diferentes carboidratos sobre metabólitos séricos

O consumo das dietas AIN93 controle (sacarose) ou modificadas (glicose e frutose) foi semelhante em todos os grupos avaliados, conforme pode ser observado na figura 2.

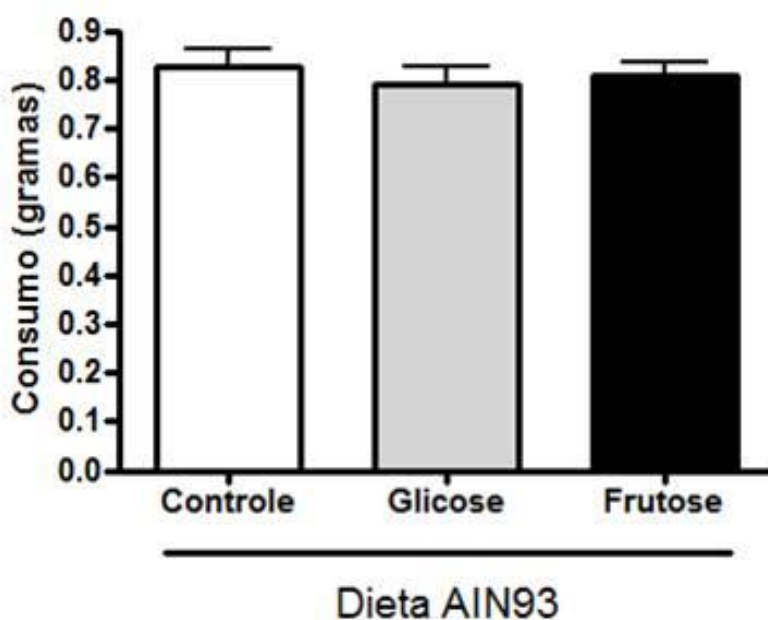


Figura 2 – Consumo (g) das dietas AIN93 controle (sacarose) ou modificadas (glicose e frutose).

n = 32, dados representados em média \pm erro padrão da média.

Os resultados referentes à concentração de glicose, triglicérides e colesterol em jejum e nos diferentes tempos pós-prandiais são mostrados na figura 3. Houve aumento da concentração de glicose e de triglicérides nos diferentes períodos pós-prandiais, independente do tipo de dieta ou carboidrato ingerido em relação aos animais em jejum (Figura 3 A e B, respectivamente). Animais alimentados com dieta controle (sacarose) ou dieta contendo glicose não apresentaram alteração na

concentração de colesterol comparados aos animais em jejum. Entretanto, animais alimentados com frutose apresentaram aumento da concentração sérica de colesterol, em todos os tempos pós-prandiais, sendo que tal resposta ocorreu tanto em relação ao jejum, quanto em relação aos animais alimentados com dieta controle (Figura 3 C).

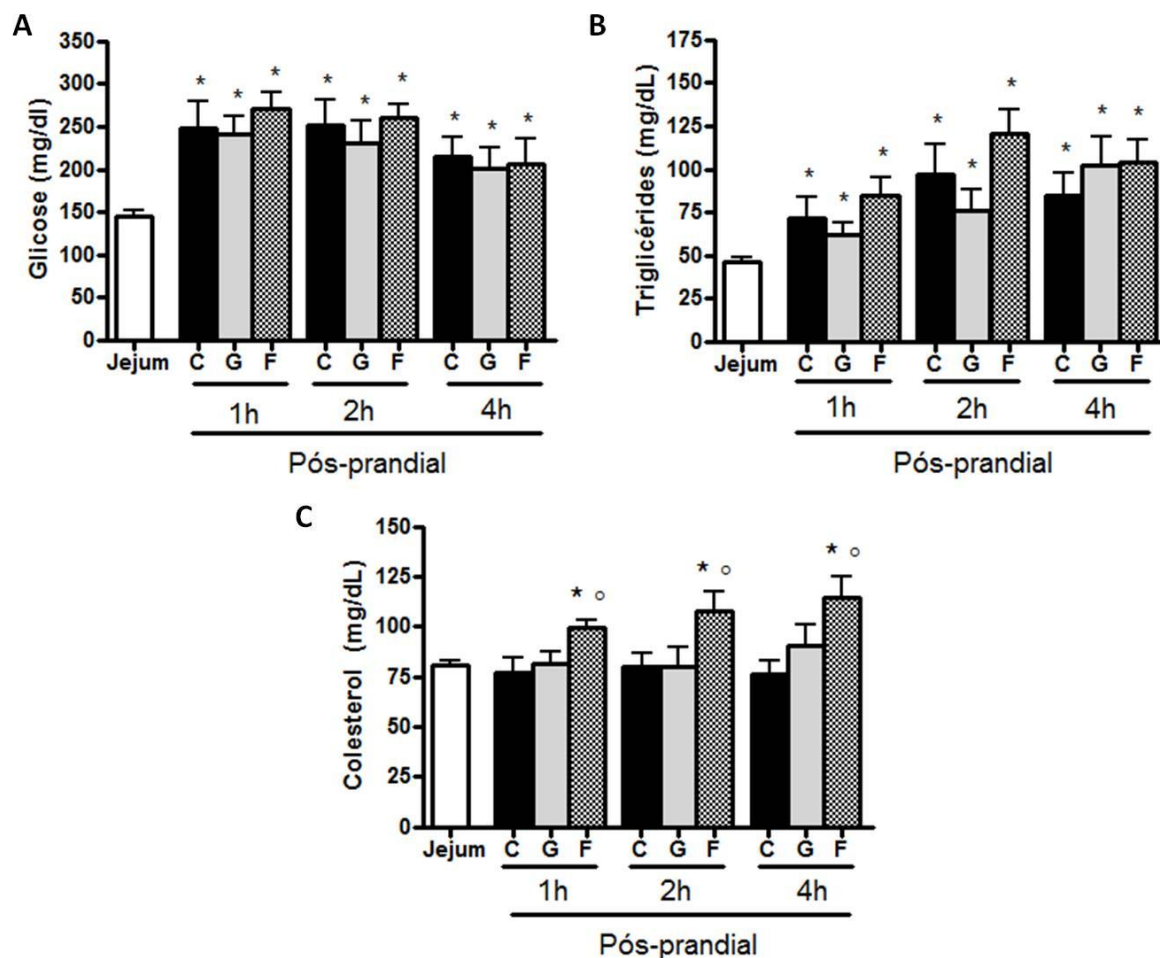


Figura 3 - Concentração sérica de glicose, triacilglicerol e colesterol de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), glicose (G) ou frutose (F) na concentração sérica de glicose (A), triglicérides (B) e colesterol (C). Dados representados em média \pm erro padrão da média; n = 07 – 10; * p < 0,05 vs. jejum; ^o p < 0,05 vs. controle alimentado.

5.2 – Avaliação da inflamação pós-prandial sistêmica

5.2.1 – Células circulantes

Verificou-se que animais alimentados, independente do tipo de dieta consumida, apresentaram aumento do número de leucócitos circulantes em comparação aos animais em jejum. Entretanto, houve variação em relação ao período pós-prandial avaliado e o tipo de dieta consumida. Animais que consumiram a dieta controle, contendo sacarose, apresentaram aumento de leucócitos circulantes em relação aos animais em jejum apenas 4 horas pós-prandiais. Animais que consumiram glicose ou frutose apresentaram aumento precoce, uma hora pós-prandial, dos leucócitos circulantes em relação aos animais em jejum. Animais alimentados com frutose, além do aumento antecipado do número de leucócitos, apresentaram intensificação desse aumento, uma vez que os mesmos apresentaram aumento de leucócitos em relação aos animais alimentados com dieta controle em todos os tempos pós-prandiais avaliados. (Figura 4 A).

Observou-se aumento no número de neutrófilos circulantes após o consumo de todas as dietas experimentais nos diferentes tempos pós-prandiais, em relação aos animais em jejum (Figura 4 B).

Verificou-se aumento do número de monócitos circulantes após a ingestão de dieta controle ou modificada contendo frutose, em todos os tempos pós-prandiais. Entretanto, aumento do número de monócitos só foi observado duas horas após o consumo de glicose (Figura 4 C).

Animais alimentados, independente do tipo de dieta consumida, apresentaram número de linfócitos circulantes semelhantes aos animais em jejum (Figura 4 D).

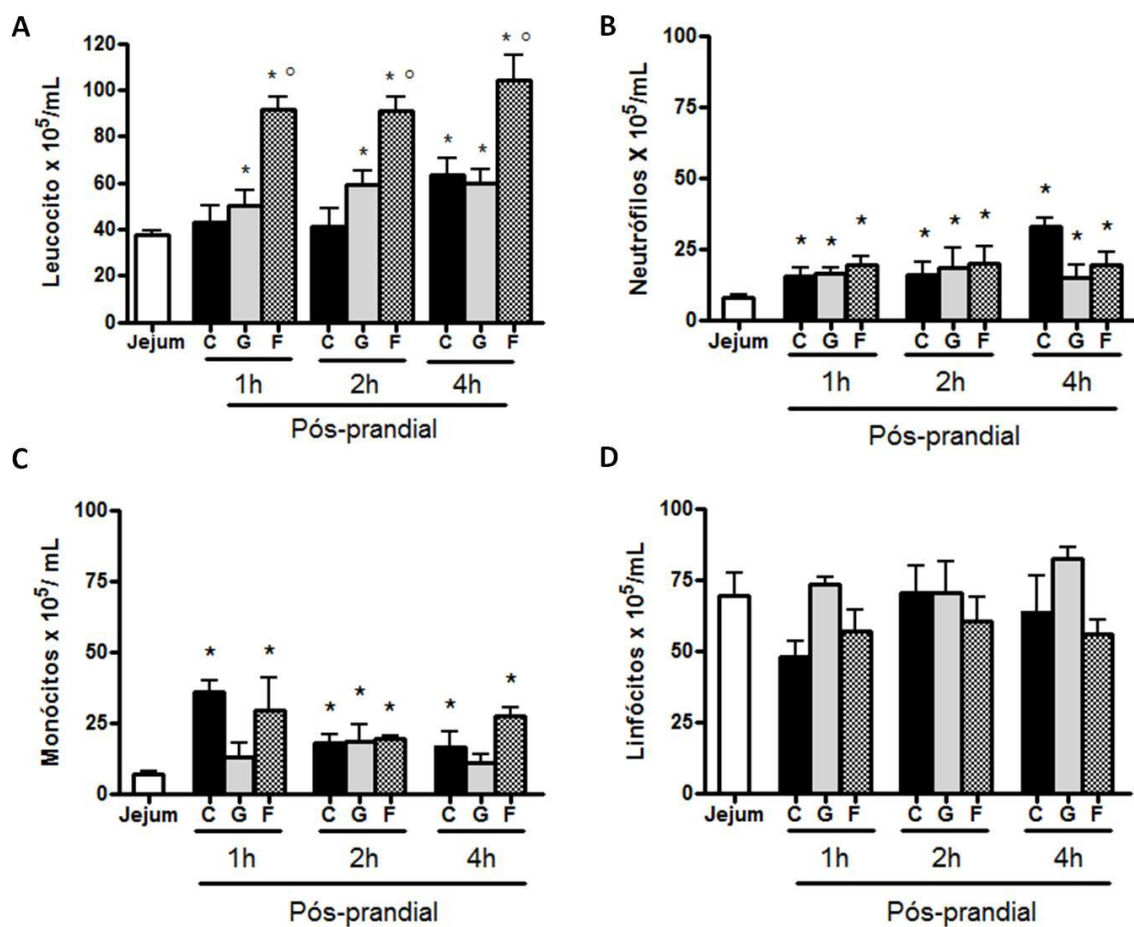


Figura 4 – Contagem total (leucócitos) e diferencial (neutrófilos, monócitos e linfócitos) de células sanguíneas de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) no número de leucócitos (A), neutrófilos (B), monócitos (C) e linfócitos (D) circulantes. Dados representados em média \pm erro padrão da média; n= 03 – 12; * p < 0,05 vs. jejum; ^o p < 0,05 vs. controle alimentado.

5.2.2 - PTX3

Observa-se que animais alimentados, independente do tipo de dieta consumida, apresentam aumento da concentração da proteína PTX3 em relação ao jejum, como apresentado na figura 5. Entretanto, o grupo que consumiu dieta controle, contendo sacarose, só apresentou aumento da concentração sérica de PTX3 no período de quatro horas pós-prandial. O grupo que consumiu glicose apresentou aumento de PTX3 duas e quatro horas pós-prandiais. Porém, o grupo que consumiu frutose, apresentou aumento da concentração de PTX3 antecipado, ocorrendo com apenas uma hora pós-prandial e mantida durante as 2 e 4 horas pós-prandiais.

