

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA
SUPLEMENTADA COM ÓLEOS VEGETAIS NOS
PARÂMETROS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS
EM RATOS *WISTAR***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Camila Costa Gressler

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM
ÓLEOS VEGETAIS NOS PARÂMETROS METABÓLICOS E
INFLAMATÓRIOS EM RATOS *WISTAR***

Camila Costa Gressler

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luisa Helena Rychecki Hecktheuer
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Gilberti Helena Hübscher**

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

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

Gressler, Camila Costa
EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM ÓLEOS VEGETAIS NOS PARÂMETROS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS EM RATOS WISTAR / Camila Costa Gressler.-2013.
65 p.; 30cm

Orientadora: Prof. Dra. Luisa Helena Rychecki Hecktheuer
Coorientadora: Prof. Dra. Gilberti Helena Hübscher
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2013

1. Citocinas 2. Perfil lipídico 3. Óleo de coco 4. Óleo de abacate 5. Óleo de chia I. Hecktheuer, Prof. Dra. Luisa Helena Rychecki II. Hübscher, Prof. Dra. Gilberti Helena III. Título.

© 2013

Todos os direitos autorais reservados a Camila Costa Gressler. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Tamanday, nº 533, apartamento 305, bloco B, Santa Maria, RS, 97060-540

Fone: (0xx) 55 3347 3670; Celular: (0xx) 55 9613 3572; End. Eletr: camilagnutri@yahoo.com.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de
Mestrado

**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM ÓLEOS
VEGETAIS NOS PARÂMETROS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS
EM RATOS *WISTAR***

Elaborada por
Camila Costa Gressler

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Luisa Helena Rychecki Hecktheuer, Dra.
(Presidente/Orientadora)

Maria da Graça Kolinski Callegaro, Dra. (UFSM)

Maria Isabel Morgan Martins, Dra. (ULBRA)

Santa Maria, 29 de maio de 2013.

A meu avô Jesus Sadi Costa (in memoriam).

Meu anjo da guarda!

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter permitido que eu chegasse até aqui!

Aos meus pais, Janio e Gilse, pela vida e educação que me deram, sempre me incentivando a continuar a jornada de estudos. A criança que acompanhou dentro e fora da barriga a formação de sua mãe, não poderia deixar de prosseguir sua jornada de formação profissional.

Aos meus irmãos, Kellen e Igor, pela paciência e ajuda nos momentos em que precisei. Em especial a Kellen pela companhia diária e disponibilidade.

À minha vó, Iraci, pelo carinho e cuidado de sempre.

Ao meu namorado, Giovano, pela paciência, pelo amor e por ter estado sempre ao meu lado em todos os momentos, não medindo esforços para me auxiliar.

À professora Luisa, minha orientadora, por acreditar na minha capacidade e auxiliar no desenvolvimento deste trabalho; e em especial a professora Gilberti, minha coorientadora, que desde o início me acolheu e auxiliou com seu conhecimento em experimentação animal para que este trabalho pudesse ser concretizado.

À Karine e Ângela por toda a ajuda durante o período experimental. Com a alegria e compromisso de vocês tudo se tornou mais fácil!

À professora Liliane e ao doutorando Robson, que gentilmente cederam seu laboratório e auxiliaram durante a eutanásia dos animais.

À Carla, minha “cocoorientadora”, amiga, colega de profissão, que desde o primeiro momento quando decidi fazer a seleção para o mestrado me auxiliou com os estudos, desabafos e durante toda minha jornada no mestrado esteve por perto, auxiliando em tudo que precisei.

À Susana, minha colega e amiga desde a graduação, pela sintonia e companheirismo de sempre! Lembro com carinho dos momentos de estudo para realizar a seleção do mestrado, da alegria da aprovação e das inúmeras caronas até a UFSM.

À “Carlota”, “Susu” e “Deisoca”, meu querido grupo de apoio/estudo pelos momentos de descontração e estudo!

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos Marialene e Magé pela disponibilidade e carinho de sempre.

Ao professor Róger e acadêmica Raquel pelas análises cromatográficas dos óleos vegetais.

