

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Lívia Ferraz D'avila

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE GORDURA  
INTERESTERIFICADA SOBRE PARÂMETROS  
COMPORTAMENTAIS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES EM  
RATOS**

Santa Maria, RS  
2017

**Lívia Ferraz D'avila**

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE GORDURA INTERESTERIFICADA SOBRE  
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES  
EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de concentração em Toxicologia e Nutracêutica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em farmacologia.**

Orientadora: Dr<sup>a</sup> Fabíola Trevizol

Santa Maria, RS  
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

D\`avila, Lívia  
Influência do consumo de gordura interesterificada sobre parâmetros comportamentais bioquímicos e moleculares / Lívia D\`avila.- 2017.  
50 p.; 30 cm

Orientadora: Fabíola Trevisol  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, RS, 2017

1. gordura interesterificada 2. memória 3. sistema nervoso central I. Trevisol, Fabíola II. Título.


Livia Ferraz D'avila

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE GORDURA INTERESTERIFICADA SOBRE  
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES  
EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de concentração em Toxicologia e Nutracêutica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em farmacologia.**

**Aprovado em 21 de Julho de 2017:**

  
\_\_\_\_\_  
Fabiola Trevizol (UFSM)  
(Presidente/Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
Neila Silvia Pereira dos Santos Richards (UFSM)

  
\_\_\_\_\_  
Cristina Machado Bragança de Moraes (UNIFRA)

## DEDICATÓRIA

À minha mãe Rosane, que esteve presente em todos os momentos desta trajetória, origem de inspiração para enfrentar este caminho e fonte de inesgotável generosidade.

Ao meu pai Jorge, que infelizmente mesmo não estando presente fisicamente durante este processo, se fez presente em todos os momentos em meus pensamentos e meu coração, guiando meus passos até aqui.

A vocês o meu eterno amor e gratidão.

## **AGRADECIMENTOS**

- Primeiramente a Deus, por iluminar meu caminho e ser fonte de força para a perseverança na busca do cumprimento desta meta.
- A minha família, minha amada mãe Rosane, exemplo de força e dedicação a qual me ensinou a sempre lutar pelos meus sonhos, fonte de muito amor e carinho.
- Ao meu eterno e amado pai Jorge, que me ensinou que mesmo nas adversidades da vida devemos olhar para o lado positivo da vida, sempre com um sorriso nos lábios. Teu amor, dedicação e principalmente força e resiliência nunca serão esquecidas, és um exemplo a seguir.
- Ao meu namorado Vagner, que soube compreender o meu recolhimento para a elaboração desta Dissertação, compartilhando comigo o seu apoio e muito amor.
- Ao meu irmão Rafael, que me presenteou com meus lindos sobrinhos Luã, Pedro e Carolina, nossa esperança de dias melhores.
- A minha tia Rosileni, fonte inesgotável de incentivo, minha conselheira e amiga.
- À minha querida avó Jaci, por todo o ensinamento deixado, pelas demonstrações de afeto e amor a mim dedicados e pelos inúmeros momentos felizes que compartilhamos.
- A minha amiga de berço Suélen, que me ajudou a iniciar este caminho e que sempre será meu porto seguro.
- A professora Marilise, que abriu as portas do laboratório FARMATOX e me acolheu em seu grupo.
- A minha orientadora Fabíola, pelos ensinamentos e sugestões sempre pertinentes a este estudo.
- Às grandes amigas que fiz no laboratório FARMATOX Verônica e Luciana, pela paciência e dedicação com que me ensinaram e me ajudaram em todos os momentos deste processo não só no ensino científico, mas também nos momentos de lazer.

- À todos do laboratório FARMATOX Geisa, Karine, Hecson, Luísa, Domênica, Laura, Vinícia, Raquel, Higor e Maikel, pelos ensinamentos compartilhados, tanto para a vida acadêmica quanto para a vida pessoal.

- Às agências de fomento CNPq, FAPERGS, PROAP-UFSM, bem como à CAPES pela bolsa de estudo concedida.

- À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade da realização da pós-graduação.

*“Que seu remédio seja seu alimento,  
e que seu alimento seja o seu  
remédio”.*

*Hipócrates*



## RESUMO

### INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE GORDURA INTERESTERIFICADA SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES EM RATOS

AUTORA: Livia Ferraz D'Avila

ORIENTADORA: Dr<sup>a</sup>. Fabíola Trevizol

Os ácidos graxos são constituintes importantes das membranas fosfolipídicas neurais, onde desempenham funções essenciais no sistema nervoso central (SNC), modificando a plasticidade e a fluidez destas membranas, particularmente durante os períodos iniciais do desenvolvimento, estando também envolvidos em diferentes patologias neuropsiquiátricas. Nas últimas décadas, mudanças dos hábitos alimentares têm sido associadas a um aumento do consumo de alimentos industrializados, cujo processamento inclui a utilização de gordura interesterificada (GI), a qual confere textura, crocância e estabilidade, agregando sabor e maior vida de prateleira ao produto. Estudos demonstram que o consumo crônico de GI está relacionado com problemas cardiovasculares e risco aumentado de desenvolver diabetes, entretanto a literatura carece de dados sobre a influência do consumo desta gordura sobre as funções neurais e seus reflexos sobre transtornos neuropsiquiátricos. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da GI durante a gestação, a lactação e ao longo da vida, em ratos adultos de primeira geração. Para o desenvolvimento do protocolo experimental, ratas prenhes receberam a suplementação oral (gavagem) de óleo de soja (3g/Kg peso - grupo controle) ou GI (3g/Kg peso - grupo experimental) durante a gestação e lactação, sendo os filhotes mantidos sob a mesma suplementação materna até a idade adulta, quando foram submetidos a um protocolo de avaliação comportamental envolvendo parâmetros de memória. Sequencialmente, a geração de espécies reativas (ER), níveis de carbonilação de proteínas (CP) e atividade da catalase (CAT), como também níveis de BDNF e TrkB, foram determinados no hipocampo. O desenvolvimento deste protocolo experimental permitiu observar que a suplementação de GI prejudicou a aquisição de memória de curto (1h) e longo (24h) prazo, a qual foi observada em teste de reconhecimento de objeto novo (TRON), cujos achados podem estar relacionados à aumentada geração de ER e níveis de CP, juntamente com a reduzida atividade da CAT, também observados neste grupo experimental. Além disso, os animais do grupo GI também apresentaram maior incorporação de ácidos graxos saturados e ácido linoléico, junto com menor incorporação de ácido docosahexaenóico, quando comparados ao grupo controle. À nível molecular, animais do grupo GI apresentaram menores níveis de BDNF, como também de seu receptor TrkB. De particular importância para os nossos resultados, diferentes correlações foram observadas envolvendo o percentual de ácidos graxos presentes no hipocampo, os níveis de BDNF e TrkB e os e os marcadores de danos oxidativos (CP e ER), indicando uma interatividade causal destes marcadores sobre o prejuízo de memória dos animais suplementados com GI. Tomados em conjunto, estes achados sugerem que uma dieta rica em alimentos processados, fonte de GI, particularmente durante fases iniciais de desenvolvimento, é capaz de desencadear prejuízos de memória ao longo da vida, possivelmente devido a alterações na composição dos ácidos graxos das membranas fosfolipídicas neurais, afetando seu *status* oxidativo e a funcionalidade de neurotrofinas em áreas cerebrais relacionadas à memória, como o hipocampo.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. Teste de reconhecimento do objeto novo. Primeira geração. Sistema nervoso central.

## ABSTRACT

### INFLUENCE OF INTERESTERIFIED FAT CONSUMPTION ON BEHAVIORAL BIOCHEMICAL AND MOLECULAR PARAMETERS IN RATS

AUTHOR: Livia Ferraz D'avila

ADVISOR: Dr<sup>a</sup>. Fabíola Trevizol

Fatty acids are important constituents of neural phospholipid membranes where play an essential role in the central nervous system (CNS), modifying the plasticity and fluidity of these membranes, particularly during early stages of development and are also involved in different neuropsychiatric pathologies. In the last decades, changes in eating habits have been associated with increased consumption of processed foods, which include the use of interesterified fat (IF), who provides texture, crispness and stability, enhance flavor and longer shelf life to the product. Studies have shown that chronic consumption of IF is related to cardiovascular problems and an increased risk of developing diabetes. However, the literature lacks data on the influence of this fat consumption on neural functions and their reflexes on neuropsychiatric disorders. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of IF during gestation, lactation and throughout life, in first generation adult rats. For development of the experimental protocol, pregnant rats received oral (gavage) supplementation of soybean oil (3g/kg body weight - control group) or IF (3g/kg body weight – experimental group) and the pups were maintained under the same maternal supplementation until adulthood, when they undergo a behavioral evaluation protocol involving memory parameters. Sequentially, the generation of reactive species (RS), protein carbonylation (PC) levels and catalase activity (CAT), as well as BDNF and TrkB levels, were determined in the hippocampus. The development of this protocol allowed to observe that IF supplementation impaired the acquisition of short (1h) and long (24h) term memory, which was observed in new object recognition test (NORT), whose findings may be related to increased RS generation and PC levels, along with reduced CAT activity, also observed in this experimental group. In addition, animals of the IF group also showed a higher incorporation of saturated fatty acids and linoleic acid, along with a lower incorporation of docosahexaenoic acid when compared to control group. At molecular level, animals of the IF group showed lower levels of BDNF, as well as their TrkB receptor. Of particular importance to our results, different correlations were observed involving the percentage of fatty acids present in hippocampus, the levels of BDNF and TrkB and markers of oxidative damages (PC and RS), indicating a causal interactivity of these markers on memory impairment of animals supplemented with IF. Taken together, these findings suggest that a diet rich in processed foods, source of IF, particularly during early stages of development was able to cause memory impairments throughout life, possibly due to changes in fatty acids composition of neural phospholipid membranes, affecting their oxidative *status* and the functionality of neurotrophins in memory-related areas, such as hippocampus.

Keywords: Oxidative stress. Novel object recognition task. First generation. Central nervous system.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### DESENVOLVIMENTO

Figura 1 - Via metabólica dos ácidos graxos essenciais de cadeia longa.....19

Figura 2 - Representação esquemática da reação de interesterificação.....23

### PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Figure 1 - Influence of IF supplementation on recognition index in the hippocampus of adult rats born to IF or SO supplemented dams from gestation and lactation.....34

Figure 2 - Influence of IF supplementation on oxidative parameters: RS generation (A), PC levels (B), and CAT activity (C) in the hippocampus of adult rats born to IF or SO supplemented dams from gestation and lactation.....35

Figure 3 - Influence of IF supplementation on molecular parameters: pro-BDNF (A), BDNF (B), and TrK-B (C) in the hippocampus of adult rats born to IF or SO supplemented dams from gestation and lactation.....36

## LISTA DE TABELAS

### PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Table 1 - Fatty acid composition (% of total identified FA) of the dietary supplementations: SO-C(soybean oil-control) and IF (interesterified fat).....	33
Table 2 - Fatty acids composition in the hippocampus of rats supplemented with different oil/fat during first generation (% of total fatty acids identified) .....	35
Table 3 - Correlations between molecular parameters and biochemical analysis performed in hippocampus of rats supplemented with different oil/fat during first generation.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS

AG – ácidos graxos

AGE – ácidos graxos essenciais

AGMI – ácidos graxos monoinsaturados

AGPI – ácidos graxos poliinsaturados

AGS – ácidos graxos saturados

AGT – ácidos graxos *trans*

ALA – ácido linolênico

AMPA - alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico

ARA – ácido araquidônico

BDNF – do inglês *brain-derived neurotrophic factor*

DHA – ácido docosahexaenóico

EPA – ácido eicosapentaenóico

GI – gordura interesterificada

LA – ácido linoléico

n-6 – ômega 6

n-3 – ômega 3

NMDA – N-Metil-D-Aspartato

SNC – sistema nervoso central

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	15
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b> .....	17
2.1 Ácidos graxos: Estrutura química e classificação.....	17
2.2 Ácidos graxos em períodos de desenvolvimento .....	20
2.3 Interesterificação de óleos e gorduras .....	23
2.4 Ácidos graxos, memória e estresse oxidativo .....	25
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	28
3.1 Objetivo geral .....	28
3.2 Objetivos específicos .....	28
<b>4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA</b> .....	29
4.1 Artigo.....	30
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	39
<b>6 PERSPECTIVAS</b> .....	40
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	41

## APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está estruturada em seções dispostas da seguinte forma: Introdução, Desenvolvimento, Objetivos, Produção Científica (Artigo), Conclusão, Perspectivas e Referências. No item **INTRODUÇÃO** e **DESENVOLVIMENTO** encontram-se considerações iniciais sobre o tema desenvolvido nesta dissertação.

Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se inseridos no próprio artigo na seção **PRODUÇÃO CIENTÍFICA** e representam a íntegra deste estudo. No item **CONCLUSÃO** encontram-se descritos comentários gerais sobre os resultados contidos neste estudo. E o item **REFERÊNCIAS** faz menção somente às citações que se encontram nos itens **INTRODUÇÃO** e **DESENVOLVIMENTO**.



## 1 INTRODUÇÃO

O tipo de ácido graxo fornecido pela dieta está envolvido em diversas alterações celulares e desempenha um papel importante na manutenção do funcionamento normal do sistema nervoso central (SNC) (MARTINEZ, 1992; CLANDININ et al., 1980; MITCHELL et al., 2003; MURPHY, 1990). Nas últimas décadas, os hábitos alimentares da população mudaram drasticamente (CRAIG-SCHIMIDT, 2006) havendo um aumento do consumo de alimentos processados especialmente *fast foods*, ricos em ácidos graxos *trans* (AGT) (POPKIN, 1998; ALLISON et al., 1999), o que pode ser considerado um fator de risco para o desenvolvimento de diversos prejuízos a saúde como depressão (FERRAZ et al., 2008) distúrbio bipolar (TREVIZOL et al., 2013), ansiedade (PASE et al., 2013) e hiperatividade (PASE et al., 2015).

Devido à preocupação com os efeitos dos AGT na saúde, a gordura interesterificada (GI) surgiu como alternativa para a preparação de gorduras com baixos teores de isômeros *trans* ou até mesmo ausência destes (NORIZZAH et al., 2004). A interesterificação é um processo utilizado para modificar as características físico-químicas de óleos e gorduras e consiste na redistribuição dos ácidos graxos na molécula do glicerol (IDRIS; DIAN, 2005; KARABULUT; TURAN; ERGIN, 2004). No entanto, apesar de alguns alimentos industrializados já apresentarem este tipo de gordura em sua composição, muito pouco se sabe sobre as implicações do seu consumo sobre a saúde. Além disso, a maioria dos estudos sobre a GI relaciona o seu consumo com alterações metabólicas (SUNDRAM; KARUPAIAH; HAYES et al, 2007; MAGRI et al, 2014; ROBINSON et al., 2009; AFONSO et al., 2016). Portanto, avaliar as consequências do consumo desta gordura se torna especialmente importante visto que até o momento, nenhum estudo avaliou as implicações do seu consumo sobre o sistema nervoso central, particularmente sobre o período pré e neonatal, que são períodos críticos para o desenvolvimento. Além disso, os resultados deste estudo poderão ser utilizados para o desenvolvimento de estratégias relacionadas à prevenção de problemas de saúde, alertando a indústria alimentícia e órgãos afins sobre os potenciais prejuízos do consumo de GI.