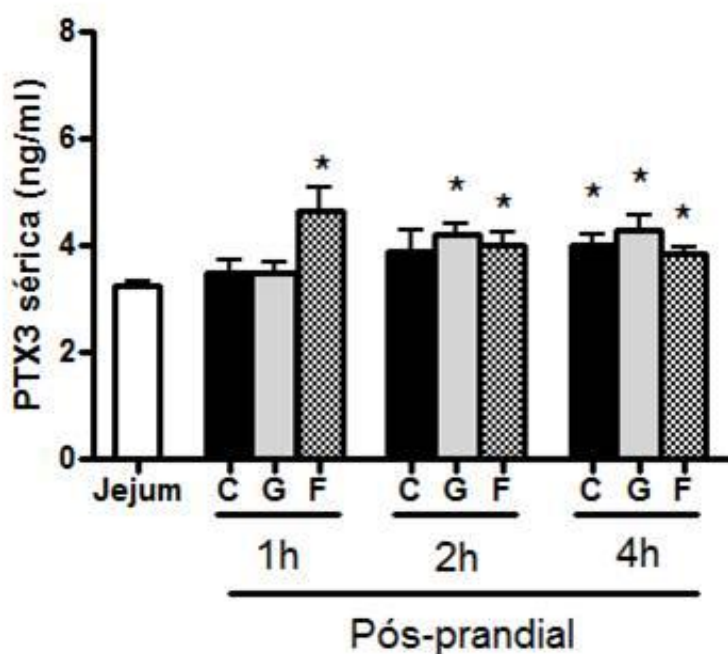


Figura 5 – Concentração sérica de PTX3 de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) na concentração sérica de PTX3. Dados representados em média \pm erro padrão da média; n = 05 – 08; * p < 0,05 vs. jejum.

5.2.3 – Adiponectina e Resistina

Animais alimentados com glicose ou frutose apresentaram menor concentração de adiponectina sérica duas e quatro horas pós-prandiais, tanto em relação ao jejum, quanto em relação aos animais alimentados com dieta controle (Figura 6 A).

Verificou-se maior concentração sérica de resistina após o consumo de todas as dietas estudadas nos dois tempos pós-prandiais avaliados, duas e quatro horas (Figura 6 B).

A relação adiponectina/resistina também foi avaliada (figura 6 C), enfatizando a redução da concentração de adiponectina e aumento da concentração de resistina em animais nos dois períodos pós-prandiais avaliados.

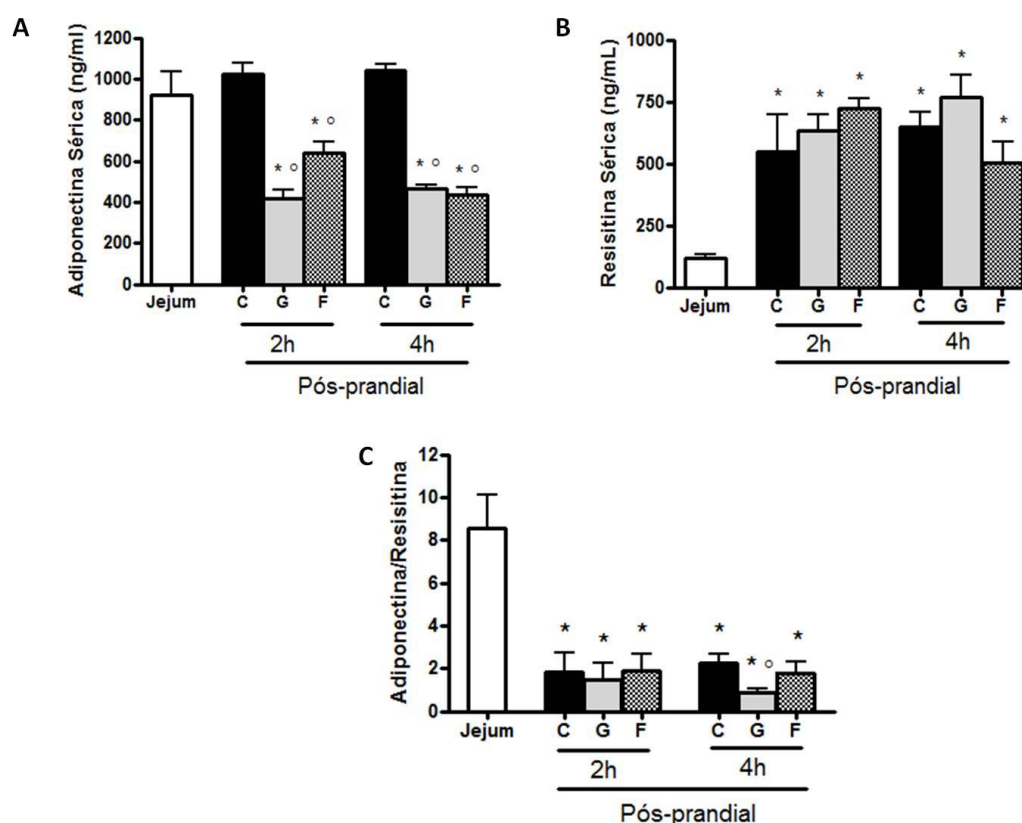


Figura 6 – Concentrações séricas de adiponectina e resistina de animais em jejum e duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) na concentração sérica de adiponectina (A) e resistina (B) e relação adiponectina/resistina. Dados representados em média \pm erro padrão da média; $n = 04 - 10$; * $p < 0,05$ vs. jejum; $^{\circ}$ $p < 0,05$ vs. controle alimentado.

5.3 – Identificação do(s) possível (is) sítios de ocorrência da inflamação pós-prandial

5.3.1 – Tecido adiposo

5.3.1.1 – Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias

Animais alimentados, independente do tipo de dieta consumida, apresentaram maior concentração de IL-6 no tecido adiposo epididimal em todos os tempos pós-prandiais em relação ao estado de jejum (figura 7 A).

Animais alimentados com dieta controle ou contendo glicose apresentaram concentração de TNF- α no tecido adiposo similar aos animais em jejum nos diferentes tempos pós-prandiais. Duas horas após o consumo de frutose, os animais apresentaram maior concentração de TNF- α no tecido adiposo epididimal tanto em relação ao jejum, quanto em relação a animais alimentados com dieta controle no mesmo período. (Figura 7 B).

Animais alimentados com dieta controle apresentaram concentração semelhante de CCL2 aos animais em jejum. Entretanto, animais alimentados com glicose, no período de duas e quatro horas pós-prandiais, e alimentados com frutose, no tempo de duas horas pós-prandial, apresentaram maior concentração de CCL-2 em relação ao jejum (Figura 7 C).

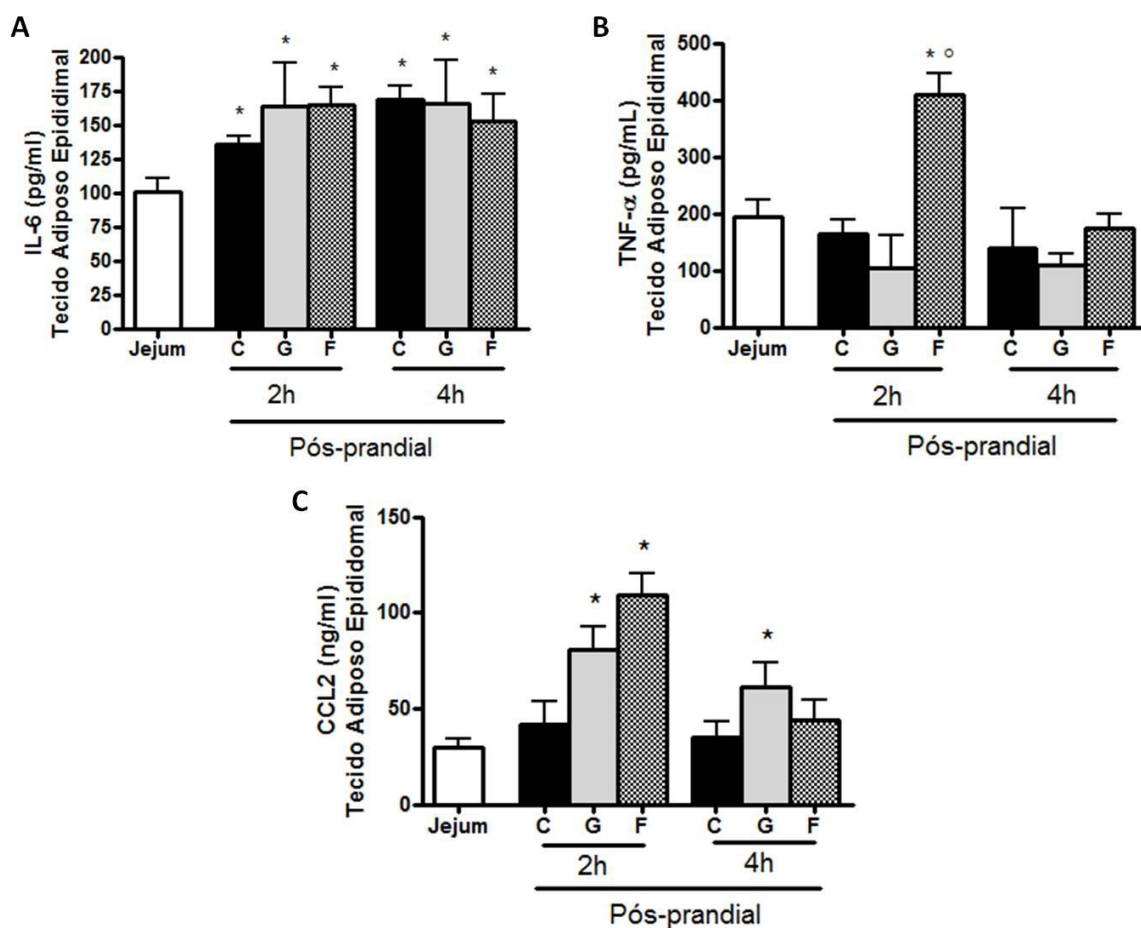


Figura 7 - Concentração de IL-6, TNF- α e CCL2 no tecido adiposo epididimal de animais em jejum e duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) na concentração de IL-6, TNF- α e CCL2. Dados representados em média \pm erro padrão da média; n= 03 – 08; * p < 0,05 vs. jejum; ^o p < 0,05 vs. controle alimentado.

5.3.2 – Fígado

5.3.2.1 – Células inflamatórias

Os resultados referentes às atividades das enzimas MPO, NAG e EPO, indicadoras da presença de neutrófilos, macrófagos e eosinófilos, respectivamente, no fígado de animais em jejum e uma, duas e quatro horas após serem alimentados com as diferentes dietas experimentais são apresentados na figura 8.

Verifica-se que, em todos os períodos avaliados, animais alimentados com dieta controle ou com dieta contendo glicose apresentaram atividade das enzimas MPO e EPO semelhantes aos animais no estado de jejum. Entretanto, nos animais que consumiram frutose, houve aumento da atividade dessas enzimas tanto em relação aos animais em jejum como em relação aos animais alimentados com dieta controle (Figura 8 A).

Pode-se verificar que no período pós-prandial, após o consumo de dieta controle ou modificada contendo glicose, a atividade da enzima NAG não foi detectada por meio do ensaio enzimático, indicando redução de macrófagos no fígado dos animais que consumiram tais dietas em comparação aos animais em jejum. Após o consumo de frutose, nos dois primeiros períodos pós-prandiais, a atividade enzimática da NAG também foi menor que no jejum, embora a redução não tenha sido tão intensa a ponto de não poder ser detectada, indicando a presença de macrófagos no fígado desses animais. Animais que consumiram frutose também apresentaram maior atividade da NAG em relação aos animais alimentados com dieta controle (Figura 8 B).

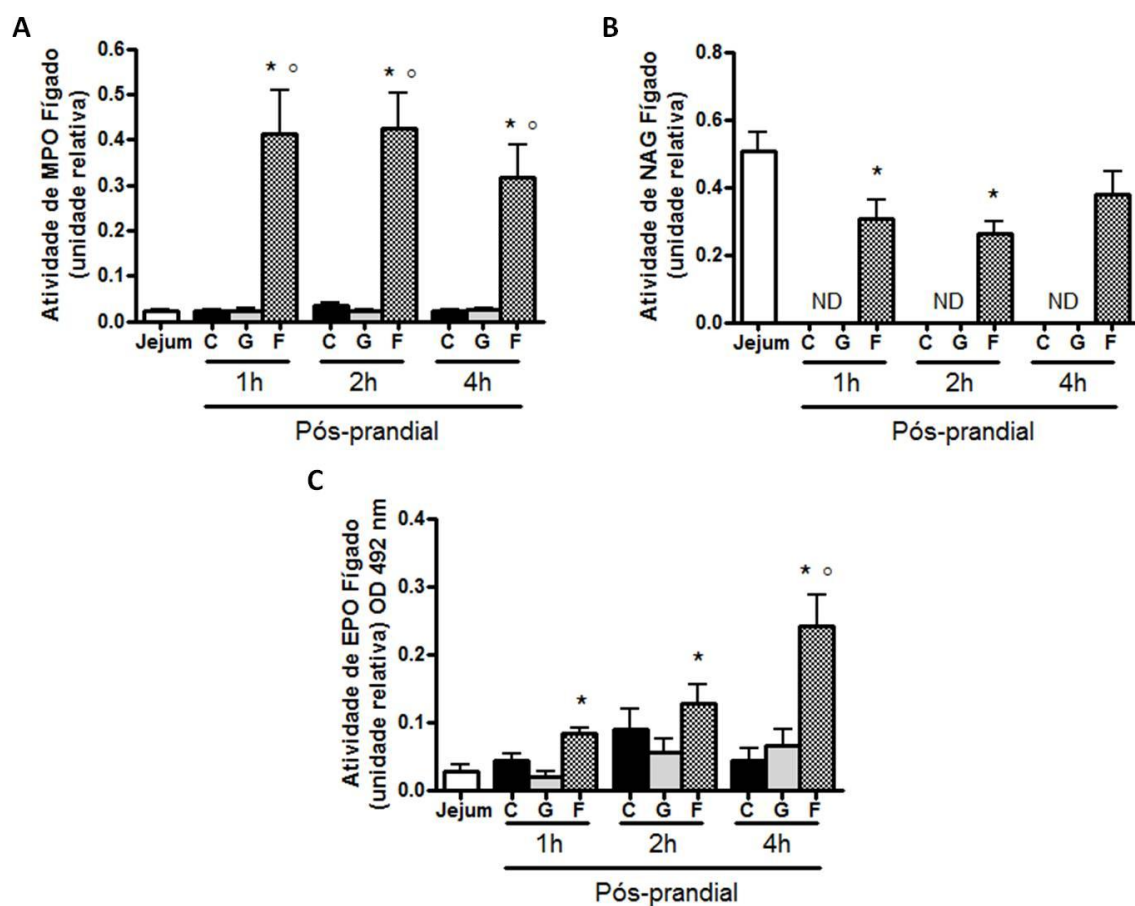


Figura 8 - Atividade das enzimas MPO, NAG e EPO no fígado de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) na atividade enzimática de MPO, NAG e EPO no fígado. Dados representados em média \pm erro padrão da média; $n = 03 - 08$; * $p < 0,05$ vs. jejum; \circ $p < 0,05$ vs. controle alimentado.