A todos os professores e colegas do PPGCTA pela convivência e por terem dividido seu conhecimento comigo.

A UFSM por propiciar este programa de pós-graduação.

À Tiffany, Sabrina e Anne por terem auxiliado através das suas experiências com ensaios biológicos.

Às colegas do Restaurante Universitário da UFSM pela convivência diária e incentivo.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação,
abraçar a vida com paixão,
perder com classe
e vencer com ousadia,
porque o mundo pertence a quem se atreve
e a vida é “muito” pra ser insignificante”.

Charles Chaplin

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM ÓLEOS VEGETAIS NOS PARÂMETROS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS EM RATOS *WISTAR*

AUTORA: CAMILA COSTA GRESSLER

ORIENTADORA: Luisa Helena Rychecki Hecktheuer

COORIENTADORA: Gilberti Helena Hübscher

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 29 maio de 2013.

O consumo de gordura *trans* é fortemente associado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) por sua ação sobre os lipídios plasmáticos e por atuarem em processos inflamatórios, sendo que os óleos vegetais são utilizados pela população para a prevenção dessas doenças. O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do consumo de dieta hiperlipídica suplementada com óleo de coco, óleo de abacate e óleo de chia nos parâmetros metabólicos e inflamatórios em ratos *wistar*. Após sete dias em período de adaptação, 35 ratos *wistar* machos receberam por 45 dias dieta padrão (TC), dieta hiperlipídica e soro fisiológico (DHSF), dieta hiperlipídica e óleo de coco (DHCO), dieta hiperlipídica e óleo de abacate (DHAB) e dieta hiperlipídica e óleo de chia (DHCH), sendo que os óleos foram ofertados por gavagem na quantidade de 0,8 mL/kg de peso corporal. O consumo da dieta e níveis séricos de TG foram maiores no TC. O peso do fígado foi maior nos grupos DHCO e DHAB, sendo que não houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$) quanto ao ganho de peso, peso de gordura epididimal e níveis séricos de CT, HDL e LDL. Concentrações plasmáticas mais elevadas de IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ foram encontradas nos grupos DHSF, DHCO e DHAB e as menores nos grupos TC e DHCH. A IL-10 foi maior no grupo DHCH. Na análise morfométrica, o grupo DHCH apresentou aumento do número de células e redução na área do citoplasma das mesmas. A intervenção do consumo de dieta hiperlipídica com ácido graxo *trans* permitiu observar que a alteração do perfil lipídico é precedida de um ambiente inflamatório sistêmico, o qual é modulado pelo ácido graxo ômega 3 (α -linolênico), presente no óleo de chia, o qual reverteu este quadro, mas não sobrepõe-se ao consumo de uma dieta equilibrada observada pelo grupo TC. Isto comprova que a intervenção dietética para prevenir a ocorrência de DCV deve estar associada a escolhas adequadas da ingestão de lipídios, mantendo um aporte adequado de ácido graxo ômega-3, evidenciado no trabalho pela diminuição das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ) e aumento da IL-10 considerada anti-inflamatória.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Citocinas. Óleo coco. Óleo abacate. Óleo chia. Perfil lipídico. Mormofetria de fígado. Ganho peso. Consumo de dieta.

ABSTRACT

Master's Thesis
Post Graduate Program in Science and Food Technology
Federal University of Santa Maria

EFFECTS OF HYPERLIPIDEMIC DIET SUPPLEMENTED WITH VEGETABLE OILS IN METABOLIC AND INFLAMMATORY PARAMETERS IN WISTAR RATS

AUTHOR: CAMILA COSTA GRESSLER

ADVISER: Luisa Helena Rychecki Hecktheuer

CO-ADVISER: Gilberti Helena Hübscher

Date and Local of Thesis Defense: Santa Maria, RS, Brazil, May, 29th, 2013.