A seguir, será apresentado um breve referencial teórico a cerca da constituição dos principais ácidos graxos fornecidos pela dieta e sua relação com o desenvolvimento cerebral. Será abordada também, a produção e composição da GI e a relação dos diferentes ácidos graxos da dieta sobre memória e parâmetros oxidativos.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Ácidos graxos: Estrutura química e classificação**

Os ácidos graxos (AG) são constituintes estruturais das membranas celulares sendo suas fontes encontradas tanto em animais quanto em vegetais e possuem funções energéticas, metabólicas e também protetoras (VALENZUELA; NIETO, 2003). Estruturalmente a maioria dos lipídios da dieta contém três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, conhecida como triacilglicerol (BELL et al., 1997) e são formados por uma cadeia hidrocarbonada (2 a 20 ou mais átomos), contendo uma carboxila (COOH) em uma extremidade da cadeia e uma metila (CH<sub>3</sub>) na outra extremidade (MARSZALEK; LODISH, 2005). A nomenclatura química convencional classifica os AG de acordo com o número dos átomos de carbono e quantidade das insaturações presentes na molécula (LEHNINGER; NELSON; COX, 2014). Quanto à extensão da cadeia, os AG podem ser classificados em cadeia curta, média ou longa. Os de cadeia curta possuem cauda alifática de 6 a 12 carbonos, os de cadeia longa mais de 12 carbonos e os de cadeia muito longa com mais de 22 átomos de carbono. De acordo com as insaturações podem ser classificados em AG saturados (AGS, sem duplas ligações) ou insaturados, esse último ainda subdividi-se em AG monoinsaturados (AGMI, com uma dupla ligação) ou poliinsaturados (AGPI, com mais de uma dupla ligação) (LEHNINGER; NELSON; COX, 2014; KIM et al., 2005). As inúmeras duplas ligações de carbono presentes nos AGPI dificultam a interação molecular, conferindo característica líquida a estes AG quando em temperatura ambiente, uma importante propriedade física requerida para a manutenção do alto grau

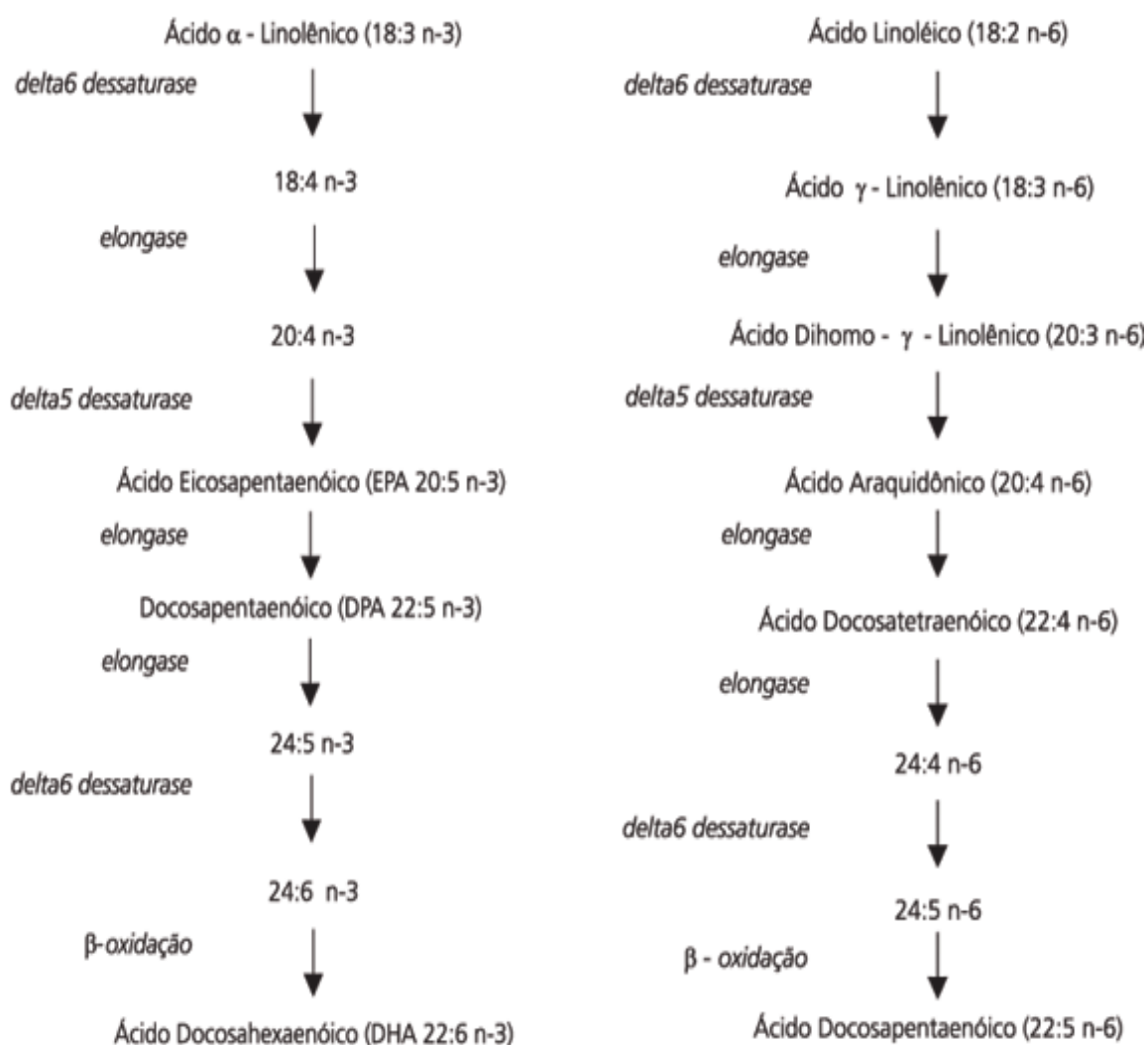
de flexibilidade da bicamada lipídica das membranas celulares (CHALON, 2006; HULBERT et al., 2005; INNIS, 2007; MARZZOCO; TORRES, 1999).

Em mamíferos, os AGS, os AGMI e alguns AGPI podem ser obtidos através da dieta ou pela síntese “*de novo*” de AG através da enzima acetil coenzima A, sendo considerados AG não essenciais. Os AGMI da série n-9 podem ser sintetizados a partir da dessaturação dos AGS e esta conversão é realizada pela  $\Delta 9$  desaturase, uma enzima ativa em tecidos de mamíferos que introduz uma dupla ligação entre a posição n-9 – n-10 da cadeia dos AG (RATNAYAKE; GALLI, 2009). Alimentos de origem animal como leite, carne, queijo e manteiga e de origem vegetal como coco, palma e dendê, são fontes de AGS (CARVALHO et al, 2003). Já os AGMI e AGPI podem ser encontrados em alimentos como o azeite de oliva, óleo de canola e de soja e também em nozes, sendo o ácido oléico (C18:1) o seu principal representante (DUNCAN; SCHMIDT; GIUGLIANI, 2004).

Por sua vez, os AGPI da série ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3), se diferenciam pela posição da primeira dupla ligação a partir do grupo metílico terminal da cadeia e não podem ser sintetizados endogenamente pelos mamíferos, devendo ser fornecidos pela dieta sendo considerados por esse motivo ácidos graxos essenciais (AGE) (HARDMAN, 2004; SIMOPOULOS, 2006; YAQOUB; CALDER, 2007) Dentre os principais representantes da série n-6 destaca-se o ácido linoléico (LA; C18:2 n-6), tendo como fontes alguns óleos vegetais como girassol, milho e soja (McCUSKER; GRANT-KELS, 2010; SANGIOVANNI; CHEW, 2005) e na série n-3 destaca-se o ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA; C18:3 n-3) abundante nos peixes marinhos de águas profundas, nozes e alguns óleos vegetais como chia, canola e linhaça (LARSSON et al., 2014; SOCCOL; HEIDMANN; OETTERER, 2003). Após a absorção, tanto o LA como o ALA podem ser desaturados e alongados em AGPI de cadeia longa, de 20 a 22 carbonos (Figura 1) dando origem ao ácido araquidônico (ARA; C:20:4 n-6), ao ácido eicosapentaenóico (EPA; C20:5 n-3) e ao ácido docosahexaenóico (DHA; C22:6 n-3), entre outros (MANTZIORIS; CLELAND; GIBSON, 2000). O EPA e DHA podem ser encontrados tanto nos vegetais (algas e fitoplâncton) como nos animais de origem marinha (peixes e crustáceos) (GIBSON, 2004; HULBERT et al., 2005). O processo de dessaturação e alongamento do LA e

ALA é mediado pelas enzimas alongases que realizam a adição de duas unidades de carbono e pelas dessaturases que adicionam a dupla ligação (SALEM, 1999) Sabe-se que, quando o consumo de LA é duplicado ocorre uma redução de aproximadamente 50% de AGPI de cadeia longa formados a partir do LA, portanto um excesso de LA pode dificultar a transformação de ALA nos derivados EPA e DHA e vice-versa (EMKEN; ADLOT; GULLET, 1994; SALEM, 1999)

Figura 1 – Via metabólica dos ácidos graxos essenciais de cadeia longa



Fonte: adaptado de LAURITZEN et al., 2001.

## 2.2 Ácidos graxos em períodos de desenvolvimento

As membranas do cérebro apresentam uma composição rica em lipídios, cerca de 50% do seu peso total, dos quais 25% são AGPI de cadeia longa e destes, 15% são de DHA (LEVANT; RADEL; CARLSON, 2006). Os AGPI são fundamentais para as membranas neuronais sendo responsáveis por aumentar a fluidez da membrana e a plasticidade sináptica (MITCHELL et al., 2003; MURPHY, 1990). Quando incorporados em grandes quantidades pelas membranas celulares, esses AG são capazes de facilitar a formação de espinhos dendríticos e crescimento neuronal (WAINWRIGHT et al., 1998). Portanto, uma dieta materna rica em AGPI é conhecida por causar alterações positivas no desenvolvimento cerebral dos filhotes, tanto em humanos quanto em animais (CARLSON, 2013; GIBSON; MUHLHAUSLER; MAKRIDES; 2011).

Durante os períodos iniciais da vida, o sistema nervoso sofre um intenso processo de maturação e adaptação, e a influência constante de fatores ambientais ajudam a moldar os aspectos cognitivos e emocionais do indivíduo (BURGGREN; MUELLER, 2015; KNUDSEN, 2004; TAKESIAN; HENSCH, 2013; VICKERS, 2014). No período fetal e pós-natal, ocorre a organização morfofuncional do SNC através da síntese de componentes celulares, neurogênese, gliogênese, nutrição e diferenciação celular (LARSON; THATRA, 2014). Nesse período o cérebro é particularmente sensível a muitos fatores externos como ambiente social, nutrição e estresse, podendo esses fatores exercer efeitos duradouros sobre o crescimento e função cerebral aumentando o risco para transtornos psiquiátricos e deficiências cognitivas na vida adulta (LARSON; THATRA, 2014; LUCASSEN et al., 2013). Dentre os fatores mencionados a cima, a nutrição desempenha um papel importante devido às altas exigências de nutrientes para o desenvolvimento normal do cérebro e a interrupção do suprimento destes nutrientes normalmente resulta em disfunção cerebral aguda e crônica (LARSON; THATRA, 2014; LUCASSEN et al., 2013; BOERSMA et al., 2014).

O crescimento intra-uterino e pós-natal são caracterizados por uma deposição muito rápida de AG nos tecidos fetais (DOBBING; SANDS, 1973) e tanto o feto quanto o recém-nascido requerem grandes quantidades de AGE

devendo, portanto serem fornecidos pela dieta materna através da placenta ou do leite (MARTINEZ, 1992; CLANDININ et al., 1980). Dentre eles, os AGPI de cadeia longa da série n-3 e n-6, DHA e ARA respectivamente, são incorporados rapidamente na retina e tecido nervoso cerebral durante o crescimento do cérebro, principalmente a partir do último trimestre da gravidez até os dois anos de idade em seres humanos (DOBBING; SANDS, 1973; MARTINEZ, 1992; CLANDININ et al., 1980).

A barreira placentária apresenta locais de ligação de alta seletividade para a transferência de AGPI, como o DHA (HERRERA et al., 2006; HANEBUTT et al., 2008; DUTTAROY, 2009) fazendo com que o consumo materno desse AG durante a gestação e também lactação se torne de grande importância, visto que determina o *status* de DHA do recém-nascido e conseqüentemente afeta o desenvolvimento pós-natal do cérebro (GUESNET; ALESSANDRI, 2011). Mais especificamente, durante a lactação a deficiência de DHA foi relacionado com danos irreversíveis a funções específicas do cérebro (KODAS et al., 2002; WAINWRIGHT, 2002), além disso, esse tipo de AG pode influenciar a função cerebral ao longo da vida, modificando a fluidez da membrana neuronal, enzimas ligadas à atividade da membrana, número e afinidade de receptores, função dos canais iônicos da membrana neuronal e produção de neurotransmissores e peptídeos cerebrais (YEHUDA, 2003).

Dados experimentais indicam que a deficiência materna de DHA nos períodos de desenvolvimento afeta a acuidade visual (MULDER, KING, INNIS, 2014; de VELASCO et al., 2015) e funções cognitivas, levando a prejuízos no aprendizado e memória (BOURRE, 2004), maior suscetibilidade ao desenvolvimento de distúrbios neuronais, incluindo esquizofrenia, depressão e ansiedade (AMMINGER et al., 2010; FERRAZ et al., 2008; GREEN et al., 2006; HIBBELN, 1998; YOUNG, CONQUER, 2005), aumento da agressividade associado ao uso de drogas de abuso (BUYDENS-BRANCHEY.; BRANCHEY; HIBBELN, 2009) e também alterações na neurotransmissão dopaminérgica (KUPERSTEIN et al., 2005; ZIMMER et al., 2000).