5.3.2.2 – Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias

No período de duas horas após os animais serem alimentados com dieta controle, os mesmos apresentaram maior concentração de IL-6 hepática em relação ao jejum. Animais alimentados com glicose ou frutose apresentaram concentração semelhante dessa citocina tanto em relação aos animais alimentados com dieta controle como em relação aos animais em jejum (Figura 9 A).

Animais alimentados, indiferentemente do tipo de dieta consumida, apresentaram aumento da concentração de TNF- α em relação ao jejum. O grupo que consumiu frutose, no tempo de quatro horas pós-prandial, apresentou intensificação de tal aumento, diferindo não só do jejum, mas também do grupo alimentado com dieta controle (Figura 9 B).

Animais alimentados com dieta controle ou modificada contendo frutose apresentaram maior concentração de CCL-2 hepática duas horas pós-prandial, sendo que a frutose manteve esse aumento até o período de quatro horas, quando comparado a animais em jejum. Animais alimentados com glicose apresentaram concentração semelhante da quimiocina tanto em relação aos animais em jejum como em relação aos animais alimentados com dieta controle (Figura 9 C).

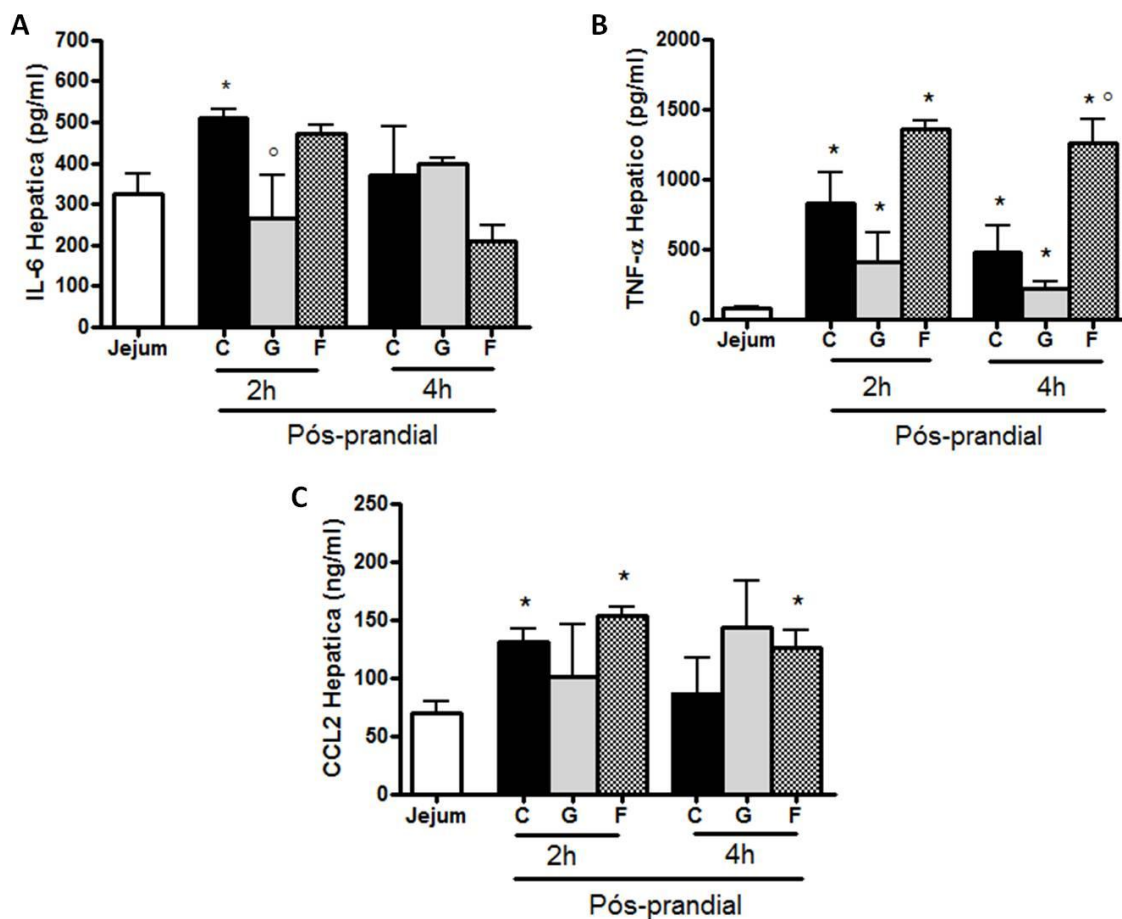


Figura 9 - Concentração de IL-6, TNF- α e CCL2 no fígado de animais em jejum e duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) na concentração de IL-6, TNF- α e CCL2. Dados representados em média \pm erro padrão da média; n= 03 – 08; * p < 0,05 vs. jejum; ^o p < 0,05 vs. controle alimentado.

5.3.3 – Intestino

5.3.3.1 – Células inflamatórias

Os resultados referentes às atividades das enzimas MPO, NAG e EPO avaliadas na porção do jejuno do intestino de animais em jejum e alimentados são apresentados na figura 9. Após o consumo das dietas experimentais e, nos diferentes tempos pós-prandiais, houve aumento da atividade de MPO, sugerindo aumento do número de neutrófilos nesse tecido. No entanto, duas horas após o consumo de frutose, os animais apresentaram aumento exacerbado da atividade enzimática em relação aos animais alimentados com dieta controle, no mesmo período pós-prandial (Figura 10 A).

Observa-se que, após o consumo de dieta controle, contendo sacarose, não houve diferença na atividade da enzima NAG em nenhum tempo avaliado, enquanto que, após o consumo de glicose ocorreu diminuição enzimática nos tempos de uma e duas horas e, após a ingestão de frutose, houve redução no tempo de uma hora (Figura 10 B).

Verifica-se que no intestino de animais alimentados com dieta controle ou contendo glicose há atividade da enzima EPO semelhante aos animais em jejum. O grupo que consumiu frutose apresentou aumento da enzima EPO nos tempos 1 e 2 horas pós-prandiais (Figura 10 C).

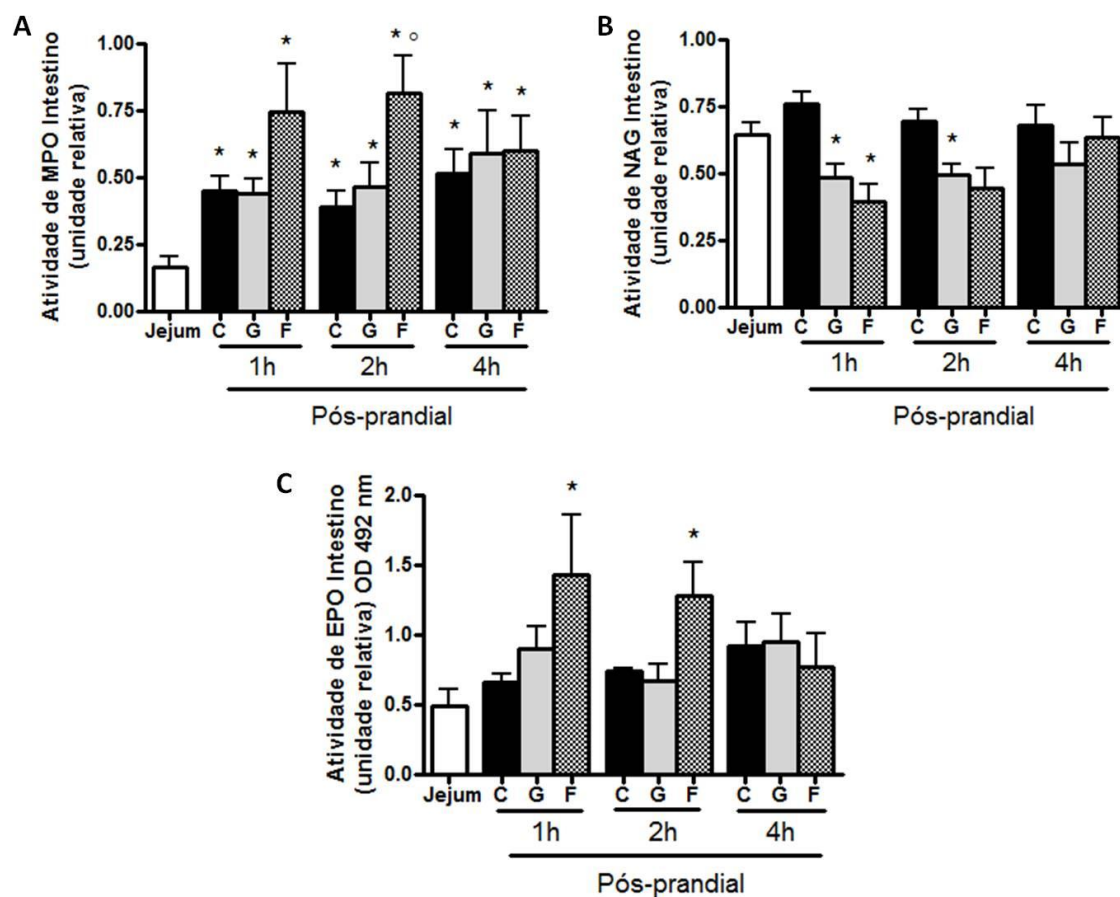


Figura 10 - Atividade das enzimas MPO, NAG e EPO no intestino de animais em jejum e uma, duas e quatro horas pós-prandiais. Efeito da ingestão de diferentes dietas – controle (C), ou modificada contendo glicose (G) ou frutose (F) na atividade enzimática de MPO, NAG e EPO no intestino. Dados representados em média ± erro padrão da média; n = 03 – 08; * p < 0,05 vs. jejum; ^o p < 0,05 vs. controle alimentado.

5.3.3.2 – Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias

Embora a atividade da enzima MPO estivesse aumentada no intestino de animais alimentados, as concentrações das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α , bem como da quimiocina KC, não foram detectadas por meio da técnica realizada, tanto em animais em jejum, como em animais alimentados com as diferentes dietas.

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou que animais alimentados apresentam: (i) hiperglicemia e hipertrigliceridemia pós-prandial; (ii) inflamação pós-prandial sistêmica; (iii) inflamação pós-prandial localizada nos tecidos adiposo e hepático. Além disso, verificamos que o consumo de carboidratos específicos, como a frutose, pode antecipar e intensificar a resposta pró-inflamatória sistêmica e localizada, assim como favorecer a ocorrência de hipercolesterolemia pós-prandial.

Animais alimentados, independente do tipo de carboidrato da dieta, apresentaram aumento sérico dos metabólitos glicose e triacilglicerol em relação a animais em jejum. O efeito da hiperglicemia e hipertrigliceridemia pós-prandial é bem documentado na literatura, uma vez que trabalhos das décadas de 60 e 70 já relatavam aumento de glicose e triglicérides sanguíneos após a ingestão de diferentes dietas (REAVEN et. al., 1967; GINSBERG et. al., 1976; CRAPO et. al., 1977). Apesar do conteúdo de glicose ser maior nas dietas controles e na modificada contendo glicose, em relação à dieta contendo frutose, o grupo de animais que recebeu frutose apresentaram hiperglicemia pós-prandial semelhante aos demais grupos. Sabe-se que a secreção de insulina estimulada pela glicose é maior quando comparada ao estímulo dado pela frutose (STANHOPE et. al., 2009). O efeito da insulina no estado pós-prandial promove supressão da gliconeogênese e glicogenólise hepática (NAISSIDES et. al., 2004). Desta forma, sugerimos que nos animais que consumiram frutose a supressão da disponibilidade de glicose para a corrente sanguínea tenha sido menor, o que contribuiu para o aumento da glicemia pós-prandial mesmo com consumo menor de glicose por esses animais.