The consumption of *trans* fat is strongly associated to the development of cardiovascular disease (CVD) by its action on plasma lipids and because they act in an inflammatory processes; besides, vegetable oils are used by population to prevent these kind of disease. The objective of this research was to determine the effect of consuming a high fat diet supplemented with coconut oil, avocado oil and chia oil in inflammatory and metabolic parameters in *wistar* rats. After seven days in adjustment period, 35 male *Wistar* rats received a standard diet for 45 days (TC), hyperlipidemic diet and coconut oil (DHCO), hyperlipidemic diet and avocado oil (DHAB) and hyperlipidemic diet and chia oil (DHCH), by gavage in the amount of 0.8 mL/kg body weight. The diet consumption and serum TG levels were higher in TC. Liver weight was higher in groups DHCO and DHAB, with no statistical difference between groups ($p < 0.05$) considering weight gain, epididymal fat weight and TC, HDL and LDL serum levels. Higher plasma concentrations of IL-1, IL-6, TNF- α and IFN- γ were found in the groups DHSF, DHCO and DHAB and lower in TC and DHCH groups. The IL-10 was higher in the group DHCH. In the morphometric analysis, the DHCH group showed increase on the cell number and reduction on their cytoplasm area. The intervention on the hyperlipidemic diet consumption with *trans* fatty acid allowed to observe that the lipid profile is preceded by a systemic inflammatory environment, which is modulated by the omega-3 fatty acid (α -linolenic acid), present in chia oil, which reversed this scene, but does not override the consumption of a balanced diet observed by the TC group. This proves that dietary intervention to prevent CVD must be associated to appropriate choices of lipid intake, maintaining an adequate intake of omega-3, as evidenced in this paper by the decrease of pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL -6, TNF- α and IFN- γ) and IL-10 increased, which is considered anti-inflammatory.

Keywords: Fatty acids. Cytokines. Coconut oil. Avocado oil. Chia oil. Lipid profile. Morphometria of liver. Weight gain. Diet consumption.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura – 1 Consumo médio de dieta e ganho de peso total de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.....30

Figura – 2 Peso do fígado e peso da gordura epididimal de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.....31

Figura – 3 Colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicérides (TG) de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.....32

Figura – 4 Fator de necrose tumoral (TNF α) e Interleucina 6 (IL-6) de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.....35

ARTIGO 2

Figura – 1 Interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), Fator de Necrose Tumoral (TNF) e Interferon gamma (IFN- γ) de ratos machos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.....48

Figura – 2 Aspecto morfométrico do fígado de ratos do TC.....51

Figura – 3 Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHSF.....51

Figura – 4 Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHCO.....51

Figura – 5 Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHAB.....51

Figura – 6 Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHCH.....51

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela – 1 Composição das dietas ofertadas aos ratos da linhagem *wistar* durante o experimento..... 26

Tabela – 2 Percentual de ácidos graxos presentes nos óleos de coco virgem, abacate extra virgem e chia extra virgem.....28

ARTIGO 2

Tabela – 1 Composição das dietas ofertadas aos ratos da linhagem *wistar* durante o experimento.....46