Em contrapartida, um estudo do nosso grupo de pesquisa mostrou que o consumo de AG *trans* (AGT), presente em grande quantidade nos alimentos industrializados (TEEGALA; WILLET; MOZAFFARIAN, 2009), particularmente

durante os períodos de gestação e lactação foi relacionado com um aumento do dano oxidativo em áreas cerebrais mesocorticolímbicas da prole (TREVIZOL et al., 2013). Adicionalmente, o consumo de gordura vegetal hidrogenada, rica em AGT, durante uma ou duas gerações de ratos, foi associado a fatores relacionados com a adição (KUHN et al., 2013; 2015), sintomas de ansiedade (PASE et al., 2013), comportamentos de hiperatividade (PASE et al., 2015) e desenvolvimento de distúrbio bipolar, seguido por uma maior incorporação de AGT em diferentes áreas cerebrais (TREVIZOL et al., 2014; 2015). Deste modo, estes estudos indicam que a composição dos AG da dieta materna durante a gestação e/ou lactação é um fator crítico fortemente associado com um desenvolvimento normal fetal e pós-natal podendo predispor alterações comportamentais na prole durante a vida.

Portando, devido ao grande número de doenças e problemas de saúde relacionados com o consumo de AGT (TREVIZOL et al., 2015; 2014; PASE et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2011; BLOCK et al., 2008; WILLETT, 2006), seu uso vem sendo restringido por órgãos de saúde como a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003) e em alguns países como a Estados Unidos em três anos a partir de 2015 deve ser banido dos produtos pela indústria de alimentos (VADIVELLOO et al., 2014).

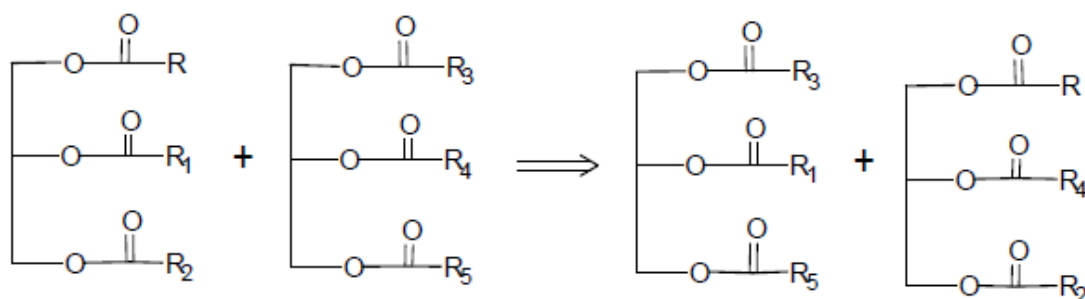
No Brasil ainda não há uma legislação nesse sentido. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), impôs em 2003 (RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003) que apenas os produtos que contenham AGT em quantidade menor ou igual a 0,2 g por porção sejam designados como zero *trans*. E recentemente em 2015, a Lei nº 2.068 com o objetivo de limitar a quantidade de gordura *trans* nos alimentos industrializados prevê o limite de 2g desta gordura nos alimentos, sendo obrigatória a exibição da quantidade de gordura *trans* nos rótulos, tendo a indústria alimentícia dois anos para diminuir a quantidade desta gordura em seus produtos

Devido aos impactos negativos resultantes das implicações desfavoráveis originadas pelo consumo de AGT, a solução encontrada pela indústria de alimentos para obtenção de uma gordura com propriedades iguais a dos AGT é um processo altamente industrializado, chamado interesterificação.

### 2.3 Interesterificação de óleos e gorduras

A interesterificação consiste em uma alternativa tecnológica ao processo de hidrogenação parcial, uma vez que viabiliza a produção de óleos e gorduras com funcionalidades específicas. Diferentemente da hidrogenação, que origina AG na configuração *trans*, a gordura interesterificada (GI) não afeta o grau de saturação, nem causa a isomerização das duplas ligações, pois os ácidos graxos não são modificados, mas sim redistribuídos nas reações éster do glicerol, originando novas estruturas (Figura 2) (RODRIGUES; GIOIELLI, 2003). Pode ser intra ou inter-moléculas de triacilgliceróis (ROZENAAL, 1992; HAUMANN, 1994) e os produtos obtidos a partir deste processo poderão conter uma maior quantidade de AGS, porém sem a presença ou com teor reduzido de AGT (GUSTONE, 1998).

Figura 2- Representação esquemática da reação de interesterificação



Fonte: (CASTRO et al., 2004).

A interesterificação pode ser realizada de duas maneiras: uma química e outra enzimática. No processo enzimático utilizam-se enzimas, tais como lipases comerciais de origens animal, vegetal ou microbiana. É conduzida sob condições de temperaturas mais amenas (CRIADO et al., 2007; RODRIGUES; GIOIELLI, 2003), sofre menos reações adversas deletérias e produz menos subprodutos (CHU et al., 2001; WANG et al., 2006). No entanto, a característica mais importante da interesterificação enzimática é a sua



regiospecificidade visto que, por exemplo, as lipases podem hidrolizar posições específicas incorporando AG nesses locais sem alterar o AG em outra posição. Por isso, é mais adequada para a interesterificação de óleos e gorduras que são mais sensíveis a temperaturas elevadas e para produção de gorduras tecnológicas e nutricionalmente superiores (CHU et al., 2001; ZHANG; SMITH; ADLER-NISSEN, 2004). No processo químico óleos e gorduras isentos de umidade são aquecidos e um catalisador, como o metóxido ou etóxido de sódio, é adicionado em proporções adequadas de forma que ocorra sua rápida e completa dispersão na matéria-prima. A reação é conduzida por intervalo de tempo pré-determinado e finalizada mediante a adição de água que promove a inativação do catalisador. A interesterificação química é a mais aplicada por ser mais simples e de menor custo e possuir um tempo de reação menor (SREENIVASAN, 1976; GUSTONE, 1998).

Interesterificação aleatória ou a mistura de óleos é usada para produzir as características sólidas desejáveis e altos níveis de AGPI (IDRIS; DIAN, 2005; KARABULUTK; TURAN; ERGIN, 2004). Na maioria dos casos a interesterificação acarreta o aumento do ponto de fusão do produto, mediante a introdução de AGS em uma posição específica do glicerol e do aumento nos níveis de triacilgliceróis. Devido a este processo alterar as características de fusão e cristalização é mais utilizado na produção de margarinas e substitutos da manteiga de cacau, onde essas propriedades são importantes (GUSTONE, 1998). Os produtos resultantes deste processo mantêm o perfil de AG e o grau de saturação das misturas iniciais (KARABULUTK; TURAN; ERGIN, 2004; RODRIGUES; GIOIELLU, 2003) porém, apresentam uma estereoquímica diferente dos triacilgliceróis, resultando em novas características físico-químicas e propriedades nutricionais, muitas delas ainda desconhecidas (KLINKESORN et al., 2004).

Estudos sobre as implicações do consumo de GI à saúde ainda são escassos e a maioria relaciona a sua ingesta com distúrbios metabólicos enquanto que, até o momento, não se tem conhecimento de nenhum estudo relacionando o consumo de GI com o SNC. Neste contexto, alguns estudos evidenciaram que dietas ricas em GI quando comparadas com gordura saturada natural, causam depleção no metabolismo dos lipídios e elevação dos

níveis de glicose em humanos (SUNDRAM; KARUPAIAH; HAYES, 2007; REIS, 2009; ENIG, 2010). O consumo da GI também foi relacionado com o aumento dos riscos metabólicos envolvidos no diabetes tipo 2, doença cardiovascular (ROBINSON et al., 2009) e aterosclerose (AFONSO et al., 2016) e particularmente durante a gestação e lactação foi relacionada com o desenvolvimento de obesidade na prole (MAGRI et al., 2014). Além disso, Bispo e colaboradores (2014) evidenciaram que o consumo de GI pode inibir a ação central anorexígena da insulina, sugerindo que esta gordura promove adaptações no controle hipotalâmico da ingesta alimentar e pode não ser segura para o consumo.

#### 2.4 Ácidos graxos, memória e estresse oxidativo

A memória é caracterizada pela capacidade de adquirir, conservar e evocar informações através de dispositivos neurobiológicos e da interação social (CUNHA; BRAMBILA; THOMAS; 2010). Estudos envolvendo a memória e a aprendizagem em modelos animais identificaram inúmeros fatores que são necessários para este processo (MORGADO-BERNAL, 2011; BEKINSCHTEIN; CAMMAROTA; MEDINA, 2014), dentre eles está o fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF).

O BDNF é membro da família das neurotrofinas (SHEIKHZADEH et al., 2015) e juntamente com seu receptor TrkB são altamente expressos em áreas cerebrais como hipocampo, hipotálamo e córtex (TAPIA-ARANCIBIA et al., 2008). O hipocampo é responsável pela memória espacial e desempenha um importante papel na cognição, sendo estas características dependentes de sua plasticidade (HAJJAR et al., 2013). O BDNF é secretado pré ou pós-sináptico e sua atividade depende tanto do seu precursor proBDNF quanto do BDNF maduro. A maioria das funções que o BDNF desempenha no SNC depende da sua interação com diferentes receptores transmembranas localizados nos dendritos, axônios e neurônios excitatórios e inibitórios como o receptor TrkB, responsável pela maioria de suas funções. (KUCZEWSKI; PORCHER; GAIARSA, 2010; PANG; LU, 2004). Recentemente foi demonstrado que após a

ligação do BDNF, o TrkB sobre fosforilação de serina, e esta fosforilação parece ser importante para que ocorra uma aprendizagem normal (LAI et al., 2012).

O BDNF desempenha um papel importante na neurogênese, potenciação a longo prazo (uma forma de plasticidade sináptica considerada um modelo celular de formação de memória de longo prazo), memória e aprendizagem, (ASL et al., 2008) modulando também a plasticidade sináptica (NEUMANN et al., 2015). É um mediador chave no processamento da memória por meio dos seus efeitos em diferentes níveis moleculares, regulando canais de cátions e modulando canais ligados a receptores NMDA e AMPA afetando a síntese protéica (CUNHA; BRAMBILA; THOMAS; 2010) Assim, a diminuição dos níveis tanto de BDNF quanto de seu receptor vem sendo relacionada com prejuízos na memória e na aprendizagem (ARCEGO et al 2016; KEMPPAINEN et al., 2016).

A memória e a aprendizagem podem ser prejudicadas pelo tipo de alimentação consumida (PASE et al 2017; ARCEGO et al., 2016) e alguns estudos demonstram que o consumo de AGPI da série n-3 pode modificar os níveis de neurotrofinas como o BDNF, podendo promover a neuroplasticidade, aumentar a sobrevivência celular e a neurogênese hipocampal (RATHOD et al., 2015). Além disso, uma dieta materna deficiente em AGPI da série n-3 durante os períodos de gestação e lactação vem sendo relacionada com uma diminuição da expressão de BDNF promovendo mudanças no desenvolvimento cerebral a longo prazo em ratos adultos (CHAONAN et al., 2016). Em contrapartida, um estudo recente mostrou que a suplementação materna de DHA parece exercer um efeito neuroprotetor contra prejuízos de memória e aprendizagem em ratos adolescentes (GAO et al., 2016) e em humanos baixos níveis deste AGE foram associados a doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (SCHAEFER et al., 2006; SODERBERG et al., 1991)

O estresse oxidativo é outro fator que pode levar a um prejuízo de memória. Estudo prévio do nosso grupo de pesquisa evidenciou a influência dos AG da dieta no *status* oxidativo cerebral, afetando a expressão do BDNF mRNA no hipocampo (Trevizol et al., 2015). O estresse oxidativo ocorre quando a geração de espécies reativas (ER) excede a capacidade de defesa

do sistema antioxidante (SIES, 1993), resultando em danos aos lipídios, proteínas e ao DNA, inibindo a função celular normal (REES et al., 2007) sendo relacionado à vários distúrbios que afetam o SNC (ANDREAZZA et al., 2010; PATKI; CHE; LAU, 2009; PASE et al., 2013; TREVIZOL et al., 2013). Os antioxidantes podem agir enzimaticamente detoxificando o agente oxidante antes que ele cause lesão, como a glutathione peroxidase, a catalase e a superóxido dismutase ou não enzimaticamente, reparando a lesão ocorrida, através da glutathione (HALLIWEL, 2000; FERREIRA; MATSUBARA et al., 1997). As ER podem interagir com as membranas celulares resultando na peroxidação lipídica, caracterizada pela reação entre os radicais livres com os lipídios insaturados das membranas (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

As proteínas também são alvos das ER, suas modificações oxidativas alteram sua estrutura provocando perda de função e fragmentação das estruturas protéicas com formação de proteína carbonil. A quantificação da proteína carbonil pode ser usada para medir a extensão do dano oxidativo observado em várias doenças como diabetes, processos inflamatórios e doença de Alzheimer (BERLET; STADMAN, 1997; BEAL et al., 2003; DALLE-DONNE et al., 2003). Recentemente, Rai e colaboradores. (2014) mostraram que a administração de substâncias que produzem neuroinflamação e estresse oxidativo no córtex e hipocampo levando a apoptose e dano pós-sináptico resultando a prejuízos de memória. Nesse sentido, o estresse oxidativo vem sendo relacionado com diferentes doenças relacionadas com prejuízos de memória, incluindo a doença de Alzheimer (BEZPROZVANNY; MATTSON, 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Verificar a influência da suplementação de gordura interesterificada em ratos de primeira geração sobre parâmetros de memória, bioquímicos e moleculares.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência da suplementação de gordura interesterificada (GI) desde os períodos de gestação e lactação, até a idade adulta dos filhotes machos sobre a performance de memória através do teste de reconhecimento do objeto novo (TRON);
- Avaliar a influência da suplementação crônica da GI sobre o perfil lipídico hipocampal dos ratos machos adultos de primeira geração, os quais se desenvolveram e cresceram sob a suplementação indireta e direta desta gordura.
- Avaliar a influência da suplementação crônica da GI sobre o *status* oxidativo em hipocampo de ratos de 1ª geração;
- Investigar a influência da suplementação crônica de GI sobre os níveis de BDNF e seu receptor TrkB no hipocampo de ratos de 1ª geração.

#### **4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

Os resultados inseridos nesta dissertação apresentam-se sobre a forma de artigo científico, que se encontra a seguir estruturado. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se inclusos no próprio artigo, os quais estão dispostos na mesma forma como foram publicados.