Embora a dieta estudada não contenha colesterol, animais que consumiram frutose, apresentaram aumento de colesterol sérico nos três tempos avaliados (uma, duas e quatro horas pós-prandiais), tanto em relação ao jejum, quanto em relação a animais alimentados com dieta controle. Esse aumento pode ser atribuído a maior liberação hepática de colesterol. Trabalhos anteriores demonstraram que animais que consumiram dietas contendo 60% de frutose, durante o período de sete a quinze dias, apresentaram aumento na expressão da proteína ligadora do elemento responsivo a esteróis (SREBP), fator de transcrição responsável pela regulação do metabolismo de

ácidos graxos e biossíntese de colesterol, bem como a expressão de genes lipogênicos como a ácido graxo sintase (AGS) e a acetil-CoA carboxilase (ACC) em camundongos (MIYAZAKI et. al., 2004). Apesar do efeito do consumo crônico de frutose na hipercolesterolemia já ter sido descrito, trabalhos que investiguem o efeito agudo do consumo de frutose em relação à concentração sérica de colesterol são necessários.

A resposta metabólica pós-prandial determinada pelo consumo de dieta já está bem estabelecida na literatura, entretanto, estudos recentes sugerem a ocorrência de uma resposta inflamatória sistêmica durante o ciclo jejum/alimentado que, por sua vez, pode ser responsiva a diferentes composições dietéticas. Os trabalhos que comprovem tal fato são escassos e ainda não foram elucidados os mecanismos pelo quais a inflamação pós-prandial acontece, bem como os possíveis sítios de ocorrência.

Trabalhos realizados em humanos têm demonstrado que após ingestão de diferentes composições dietéticas ocorre aumento dos mediadores sistêmicos como IL-6, TNF- α e PCR pós-prandial (MOTTON et. al., 2007; MANNING et. al., 2008; ARYA et. al., 2010 e LAUGERETTE et. al., 2010). Até o momento, apenas um trabalho encontrado na literatura avaliou a inflamação pós-prandial em modelo animal. Nesse trabalho, MAGNÉ e colaboradores (2009) demonstraram aumento de mediadores pró-inflamatórios sistêmicos, como IL-6 e PAI-1 (do inglês *Plasminogen activator inhibitor-1*), duas horas após a ingestão de dietas ricas em gorduras em relação ao jejum. Ressalta-se que, em grande parte dos trabalhos realizados, tanto em animais como em humanos, os autores não avaliaram o efeito da refeição em si, mas sim o efeito de dietas modificadas em relação ao jejum. Desta forma, torna-se difícil inferir se o efeito da inflamação pós-prandial seja decorrente apenas de componentes específicos da dieta ou da resposta pós-prandial a ingestão de alimentos.

Os resultados do nosso trabalho demonstraram que animais alimentados apresentam inflamação pós-prandial sistêmica e que essa inflamação pode ser intensificada de acordo com o tipo de carboidrato ingerido. O aumento do número de leucócitos circulantes associados à maior concentração sérica de PTX3 e resistina pode estar contribuindo para um perfil mais pró-inflamatório em animais alimentados.

A contagem total de leucócitos representa bom marcador de inflamação sistêmica, sendo usualmente utilizado na prática clínica (GERALDO & ALFENAS, 2008). Essa técnica se destaca por ser estável e apresentar menor coeficiente de

variação entre os estudos (PEARSON et. al., 2003). O aumento do número de leucócitos observado no nosso trabalho pode ser atribuído ao aumento do número de neutrófilos e monócitos circulantes. MAGNÉ e colaboradores (2009) verificaram aumento do número de neutrófilos duas horas após o consumo de dietas ricas em gordura e, LIPPI e colaboradores (2010) observaram aumento do número de neutrófilos duas e quatro horas após o consumo de dieta controle.

Poucos trabalhos na literatura avaliaram o efeito do consumo de dietas sobre as células inflamatórias circulantes em animais, embora em humanos esse efeito seja mais bem documentado. HYSON e colaboradores (2002) mostraram que indivíduos que consumiram refeição moderada em gordura (40% das calorias provenientes de gordura saturada) apresentaram resposta inflamatória pós-prandial sistêmica, relacionadas ao aumento de monócitos. Para MOTTON e colaboradores (2007) no estado pós-prandial pode ocorrer ativação de monócitos induzidos tanto por dietas com baixa carga glicêmica quanto por dietas com cargas glicêmicas elevadas.

A análise de proteínas de fase aguda também pode indicar a ocorrência de inflamação sistêmica. No presente trabalho, evidenciamos que animais alimentados apresentaram aumento da concentração sérica de PTX3, produzida no fígado ou nos sítios de infecção e inflamação por células epiteliais e endoteliais, fibroblastos, células musculares lisas, macrófagos, monócitos, células dendríticas e também neutrófilos frente à exposição aos principais sinais inflamatórios, como o TNF- α e IL-6 (LEE et. al., 1990 e GARLANDA et. al., 2002). Uma vez que já está bem descrito na literatura que o aumento da concentração de PTX3 reflete de maneira direta no processo inflamatório (MANTOVANI et. al., 2008, ALLES et. al., 1994 e IMAMURA et. al., 2007), o aumento da concentração sérica dessa proteína no estado pós-prandial, pode sugerir a ocorrência de inflamação sistêmica. Um dado importante foi que animais alimentados com frutose apresentaram antecipação do aumento pós-prandial tanto de células circulantes como da citocina PTX3, o que indica que composições de dietas específicas poderiam modular de maneira diferente, ou seja, intensificando e ou antecipando a resposta inflamatória pós-prandial sistêmica.

Embora a adiponectina seja uma adipocina conhecida pela importância na manutenção da sensibilidade à insulina a mesma também apresenta propriedades antiinflamatórias (OUEDRAOGO et. al., 2007) e por isso, foi utilizada como marcadora de inflamação sistêmica. Baixas concentrações de adiponectina estão associadas com

altas concentrações de proteína C reativas (SHOELSON, 2006 e OUCHI et. al., 2003), de TNF- α e IL-6 (OUCHI et. al., 2003 e BERG & SCHERER, 2005). Observamos que animais alimentados com dieta controle não apresentaram alteração da concentração sérica de adiponectina, entretanto, animais alimentados com as dietas contendo maior teor de monossacarídeos, tanto glicose como frutose, apresentaram redução da adiponectina sérica pós-prandial. Trabalhos anteriores evidenciaram a ocorrência de hipoadiponectinemia tanto em modelos animais como em indivíduos com obesidade e diabetes tipo 2 no estado de jejum e, associaram essa ocorrência com estado pró-inflamatório crônico (RENALDI et. al., 2009 e RYO, et. al., 2004). A redução da adiponectina associa-se com redução na oxidação de lipídios no músculo (FRUEBIS et. al., 2001), maior atividade lipolítica (BARATTA et. al., 2004), aumento na expressão de macrófagos pró-inflamatórios (do tipo M1) e diminuição da expressão de macrófagos anti-inflamatórios (do tipo M2) (OHASHI et. al., 2010), bem como a ocorrência de hipóxia e estresse oxidativo (HOSOGAI et. al., 2007). Além disso, a adiponectina estimula a produção de citocinas antiinflamatórias como IL-10 por macrófagos (KUMADA et. al., 2004 e MATSUMOTO et. al., 2006). O efeito da adiponectina em suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias é um recurso importante na capacidade de reverter e/ou atenuar a disfunção metabólica. Poucos estudos têm avaliado a influência do estado pós-prandial sobre a concentração sérica de adiponectina. KUMADA e colaboradores (2003) verificaram que, em humanos, a concentração plasmática de adiponectina diminuiu significativamente quatro horas após o consumo de refeição hiperlipídica quando comparado aos valores em jejum. Entretanto, a associação entre o consumo de refeições contendo diferentes tipos de carboidratos e a concentração de adiponectina pós-prandial ainda não foi descrita na literatura.

Recentemente, outras adipocitocinas envolvidas na modulação da resposta inflamatória foram identificadas, dentre elas, a resistina (OUCHI et.al., 2011). A resistina é uma proteína rica em cisteína envolvida na ativação de processos inflamatórios, pois, em células mononucleares, a transcrição do gene da resistina é induzida por citocinas pró-inflamatórias como o IL-6 e o TNF- α (KASER, et. al., 2008). Além disso, tal adipocitocina aumenta a expressão de moléculas de aderência VCAM-1 e ICAM-1, a proteína quimiotática para monócitos (CCL-2) e ativação da célula endotelial via liberação de endotelina 1 (ET-1). Desta forma, a resistina também foi utilizada como marcador de inflamação sistêmica no nosso estudo. Verificamos

aumento da concentração de resistina sérica após a ingestão alimentar, independe do carboidrato consumido. A resistina parece estar envolvida na ocorrência da hiperglicemia pós-prandial uma vez que o trabalho de BANERJEE e colaboradores (2004) demonstrou que camundongos deficientes em resistina possuem baixas concentrações de glicose no estado pós-prandial devido à baixa produção hepática de glicose. Nenhum outro trabalho que avaliou a relação entre a ingestão de alimentos e a concentração pós-prandial foi encontrado sendo, desta forma, necessário mais estudos nessa área.

Assim, verificamos que, no período pós-prandial, há ocorrência de uma resposta inflamatória, provavelmente com função de re-estruturar o equilíbrio do organismo. Segundo NATHAN (2002), a principal função da inflamação é resolver a infecção ou reparar o dano, restaurando a homeostase. Intrínseco à eficácia do sistema em restaurar um estado de equilíbrio é a habilidade de estruturar uma resposta rápida e apropriada ao tipo de inflamação, limitando os aspectos nocivos da inflamação o quanto antes possível (SEGAL et. al., 2000). Esta resposta inflamatória, como mecanismo compensatório, é bem descrita em termos de patógenos, mas pouco se sabe em relação à resposta inflamatória induzida por nutrientes (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011). Sugerimos que a inflamação observada após a ingestão alimentar seja fisiológica e necessária para evitar possíveis danos ao organismo, como o desencadeamento de uma alergia alimentar.

Diante da ocorrência da inflamação pós-prandial, investigamos três importantes órgãos metabólicos como tecido adiposo, fígado e intestino para verificar se esses poderiam ser os sítios de ocorrência da inflamação pós-prandial sistêmica.

O tecido adiposo não é mais reconhecido apenas pela capacidade em estocar substratos energéticos, mas também, como tecido endócrino capaz de regular a massa adiposa, a homeostase de nutrientes e, de sintetizar e secretar inúmeros mediadores bioativos (TRAYHURN & WOOD, 2004). Sugere-se que tal tecido seja fonte de citocinas pró-inflamatórias devido à observação de que a concentração dessas proteínas é elevada em indivíduos obesos (ESPOSITO et. al., 2002 e GIUGLIANO et. al., 2004), bem como pelo fato do tecido apresentar grande número de células imunes (WEISBERG et. al., 2003 e WELLEN & HOTAMISLIGIL, 2003) e de produzir citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α (FAIN et. al., 2006), IL-6 (WELLEN & HOTAMISLIGIL, 2003) e CCL-2 (SHOELSON et. al., 2006 e BERG & SCHERER, 2005). Além disso, há

diminuição de citocinas pró-inflamatórias em indivíduos obesos após perda de peso, o que sugere que o tecido adiposo seja sítio importante da ocorrência da inflamação nesses sujeitos. (ESPOSITO et. al., 2003 e GIUGLIANO et. al., 2004). Portanto, é de grande importância analisar citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo, pois, embora os mecanismos para explicar o desenvolvimento de condições inflamatórias pós-prandiais ainda não estão totalmente elucidados, sugere-se que os adipócitos estejam envolvidos neste processo (BLACKBURN et. al., 2006).

Recentemente, SUGANAMI e colaboradores (2007) demonstraram que compostos dietéticos, como os ácidos graxos saturados, podem ativar diretamente os receptores do tipo Toll (TLR) e aumentar a expressão do fator nuclear- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), o que induz mudanças pró-inflamatórias importantes nos adipócitos. MAGNÉ e colaboradores (2010) verificaram aumento do NF- $\kappa\beta$ no tecido adiposo de animais alimentados com dieta rica em gordura o que pode estar associado ao aumento na expressão do gene da IL-6.

No nosso modelo, verificamos aumento pós-prandial da concentração de IL-6 no tecido adiposo epididimal nos dois períodos avaliados. A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória envolvida na regulação de respostas imunes e inflamatórias, dentre outras, sendo capaz de induzir produção de proteínas de fase aguda por hepatócitos (HURST et.al., 2001), promover proliferação de células T, diferenciação de células B e produção de IgG, IgA e IgM (HIRANO et. al., 1985).

Poucos trabalhos avaliaram mediadores inflamatórios no tecido adiposo em resposta à refeição. ORBAN e colaboradores (1999) observaram aumento de IL-6 no tecido adiposo subcutâneo de indivíduos após a ingestão alimentar. Entretanto, um número maior de trabalhos demonstrou aumento dessa citocina no soro de indivíduos alimentados com dieta controle (ESPOSITO et. al., 2006), rica em gordura ((BLACKBURN et. al., 2006) ou rica em carboidratos (PRADHAN et. a.l, 2001e LOPEZ-GARCIA, 2004). Entretanto, papel fisiológico do aumento da concentração sérica de IL6 durante o exercício físico já foi demonstrado. BRANDT e colaboradores (2011) sugerem que interleucina induz a expressão de leptina e do receptor ativado por proliferadores do peroxisoma (PPAR γ). O PPAR γ é conhecido pela capacidade de induzir diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos e promover o metabolismo da glicose (FLIER, 2001). Ademais, XING e colaboradores observaram que IL6 desempenha um papel anti-inflamatório crucial na resposta inflamatória induzida por

LPS, tanto localizada no pulmão, quanto sistêmica. IL6 parece controlar a expressão de citocinas pró-inflamatórias na ocorrência de tal inflamação, porém, não interfere na concentração de citocinas anti-inflamatórias.

Estudos recentes sugerem que os nutrientes em si já representem sinalizadores para desencadear resposta inflamatória local (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011). Tal hipótese é embasada no fato da expressão de STAMP2 (do inglês *six transmembrane protein of prostate 2*) estar aumentada no tecido adiposo durante o estado alimentado e de exibir propriedades antiinflamatórias nos adipócito em resposta à diferentes estímulos com nutrientes (WELLEN et. al., 2007). Sabe-se que a STAMP2 é uma proteína reguladora de inflamação e resistência à insulina e a produção no tecido adiposo de camundongos é induzida por citocinas inflamatórias (ARNER et. al., 2008). Camundongos deficientes em STAMP2 apresentam aumento de inflamação localizada no tecido adiposo quando alimentados com dieta controle, bem como disfunção metabólica sistêmica como resistência à insulina e intolerância a glicose. Esses resultados sugerem que STAMP2 possa atuar como supressor imune em células metabólicas e imunes na resposta a nutrientes. Todavia, os nutrientes moduladores do STAMP2 e os mecanismos moleculares pelos quais essa proteína prepara as células para entrada de nutrientes na resposta inflamatória são desconhecidos, representando importantes áreas para estudos futuros (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011).

No nosso modelo, verificamos que o aumento de mediadores inflamatórios pós-prandiais localizados no tecido adiposo também pode ser dependente do tipo de nutriente, pois animais alimentados com dieta contendo frutose exibiram aumento da concentração de TNF- α e animais alimentados com glicose ou frutose apresentaram, também, aumento de CCL-2 nesse tecido. O aumento de outras citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo induzida por frutose pode sugerir que o consumo de tal carboidrato possa intensificar a resposta inflamatória localizada no tecido adiposo no estado pós-prandial.

O fígado representa outro importante órgão central no controle do metabolismo energético, bem como na desintoxicação de drogas e toxinas (SCHRENK D et. al., 2001). No estado pós-prandial, desempenha papel fundamental no estoque de nutrientes e na liberação de lipoproteínas para a corrente sanguínea (KENNED et. al., 2007). Ademais, o fígado é um importante órgão no metabolismo de citocinas, com capacidade tanto para produzi-las, quanto para removê-las (SIMPSON et. al., 1997).

Estudos que investiguem a produção hepática de citocinas no estado alimentado são escassos. Assim, a avaliação do papel que o tecido hepático desempenha na resposta inflamatória pós-prandial é de grande importância.

Em contraste ao tecido adiposo, o fígado não possui infiltração de macrófagos no início da obesidade, mas sofre ativação de células inflamatórias, incluindo as células de Kupffer que são macrófagos residentes do tecido hepático (BAFFY, et. al., 2009). No nosso trabalho verificamos aumento da infiltração de neutrófilos e eosinófilos no fígado de animais alimentados com frutose, evidenciado por meio do aumento da atividade das enzimas MPO e EPO, respectivamente. A atividade da enzima NAG, embora diminuída, só foi detectada em animais que consumiram frutose. Tal fato sugere, novamente, que a inflamação pós-prandial local é dependente do tipo de nutriente, uma vez que nenhum outro carboidrato induziu a mesma resposta. No entanto, trabalhos que avaliem a infiltração celular no tecido hepático no período pós-prandial são necessários. No estado alimentado, verificamos aumento da concentração de TNF- α no fígado, após o consumo de todas as dietas analisadas, independente do tipo de carboidrato ingerido. Investigações que avaliem alterações na concentração hepática de TNF- α no pós-prandial ainda não foram realizadas, porém, sugere-se que o consumo em longo prazo de dietas ricas em carboidratos aumente a produção de tal citocina pelo fígado, diferentemente do que foi observado para o consumo de dietas ricas em gorduras. FERREIRA e colaboradores (2011) sugerem que o tipo de macronutriente da dieta modula a produção de citocinas inflamatórias seletivamente.

Ainda no tecido hepático, verificamos, aumento de CCL-2 após o consumo de dieta controle ou contendo frutose e da concentração de IL-6 após o consumo de dieta controle no tempo de 2 horas, embora com 4 horas a mesma resposta não tenha sido observada.

Assim, o aumento da concentração de citocinas e quimiocina inflamatórias, associado ao aumento do infiltrado de neutrófilos no tecido hepático é indicativo de ocorrência de inflamação local no fígado, sendo que essa pode ser intensificada pelo tipo de nutriente.

O intestino, por ser o primeiro órgão de contato do alimento com o organismo, representa o local inicial de interação entre sistema imune e nutriente e, por isso, pode representar um potencial sítio de ocorrência de inflamação. No nosso trabalho, observamos aumento da atividade da enzima MPO no intestino de animais

alimentados, indicando provável aumento do número de neutrófilos nesse tecido. A atividade da enzima NAG foi menor após o consumo de glicose ou frutose e da enzima EPO foi maior após o consumo de frutose, sugerindo que o infiltrado de macrófagos ou eosinófilos foi nutriente dependente. Embora o número de neutrófilos no intestino tenha sido maior no período pós-prandial, não foi possível detectarmos, por meio da técnica utilizada, as citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α . Nossa hipótese é de que estas células estejam ativadas no estado anti-inflamatório, pois sabe-se que o contato do tecido linfóide da mucosa intestinal com antígenos da dieta leva, em condições fisiológicas, a resposta não inflamatória conhecida como tolerância oral. Na tolerância oral, há supressão da resposta inflamatória a um antígeno que tenha sido administrado pela via oral, ocorrendo diferenciação de células TCD4+ virgens a um perfil regulador que permite a reprodução de resposta com perfil anti-inflamatório e assim, não desencadeando respostas inflamatórias aos antígenos da dieta. As células T reguladoras exercem papel supressivo pela secreção de citocinas anti-inflamatórias como TGF- β e IL-10 (FARIA e WEINER, 2005). Assim, dosar citocinas anti-inflamatórias no intestino de animais alimentados seria importante para comprovar tal hipótese.

Apesar da evidência do aumento de neutrófilos no intestino dos animais alimentados, a quimiocina KC também não foi detectada. Entretanto, sabe-se que a produção das quimiocinas antecede o recrutamento de neutrófilos para o tecido alvo (ROSSI & ZLOTNIK, 2000) o que poderia explicar a não detecção da quimiocina KC nos tempos avaliados. Contudo, estudos para elucidar os mecanismos pelos quais ocorre recrutamento de neutrófilos no estado alimentado são necessários, bem como para avaliar o porquê da frutose potencializar o aumento do número destas células no período pós-prandial. São necessários, também, estudos que investiguem a resposta inflamatória no período pós-prandial localizada no intestino, uma vez que a literatura ainda não descreve esse evento.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos com o presente trabalho, conclui-se que animais alimentados apresentam inflamação pós-prandial sistêmica e localizada nos sítios adiposo e hepático. Carboidratos dietéticos específicos, como a frutose, intensificam esse efeito além de causar hipercolesterolemia pós-prandial.

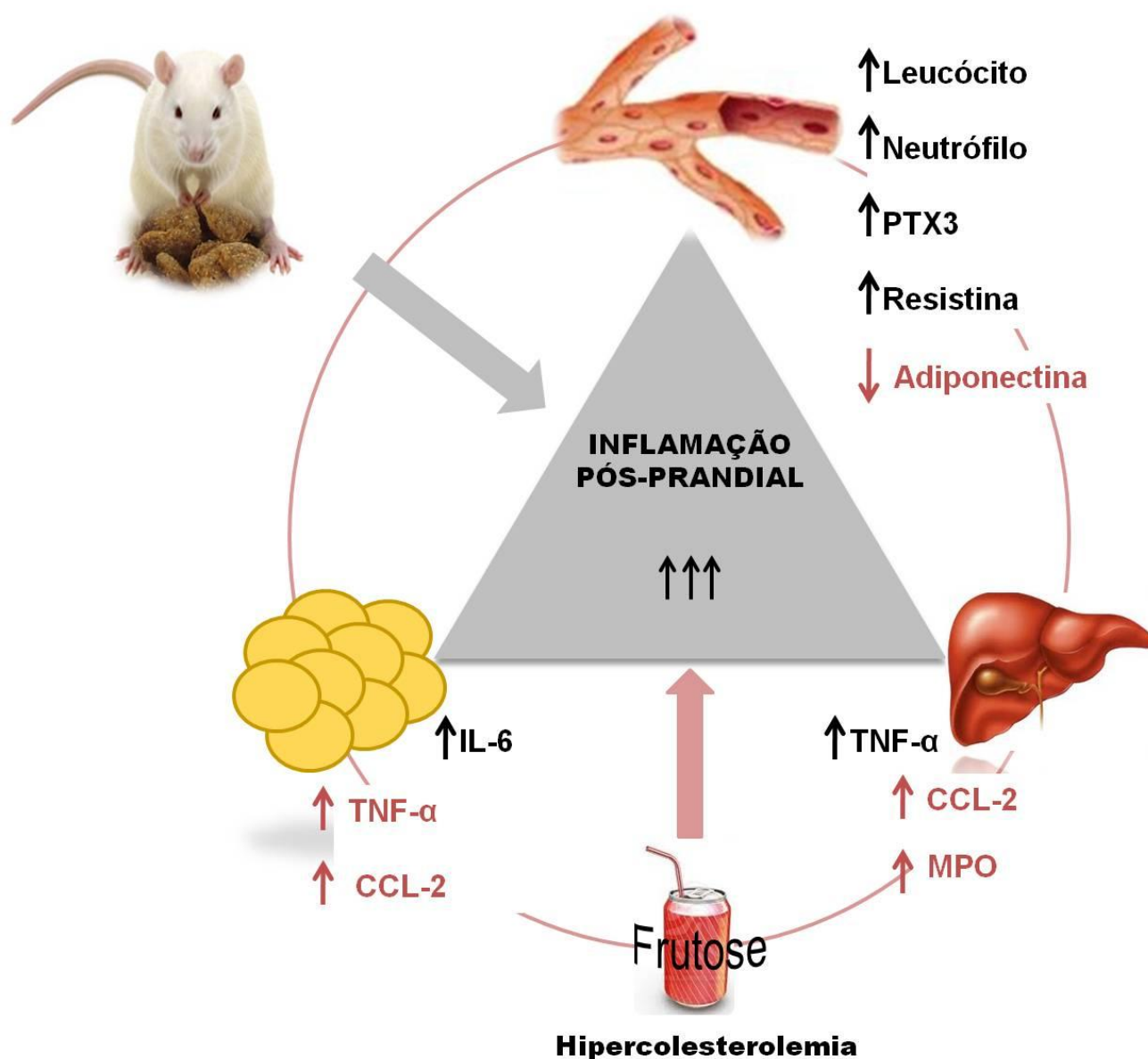


Figura 11 – Representação esquemática da inflamação pós-prandial sistêmica e nos sítios adiposo e hepático, intensificada pelo consumo de frutose. Resposta inflamatória pós-prandial sistêmica e localizada evidenciada por alterações na concentração de marcadores inflamatórios (em preto) e intensificada pelo consumo de frutose (em vermelho).

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Avaliar se o consumo de diferentes carboidratos interfere na concentração plasmática de insulina e associar esse efeito a concentração dos diferentes metabólitos plasmáticos;
- Analisar a Proteína C Reativa (PCR), outro marcador da ocorrência da inflamação sistêmica;
- Verificar se citocinas com perfil anti-inflamatório como IL-10 e TGF- β também são moduladas pelo consumo de dietas e de diferentes carboidratos nos diferentes sítios metabólicos;
- Verificar se o estresse oxidativo também poderia estar associado à ocorrência da inflamação pós-prandial sistêmica e localizada. Com esse propósito analisaremos TBARS (do inglês *ThioBarbituric Acid Reactive Substances*) para averiguar oxidação lipídica, bem como GSH (Glutationa na forma reduzida) e SOD (Superóxido dismutase) enzimas importantes na defesa antioxidante na maioria das células expostas ao oxigênio;
- Avaliar, por meio da coloração de Oil Red, se o consumo de diferentes carboidratos dietéticos interfere no conteúdo hepático de gordura no período pós-prandial;
- Avaliar, por meio da dosagem de citocinas anti e pró-inflamatórias nas diferentes porções intestinais, se a ingestão alimentar provoca mudanças na integridade da mucosa intestinal;
- Avaliar, por meio de citometria de fluxo, os tipos celulares envolvidos na inflamação pós-prandial localizada nos sítios metabólicos;
- Avaliar, em culturas de adipócitos, se diferentes carboidratos (glicose e frutose) são capazes de promover lipólise e se esse efeito é dependente do aumento de mediadores inflamatórios, como IL-6.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, N.; GARG, A.; PESHOCK, R. M.; STRAY-GUNDERSEN, J.; GRUNDY, S.M. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J. Clin. Invest.*, v. 96, p. 88-98, 1995.

AJUWON, K.M.; SPURLOCK, M.E. Palmitate activates the NF- κ B transcription factor and induces IL-6 and TNF- α expression in 3T3-L1 adipocytes. *J. Nutr.*, v.135, p.1841–1846, 2005.

ALLES, V.V.; BOTTAZZI, B.; PERI, G.; GOLAY, J.; INTRONA, M.; MANTOVANI, A. Inducible expression of PTX3, a new member of the pentraxin family, in human mononuclear phagocytes. *Blood*. v.84, p.3483-3493, 1994.