#### 4.1 Artigo

### **TOXICOLOGICAL ASPECTS OF INTERESTERIFIED FAT: BRAN DAMAGES IN RATS**

Lívia Ferraz D'avila, Verônica Tironi Dias, Luciana Taschetto Vey, Laura Hautrive Milanesi, Karine Roversi, Tatiana Emanuelli, Marilise Escobar Burger, Fabíola Trevizol, Luana Maurer

Periódico: **Toxicology Letters**

Status: **Publicado**

**DOI:** 10.1016/j.toxlet.2017.05.020

## Licença da Elsevier para utilização deste conteúdo publicado

License Number	4147100003601
License date	Jul 13, 2017
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Toxicology Letters
Licensed Content Title	Toxicological aspects of interesterified fat: Brain damages in rats
Licensed Content Author	Livia Ferraz D'avila, Verônica Tironi Dias, Luciana Taschetto Vey, Laura Hautrive Milanesi, Karine Roversi, Tatiana Emanuelli, Marilise Escobar Bürger, Fabíola Trevizol, H. Luana Maurer
Licensed Content Date	Jul 5, 2017
Licensed Content Volume	276
Licensed Content Issue	n/a
Licensed Content Pages	7
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	full article
Format	print
Are you the author of this Elsevier article?	Yes
Will you be translating?	No
Order reference number	
Title of your thesis/dissertation	Influence of interesterified fat on behavioral biochemical and molecular parameters in rats
Expected completion date	Jul 2017
Estimated size (number of pages)	50
Elsevier VAT number	GB 494 6272 12
Requestor Location	Ms. Livia D'avila Avenida Roraima número 1000 prédio 21 sala 5220 santa maria, rio grande do sul 971059000 Brazil Attn: Ms. Livia D'avila





Contents lists available at ScienceDirect

## Toxicology Letters

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/toxlet](http://www.elsevier.com/locate/toxlet)

## Toxicological aspects of interesterified fat: Brain damages in rats



Lívia Ferraz D'ávila<sup>a</sup>, Verônica Tironi Dias<sup>a</sup>, Luciana Taschetto Vey<sup>b</sup>, Laura Hautrive Milanesi<sup>a</sup>, Karine Roversi<sup>a</sup>, Tatiana Emanuelli<sup>c</sup>, Marilise Escobar Bürger<sup>a,b,d,\*</sup>, Fabíola Trevizol<sup>a,\*</sup>, H. Luana Maurer<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS, Brazil

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, UFSM, RS, Brazil

<sup>c</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFSM, RS, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFSM, RS, Brazil

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Reactive species  
Novel object recognition task  
First generation  
Central nervous system

## ABSTRACT

In recent years, interesterified fat (IF) has been used to replace hydrogenated vegetable fat (HVF), rich in *trans* isomers, being found in processed foods. Studies involving IF have shown deleterious influences on the metabolic system, similarly to HVF, whereas no studies regarding its influence on the central nervous system (CNS) were performed. Rats from first generation born and maintained under supplementation (3 g/Kg, p.o.) of soybean-oil or IF until adulthood were assessed on memory, biochemical and molecular markers in the hippocampus. IF group showed higher saturated fatty acids and linoleic acid and lower docosahexaenoic acid incorporation in the hippocampus. In addition, IF supplementation impaired short and long-term memory, which were related to increased reactive species generation and protein carbonyl levels, decreased catalase activity, BDNF and TrkB levels in the hippocampus. To the best of our knowledge, this is the first study to show that lifelong IF consumption may be related to brain oxidative damage, memory impairments and neurotrophins modifications, which collectively may be present indifferent neurological disorders. In fact, the use of IF in foods was intended to avoid damage from HVF consumption; however this substitute should be urgently reviewed, since this fat can be as harmful as *trans* fat.

## 1. Introduction

Intesterified fat (IF) is the current substitute for hydrogenated vegetable fat (HVF) in processed foods, especially due to the presence of *trans* fatty acids (TFA) in HVF, which has been related to impairments to health (Mozzafarian and Stampfer, 2010; Downs et al., 2013; Trevizol et al., 2015; Dias et al., 2015a; Pase et al., 2015). Such presence has caused restrictions or even legal prohibitions in some countries (Ratnayake et al., 2014). The interesterification process results in modifications of physico-chemical characteristics of oils and fats (Norizzah et al., 2004), thus involving redistribution of fatty acids (FA) among and inside triacylglycerols molecules until a thermodynamic equilibrium is reached (Idris and Dian, 2005; Karabulut et al., 2004). In this sense, FA interesterification implicates a chemical or enzymatic process: while chemical interesterification produces random rearrangements, has a lower cost and a short reaction time (Klinkesorn et al., 2004), enzymatic interesterification uses commercial lipases from

plant, animal or microbial sources and is conducted under mild temperature (Criado et al., 2007 Rodrigues and Gioielli, 2003). Therefore, the latter produces fewer deleterious side reactions and by-products and its main characteristic is its regiospecificity (Wang et al., 2006).

Animal studies have shown that IF consumption was able to impair insulin secretion, thus increasing the LDL/HDL ratio and the blood pressure (Sundram et al., 2007). Moreover, a recent study showed a relationship between IF supplementation and obesity when it was ingested during pregnancy and lactation (Magri et al., 2015). In addition, Bispo et al. (2015) showed that IF consumption was related to inhibition of the central anorexigenic action of insulin, suggesting that this fat promotes adaptations in the hypothalamic control of food intake. Nevertheless, so far there are no studies that show the influence of IF on any functions of the CNS. In this sense, gestational and neonatal periods are critical for the neural development and consequently for the brain functions (Martinez, 1992) and diets exert significant influence on

\* Corresponding authors at: Graduation Program of Pharmacology Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) Santa Maria-RS, 97105-900, Brazil.

E-mail addresses: [liviadavila@hotmail.com](mailto:liviadavila@hotmail.com) (L.F. D'ávila), [veltd@hotmail.com](mailto:veltd@hotmail.com) (V.T. Dias), [luciana.taschetto@hotmail.com](mailto:luciana.taschetto@hotmail.com) (L.T. Vey), [laura-milanesi@hotmail.com](mailto:laura-milanesi@hotmail.com) (L.H. Milanesi), [karineroversi@hotmail.com](mailto:karineroversi@hotmail.com) (K. Roversi), [tatiana.emanuelli@hotmail.com](mailto:tatiana.emanuelli@hotmail.com) (T. Emanuelli), [marilise.burger@ufsm.br](mailto:marilise.burger@ufsm.br) (M.E. Bürger), [fatrevizol@yahoo.com.br](mailto:fatrevizol@yahoo.com.br) (F. Trevizol), [luanahmaurer@gmail.com](mailto:luanahmaurer@gmail.com) (H.L. Maurer).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.05.020>

Received 22 March 2017; Received in revised form 9 May 2017; Accepted 16 May 2017

Available online 17 May 2017

0378-4274/ © 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

them (Anjos et al., 2013). Of particular importance, the different FA supplied by the diet are easily incorporated into the neural membrane phospholipids (Teixeira et al., 2012; Trevizol et al., 2015a) after the processes of desaturation and elongation, thus modifying fluidity and plasticity of the membrane and affecting its neurotransmission (Larqué et al., 2003).

Previous studies from our group have shown influences of dietary FA on brain oxidative status, thus affecting brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in the hippocampus (Trevizol et al., 2015), which is a primary brain structure involved in memory functions (Winocur et al., 2006).

Considering that oxidative damage is associated to many disturbances that affect the CNS (Andreazza et al., 2010; Patki et al., 2009; Pase et al., 2013; Trevizol et al., 2013), oxidative stress occurs when reactive species (RS) generation exceeds the capacity of the antioxidant defense system (Sies, 1993), resulting in damage to lipids, proteins and DNA, inhibiting the normal cellular function (Rees et al., 2007). As polyunsaturated fatty acids (PUFA) are pivotal components of brain membranes, they are extremely sensitive to oxidation by RS attack (Siems et al., 1995). Rai et al. (2014) has recently shown that administration of substances that produce neuroinflammation and oxidative stress in the cortex and the hippocampus leads to apoptosis and post synaptic damage resulting in memory impairment. In fact, oxidative stress has been related to different disorders associated to memory impairments, including Alzheimer's disease (Bezprozvanny and Mattson, 2008).

So far, most studies regarding IF consumption have focused on the influences on the metabolic system, while no studies have been published about impairments to the CNS. Therefore, the current study was performed to investigate influences of long-term IF consumption on memory acquisition, oxidative and molecular parameters in the hippocampus of rats from first generation.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Animals

All animal procedures were approved by the Research Ethics Committee of Universidade Federal de Santa Maria. The experimental protocol was approved by the Animal Ethics Committee (n° 1391090616), which is affiliated to the Council for the Control of Animal Experiments (CONCEA), following international norms of animal care and maintenance, and all efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering. Animals were housed four per cage and kept in Plexiglas cages with free access to food and water in a room with controlled temperature ( $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ ) and on a 12 h-light/dark cycle with lights on at 7:00 a.m., throughout the experimental period.

### 2.2. Experimental design

To perform this trial, adult female Wistar rats ( $n = 14$ ) were supplemented (3 g/kg; oral) (Trevizol et al., 2013; Kuhn et al., 2013; Pase et al., 2013) one week before mating, with either soybean oil (SO–C, isocaloric control group) Camera, Ijuí, Brazil (purchased from a local supermarket) or interesterified fat (IF), donated by Triângulo Alimentos<sup>®</sup> (São Paulo, Brazil), and were maintained under the same supplementation during pregnancy and lactation. The FA profile of each supplemented fat (SO and IF) is shown in Table 1. SO was used as a control group due to its consumption worldwide (Zhang et al., 2011; Bazinet and Chu, 2014; Ooi et al., 2013). In fact, SO contains adequate levels of PUFA, presenting an acceptable n-6/n-3 PUFA ratio, which should not exceed 10:1 (Russo, 2009), while the current Western diet deficient in omega-3 FA presents n-6/n-3 PUFA ratio about of 15–20:1 (Candela et al., 2011; Simopoulos, 2016). The experimental groups were isocaloric in order to prevent obvious metabolic differences

**Table 1**

Fatty acid composition (% of total identified FA) of the dietary supplementations: SO–C (soybean oil-control) and IF (interesterified fat).

Fatty acids	SO–C	IF
SFA $\Sigma$ SFA	15.95	55.23
$\Sigma$ n-6 PUFA	51.77	10.00
$\Sigma$ n-3 PUFA	5.62	0.32
$\Sigma$ MUFA	26.36	33.82
$\Sigma$ PUFA	57.39	10.33
n6/n3 PUFA ratio	9.21	30.99

Abbreviations: SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

among animals, which could cause interferences on the antioxidant defense system (Diniz et al., 2004). From weaning, postnatal day (PND) 21, one male pup of each litter ( $n = 7$ ) was maintained on the same original oral supplementation until PND 90, when they were submitted to the novel object recognition task, which is described below.

### 2.3. Behavioral assessments

#### 2.3.1. Novel object recognition task (NORT)

This protocol is related to the animals' natural impulse to explore novelties, being considered an innate impulse to recognize their environment (Heldt et al., 2007). A elevated score implies a higher recognition rate, indicating better memory. The NORT was performed in the same open field arena as previously described (de Lima et al., 2005): the arena floor was covered with sawdust (from bedding material) during the recognition memory training and test trials. On the first day (training trial), animals were exposed to two identical objects (O1 and O2, double Lego toys) that were positioned in two adjacent corners of the box. Rats freely explored the objects for 5 min. After the training session, testing of short-term memory and long-term memory was performed 1 and 24 h, respectively. Animals explored the arena for 5 min in the presence of two objects: the familiar Object O1 and a second novel Object O3 or O4, which were placed at the same locations as in the training session. The objects were similar each other's (color, texture and size), but presenting different shapes. All the objects were cleaned with a 5% alcohol solution between each trial. Exploration event was defined as sniffing/touching the object with the nose. A recognition index calculated for each animal was expressed by the ratio  $TN/(TF + TN)$  (TF = time spent exploring the familiar object; TN = time spent exploring the novel object).

### 2.4. Tissue preparations

Following (24 h) the last behavioral assessments on PND 92, all animals were anesthetized (isoflurane, inhalation solution) and euthanized by exsanguination (blood was collected by cardiac puncture in heparinized tubes). Their brains were removed, maintained on ice, and the hippocampus was removed (Paxinos and Watson, 2013). Tissue was separated into three parts, one of which was homogenized in 10 vol (w/v) of 0.1 M Tris-HCl, pH 7.4 and centrifuged at 3,500g (15 min), and the supernatant was used for biochemical assay. A second part of each hippocampus was used to determine the fatty acids profile, and the third part was stored in a freezer at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  for subsequent molecular analysis.

### 2.5. Fatty acids (FA) profile in brain tissue

Fat was extracted from brain samples using chloroform and methanol as described by Bligh and Dyer (1959), and used for determination of the FA profile. To prevent lipid oxidation during and after extraction, 0.02% butyl hydroxy toluene was added to the chloroform used. FA composition was determined by gas chromatography.

graphy. Fat was saponified in methanolic KOH solution and esterified in methanolic H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution (Hartman and Lago, 1973). Methylated FA were analyzed using a gas chromatograph (Agilent Technologies, HP 6890N) equipped with a capillary column DB-23 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm) and flame ionization detector. The temperature of the injector port was set at 280 °C and the carrier gas was nitrogen (0.9 mL/min). After injection (1 μL, split ratio 50: 1), the oven temperature was held at 160 °C for 1 min, then increased to 240 °C at 4 °C/min and maintained at this temperature for 9 min. Standard FA methyl esters (37-component FAME Mix, C 22:5n3 and PUFA no. 2 from Sigma, Saint Louis, MO and C 22:5n-6 from NuChek Prep. Inc., Elysian, MN) were run under the same conditions and the subsequent retention times were used to identify the FA. FA were expressed as percentage of the total FA content.

## 2.6. Biochemical assessments

### 2.6.1. Reactive species (RS) generation with DCH (dichlorofluorescein-reactive species, DCH-RS)

RS levels were measured using the oxidant sensing fluorescent probe 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCHF-DA) (Hempel et al., 1999). Oxidation (DCHF DA) to fluorescent dichlorofluorescein (DCF) was determined at 488 nm for excitation and 525 nm for emission. An aliquot of 10 μM DCHF-DA in ethanol was added to the supernatants, and fluorescence intensity from DCF was measured for 300 s and expressed as a percentage of control group. Protein content was normalized by quantification according to Lowry et al. (1951).

### 2.7. Protein carbonyl (PC) quantification

Oxidative damage to hippocampal proteins was quantified by the method of Yan et al. (1995), with some alterations. Soluble protein was mixed with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH; 10 mM in 2 M HCl) or HCl (2 M) and incubated at room temperature for 1 h. Denaturing buffer (150 mM sodium phosphate buffer, pH 6.8, with 3% sodium dodecyl sulfate), ethanol (99.8%) and hexane (99.5%) were added, being mixed by shaking and centrifuged. The protein isolated from the interface was washed twice with ethyl acetate/ethanol 1:1 (v/v) and suspended in denaturing buffer. Each DNPH sample was read at 370 nm in a spectrophotometer against the corresponding HCl sample (blank). Results were expressed as nmol carbonyl/g tissue.

### 2.8. Catalase (CAT) activity

The hippocampal enzyme activity was spectrophotometrically quantified by the method of Aebi (1984), which involves monitoring the disappearance of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in the presence of cell homogenate (pH 7.0 at 25 °C) at 240 nm. The enzymatic activity was expressed in mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/g tissue.