ALIPOUR, A.; ELTE, J.W.F.; VAN ZAAANEN, H.C.T.; RIETVELD, A.P.; CASTRO CABEZAS, M. Postprandial inflammation and endothelial dysfunction. *Biochem. Soc. Trans.*, v.35, p.464–469, 2007.

ALIPOUR, A.; ELTE, J.W.F.; VAN ZAAANEN, H.C.T.; RIETVELD, A.P.; CASTRO CABEZAS, M. Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atheroscler. Suppl.*, v.9, p.39–44, 2008.

ALJADA, A.; MOHANTY, P.; GHANIMH, A.T.; TRIPATHY, D.; CHAUDHURI, A.; DANDONA, P. Increase in intranuclear nuclear factor κ B and decrease in inhibitor κ B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am. J. Clin. Nutr.* v.79, p.682–690, 2004.

ALLAIN, C.C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, v. 20, p.470-475, 1974.

ARNER, P. Introduction: the inflammation orchestra in adipose tissue. *J. Intern. Med.*, v.262, p.404–407, 2007.

ARONSON, P.S.; BORON, W.F.; BOULPAEP, E.L. Physiology of membranes. *Medical Physiology: a Cellular and Molecular Approach*. Philadelphia, PA: Saunders, p.66–67, 2003.

ARYA, F.; EGGER, S.; COLQUHOUN, D.; SULLIVAN, D.; PAL, S.; EGGER, G. Differences in postprandial inflammatory responses to a 'modern' v. traditional meat meal: a preliminary study. *Br. J. Nutr.*, v.104, p.724–728, 2010.

AXELSEN, L.N.; PEDERSEN, H.D.; PETERSEN, J.S.; HOLSTEIN-RATHLOU, N.H.; KJOLBYE, A.L. Metabolic and cardiac changes in high cholesterol-fructose-fed rats. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, v.298, p.R1560-R1570, 2010.

BANERJEE, R.R.; RANGWALA, S.M.; SHAPIRO, J.S.; RICH, A.S.; RHOADES, B.; QI, Y.; WANG, J.; RAJALA, M.W.; POCAI, A.; SCHERER, P.E.; STEPPAN, C.M.; AHIMA,

R.S.; OBICI, S.; ROSSETTI, L.; LAZAR, M.A. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science*, v.303, p.1195–1198, 2004.

BANSAL, S.; BURING, J.E.; RIFAI, N.; MORA, S.; SACKS, F.M.; RIDKER, P.M. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA*, v.298, p.309–316, 2007.

BANTLE, J. P. Dietary fructose and metabolic syndrome and diabetes. *J. Nutr.*, v. 139, p. 1263S-1268S, 2009.

BARATTA, R.; AMATO, S.; DEGANO, C.; FARINA, M.G.; PATANÈ, G.; VIGNERI, R.; FRITTITTA, L. Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: Evidence from both cross-sectional and intervention studies. *J Clin Endocrinol and Metabolism.*, v.89, p.2665-2671, 2004.

BASHAN, N.; KOVSAN, J.; KACHKO, I.; OVADIA, H.; RUDICH, A. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiol. Rev.*, v.89, p.27–71, 2009.

BASU, A.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Dietary factors that promote or retard inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, v.26, p.995–1001, 2006.

BELL, G.L.; KAYANO, T.; BUSE, J.B.; BURANT, C.F.; TAKEDA, J.; LIN, D.; FUKUMOTO, H.; SEINO, S. Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care*, v.13, p.198-200, 1990.

BERG, A. H.; SCHERER, P. E. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ. Res.*, V.96, p.939–949, 2005.

BINDER, H.J.; REUBEN, A. Nutrient digestion and absorption. In: *Medical Physiology: a Cellular and Molecular Approach*. Philadelphia, PA: Saunders, p. 949–979, 2009.

BLACKBURN, P.; DESPRES, J.P.; LAMARCHE, B. et al. Postprandial variations of plasma inflammatory markers in abdominally obese men. *Obesity* 2006; 14:1747–1754.

BANTLE, J.P. Dietary fructose and metabolic syndrome and diabetes. *J. Nutr.*, v.139, p.1263S-1268S, 2009.

BODEN, G.; SHULMAN, G.I. 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. Investig.*, v.32, p.14–23, 2002.

BOTION, L.M.; BRASIER, A.R.; TIAN, B.; UDUPI, V.; GREEN, A. Inhibition of proteasome activity blocks the ability of TNF- α to down-regulate Gi proteins and stimulate lipolysis. *Endocrinology*, v.142, p.5069–5075, 2001.

BRANDT, C.; JAKOBSEN, A.; ADSER, H.; OLESEN, J.; IVERSEN, N.; KRISTENSEN, J.; HOJMAN, P.; WOJTASZEWSKI, J.; HIDALGO, J.; PILEGAARD, H. IL-6 regulates exercise and training-induced adaptations in subcutaneous adipose tissue in mice. *Acta Physiol (Oxf)*. 2011.

BRAY, G.A.; NIELSEN, S.J.; POPKIN, B.M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.79, p.537–543, 2004.

BROSNAN, J.T. Glutamate, at the interface between amino acid and carbohydrate metabolism. *J. Nutr.* p.988S-990S, 2000.

BULLÓ, M.; CASAS-AGUSTENCH, P.; AMIGÓ-CORREIG, P.; ARANCETA, J.; SALAS-SALVADÓ, J. Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet. *Public. Health Nutr.*, v.10, p.1164–1172, 2007.

BURDGE, G.C.; CALDER, P.C. Plasma cytokine response during the postprandial period: a potential causal process in vascular disease? *Br. J. Nutr.*, v.93, p.3–9, 2005.

BURGER, D.; DAYER, J.M. Cytokines, acute-phase proteins, and hormones: IL-1 and TNF-alpha production in contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v.966, p.464–473, 2002.

BURTON-FREEMAN, B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science. *Br. J. Nutr.*, v.104, p.S1–S14, 2010.

CAMPBELL, C.G.; BROWN, B.D.; DUFNER, D.; THORLAND, W.G. Effects of soy or milk protein during a high-fat feeding challenge on oxidative stress, inflammation, and lipids in healthy men. *Lipids.*, v.41, p.257–265, 2006.

CANI, P.D.; AMAR, J.; IGLESIAS, M.A.; POGGI, M.; KNAUF, C.; BASTELICA, D.; NEYRINCK, A.M.; FAVA, F.; TUOHY, K.M.; CHABO, C.; WAGET, A.; DELMÉE, E.; COUSIN, B.; SULPICE, T.; CHAMONTIN, B.; FERRIÈRES, J.; TANTI, J.F.; GIBSON, G.R.; CASTEILLA, L.; DELZENNE, N.M.; ALESSI, M.C.; BURCELIN, R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, v.56, p.1761–1772, 2007.

CARR, M.W.; ROTH, S.J.; LUTHER, E.; ROSE, S.S.; SPRINGER, T.A. "Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol.91, p.3652–3656, 1994.

CARROLL, M.F.; SCHADE, D.S. Timing of antioxidant vitamin ingestion alters postprandial pro-atherogenic serum markers. *Circulation*, v.108, p.24–31, 2003.

CERIELLO, A.; BORTOLOTTI, N.; MOTZ, E.; LIZZIO, S.; CATONE, B.; ASSALONI, R.; TONUTTI, L.; TABOGA, C. Red wine protects diabetic patients from meal-induced oxidative stress and thrombosis activation: a pleasant approach to the prevention of cardiovascular disease in diabetes. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.31, p.322–328, 2001.

CERIELLO, A.; QUAGLIARO, L.; CATONE, B.; PASCON, R.; PIAZZOLA, M.; BAIS, B.; MARRA, G.; TONUTTI, L.; TABOGA, C.; MOTZ, E. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care*, v.25, p.1439–1443, 2002a.

CERIELLO, A.; TABOGA, C.; TONUTTI, L.; QUAGLIARO, L.; PICONI, L.; BAIS, B.; DA ROS, R.; MOTZ, E. Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress

generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation*, v.106, p.1211–1218, 2002b.

CHUNG, B.H.; HENNIG, B.; CHO, B.H.S.; DARNELL, B.E. Effect of the fat composition of a single meal on the composition and cytotoxic potencies of lipolytically-releasable free fatty acids in postprandial plasma. *Atherosclerosis*, v.141, p.321–332, 1998.

COLLINO, M.; ARAGNO, M.; CASTIGLIA, S.; MIGLIO, G.; TOMASINELLI, C.; BOCCUZZI, G.; THIEMERMANN, C.; FANTOZZI, R. Pioglitazone improves lipid and insulin levels in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet by decreasing hepatic inflammation. *Br J Pharmacol.*, 2010.

CORPELEIJN, E.; SARIS, W.H.; JANSEN, E.H.; ROEKAERTS, P.M.H.J.; FESKENS, E.J.M.; BLAAK, E.E. Postprandial interleukin-6 release from skeletal muscle in men with impaired glucose tolerance can be reduced by weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.90, p.5819–5824, 2005.

CRAPO, P. A., REAVEN, G. & OLEFSKY, J. Postprandial glucose and insulin responses to different complex carbohydrates. *Diabetes*, v. 26, p.1178-1171, 1977.

DICKINSON, S.; BRAND-MILLER, J. Glycemic index, postprandial glycemia, and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Lipidol.*, v.16, p.67–75, 2005.

DIWADKAR, V.A. ; ANDERSON, J.W. ; BRIDGES, S.R. ; GOWRI, M.S. ; OELGTEN, P.R. Postprandial low-density lipoproteins in type 2 diabetes are oxidized more extensively than fasting diabetes and control samples. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.222, p.178–184, 1999.

DUFFEY, J.K.; POPKIN, M.B. High-Fructose Corn Syrup: Is this what's for dinner? *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 88, p. 1722S–1732S, 2008.

ELLIOTT, S.S.; KEIM, N.L.; STERN, J.S.; TEFF, K.; HAVEL, P.J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.76, p.911–922, 2002.

ERRIDGE, C.; ATTINA, T.; SPICKETT, C.M.; WEBB, D.J. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.86, p.1286–1292, 2007.

ESPOSITO, K.; NAPPO, F.; MARFELLA, R.; GIUGLIANO, G.; GIUGLIANO, F.; CIOTOLA, M.; QUAGLIARO, L.; CERIELLO, A.; GIUGLIANO, D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycaemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*, v.106, p.2067-2072, 2002a.

ESPOSITO, K.; PONTILLO, A.; CIOTOLA, M.; DI PALO, C.; GRELLA, E.; NICOLETTI, G.; GIUGLIANO, D. Weight loss reduces interleukin-18 levels in obese women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.87, p.3864–3866, 2002b.

FAIN J N. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm.*, v. 74, p.443-477, 2006.

- FARIA, A.M.C.; WEINER, H.L. Oral Tolerance. *Immunol. Rev.*, v.206, p.232-259, 2005.
- FARQUHAR, J.W.; FRANK, A.; GROSS, R.C.; REAVEN, G.M. Glucose, insulin and triacylglycerol responses to high and low carbohydrate diets in man. *J. Clin. Invest.*, v.45, p.1648–1656, 1966.
- FAZZINI, F.; PERI, G.; DONI, A.; DELL'ANTONIO, G.; DAL CIN, E.; BOZZOLO, E.; D'AURIA, F.; PRADERIO, L.; CIBODDO, G.; SABBADINI, M.G.; MANFREDI, A.A.; MANTOVANI, A.; QUERINI, P.R. PTX3 in small-vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation. *Arthritis Rheum.*, v.44, p.2841–2850, 2001.
- FERREIRA, A.V.M.; MARIO, E.G.; PORTO, L.C.J.; ANDRADE, S.P.; BOTION, L.M. High-Carbohydrate Diet Selectively Induces Tumor Necrosis Factor- α Production in Mice Liver. *Inflammation*, v. 34, p. 139-145, 2011.
- FLIER, J.S. Diabetes: the missing link with obesity? *Nature*. v.409, p.292-293,2001.
- FOSSATI, P.; PRINCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry* v.28, p.2077–2080, 1982.
- FRIED, S.K.; RAO, S.P. Sugars, hypertriacylglycerolmia, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.78, p.873S–880S, 2003.
- FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.*, v.18, p.499-502, 1972.
- FRUEBIS, J.; TSAO, T.S.; JAVORSCHI, S.; EBBETS-REED, D.; ERICKSON, M.R.; YEN, F.T.; BIHAIN, B.E.; LODISH, H.F. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.98, p.2005-2010, 2001.
- FURUKAWA, N.; MARINO, F. E.; LIU, F.F.; KAHN, B.B.; TOWIA, A.; KENNEDY, R.A.; PISSIOS, P.; OTU, H.; XUE, B.; ASAKURA, K. A high-fat, ketogenic diet induces a unique metabolic state in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v.292, p.E1724-E1739, 2007.
- GARCIA, M.A.; GIL, J.; VENTOSO, I.; GUERRA, S.; DOMINGO, E.; RIVAS, C.; ESTEBAN, M. Impact of protein kinase PKR in cell biology: from antiviral to antiproliferative action. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, v.70, p.1032–1060, 2006.
- GARLANDA, C.; BOTTAZZI, B.; BASTONE, A.; MANTOVANI, A. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu. Rev. Immunol.*, v.23, p.337–366, 2005.
- GARLANDA, C.; HIRSCH, E.; BOZZA, S.; SALUSTRI, A.; DE ACETIS, M.; NOTA, R.; MACCAGNO, A.; RIVA, F.; BOTTAZZI, B.; PERI, G.; DONI, A.; VAGO, L.; BOTTO, M.; DE SANTIS, R.; CARMINATI, P.; SIRACUSA, G.; ALTRUDA, F.; VECCHI, A.;

ROMANI, L.; MANTOVANI, A. Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in anti-fungal innate immune response. *Nature*, v.420, p.182–186, 2002.

GERALDO, J. M.; ALFENAS, R. C. G. Papel da Dieta na Prevenção e no Controle da Inflamação Crônica – Evidências Atuais. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v.52, p.951-967, 2008.

GIUGLIANO, G.; NICOLETTI, G.; GRELLA, E.; GIUGLIANO, F.; ESPOSITO, K.; SCUDERI, N.; D'ANDREA, F. Effect of liposuction on insulin resistance and vascular inflammatory markers in obese women. *Br. J. Plast. Surg.*, v.57, p.190–194, 2004.

GOODMAN, B. E. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Advan in Physiol Edu*, v. 34, p.44-53, 2010.

GREEN, A.; DOBIAS, S.B.; WALTERS, D.; BRASIER, A. Tumor necrosis factor increases the rate of lipolysis in primary culture of adipocytes without altering levels of hormone-sensitive lipase. *Endocrinology*, v.134, p.2581–2588, 1994.

GREGOR, M.F.; HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annu. Rev. Immunol.*, v.29, p.415–445, 2011.

HAVEL, P. J. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr. Rev.*, v.63, p.113-157, 2005.

HE, X.; HAN, B.; LIU, M. Long pentraxin 3 in pulmonary infection and acute lung injury. *Am. J. Physiol.*, v.292, p.L1039–L1049, 2007.

HELENIUS, M.; HANNINEN, M.; LEHTINEN, S.K.; SALMINEN, A. Changes associated with aging and replicative senescence in the regulation of transcription factor nuclear factor-kappa B. *Biochem. J.*, v.318, p.603-608, 1996.

HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. São Paulo: Manole, 1999 apud MALHEIROS, S.V.P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum – um resumo. *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, v.1, p.C1-C7, 2006.

HOSOGAI, N.; FUKUHARA, A.; OSHIMA, K.; MIYATA, Y.; TANAKA, S.; SEGAWA, K.; FURUKAWA, S.; TOCHINO, Y.; KOMURO, R.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*, v.56, p.901–911, 2007.

HOTAMISLIGIL, G.S.; SHARGILL, N.S.; SPIEGELMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, v.259, p.87–91, 1993.

HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, v.444, p.860–867, 2006.

HURST, S.M.; WILKINSON, T.S.; MCLOUGHLIN, R.M.; JONES, S.; HORIUCHI, S.; YAMAMOTO, N.; ROSE-JOHN, S.; FULLER, G.M.; TOPLEY, N.; JONES, S.A. II-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity*, v.14, p.705-14, 2001.

HYSON, D.A.; PAGLIERONI, T.G.; WUN, T.; RUTLEDGE, J.C. Postprandial lipemia is associated with platelet and monocyte activation and increased monocyte cytokine expression in normolipemic men. *Clin. Appl. Thromb. Haemost.*, v.8, p.147–155, 2002.

IYER, A.; FAIRLIE, D.P.; PRINS, J.B.; HAMMOCK, B.D.; BROWN, L. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nat. Rev. Endocrinol.*, v.6, p.71–82, 2010.

JELLEMA, A.; PLAT, J.; MENSINK, R.P. Weight reduction, but not a moderate intake of fish oil, lowers concentrations of inflammatory markers and PAI-1 in obese men during the fasting and postprandial state. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.34, p.766–773, 2004.

JOHANSSON, U.; LAWSON, C.; DABARE, M.; SYNDERCOMBE-COURT, D.; NEWLAND, A.C.; HOWELLS, G.L.; MACEY, M.G. Human peripheral blood monocytes express protease receptor-2 and respond to receptor activation by production of IL-6, IL-8, and IL-1 β . *J. Leukoc. Biol.*, v.78, p.967–975, 2005.

JÜRGENS H., HAASS W., CASTAÑEDA T.R., SCHÜRMAN A., KOEBNICK C., DOMBROWSKI F., OTTO B., NAWROCKI A.R., SCHERER P.E., SPRANGER J., RISTOW M., JOOST H.G., HAVEL P.J., TSCHÖP M.H. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes. Res.*, v.13, p.1146-1156, 2009.

KADOWAKI T, HARA K, YAMAUCHI T, TERAUCHI Y, TOBE K, NAGAI R. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp Biol Med*, v. 228, p.1111–1117, 2003.

KAMEI N, TOBE K, SUZUKE, R, OHSUGI M, WATANABE T, KUBOTA N, OHTSUKA-KOWATARI N, KUMAGAI K, SAKAMOTO K, KOBAYASHI M, YASUYMAUCHI T, UEKI K, OISHI Y, NISHIMURA S, MANABE I, HASHIMOTO H, OHNISHI Y, OGATA H, TOKUYAMA K, TSUNODA M, IDE T, MURAKAMI K, NAGAI R AND KADOWAKI T. Overexpression of monocyte chemoattractant protein – 1 in adipose tissues causes macrophage recruitment and insulin resistance. *J Biol Chem.*, v.281, p.26602-26614, 2006.

KANDA H, TATEYA S, TAMORI Y, KOTANI K, HIASAK, KITAZAWA R, KITAZWA S, MIYACHI H, MAEDA S, EGASHIRAK, KASUGA M. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J. Clin. Invest.*, v.116, p.1494-1505, 2006.

KARPE, F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J. Intern. Med.*, v.246, p.341–355, 1999.

KAWASAKI, T., IGARASHI, K., KOEDA, T., SUGIMOTO, K., NAKAGAWA, K, HAYASHI, S., YAMAJI, R., INUI, H., FUKUSATO, T., YAMANOUCHI, T. Rats Fed Fructose-Enriched Diets Have Characteristics of Nonalcoholic Hepatic Steatosis. *J. Nutr.* v. 139, p. 2067-2071, 2009.

KELLEY, G.L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology*, v.145, p.548-555, 2004.

KENNEDY, A.R.; PISSIOS, P.; OUT, H.; ROBERSON, R.; XUE, B.; ASAKURA, K.; FURUKAWA, N.; MARINO, F.E.; LIU, F.F.; KAHN, B.B.; LIBERMANN, T.A.; MARATOS-FLIER E. A high-fat, ketogenic diet induces a unique metabolic state in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* v. 292, p. 1724-1739, 2007.

KERSHAW E E e FLIER J S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrin. Metabol.*, v.89, p.2548-2556, 2004.

KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M.S.; MEMON, R.A.; SHIGENAGA, J.K.; MOSER, A.H.; FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J. Lipid. Res.*, v.45, p.1169-1196, 2004.

KINLAY, S.; SELWYN, A.P.; LIBBY, P.; GANZ, P. Inflammation, the endothelium, and the acute coronary syndromes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v.32, p.S62– S66, 1998.

KUMADA, M.; KIHARA, S.; SUMITSUJI, S.; KAWAMOTO, T.; MATSUMOTO, S.; OUCHI, N.; ARITA, Y.; OKAMOTO, Y.; SHIMOMURA, I.; HIRAOKA, H.; NAKAMURA, T.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in man. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, v.23, p.85-89, 2003.

KUMAR, R.; CLERMONT, G.; VODOVOTZ, Y.; CHOW, C.C. The dynamics of acute inflammation. *J. Theo. Biol.*, v.230, p.145-155, 2004.

LA BARRE, J.; STILL, E.U. Studies on the physiology of secretin. *Am. J. Physiol.*, v.91, p.649–653, 1930.

LAIRON D. Nutritional and metabolic aspects of postprandial lipemia. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.36, p. 345-355, 1996.

LAUGERETTE, F. ; VORS, C. ; GELOËN, A.; CHAUVIN, M.A. ; SOULAGE, C. ; LAMBERT-PORCHERON, S. PERETTI, N. ; ALLIGIER, M. ; BURCELIN, R. ; LAVILLE, M. ; VIDAL, H. ; MICHALSKI, M.C. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J Nutr Biochem.*, v.22, p.53-59, 2010.

LEE, T.H.; LEE, G.W.; ZIFF, E.B.; VILCEK, J. Isolation and characterization of eight tumor necrosis factor-induced gene sequences from human fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.*, v.10, p.1982–1988, 1990.

LEFÈBVRE, P.J.; SCHEEN, A. J. Glucose metabolism and the postprandial state. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.29, p.1–6, 1999.

LEWIS, G. F.; Fatty acid regulation of very low density lipoprotein production. *Curr. Opin. Lipidol.*, v. 8, p. 146-153, 1997.

LINGELBACH, L. B. & MCDONALD, R. B. Description of the Long-Term Lipogenic Effects of Dietary Carbohydrates in Male Fischer 344 Rats. *J. Nutr.*, v.130, p.3077-3084, 2000.

LIU, S. Intake of refined carbohydrates and whole grain foods in relation to risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *J. Am. Coll. Nutr.*, v.21, p.298 –306, 2002.

LOPEZ-GARCIA, E.; SCHULZE, M.B.; FUNG, T.T.; MEIGS, J.B.; RIFAI, N.; MANSON, J.E.; HU, F.B. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.80, p.1029 –1035, 2004.

MACDONALD, T.T.; MONTELEONE, I.; FANTINI, M.C.; MONTELEONE, G. Regulation of homeostasis and inflammation in the intestine. *Gastroenterology*, v.140, p.1768-1775, 2011.

MAGNE, J.; MARIOTTI, F.; FISCHER, R.; MATHE, V.; TOME, D.; HUNEAU, J.F. Early postprandial low-grade inflammation after high-fat meal in healthy rats: possible involvement of visceral adipose tissue. *J Nutr Biochem.*, v.21, p.550-555, 2010.

MANNING, P.J.; SUTHERLAND, W.H.F.; HENDRY, G.; DE JONG, S.A.; MCGRATH, M.; WILLIAMS, S.M. Changes in circulating postprandial proinflammatory cytokine concentrations in diet-controlled type 2 diabetes and the effect of ingested fat. *Diabetes Care*, v.27, p.2509–2511, 2004.

MANTOVANI, A.; ALLAVENA, P.; SICA, A.; BALKWILL, F. Cancer related inflammation. *Nature*, v.454, p.436–444, 2008.

MARGIORIS, A.N. Fatty acids and postprandial inflammation. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, v. 12(2), p. 129-37, 2009.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Bioquímica Básica. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999 apud MALHEIROS, S.V.P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum – um resumo. *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, v.1, p.C1-C7, 2006.

MATSUZAKA, T.; SHIMANO, H.; YAHAGI, N.; AMEMIYA-KUDO, M.; OKAZAKI, H.; TAMURA, Y.; IIZUKA, Y.; OHASHI, K.; TOMITA, S.; SEKIYA, M.; HASTY, A.; NAKAGAWA, Y.; SONE, H.; TOYOSHIMA, H.; ISHIBASHI, S.; OSUGA, J.; YAMADA, N. Insulin-independent induction of sterol regulatory element-binding protein-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice. *Diabetes*, v. 54, p. 560-569, 2004.

MAYE, P. A. Intermediary metabolism of fructose. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 58, p. 754S-765S, 1993.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, v.454, p.428–435, 2008.

MELANSON, K. J; ANGELOPOULOS, T. J., NGUYEN,V.; ZUKLEY,L.; LOWNDES,J.; RIPPE, J.M. High-fructose corn syrup, energy intake, and appetite regulation. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 88, p. 1738S-1744S, 2008.

MILLER, A.; ADELI, K. Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, v. 24, p. 204-209, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Atenção Básica, Coordenação da Política de Alimentação e Nutrição. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), 2002-3. Pesquisa do IBGE. Disponível em <<http://www.ministeriodasaude.org.br>>.

MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO, ORÇAMENTO E GESTÃO. Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: primeiros resultados: Brasil e grandes regiões / IBGE, Coordenação de Índices de Preços. Rio de Janeiro: IBGE, 2004.

MIYAZAKI M.; DOBRZYN, A.; MAN, W.C.; CHU, K.; SAMPATH, H.; KIM, H.J.; NTAMBI, J.M. Stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression is necessary for fructose-mediated induction of lipogenic gene expression by sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent and -independent mechanisms. *J. Biol. Chem.*, v.279, p.25164-2571, 2004.

MOHANTY, P.; HAMOUDA, W.; GARG, R.; ALJADA, A.; GHANIM, H.; DANDONA, P. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.85, p.2970-2973, 2000.

MORETON J.R. Chylomicronemia, fat tolerance and atherosclerosis. *J. Lab. Clin. Med.*, v.35, p.373-384, 1950.

MOTTON, D.D.; KEIM, N.L.; TENORIO, F.A.; HORN, W.F.; RUTLEDGE, J.C. Postprandial monocyte activation in response to meals with high and low glycemic loads in overweight women. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 85, p.60-65, 2007.

MOVAT, H.Z. The Inflammatory Reaction. Amsterdam: Elsevier, 1985 apud BECHARA, G.H. & Szabó, M.P.J. O PROCESSO INFLAMATÓRIO. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/deptos/patologia/bechara/inflamacao2.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2011.

MUECKLER, M.; CARUSO, C.; BALDWIN, A.S.; PANICO, M.; BLENCH, I.; MORRIS, H.R.; ALLARD, W.J.; LIENHARD, G.E.; LODISH, H.F. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science*, v.229, p.941-945, 1985.