#### Molecular Assessments

Hippocampal tissue was homogenized in a lysis buffer containing

137 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.0, 1% NP40, 10% glycerol, 1 mM PMSF, 10 mg/ml aprotinin, 0.1 mM benzethonium chloride, 0.5 mM sodium vanadate. Homogenates were then centrifuged at 12G for 30 min, supernatants were collected, and total protein concentration was determined according to the MicroBCA procedure (Pierce, IL), using bovine serum albumin as standard. Briefly, protein samples were separated by electrophoresis on an 8, 10 or 12.5% polyacrylamide gel and electrotransferred to a PVDF membrane (Millipore, MA). Nonspecific binding sites were blocked in Tris-buffered saline (TBS) at 4 °C overnight, with 2% BSA and 0.1% Tween-20. Membranes were rinsed in buffer (0.05% Tween-20 in TBS) and then incubated with primary antibodies: anti-actin (1:1000; Santa Cruz Biotechnology, CA), anti-BDNF (1: 500; Santa Cruz Biotechnology, CA), anti-proBDNF (1: 500; Santa Cruz Biotechnology, CA), anti-TrkB (1:1000; Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) followed by anti-goat and anti-rabbit (1: 40,000; Santa Cruz Biotechnology, CA) IgG horseradish peroxidase conjugate. After rinsing with buffer, immunocomplexes were visualized by chemiluminescence using ECL kit (GE Healthcare Life Sciences, NJ, USA) according to the manufacturer's instructions. Film signals were digitally scanned and then quantified using ImageJ software. Actin was used as an internal control and data were standardized according to its values.

### 2.9. Statistical analysis

All data were analyzed by student's T test (software package Statistica 8.0 for Windows was used). Results are expressed as means ± S.E.M. Values of *P* < 0.05 were considered statistically significant for all comparisons made.

## 3. Results

### 3.1. Weight gain

The different experimental groups showed no differences of body weight gain, which was monitored during the whole procedure (data not shown).

### 3.2. Time spent on the novel object recognition test (NORT) (Fig. 1)

Paired *t*-test showed that rats from IF group had decreased short-term (*P* < 0.05) (Fig. 1A) and long-term (*P* < 0.05) (Fig. 1B) memory when compared to SO-C group.

### 3.3. Fatty acids composition quantified in the hippocampus (Table 2)

*T*-test revealed that IF supplementation was able to increase ΣSFA by 3.78% and linoleic acid (LA- C18:2n6) by 75.47% in the hippocampus, when compared to SO-C supplementation. This same experimental group also showed decreased docosahexaenoic acid (DHA- C22:6n3) incorporation (29.83%) in this brain area in relation to SO-C group.

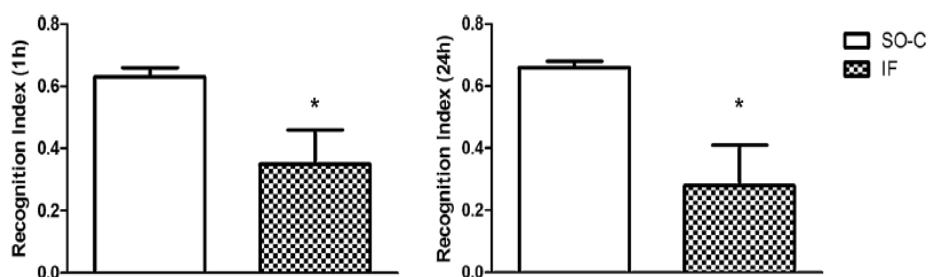


Fig. 1. Influence of IF supplementation on recognition index in the hippocampus of adult rats born to IF or SO supplemented dams from gestation and lactation. Pups were maintained in the same supplementation until 90 days of age (*n* = 7). Short-term memory (STM) and long-term memory (LTM) retention tests were performed 1 h (A) and 24 h (B) after training, respectively. Data are expressed as mean ± S.E.M. Abbreviations: soybean oil (SO); interesterified fat (IF). \*indicates significant difference between SO and IF (*P* < 0.05).

**Table 2**  
Fatty acids composition in the hippocampus of rats supplemented with different oil/fat during first generation (% of total fatty acids identified).

Fatty acid	Mean (± SD)	
	SO–C	IF
Σ SFA	23.52 ± 0.41 <sup>b</sup>	24.41 ± 0.49 <sup>a</sup>
Σ MUFA	29.67 ± 1.75	28.14 ± 0.74
LA 18:2 n-6	1.59 ± 0.18 <sup>b</sup>	2.79 ± 0.10 <sup>a</sup>
DHA 22:6 n-3	7.44 ± 0.82 <sup>a</sup>	5.22 ± 0.59 <sup>b</sup>
Σ PUFA	23.10 ± 3.58	23.88 ± 2.86
n6/n3 PUFA ratio	2.04 ± 0.01	1.43 ± 0.00

<sup>a,b</sup> Different lowercases indicate significant difference among SO–C, and IF ( $P < 0.05$ ). Abbreviations: SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; LA: n-6 linoleic acid; DHA: docosahexaenoic acid.

#### 3.4. Influence of different supplementations on reactive species (RS) generation, protein carbonyl (PC) levels and catalase (CAT) activity in the hippocampus (Fig. 2)

Long-term IF supplementation was associated to increased RS generation ( $P < 0.05$ ) (Fig. 2A) and PC levels ( $P < 0.05$ ) (Fig. 2B) in comparison to SO–C group. IF group showed decreased CAT activity in the hippocampus ( $P < 0.05$ ) (Fig. 2C) in relation to SO–C group.

#### 3.5. Influence of different supplementations on pro-BDNF, BDNF, TrkB receptor immunoreactivity in the hippocampus (Fig. 3)

IF group showed no effect on pro-BDNF levels (Fig. 3A) in comparison to SO–C group. Long-term IF supplementation was related to decreased BDNF levels ( $P < 0.001$ ) (Fig. 3B) and TrkB receptor levels ( $P < 0.05$ ) (Fig. 3C) in relation to SO–C group.

#### 3.6. Correlations (Table 3)

Both ΣSFA and LA were negatively correlated with BDNF levels ( $r^2 = 0.60$ ,  $P = 0.02$  and  $r^2 = 0.85$ ,  $P = 0.001$ , respectively). In addition, DHA showed a positive correlation with BDNF levels in the hippocampus ( $r^2 = 0.65$ ,  $P = 0.01$ ). Interestingly, while hippocampal LA incorporation showed a negative correlation with both short-term (1 h) and long-term (24 h) memory ( $r^2 = 0.53$ ,  $P = 0.03$  and  $r^2 = 0.75$ ,  $P = 0.04$ , respectively), DHA incorporation showed a positive correlation with these same times of behavioral assessment ( $r^2 = 0.70$ ,  $P = 0.008$  and  $r^2 = 0.70$ ,  $P = 0.008$ , respectively). Additionally, BDNF and TrkB showed significant negative correlations with PC ( $r^2 = 0.81$ ,  $P = 0.002$  and  $r^2 = 0.58$ ,  $P = 0.02$ ) and RS levels ( $r^2 = 0.81$ ,  $P = 0.003$  and  $r^2 = 0.62$ ,  $P = 0.01$ ), as well as with CAT activity ( $r^2 = 0.81$ ,  $P = 0.002$  and  $r^2 = 0.58$ ,  $P = 0.02$ ), respectively.

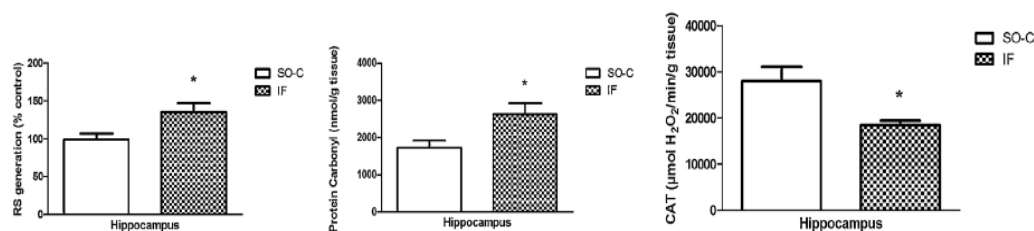
## 4. Discussion

Here we observed that chronic consumption of interesterified fat (IF) was related to memory impairments along with oxidative damage

and molecular modifications in the hippocampus of rats from first generation. Supplementations containing soybean oil (SO–C) or IF started during pregnancy and were maintained during breastfeeding throughout the adulthood of the offspring. This experimental design was adopted mainly because maternal fatty acids (FA) intake during pregnancy and lactation are transferred to the offspring through the placenta and milk, which is the only source of FA to the prole (Innis, 2007). Besides, another issue that should be taken into account is the type of FA incorporated in the neural membrane phospholipids, which are able to affect both fetal and postnatal central nervous system (CNS) development (de Souza et al., 2012; Trevizol et al., 2015a; Herrera, 2002).

In this sense, our research group has invested efforts to understand the influences of the prolonged consumption of dietary fats on FA incorporation in the neural membranes of brain areas and their consequences to susceptibility to develop neuropsychiatric conditions. Such studies have shown that prolonged consumption of hydrogenated vegetable fat, which is rich *trans* FA, favored incorporation of these FA in brain areas, reflecting on memory impairments (Pase et al., 2017), hyperactivity (Pase et al., 2013, 2015), movement disorders (Teixeira et al., 2012), mania-like behavior (Trevizol et al., 2013, 2015b; Dias et al., 2015a,b), facilitating also addiction to morphine (Roversi et al., 2016) and amphetamine in animals from first (Kuhn et al., 2013, 2015a) and second generation (Kuhn et al., 2015b).

In recent years, IF has replaced *trans* fat in food processing, especially due to cardiovascular damage related to its consumption (Machado et al., 2012; Mensink et al., 2003). However, no studies regarding the possible influence of IF consumption on the brain FA profile have been shown so far, especially in the hippocampus, which is a critical brain area involved in learning and memory. With the current study, it was possible to observe that animals from the first generation born under IF supplementation showed increased incorporation of saturated fatty acids (SFA) and linoleic acid (LA) along with decreased incorporation of docosahexaenoic acid (DHA) in the hippocampus. More detailed, we believe that this minor incorporation of DHA levels in the hippocampus may be subsequent to increased SFA and/or LA incorporation in this brain area. In fact, as previously described with *trans* FA (Trevizol et al., 2013), we hypothesized that SFA may suppress the activity of  $\delta$ -5 and  $\delta$ -6 desaturase, thus affecting desaturation and elongation of n-3 polyunsaturated FA (PUFA) such as  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) and n-6 PUFA (LA) to n-3 and n-6 long chain-polyunsaturated FA (n-3, n-6 LC-PUFA) such as DHA and arachidonic acid (ARA), respectively (Rapoport, 2001). Based on this, we hypothesized that such suppression may be related to decreased DHA and increased LA levels in the hippocampus, since the latter was poorly converted to ARA. Of particular importance to our findings, DHA cannot be naturally synthesized by mammals, classified as an essential FA (EFA) and it needs be supplied by the diet. More exactly, DHA is the major n-3 LC-PUFA in importance for the CNS, and its dietary provision is fundamental for the development and maintenance of the brain functions from the early stages of life to adulthood (van Gelder et al., 2007). A recent study showed that DHA is capable to protect the hippocampus against oxidative stress and apoptosis, preventing memory impairments



**Fig. 2.** Influence of IF supplementation on oxidative parameters: RS generation (A), PC levels (B), and CAT activity (C) in the hippocampus of adult rats born to IF or SO supplemented dams from gestation and lactation. Pups were maintained in the same supplementation until 90 days of age ( $n = 7$ ). Data are expressed as mean ± S.E.M. Abbreviations: soybean oil (SO); interesterified fat (IF). \*indicates significant difference between SO and IF ( $P < 0.05$ ).

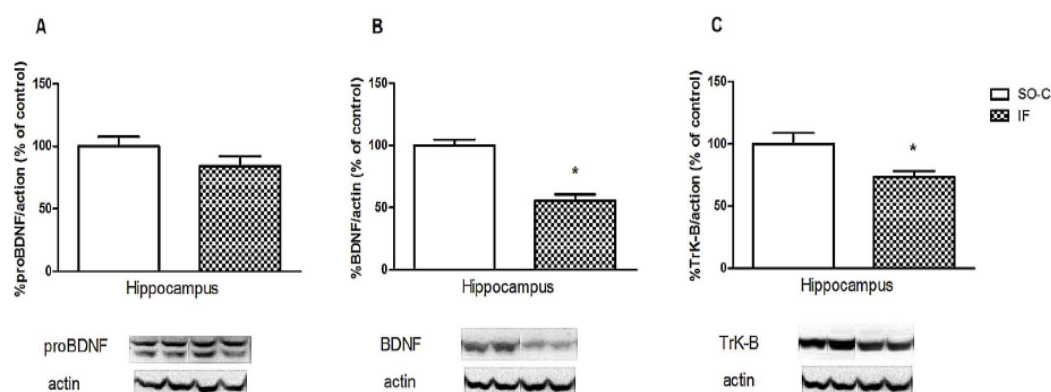


Fig. 3. Influence of IF supplementation on molecular parameters: pro-BDNF (A), BDNF (B), and Trk-B (C) in the hippocampus of adult rats born to IF or SO supplemented dams from gestation and lactation. Pups were maintained in the same supplementation until 90 days of age ( $n = 7$ ). Each two bands in the sequence correspond to one bar in the figure. Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. Abbreviations: soybean oil (SO); interesterified fat (IF). \*indicates significant difference between SO and IF ( $P < 0.05$ ).

Table 3

Correlations between molecular parameters and biochemical analysis performed in hippocampus of rats supplemented with different oil/fat during first generation.

Parameters		Correlation	P value
$\Sigma$ SFA	BDNF immunoreactivity	(-) $r^2 = 0.60$	0.02
LA	Short-term memory (1 h)	(-) $r^2 = 0.58$	0.03
	Long-term memory (24 h)	(-) $r^2 = 0.75$	0.04
	BDNF immunoreactivity	(-) $r^2 = 0.85$	0.001
DHA	Short-term memory (1 h)	(+) $r^2 = 0.70$	0.008
	Long-term memory (24 h)	(+) $r^2 = 0.70$	0.008
	BDNF immunoreactivity	(+) $r^2 = 0.65$	0.01
BDNF	Protein carbonyl levels	(-) $r^2 = 0.81$	0.002
	Catalase activity	(-) $r^2 = 0.81$	0.002
	Reactive species levels	(-) $r^2 = 0.81$	0.003
TrkB	Protein carbonyl levels	(-) $r^2 = 0.58$	0.02
	Catalase activity	(-) $r^2 = 0.58$	0.02
	Reactive species levels	(-) $r^2 = 0.62$	0.01

Abbreviations: SFA, saturated fatty acids; LA, linoleic acid; DHA, docosahexaenoic acid; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; TrkB, tropomyosin-related kinase B.

(Gao et al., 2016). Indeed, this protective action of the DHA was attributed to its capacity to maintain the integrity of brain membranes (Feng et al., 2012), also exerting protection on antioxidant enzymes (Casañas-Sánchez et al., 2015).