MULLER, B.; PERI, G.; DONI, A.; TORRI, V.; LANDMANN, R.; BOTTAZZI, B.; MANTOVANI, A. "Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients". *Crit. Care Med.*, v.29, p.1404-1407, 2001.

NAISSIDES, M.; MAMO, J.C.; JAMES, A.P.; PAL, S. The effect of acute red wine polyphenol consumption on postprandial lipaemia in postmenopausal women. *Atherosclerosis*, v.177, p.401-408, 2004.

NAKAMURA, T.; FURUHASHI, M.; LI, P.; CAO, H.; TUNCMAN, G.; SONENBERG, N.; GORGUN, C.Z.; HOTAMISLIGIL, G.S. Double-stranded RNA-dependent protein kinase links pathogen sensing with stress and metabolic homeostasis. *Cell*, v.140, p.338-348, 2010.

NAPPO, F.; ESPOSITO, K.; CIOFFI, M.; GIUGLIANO, G.; MOLINARI, A.M.; PAOLISSO, G.; MARFELLA, R.; GIUGLIANO, D. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J. Am. Coll. Cardiol.*, v.39, p.1145-1150, 2002.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. *Nature*, v. 420, p.846–852, 2002.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. 4th ed., New York: Freeman and Company, 2005 apud MALHEIROS, S.V.P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum – um resumo. *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, v.1, p.C1-C7, 2006.

NIVOIT, P.; WIERNSPERGER, N.; MOULIN, P.; LAGARDE, M.; RENAUDIN, C. Effect of glycated LDL on microvascular tone in mice: a comparative study with LDL modified in vitro or isolated from diabetic patients. *Diabetologia*, v.46, p.1550–1558, 2003.

ORBAN, Z.; REMALEY, A.; SAMPSON, M.; TRAJANOSKI, Z.; CHROUSOS, G.P. The differential effect of food-intake and beta-adrenergic stimulation on adipose-derived hormones and cytokines in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.84, p.2126–2133, 1999.

OUCHI, N.; KIHARA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; WALSH, K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr. Opin. Lipidol.* v.14, p.561–566, 2003a.

OUCHI, N.; KIHARA, S.; FUNAHASHI, T.; NAKAMURA, T.; NISHIDA, M.; KUMADA, M.; OKAMOTO, Y.; OHASHI, K.; NAGARETANI, H.; KISHIDA, K.; NISHIZAWA, H.; MAEDA, N.; KOBAYASHI, H.; HIRAOKA, H.; MATSUZAWA, Y. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*, v.107, p.671–674, 2003b.

PAULSON, Q.X.; HONG, J.; HOLCOMB, V.B.; NUNEZ, N.P. Effects of body weight and alcohol consumption on insulin sensitivity. *Nutr. J.*, v. 9(1), p.14, 2010.

PATSCH, J.R.; MIESENBOCK, G.; HOPFERWIESER, T.; MUHLBERGER, V.; KNAPP, E.; DUNN, J.K.; GOTTO JR, A.M.; PATSCH, W. Relations of triglyceride metabolism and coronary artery disease: studies in the postprandial state. *Arterioscler. Thromb.*, v.12, p.1336–1345, 1992.

PEARSON, T.A.; MENSAH, G.A.; ALEXANDER, R.W.; ANDERSON, J.L.; CANNON III, R.O.; CRIQUI, M.; FADL, Y.Y.; FORTMANN, S.P.; HONG, Y.; MYERS, G.L.; RIFAI, N.; SMITH JR, S.C.; TAUBERT, K.; TRACY, R.P.; VINICOR, F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the american heart association. *Circulation*, v.107, p.499-511, 2003.

PRADHAN, A.D.; MANSON, J.E.; RIFAI, N.; BURING, J.E.; RIDKER, P.M. C-reactive protein, interleukin 6 and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*, v.286, p.324 –334, 2001.

RIZZO, M.; KOTUR-STEVLJEVIC, J.; BERNEIS, K.; SPINAS, G. RINI, G.B.; JELIC-IVANOVIC, Z.; SPASOJEVIC-KALIMANOVSKA, V.; VEKIC, J. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. *Transl. Res.*, v.153, p.217–223, 2009.

ROLLINS, B.J. Chemokines. *Blood*. v.90, p.909-928, 1997.

RUTLEDGE, A. C.; ADELI, K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr. Rev.*, v. 65, p. s13-s23, 2007.

SABERI, M.; WOODS, N.B.; DE LUCA, C.; SCHENK, S.; LU, J.C.; BANDYOPADHYAY, G.; VERMA, I.M.; OLEFSKY, J.M. Hematopoietic cell-specific deletion of Toll-like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance in high-fat-fed mice. *Cell Metab.*, v.10, p.419–429, 2009.

SARTIPY P, LOSKUTOFF D J. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 100, p.7265–7270, 2003.

SCHOBER, A.; WEBER, C. Mechanisms of monocyte recruitment in vascular repair after injury. *Antioxid. Redox Signal.*, v.7, p.1249 –1257, 2005.

SEGAL, B.H.; LETO, T.L.; GALLIN, J.I.; MALECH, H.L.; HOLLAND, S.M. Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. *Medicine*, v. 79, p.170–200, 2000.

SHAPIRO, A. & SHAPIRO, B. Role of the liver in intestinal glucose absorption. *Biochem. Biophys. Acta.*, v. 586, p. 123-127, 1979.

SHI, H.; KOKOEVA, M.V.; INOUE, K.; TZAMELI, I.; YIN, H.; FLIER, J.S. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J. Clin. Investig.*, v.116, p.3015–3025, 2006.

SHOELSON, S. E.; LEE, J.; GOLDFINE, A.B. Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, v.116, p.1793–1801, 2006.

SIMPSON, K.J.; LUKACS, N.W.; COLLETTI, L.; STRIETER, R.M.; KUNKEL, S.L. Cytokines and the liver. *J Hepatol.*, v.27, p.1120-1132, 1997.

STANHOPE, K. L.; HAVEL, P. J. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Curr. Opin. Lipidol.*, v. 19, p. 16-24, 2008.

STANHOPE, K.L.; GRIFFEN, S.C.; BAIR, B.R.; SWARBRICK, M.M.; KEIM, N.L.; HAVEL, P.J. Twenty-four-hour endocrine and metabolic profiles following consumption of high-fructose corn syrup-, sucrose-, fructose-, and glucosesweetened beverages with meals. *Am J Clin Nutr.* v.87, p.1194–1203, 2008.

STANHOPE K.L., SCHWARZ J.M., KEIM N.L., GRIFFEN S.C., BREMER A.A., GRAHAM J.L., HATCHER B., COX C.L., DYACHENKO A., ZHANG W., MCGAHAN J.P., SEIBERT A., KRAUSS R.M., CHIU S., SCHAEFER E.J., AI M., OTOKOZAWA S., NAKAJIMA K., NAKANO T., BEYSEN C., HELLERSTEIN M.K., BERGLUND L., HAVEL P.J. Consuming fructose-sweetened, not glucosesweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J. Clin. Invest.*, v.119, p.1322-1334, 2009.

STEPPAN, C. M.; BAILEY, S. T.; BHAT, S.; BROWN, E.J.; BANERJEE, R.R.; WRIGHT, C.M.; PATEL, H.R.; AHIMA, R.S.; LAZAR, M.A. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. v.409, p.307–312, 2001.

STEPPAN C M, WANG J, WHITEMAN E L, BIRNBAUM M J e LAZAR M A. Activation of SOCS-3 by resistin. *Molecular and Cellular Biology*. v.25, p.1569-1575, 2005.

STRYER, L. Bioquímica. 3rd ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1992 apud MALHEIROS, S.V.P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum – um resumo. *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, v.1, p.C1-C7, 2006.

SUGANAMI, T.; NISHIDA, J.; OGAWA Y. A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor α . *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, v.25, p.2062–2068, 2005.

SUGANAMI, T.; TANIMOTO-KOYAMA, K.; NISHIDA, J.; ITOH, M.; YUAN, X.; MIZUARAI, S.; KOTANI, H.; YAMAOKA, S.; MIYAKE, K.; AOE, S.; KAMEI, Y.; OGAWA, Y. Role of the Toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, v.27, p.84–91, 2007.

TEFF, K. L.; ELLIOTT, S. S.; TSCHOP, M.; KIEFFER, T.J.; RADER, D.; HEIMAN, M.; TOWNSEND, R. R.; KEIM, N. L.; D’ALESSIO, D.; HAVEL, P. J. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 89, p. 2963-2972, 2004.

TOMAS, E.; TSAO, T.S.; SAHA, A.K.; MURREY, H.E.; ZHANG, C.C. C.; ITANI, S.I.; LODISH, H.F.; RUDERMAN, N.B. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc. Natl. acad. Sci. USA.*, v.99, p.16309-16313, 2002.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br. J. Nut.*, v. 92, p. 347-355, 2004.

THOMSON, A.B.R.; KEELAN, M.; THIESEN, A.; CLANDININ, M.T.; ROPELESKI, M.; WILD, G.E. Small Bowel Review: Normal Physiology Part 1. *Dig. Dis. Sci.*, v. 46, p. 2567–2587, 2001.

TSUKUMO, D.M.; CARVALHO-FILHO, M.A.; CARVALHEIRA, J.B.; PRADA, P.O.; HIRABARA, S.M.; SCHENKA, A.A.; ARAÚJO, E.P.; VASSALLO, J.; CURI, R.; VELLOSO, L.A.; SAAD, M.J. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*, v.56, p.1986–1998, 2007.

VAN OOSTROM, A.J.; VAN WIJK, J.P.H.; CABEZAS, M.C. Lipaemia, inflammation and atherosclerosis: novel opportunities in the understanding and treatment of atherosclerosis. *Drugs*, v.64, p.19–41, 2004.

VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C.W. Fundamentos de Bioquímica. Porto Alegre: Artmed, 2002 apud MALHEIROS, S.V.P. Integração metabólica nos períodos pós-prandial e de jejum – um resumo. *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, v.1, p.C1-C7, 2006.

WATT, M.J.; HEVENER, A.; LANCASTER, G.I.; FEBBRAIO, M.A. Ciliary neurotrophic factor prevents acute lipid-induced insulin resistance by attenuating ceramide accumulation and phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase in peripheral tissues. *Endocrinology*, v.147, p.2077–2085, 2006.

WEIGERT, C.; BRODBECK, K.; STAIGER, H.; KAUSCH, C.; MACHICAO, F.; HÄRING, H.U.; SCHLEICHER, E.D. Palmitate, but not unsaturated fatty acids, induces the expression of interleukin-6 in human myotubes through proteasome-dependent activation of nuclear Factor- κ B. *J. Biol. Chem.*, v.279, p.23942–23952, 2004.

WEISBERG, S.P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R.L.; FERRANTE, A.W. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, v.112, p.1796–1808, 2003.

WEISBERG, S.P.; HUNTER, D.; HUBER, R.; LEMIEUX, J.; SLAYMAKER, S.; VADDI, K.; CHARO, I.; LEIBEL, R.L.; FERRANTE JR, A.W. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J. Clin. Invest.*, v.116, p.115–124, 2006.

WELLEN, K.E.; HOTAMISLIGIL, G.S. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, v.112, p.1785–1788, 2003.

WILLIAMS, R.J.; SPENCER, J.P.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radic. Biol. Med.*, v.36, p.838–849, 2004.

XING, Z.; GAULDIE, J.; COX, G.; BAUMANN, H.; JORDANA, M.; LEI, F. X.; ACHONG, M. K. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest.*, v.101, p.311–320, 1998.

XU, L.L.; WARREN, M.K.; ROSE, W.L.; GONG, W.; WANG, J.M. Human recombinant monocyte chemotactic protein and other C-C chemokines bind and induce directional migration of dendritic cells in vitro. *J. Leukoc. Biol.*, v.60, p.365–371, 1996.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; MINOKOSHI, Y.; ITO, Y.; WAKI, H.; UCHIDA, S.; YAMASHITA, S.; NODA, M.; KITA, S.; UEKI, K.; ETO, K.; AKANUMA, Y.; FROGUEL, P.; FOUFELLE, F.; FERRE, P.; CARLING, D.; KIMURA, S.; NAGAI, R.; KAHN, B.B.; KADOWAKI, T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature med.* 8, 1288-1295, 2002;

ZHAO, G.; ETHERTON, T.D.; MARTIN, K.R.; VANDEN HEUVEL, J.P.; GILLIES, P.J.; WEST, S.G.; KRIS-ETHERTON, P.M. Anti-inflammatory effects of polyunsaturated fatty acids in THP-1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.336, p.909–917, 2005.

A.1 – APÊNDICE A

Certificado de aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 63/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Inflamação pós-prandial: efeito da obesidade e de dietas ricas em frutose**", que tem como responsável(is) **Adaliene Versiani Matos Ferreira**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **26/ 05/ 2010**.

Este certificado expira-se em **26/ 05/ 2015**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 63/2010**, related to the project entitled "**Postprandial inflammation: Effect of obesity and diets rich in fructose**", under the supervisors of **Adaliene Versiani Matos Ferreira**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **May 26, 2010**.

This certificate expires in **May 26, 2015**.

Belo Horizonte, 26 de Maio de 2010.

Luís A. M. Ferreira
PI **Prof. Humberto Pereira Oliveira**
Coordenador do CETEA/UFMG

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
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br