We believe that not only the excess or amount, but the type or quality of the fat ingested is able to modify the incorporation of FA in the neural membranes of the brain, thus affecting oxidative parameters and consequently brain functions. In fact, lower levels of DHA could be favoring the pro-inflammatory cascade from n-6 PUFA (Benatti et al., 2004). The metabolites of n-6 PUFA are prostaglandins of series 2, thromboxanes and leukotrienes (James et al., 2000) that are responsible for the generation of RS and pro-inflammatory cytokines, these events may be responsible for the development of oxidative stress (Calder, 2006), as observed in our study.

Thus, we observed that animals chronically supplemented with IF during the early periods of life showed increased hippocampal oxidative damage, which was evidenced by increased generation of reactive species (RS) and levels of protein carbonyls (PC) together with a reduced activity of the antioxidant catalase (CAT) in this brain area. In parallel, these same animals showed impaired short and long-term memory, confirming that oxidative damage in brain areas related to learning and cognition such as the hippocampus may affect memory performance. According to this, previous studies from our group showed a relationship between prolonged *trans* fat consumption and a significant incorporation of *trans* FA in both the hippocampus and the striatum (Trevizol et al., 2013), which were reflected on memory

impairments. Besides, the Western diet contains elevated amounts of SFA (Kris-Etherton et al., 2002; Simopoulos, 2002), whose high consumption has also been associated to this same damage (Beilharz et al., 2016) leading to epigenetic changes on neurotrophins such as BDNF (Mychasiuk et al., 2015). In this sense, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) acts as a memory molecule (Bliss and Collingridge, 1993), being considered an important factor in the regulation of synaptic plasticity and memory acquisition (Gomez-Palacio-Schjetnan and Escobar, 2013). This neurotrophin is highly expressed in adult mammals, especially in the hippocampus and the cortex, which are brain areas closely related to memory (Wong et al., 2009). Thus, BDNF reduction as well as its TrkB receptor has been related to memory and learning impairments (Arceo et al., 2016; Kempainen et al., 2012). Interestingly, our outcomes showed that IF supplemented animals showed reduced levels of both BDNF and TrkB, thus reflecting on an impaired memory performance, which was also observed in this same experimental group.

To the best of our knowledge, this is the first study to show that prolonged consumption of IF in early stages of life is able to: i) modify FA composition in the hippocampus, favoring SFA and LA incorporation, thus decreasing DHA content; (ii) exert deleterious influences on the antioxidant defense system, favoring the development of oxidative damage in the same brain area; (iii) cause impairments in memory performance; iv) decrease immunoreactivity of both BDNF and its TrkB receptor in the hippocampus, which are closely linked to learning and cognition. These outcomes may be reinforced through various significant correlations which were observed in our data, as follows: negative between  $\Sigma$ SFA levels and BDNF (60%); negative between LA level and short-term (58%) and long-term (75%) memory, and negative between LA and BDNF (85%); positive between DHA level with short-term (70%) and long-term (70%) memory; negative between BDNF and TrkB immunoreactivity with PC levels (81 and 58%), CAT activity (81 and 58%) and RS (81 and 62%), respectively. Taken together, these findings observed in the hippocampus of IF supplemented animals allow us to conclude that: i) increased incorporation of SFA and LA decreased BDNF, impairing memory acquisition; ii) higher oxidative damage reduced levels of BDNF and TrkB.

Based on these data, we can suggest that precaution should be taken by the food industry about the toxicological aspects of the use of IF as a substitute for *trans* fat, since our study shows that IF consumption is also able to cause impairments in the CNS. Further studies involving IF consumption and its influence on other brain areas are needed.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Acknowledgements

Authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, Brazil) and PRPGP-UFMS (PROAP) for their fellowships and the financial. The authors are grateful to the Triângulo Alimentos for the donation of interesterified fat.

## References

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121–126. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Andreazza, A.C., Shao, L., Wang, J.F., Young, T., 2010. Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 360–368. <http://dx.doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.22>.
- Anjos, T., Altmäe, S., Emmett, P., Tiemeier, H., Cloas-Monasterolo, R., Luque, V., 2013. Nutrition and neurodevelopment in children: focus on NUTRIMENTHE project. *Eur. Nutr.* 52, 1825–1842. <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-013-0560-4>.
- Arcego, D.M., Krowl, R., Lampert, C., Toniazzo, A.P., Berlitz, C., Lazzaretti, C., et al., 2016. Early life adversities or high fat diet intake reduce cognitive BDNF signaling in adult rats: interplay of these factors changes these effects. *Int. J. Dev. Neurosci.* 50, 16–25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.03.001>.
- Bazinet, R.P., Chu, M.W., 2014. Omega-6 polyunsaturated fatty acids: is a broadcholesterol-lowering health claim appropriate? *CMAJ* 186 (6), 434–439. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.130253>.
- Beilharz, J.E., Kaakoush, N.O., Maniam, J., Morris, M.J., 2016. The effect of short-term exposure to energy-matched diets enriched in fat or sugar on memory, gut microbiota and markers of brain inflammation and plasticity. *Brain Behav. Immun.* 57, 304–313. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2016.07.151>.
- Benatti, P., Peluso, G., Nicolai, R., Calvani, M., 2004. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. *J. Am. Coll. Nutr.* 23, 281–302. <http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2004.10719371>.
- Bezprozvany, I., Mattson, M.P., 2008. Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 31, 454–463. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2008.06.005>.
- Bispo, K.P., Rodrigues, L.O., de Souza, E.S.S., Mucci, D., do Carmo, M.G.T., de Albuquerque et al., K.T., 2015. *Trans* and interesterified fat and palm oil during the pregnancy and lactation period inhibit the central anorexigenic action of insulin in adult male rat offspring. *J. Physiol. Sci.* 65, 131–138. <http://dx.doi.org/10.1007/s12576-014-0351-6>.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911–917. <http://dx.doi.org/10.1139/o59-099>.
- Bliss, T.V., Collingridge, G.L., 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31–39. <http://dx.doi.org/10.1038/361031a0>.
- Calder, P.C., 2006. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 75, 197–202. <http://dx.doi.org/10.1042/BST0330423>.
- Candela, C.G., López, M.B., Kohen, V.L., 2011. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. *Nutritional recommendations.* *Nutr. Hosp.* 26 (2), 323–329. <http://dx.doi.org/10.1590/S0212-16112011000200013>.
- Casañas-Sánchez, V., Pérez, J.A., Fabelo, N., Quinto-Aleman, D., Díaz, M.L., 2015. Docosahexaenoic (DHA) modulates phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase (Gpx4) gene expression to ensure self-protection from oxidative damage in hippocampal cells. *Front. Physiol.* 6, 203. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2015.00203>.
- Criado, M., Hernández-Martín, E., López-Hernández, A., Otero, C., 2007. Enzymatic interesterification of extra virgin olive oil with a fully hydrogenated fat: characterization of the reaction and its products. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 84, 717–726. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-007-1104-y>.
- Dias, V.T., Trevizol, F., Barcelos, R.C.S., Kunh, F.T., Rovarsi, K., Rovarsi, K., 2015a. Lifelong consumption of *trans* fatty acids promotes striatal impairments on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase activity and BDNF mRNA expression in a animal model of mania. *Brain Res. Bull.* 118, 78–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.09.005>.
- Dias, V.T., Trevizol, F., Rovarsi, K., Kunh, F.T., Rovarsi, K., Pase, C.S., et al., 2015b. *Trans*-fat supplementation over two generations of rats exacerbates behavioral and biochemical damages in a modelo f mania: co-treatment with lithium. *Life Sci.* 132, 6–12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2015.04.013>.
- Diniz, Y.S., Fernandes, A.A.H., Campos, K.E., Mani, F., Ribas, B.O., Novelli, E.L.B., 2004. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food Chem. Toxicol.* 42, 313–319. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2003.09.006>.
- Downs, S.M., Thow, A.M., Leeder, S.R., 2013. The effectiveness of policies for reducing dietary *trans* fat: a systematic review of the evidence. *Bull. World Health Organ.* 91, 262–269. <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.12.111468>.
- Feng, Z., Zou, X., Jia, H., Li, X., Zhu, Z., Liu, X., et al., 2012. Maternal docosahexaenoic acid feeding protects against impairment of learning and memory and oxidative stress in prenatally stressed rats: possible role of neuronal mitochondria metabolism. *Antioxid. Redox Signal.* 16, 275–289. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2010.3750>.
- Gao, J., Wu, H., Cao, Y., Liang, S., Sun, C., Wang, P., et al., 2016. Maternal DHA supplementation protects rat offspring against impairment of learning and memory following prenatal exposure to valproic acid. *J. Nutr. Biochem.* 35, 87–95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.07.003>.
- Gomez-Palacio-Schjetnan, A., Escobar, M.L., 2013. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Neurogenesis Neural Plasticity* 117–136. [http://dx.doi.org/10.1007/7854\\_2012\\_231](http://dx.doi.org/10.1007/7854_2012_231). (Mexico).
- Hartman, L., Lago, B.C., 1973. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Lab. Pract.* 22, 475–476. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60235a044>.
- Heldt, A.S., Stanek, L., Ghahwal, J.P., Ressler, K.J., 2007. Hippocampus specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Mol. Psychiatry* 12, 656–670. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001957>.
- Hempel, S.L., Buettner, G.R.O., Malley, Y.Q., Wessels, D.A., Flaherty, D.M., 1999. Dihydrofluorescein diacetate is superior for detecting intracellular oxidants: comparison with 20, 70-dichloro dihydrofluorescein diacetate, 5 (and 6)-carboxy-20, 70-dichloro dihydrofluorescein diacetate, and dihydrohodamine 123. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 146–159. [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00061-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00061-1).
- Herrera, E., 2002. Implications of dietary fatty acids during pregnancy on placental, fetal and postnatal development — a review. *Placenta* 23, S9–S19. <http://dx.doi.org/10.1053/plac.2002.0771>.
- Idris, N.A., Dian, N.L.H.M., 2005. Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 14, 396–401.
- Innis, S.M., 2007. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *J. Nutr.* 137, 855–859.
- James, M.J., Gibson, R.A., Cleland, L.G., 2000. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am. J. Clin. Nutr.* 71, 343S–348S.
- Karabulut, I., Turan, S., Ergin, G., 2004. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *Eur. Food Res. Technol.* 218, 224–229. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-003-0847-4>.
- Kempainen, S., Rantamäki, T., Jerónimo-Santos, A., Lavasseur, G., Autio, H., Karpova, N., et al., 2012. Impaired TrkB receptor signaling contributes to memory impairment in APP/PS1 mice. *Neurobiol. Aging* 33, 23–29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.11.006>.
- Klinkeson, U., H-Kittikun, A., Chinachoti, P., Sophanodora, P., 2004. Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Food Chem.* 87, 415–421. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.021>.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J., 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 106, 2747–2757. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000038493.65177.94>.
- Kuhn, F.T., Rovarsi Kr, Antoniazzi, C.T.D., Pase, C.S., Trevizol, F., Barcelos, R.C.S., et al., 2013. Influence of *trans* fat and omega-3 on the preference of psychostimulant drugs in the first generation of young rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 110, 58–65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2013.06.001>.
- Kuhn, F.T., Dias, V.T., Rovarsi, K., Vey, L.T., de Freitas, D.L., Pase, C.S., et al., 2015a. Cross-generational *trans* fat consumption favors self-administration of amphetamine and changes molecular expression of BDNF, DAT, and D1/D2 receptors in hippocampus of rats. *Neurotox Res.* 28, 319–331. <http://dx.doi.org/10.1007/s12640-015-9549-5>.
- Kuhn, F.T., Trevizol, F., Dias, V.T., Barcelos, R.C.S., Pase, C.S., Rovarsi, K., et al., 2015b. Toxicological aspects of *trans* fat consumption over two sequential generations of rats: oxidative damage and preference for amphetamine. *Toxicol. Lett.* 232, 58–67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.10.001>.
- Larqué, E., García-Ruiz, P.A., Perez-Llamas, F., Zamora, S., Gil, A., 2003. Dietary *trans* fatty acids alter the compositions of microsomes and mitochondria and the activities of microsome delta6-fatty acid desaturase and glucose-6-phosphatase in livers of pregnant rats. *J. Nutr.* 133, 2526–2531.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275.
- Machado, R.M., Nakandakare, E.R., Quintao, E.C., Cazita, P.M., Koike, M.K., Nunes, V.S., et al., 2012. Omega 6 polyunsaturated fatty acids prevent atherosclerosis development in LDLr-KO mice, in spite of displaying a pro-inflammatory profile similar to *trans* fatty acids. *Atherosclerosis* 224, 66–74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.06.059>.
- Magri, T.P.R., Fernandes, F.S., Souza, A., Langhi, L.G.P., Barboza, T., Misan, V., et al., 2015. Interesterified fat or palm oil as substitutes for partially hydrogenated fat in maternal diet can predispose obesity in adult male offspring. *Clin. Nutr.* 14, 242–248. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2014.09.014>.
- Martinez, M., 1992. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J. Pediatr.* 120, S129–S138. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)81247-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(05)81247-8).
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D., Katan, M.B., 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 1146–1155.
- Mozzafarian, D., Stampfer, M.J., 2010. Removing industrial *trans* fat from foods. *BMJ* 340. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.c1826>.
- Mychasiuk, R., Hehar, H., Ma, I., Esser, M.J., 2015. Dietary intake alters behavioral recovery and gene expression profiles in the brain of juvenile rats that have experienced a concussion. *Front. Behav. Neurosci.* 9, 17. <http://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00017>.
- Norizzah, A.R., Chong, C.L., Cheow, C.S., Zaliha, O., 2004. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olein blends. *Food Chem.* 86, 229–235. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.030>.
- Ooi, E.M., Ng, T.W., Watts, G.F., Barrett, P.H., 2013. Dietary fatty acids and lipoprotein metabolism: new insights and updates. *Curr. Opin. Lipidol.* 24 (3), 192–197. <http://dx.doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283613ba2>.
- Pase, C.S., Rovarsi, K., Trevizol, F., Rovarsi, K., Kunh, F.T., Schuster, A.J., et al., 2013. Influence of perinatal *trans* fat on behavioral responses and brain oxidative status of

- adolescent rats acutely exposed to stress. *Neuroscience* 247, 242–252. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.05.053>.
- Pase, C.S., Roversi, K., Trevizol, F., Kuhn, F.T., Dias, V.T., Roversi, K., et al., 2015. Chronic consumption of *trans* fat can facilitate the development of hyperactive behavior in rats. *Physiol. Behav.* 139, 344–350. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.059>.
- Pase, C.S., Roversi, K., Roversi, K., Vey, L.T., Dias, V.T., Veit, J.C., et al., 2017. Maternal *trans* fat intake during pregnancy or lactation impairs memory and alters BDNF and TrkB levels in the hippocampus of adult offspring exposed to chronic mild stress. *Physiol. Behav.* 169, 114–123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.11.009>.
- Patki, G., Che, Y., Lau, Y.S., 2009. Mitochondrial dysfunction in the striatum of aged chronic mouse model of Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.* 1, 3. <http://dx.doi.org/10.3389/fnuro.2009.003.2009>.
- Paxinos, G., Watson, C., 2013. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 7th edn. Elsevier, Amsterdam.
- Rai, S., Kamat, P.K., Nath, C., Shukla, R., 2014. Glial activation and post-synaptic neurotoxicity: the key events in streptozotocin (ICV) induced memory impairment in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 117, 104–117. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.035>.
- Rapoport, S.I., 2001. In vivo fatty acid incorporation into brain phospholipids in relation to plasma availability, signal, transduction and membrane remodeling. *J. Mol. Neurosci.* 16, 243–262. <http://dx.doi.org/10.1385/JMN:16:2:3:243>.
- Ratnayake, W.M.N., Swist, E., Zoka, R., Gagnon, C., Lillycrop, W., Pantazopoulos, P., 2014. Mandatory *trans* fat labeling regulations and nationwide product reformulations to reduce *trans* fatty acid content in foods contributed to lowered concentrations of *trans* fat in Canadian women's breast milk samples collected in 2009–2011. *Am. J. Clin. Nutr.* 100, 1036–1040. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.113.078352>.
- Rees, J.N., Florang, V.R., Anderson, D.G., Doorn, J.A., 2007. Lipid peroxidation products inhibit dopamine catabolism yielding aberrant levels of a reactive intermediate. *Chem. Res. Toxicol.* 20, 1536–1542. <http://dx.doi.org/10.1021/tx700248y>.
- Rodrigues, J.N., Gioielli, L.A., 2003. Chemical interesterification of milkfat and milkfat-com oil blends. *Food Int. Res.* 36, 149–159. [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00130-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00130-8).
- Roversi, K., Pase, C.S., Roversi, K., Vey, L.T., Dias, V.T., Metz, V.G., 2016. *Trans* fat intake across gestation and lactation increases morphine preference in females but not in male rats: behavioral and biochemical parameters. *Eur. J. Pharmacol.* 788, 210–217. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.06.031>.
- Russo, G.L., 2009. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem. Pharmacol.* 77 (6), 937–946. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2008.10.020>.
- Siems, W.G., Grune, T., Esterbauer, H., 1995. 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small-intestine. *Life Sci.* 57, 785–789. [http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)02006-5](http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205(95)02006-5).
- Sies, H., 1993. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 215, 213–219. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x>.
- Simopoulos, A.P., 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56, 365–379. [http://dx.doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6).
- Simopoulos, A.P., 2016. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increased the risk for obesity. *Nutrients* 8 (3), 128. <http://dx.doi.org/10.3390/nu8030128>.
- Sundram, K., Karupiah, T., Hayes, K.C., 2007. Stearic acid-rich interesterified fat and *trans*-rich fat raise the LDL/HDL ratio and plasma glucose relative to palm olein in humans. *Nutr. Metab.* 4, 3. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-7075-4-3>.
- Teixeira, A.M., Dias, V.T., Pase, C.S., Roversi, K., Boufleu, N., Barcelos, R.C.S., et al., 2012. Could dietary *trans* fatty acids induce movement disorders? Effects of exercise and its influence on Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>-ATPase and catalase activity in rat striatum. *Behav. Brain Res.* 226, 504–510. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.10.005>.
- Trevizol, F., Roversi, K., Dias, V.T., Roversi, K., Pase, C.S., Barcelos, R.C.S., et al., 2013. Influence of lifelong dietary fats on brain fatty acids and amphetamine-induced behavioral responses in adult rat. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 45, 215–222. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpb.2013.06.007>.
- Trevizol, F., Dias, V.T., Roversi, K., Barcelos, R.C.S., Kuhn, F.T., Roversi, K., et al., 2015a. Cross-generational *trans* fat intake modifies BDNF mRNA in the hippocampus: impact on memory loss in a mania animal model. *Hippocampus* 25, 556–565. <http://dx.doi.org/10.1002/hipo.22391>.
- Trevizol, F., Roversi, K., Dias, V.T., Roversi, K., Barcelos, R.C.S., Kuhn, F.T., et al., 2015b. Cross-generational *trans* fat intake facilitates mania-like behavior: oxidative and molecular markers in brain cortex. *Neuroscience* 286, 353–363. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.11.059>.
- Wang, H.-X., Wu, H., Ho, C.-T., Weng, X.-C., 2006. Cocoa butter equivalent from enzymatic interesterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. *Food Chem.* 97, 661–665. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.029>.
- Winocur, G., Wojtowicz, J.M., Sekeres, M., Snyder, J.S., Wang, S., 2006. Inhibition of neurogenesis interferes with hippocampus-dependent memory function. *Hippocampus* 16, 296–304. <http://dx.doi.org/10.1002/hipo.20163>.
- Wong, J., Webster, M.J., Cassano, H., Weickert, C.S., 2009. Changes in alternative brain derived neurotrophic factor transcript expression in the developing human prefrontal cortex. *Eur. J. Neurosci.* 29, 1311–1322. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06669.x>.
- Yan, L.Y., Traber, M.G., Packer, L., 1995. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human low-density lipoproteins. *Anal. Biochem.* 228, 349–351. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1995.1362>.
- Zhang, B., Jauregui, L.M., Florez-Palacios, L., Chen, P., 2011. Food-grade soybean: consumption, nutrition, and health. In: Popescu, E., Golubev, I. (Eds.), *Beans: Nutrition Consumption and Health*. Palgrave, New York, pp. 193–211.
- de Lima, M.N., Laranja, D.C., Caldana, F., Bromberg, E., Roesler, R., Schröder, N., 2005. Reversal of age-related deficits in object recognition memory in rats with l-deprenyl. *Exp. Gerontol.* 40, 506–511. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2005.03.004>.
- de Souza, A.S., Rocha, M.S., Carmo, M.G.T., 2012. Effects of a normolipidic diet containing *trans* fatty acids during perinatal period on the growth, hippocampus fatty acid profile, and memory of young rats according to sex. *Nutrition* 28, 458–464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.007>.
- van Gelder, B.M., Tijhuis, M., Kalmijn, S., Kromhout, D., 2007. Fish consumption n-3 fatty acids, and subsequent 5-y cognitive decline in elderly men: the Zutphen Elderly Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 85, 1142–1147.

## 5 CONCLUSÃO

O consumo crônico de GI não somente alterou a composição dos ácidos graxos (AG) neurais do hipocampo, mas também modificou os percentuais de DHA, o qual é um AG essencial para a manutenção da funcionalidade normal do SNC. Os achados apresentados no presente estudo permitem-nos concluir que a recomendação atual de substituição da gordura vegetal hidrogenada, a qual é rica em gordura *trans*, pela GI deve ser intensivamente monitorada por órgãos de vigilância em saúde, visto que experimentalmente, esta última foi capaz de modificar a composição dos AG neurais, reduzir marcadores moleculares e prejudicar o *status* oxidativo hipocampal, afetando parâmetros de memória curta e longa dos animais, especialmente quando seu consumo ocorreu durante períodos iniciais do desenvolvimento até idade adulta. A continuidade dos estudos é necessária, a fim de possibilitar o conhecimento de outras ações que o consumo prolongado de GI possa causar sobre as funções do SNC, cujas modificações podem estar implicadas no desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas.



## **6 PERSPECTIVAS**

Avaliar a possível relação entre o consumo crônico de GI durante de períodos iniciais da vida, e o desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos como ansiedade e depressão.

Analisar neurotransmissores, neurotrofinas e receptores em diferentes regiões cerebrais envolvidos com a ansiedade e depressão.

Investigar se o consumo de GI paterno e/ou materno ao longo da vida é capaz de desencadear alterações epigenéticas na prole.

## 7 REFERÊNCIAS

AFONSO, M. S. et al. Dietary interesterified fat enriched with palmitic acid induces atherosclerosis by impairing macrophage cholesterol efflux and eliciting inflammation. **J Nutr Biochem.**, v. 37, p. 91-100, Mar. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 dez. 2003.

ALLISON, D. B., et al. Estimated intakes of *trans* fatty and other fatty acids in the US population. **J Am Diet Assoc.**, v. 99, p.166–174, Feb.1999.

AMMINGER, G. P. et al. Long-chain w-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized placebo-controlled trial. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 67, n. 2, p. 146-154, Feb. 2010

ANDREAZZA, A.C. et al. Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. **Arch. Gen. Psychiatry.**, v. 67, p. 360–368. Apr. 2010.

ARCEGO, D. M. et al. Early life adversities or high fat diet intake reduce cognitive BDNF signaling in adult rats: interplay of these factors changes these effects. **Int. J. Dev. Neurosci.**, v. 50, p. 16–25. Mar. 2016.

ASL, N. A. et al. Long-term regular exercise promotes memory and learning in young but not in older rats. **Pathophysiology**, v. 15, p. 9–12. Dec. 2008.

BELL, S.J. et al. The new dietary fats in health and disease. **J. Am. Diet. Assoc.**, v.97, p.280-286, Mar. 1997.

BEAL, D. J. et al. 2003. Cohesion and performance in groups: A Meta-analytic clarification of construct relations. **J Appl Psycholog.**, v. 88, n. 6, p. 989-1004. Dec. 2003.

BEKINSCHTEIN, P.; CAMMAROTA, M.; MEDINA, J. H. BDNF and memory processing. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 677-683, May. 2014.

BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. Oxidação de proteínas no envelhecimento, doenças e estresse oxidativo. **J. Biol. Chem.**, v. 372, p. 20313-20316, 1997.  
BEZPROZVANNY, I.; MATTSON, M. P. Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Trends Neurosci.**, v. 31, p. 454–463. Jul. 2008.

BISPO, K. P. et al. *Trans* and interesterified fat and palm oil during the pregnancy and lactation period inhibit the central anorexigenic action of insulin in adult male rat offspring. **J Physiol Sci.**, v. 65, p. 131–138, Nov. 2014.

BOERSMA, G. J. et al. Long-term impact of early life events on physiology and behaviour. **J Neuroendocrinol**;v. 26, n. 9, p. 587–602. Jun. 2014

BOURRE, J. M. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during aging. **J. Nutr. Health Aging**, v. 8, p. 163-174, 2004.

BURGGREN, W. W.; MUELLER, C. A. Developmental critical windows and sensitive periods as three-dimensional constructs in time and space. **Physiol. Biochem. Zool.**, v. 88, p. 91–102. Jan. 2015

BUYDENS-BRANCHEY L.; BRANCHEY, M.; HIBBELN, J. R. Associations between increases in plasma n-3 polyunsaturated fatty acids following supplementation and decreases in anger and anxiety in substance abusers. **Prog. Neuropharmacology Biol. Psychiatry.**, v. 32, n.2, p. 568-575, Feb. 2009.

BLOCK, C. R. et al. Omega-6 and *trans* fatty acids in blood cell membranes: a risk factor for acute coronary syndromes? **Am Hear J**, v. 156, n. 6, p. 1117–1123, Oct. 2008.

BRASIL. Lei nº 2.068, de 24 de junho de 2015.

CARLSON, S. J. The role of the omega-3 fatty acid DHA in the human life cycle. **J. Parenter. Enteral. Nutr.**, v. 37, p. 15-22, Nov. 2013.

CARVALHO, P. O. et al. Aplicação de Lipases Microbianas na Obtenção de concentrados de ácidos graxos poli-insaturados. **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p. 75-80, Jan. 2003.

CASTRO, H. f. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova.**, v. 27, n. 1, 2004, p. 146-156. Jan/Fev, 2004.

CUNHA, C.; BRAMBILLA, R.; THOMAS, K. L. A simple role for BDNF in learning and memory? **Front. Mol. Neurosci.**, V. 3, p. 1-14. Feb. 2010.

CHALON, S. Omega 3 fatty acids and monoamine neurotransmission. **Prostag. Leukotr. Ess.**,v. 75, p. 259-69, Nov. 2006.

CHAONAN, F. et al. Maternal n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation during pregnancy and lactation affects neurogenesis and apoptosis in adult offspring: associated with DNA methylation of brain-derived neurotrophic factor transcripts. **Nut Res**, v. 36, p. 1013-1021, Jun. 2016.

CHU, B. S. et al. Comparison of lipase-transesterified blend with some commercial solid frying shortenings in Malaysia. **J Am Oil Chem Soc.**, v. 78, p. 1213–1219. Dec. 2001.

CLANDININ, M. T. et al. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. **Early Hum Dev.**, v. 4, p. 121–129. Jun. 1980.

CRAIG-SCHMIDT, M. C. World-wide consumption of *trans* fatty acids. **Atheroscler Suppl**, v.7, p.1–4, May. 2006.

CRIADO, M. et al. Enzymatic interesterification of extra virgin olive oil with a fully hydrogenated fat: Characterization of fats. **Eur J Lipid Technol.**, v. 110, p. 714-724, Mar. 2007.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonylation in human diseases. **Trends Mol. Med.**, v. 9, p.169-176. Apr. 2003.

de VELASCO, P. C. et al. A critical period for omega-3 nutritional supplementation in the development of the rodent visual system. **Brain Research.**, v. 1615, p. 106–115, Apr. 2015.

DOBBING, J.; SANDS, J. Quantitative growth and development of human brain. **Arch Dis Child.**, v. 48, p. 757–767. Oct. 1973

DUNCAN, B. B.; SCHMIDT, M.I.; GIUGLIANI, E. R. **Medicina ambulatorial: condutas de atenção primária baseadas em evidências**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.

DUTTARROY, A. K. Transport of fatty acids across the human placenta: a review. **Prog. Lipid Res.**,v. 48, n. 1, p. 52–61, Jan. 2009.

EMKEN, E. A.; ADLOT, R. O.; GULLEY, R. M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1213, p. 277-288, Aug. 1994.

ENIG, M. G. **Intesterification**. Disponível em: <<http://www.westonaprice.org/know-your-fats/556-interesterification.html>>.

FERRAZ, A.C. et al. The antidepressant role of dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in two phases in the developing brain. **Prostag. Leukotr. Ess.**, v. 78, p. 183-188, Mar. 2008.

FERREIRA, A. L. A; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Assistencia Medica Brasil.**, v. 43, n. 1, p. 61- 68. Jan/Mar. 1997.

GAO, J. et al. Maternal DHA supplementation protects rat offspring against impairment of learning and memory following prenatal exposure to valproic acid. **J. Nutr. Biochem.**, v. 35, p. 87–95. Jul. 2016.

GIBSON, R. A. Docosahexaenoic acid (DHA) accumulation is regulated by the polyunsaturated fat content of the diet: Is it synthesis or is it incorporation? **Asia Pac. J. Clin. Nutr.**, v. 13, p. 78, Jul. 2004.

GIBSON, R. A.; MUHLHAUSLER, B.; MAKRIDES, M. Conversion of linoleic acid and alpha-linolenic acid to long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs), with a focus on pregnancy, lactation and the first 2 years of life. **Matern. Child. Nutr.**, v.7, n. 2, p. 17-26, Mar. 2011.

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J. M. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) — implications for dietary recommendations. **Biochimie.**, v. 93, n. 1, p.7–12. May. 2011.

GUSTONE, F. D. Movements towards tailor-made fats. **Progr Lipd Res.**, v. 37, n. 5, p. 277-305, 1998.

GREEN, P. et al. Red cell membrane omega-3 fatty acids are decreased in nondepressed patients with social anxiety disorder. **Eur. Neuropsychopharm.**, v. 16, n. 2, p. 107–113, Feb. 2006.

IDRIS. A.; DIAN, N L. Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. **Asia Pac J Clin Nutr.**, v. 14, p. 396–401, 2005.

HAIJJAR, T. et al. Alterations in neuronal morphology and synaptophysin expression in the rat brain as a result of changes in dietary n-6: n-3 fatty acid ratios. **Lipids Health Dis.**, v. 26, p. 12-113. Jul. 2013.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. **Lancet.**, v. 355, p. 1179 – 1180, Mar. 2000.

HANEBUTT, F. L. et al. Long-chain polyunsaturated fatty acid (LCPUFA) transfer across the placenta. **Clin. Nutr.**, v. 27, p. 685–693. Jul. 2008.

HAUMANN, B.F. Tools: hydrogenation, interesterification. **INFORM, Champaign**, v.5, n.6, p.668-678, 1994.

HARDMAN, W. E. (n-3) Fatty acids and cancer therapy. **J. Nutr.**, v. 134, p. 3427S-3430S, Dec. 2004.

HERRERA, E. et al. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. **Horm. Res.**, v. 65, n. 3, p. 59–64. Apr. 2006.

HIBBELN, J. R. Fish consumption and major depression. **Lancet**, v. 351, n. 9110, p. 1213, Apr. 1998.

HULBERT, A. J. et al. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the diet: Its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. **Prostag. Leukotr. Ess**, v.70, p. 361-372, Apr. 2004.

HULBERT, A. J. et al. Dietary fats and membrane function: implication and metabolism disease. **Biol. Rev.**, v.80, p.155-169, Feb. 2005.

INNIS, S. M. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. **J.Nutr.**, v. 137, p. 855-859, Apr. 2007.

KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **Eur Food Res Technol.**, v. 218, p. 224–229, Feb. 2004.

KEMPPAINEN, S. et al. 2012. Impaired TrkB receptor signaling contributes to memory impairment in APP/PS1 mice. **Neurobiol. Aging.**, v. 33, p. 23–29. Dec. 2012.

KIM, H. H. et al. Eicosapentaenoic acid inhibits UV-induced MMP-1 expression in human dermal fibroblast. **J. lipid. Res.**, v. 46, p. 1712-1720, Jun. 2005.

KUCZEWSKI, N.; PORCHER, C.; GAIARSA, J. L. Activity-dependent dendritic secretion of brain-derived neurotrophic factor modulates synaptic plasticity. **Eur. J. Neurosci.**, v. 32, p. 1239-1244. Sep. 2010.

KUHN, F. T. et al. Influence of trans fat and omega-3 on the preference of psychostimulant drugs in the first generation of young rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 110, p. 58–65, Jun. 2013.

KUHN, F. T. Toxicological aspects of *trans* fat consumption over two sequential generations of rats: Oxidative damage and preference for amphetamine. **Toxicol. Lett.**, v. 232, p.58–67. Oct. 2015.

KUPERSTEIN, F. et al. Overexpression of dopamine receptor genes and their products in the postnatal rat brain following maternal n-3 fatty acid dietary deficiency. **J. Neurochem.**, v. 95, p. 1550-1562, Dec. 2005.

KLINKESORN, U. et al. Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Food Chemistry**, v. 87, p. 415–421. Sep. 2004.

KNUDSEN, E.I. Sensitive periods in the development of the brain and behavior. **J. Cogn. Neurosc.**, v 16, n. 8, p. 1412–1425, Oct. 2004.

LAI, K.O. et al. TrkB phosphorylation byCdk5 is required for activity-dependent structural plasticity and spatial memory. **Nat. Neurosci.**, v. 15, p. 1506-1515, Oct. 2012.

LAURITZEN, L. et al. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. **Prog Lip Res.**, v. 40, p. 1-94, Jan/Mar. 2001.

LARSSON, S. C. et al. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 935, p. 45-79, Jun. 2004.

LARSON, T. A. et al. Reactive neurogenesis in response to naturally occurring apoptosis in an adult brain. **J Neurosci.**, v. 34, n. 39, p. 13066–76. Sep. 2014.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 6 ed. São Paulo, 2014.

LEVANT, B.; RADEL, J.D.; CARLSON, S.E. Reduced Brain DHA Content After a Single Reproductive Cycle in Female Rats Fed a Diet Deficient in N-3 Polyunsaturated Fatty Acids. **Biological Psychiatry.**, v. 60, p. 987–990. Feb. 2006.

LUCASSEN, P.J. Perinatal programming of adult hippocampal structure and function; emerging roles of stress, nutrition and epigenetics. **Trends Neurosci.**, v. 36, n. 11, p. 621–31. Aug. 2013.

MAGRI, T.P.R. et al. Interesterified fat or palm oil as substitutes for partially hydrogenated fat in maternal diet can predispose obesity in adult male offspring. **Clin Nutr.**, v. 14, p. 242-8, Oct. 2014.

MANTZIORIS, F.; CLELAND, L. G.; GIBSON, R. A. Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. 42-48, Jul. 2000.

MARSZALEK, J. R.; LODISH, H. F. Docosahexaenoic acid, fatty acid-interacting proteins, and neuronal function: breastmilk and fish are good for you. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 633, p. 21-57, 2005.

MARTINEZ, M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. **J Pediatr** 120:S129–S138. Apr. 1992.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999.

MITCHELL, S. A. et al. The AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATIONf-1 internal ribosome entry segment attains the correct structural conformation for function via interactions with PTB and unr. **Mol. Cell.**, v. 11, n. 3, p. 757-771, Mar. 2003.

MORGADO-BERNAL, I. Learning and memory consolidation: Liking molecular and behavioral data. **Neuroscience**, v. 176, p. 12-19, Jan.2011.

MURPHY, M. G. Dietary fatty acids and membrane protein function. **J. Nutr. Biochem.**, v. 1, p. 68-70, Feb. 1990.

MULDER, K. A.; KING, D. J.; INNIS, S. M. Omega-3 fatty acid deficiency in infants before birth identified using a randomized trial of maternal DHA supplementation in pregnancy. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. 83764, Jan. 2014.

McCUSKER, M. M.; GRANT-KELS, J. M. Healing fats of the skin: the structural and immunologic roles of the  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 fatty acids. **Clin. Dermatol.**, v. 28, p. 440–451, Jul/Aug. 2010.

NEUMANN, J. T. et al. Increased BDNF protein expression after ischemic or PKC epsilon preconditioning promotes electrophysiologic changes that lead to neuroprotection. **J Cereb Blood Flow Metab.**, v. 35, n. 1, p.121–130. Nov. 2015.

NORIZZAH, A. R. et al. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olin blends. **Food Chem**, v. 86, p. 229-235, Jan. 2004.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem.**, v. 95, p. 351-358. Jun. 1979.

PANG, P.T.; Lu, B. Regulation of late phase LTP in normal and aging hippocampus: role of secreted protein tPA and BDNF. **Ageing Res. Rev.**, v. 3, p. 407-430. Nov. 2004.

PASE, C.S et al. Influence of perinatal *trans* fat on behavioral responses and brain oxidative status of adolescent rats acutely exposed to stress. **Neuroscience**,v. 247, p. 242-252, Sept. 2013.

PASE, C.S. et al. Chronic consumption of trans fat can facilitate the development of hyperactive behavior in rats. **Physiol Behav.**, v. 139, p. 344–350, Nov., 2015.

PASE, C.S. et al. Maternal *trans* fat intake during pregnancy or lactation impairs memory and alters BDNF and TrkB levels in the hippocampus of adult offspring exposed to chronic mild stress. **Physiol. Behav.**, v. 169, p. 114–123. Nov. 2017.

PATKI, G.; CHE, Y.; LAU, Y.S. 2009. Mitochondrial dysfunction in the striatum of aged chronic mouse model of Parkinson's disease. **Front. Aging Neurosci.** v. 1, n. 3. Dec. 2009.

POPKIN, B. M. The nutrition transition and its health implications in lower-income countries. **Public Health Nutr.**, v. 1, p. 5–21, Mar. 1998.

RAI, S. et al. Glial activation and post-synaptic neurotoxicity: the key events in streptozotocin (ICV) induced memory impairment in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 117, p. 104–117. Dec. 2014.



RATHOD, R. S. et al. Beneficial effects of omega-3 fatty acids and vitamin B12 supplementation on brain docosahexaenoic acid, brain derived neurotrophic factor, and cognitive performance in the second-generation *Wistar* rats. **Biofactors**, v. 41, n. 4, p. 261–72. Aug. 2015.

RATNAYAKE, W. M. N.; GALLI, C. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. **Ann. Nutr. Metab.**, v. 55, p. 08-43, Sep. 2009.

REES, J.N. et al. Lipid peroxidation products inhibit dopamine catabolism yielding aberrant levels of a reactive intermediate. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 20, p. 1536–1542. Sep. 2007.

REIS, C. E. G. **Implicações metabólicas das gorduras interesterificadas: resultados iniciais.** Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br>>.

ROBINSON, D. M. et al. Influence of interesterification of a stearic acid-rich spreadable fat on acute metabolic risk factors. **Lipids**, v. 44, n 1, p. 17-26, Nov. 2009.

RODRIGUES, J. N.; GIOIELLI, L. A. Chemical interesterification of milkfat and milkfat-corn oil blends. **International Food Res.**, v. 36, p. 149–159. Dec. 2003.

ROZENAAL, A. Interesterification of oils and fats. **INFORM, Champaign**, v.3, n.11, p.1232-1237, 1992.

SALEM, J. N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1999.

SANGIOVANNI, S. N; CHEW, E. Y. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. **Prog. Retin. Eye Res.**, v. 24, p. 87-138, Jan. 2005.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **Eur. J. Biochem.**, v. 215, p. 213–219. Jul. 1993.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic disease. **Biomed. Pharmacother.**, v. 60, p. 502-507, Aug. 2006.

SOCCOL, M.; HEIDMANN, C.; OETTERER, M. Seafood as functional food. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 46, n. 3, p. 443-454, Jun. 2003.

SODERBERG, M. et al. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. **Lipids**, v. 26, n. 6, p. 421-425, Jun. 1991.

SUNDRAM, K.; KARUPAIAH, T.; HAYES, K. C. Stearic acid-rich interesterified fat and *trans*-rich fat raise the LDL/HDL ratio and plasma glucose relative to palm olein in humans. **Nutr Metab.**, v. 4, n. 3, Jan. 2007.

SHAEFER, E. J. et al. Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease – The Framingham Heart Study. **Arch Neurol.**, v. 63, p. 1545-1550, Nov. 2006.

SHEIKHZADEH et al. Hippocampal BDNF content in response to short and long term exercise. **Neurol Sci.**, v. 36, p. 1163-1166, Apr. 2015.

SREENIVASAN, B. Interesterification of fats. **J. Amer. Oil Chem. Soc.**, v. 55, p. 796-805, 1976.

TAKESIAN, A.E.; HENSCH, T.K. Balancing plasticity/stability across brain development. **Prog. Brain Res.**, v. 207, p. 3–34. 2013.

TAPIA-ARANCIBIA et al. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. **Brain Res Rev**, v. 59, p. 201-220. Aug. 2008.

TEEGALA, S.M.; WILLET, W.C.; Mozaffarian, D. Consumption and health effects of *trans* fatty acids: A review **J. AOAC Int.**, v. 92, p. 1250–1257. Oct. 2009.

TEIXEIRA, A. M. et al. Could dietary *trans* fatty acids induce movement disorders? Effects of exercise and its influence on Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase and catalase activity in rat striatum. **Behav Brain Res.**, v. 226, p. 504–510. Oct. 2012.

TREVIZOL, F. et al. Influence of lifelong dietary fats on brain fatty acids and amphetamine-induced behavioral responses in adult rat. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v. 45, p. 215–222, Aug. 2013.

TREVIZOL, F. et al. Cross-generational *trans* fat intake modifies BDNF mRNA in the hippocampus: Impact on memory loss in a mania animal model, **Hippocampus**, v. 25, n. 5, p. 556–565. Nov. 2014.

TREVIZOL, F. et al. Cross-generational trans fat intake modifies BDNF mRNA in the hippocampus: impact on memory loss in a mania animal model. **Hippocampus**, v. 25, p. 556–565, May. 2015.

TREVIZOL, F. et al. Cross-generational *trans* fat intake facilitates mania like behavior: Oxidative and molecular markers in brain cortex. **Neuroscience**, v. 286, p. 353–363. Dec. 2015.

VALDIVELOO, M. et al. Trends in dietary fat and high-fat food intakes from 1991 to 2008 in the Framingham Heart Study participants. **Br. J. Nutr.**, v. 111, p. 724–734. Jul. 2014.

VALENZUELA, A. B; NIETO, S. K. Ácidos grasos omega-6 y omega- 3 en la nutrición perinatal: su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Rev Chil Pediatr.**, v. 74, p.149-57, Mar. 2003

VICKERS, M.H. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. **Nutrients**, v. 6, p. 2165–2178. Jun. 2014.

WAINWRIGHT, P. E. et al. Effects of dietary n-3 deficiency on Morris water-mazr performance and amphetamine-induced conditioned place preference. **Nut. Neurosci.**, v. 1, p. 281-293, Jul. 1998.

YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Fatty acids and immune function: new insights into machanisms. **British J. Nutr.**, v. 98(Suppl)1, p. S41-S45, Oct. 2007.

YEHUDA, S. Omega-6/omega-3 ratio and brain-related functions. **World Rev Nutr Diet** 92:37–56. 2003.

WANG, H. X. et al. Cocoa butter equivalent from enzymatic interesterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. **Food Chemistry**, v. 97, p. 661–665. Aug. 2006.

WILLETT, W.C. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease – epidemiological data. **AtherosclerSuppl**, v. 7, n. 2, p. 5–8, May. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva, 2003.

YOUNG, G. S.; CONQUER, J. Omega-3 fatty acids and neuropsychiatric disorders. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 45, p. 1–28, Jan/Feb. 2005.

ZIMMER, L. et al. Modification of dopamine neurotransmission in the nucleus accumbens of rats deficient in n-3 polyunsaturated fatty acids. **J. Lipid Res.**, v. 41, p. 32-40, Jan. 2000.

ZHANG, H.; Smith, P.; Adler-Nissen, J. Effects of degree of enzymatic interesterification on the physical properties of margarine fats: Solid fat content, crystallization behaviour, crystal morphology, and crystal network. **J Agricult Food Chemistry**, v. 52, p. 4423–4431. Jul. 2004.