Tabela – 2 Valores morfométricos médios do número e da área do citoplasma de hepatócitos de ratos machos *wistar* tratados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.....50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCL – Ácidos graxos de cadeia longa
AGCM – Ácidos graxos de cadeia média
ALA – Ácido graxo α -linolênico
CHO – Carboidratos
CLA – Ácido linoleico conjugado
CT – Colesterol total
DCNT – Doenças crônicas não transmissíveis
DCV – Doenças cardiovasculares
DHAB - Grupo com dieta hiperlipídica e óleo de abacate
DHCH - Grupo com dieta hiperlipídica e óleo de chia
DHCO - Grupo com dieta hiperlipídica e óleo de coco
DHSF – Grupo com dieta hiperlipídica e soro fisiológico
dl – Decilitro
DP – Desvio padrão
FAMES – Ésteres metílicos de ácidos graxos
g – Grama
HDL – Lipoproteína de alta densidade
IL 1 – Interleucina 1
IL 10 – Interleucina 10
IL 6 – Interleucina 6
INF γ – Interferon gama
Kg – quilograma
LDL – Lipoproteína de baixa densidade
mg – Miligrama
mL – mililitro
MUFA – Ácido graxo monoinsaturado
OMS – Organização Mundial da Saúde
PFA – Proteínas de fase aguda
pg – Picograma
PUFA – Ácido graxo poliinsaturado
rpm – Rotação por minuto
TC – Grupo tratamento controle
TCM – Triglicerídeos de cadeia média
TG – Triglicerídeos
TNF α – Fator de necrose tumoral alfa
VET – Valor energético total
°C – Graus Celsius
 μ g - Micrograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 RESULTADOS CIENTÍFICOS	22
2.1 Artigo 1 – Efeitos metabólicos e inflamatórios da dieta hiperlipídica associada ao uso de óleos vegetais em ratos <i>wistar</i>	22
Resumo.....	22
Introdução.....	23
Material e Métodos.....	25
Resultados e Discussão.....	28
Conclusão.....	37
Referências bibliográficas.....	37
2.2 Artigo 2 – Efeitos da dieta hiperlipídica suplementada com óleos vegetais nas citocinas inflamatórias e morfometria hepática de ratos <i>wistar</i>	42
Resumo.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	45
Resultados e Discussão.....	47
Conclusão.....	52
Referências bibliográficas.....	53
3 DISCUSSÃO GERAL	56
4 CONCLUSÃO GERAL	58
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (2013), a doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte no mundo, perfazendo 30% das mortes globais, taxa praticamente idêntica à encontrada no Brasil, onde a mudança no perfil populacional tem gerado aumento no número de indivíduos com algum grau de excesso de peso, bem como o incremento das doenças coronarianas (SOARES; ITO, 2000; BARRETO, et al., 2001). Sugere-se que 80% dos casos de morte por doenças cardiovasculares estejam associados a fatores de risco já conhecidos (MACKAY; MENSAH, 2004).

Estimativas para o Brasil sugerem que a perda de produtividade no trabalho e a diminuição da renda familiar resultantes da presença de apenas três doenças crônicas não transmissíveis (DCNT): diabetes, doença do coração e acidente vascular encefálico, levarão a uma perda na economia brasileira de US\$ 4,18 bilhões, entre 2006 e 2015 (BRASIL, 2008; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010).

Os fatores considerados mais importantes são aqueles que apresentam alta prevalência em muitas populações; os que têm impacto independente e significativo no risco para doenças isquêmicas e acidente vascular cerebral, e os modificáveis ou passíveis de controle (EYKEN; MORAES, 2009). Dentre estes podemos citar o controle das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como o diabetes mellitus, obesidade, inatividade física, uso do tabaco, hiperlipidemia e hipertensão arterial, que estão intimamente ligadas ao acúmulo de gordura no organismo e ao aparecimento das dislipidemias, sendo a alimentação um dos principais fatores de origem das mesmas (MACKAY; MENSAH, 2004).

Os ácidos graxos possuem uma cadeia hidrocarbonada central, com um grupo carboxila (COOH) em uma terminação e um grupo metila (CH₃) na outra. A maioria dos ácidos graxos têm entre 4 e 22 carbonos, sendo os mais prevalentes os ácidos graxos de cadeia longa, com 16 e 18 carbonos (ETTINGER, 2002).

Os ácidos graxos são nomeados de acordo com suas estruturas químicas e são classificados como saturados ou insaturados, conforme o número de duplas ligações. Aqueles com uma única dupla ligação são denominados ácidos graxos

monoinsaturados, se apresentarem duas ou mais duplas ligações este será poli-insaturado (VISENTAINER; FRANCO, 2006).

Os lipídios da dieta são considerados a fonte mais concentrada de energia do organismo, atuando como precursores de numerosos compostos biologicamente ativos e sendo essenciais na digestão, absorção e transporte de vitaminas lipossolúveis e fitoquímicos, tais como carotenóides e licopenos. A gordura também confere propriedade de textura importante para os alimentos (CUPPARI, 2005; SIMÃO, et al., 2007; MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

A alimentação e a nutrição constituem requisitos básicos para a promoção e a proteção da saúde, possibilitando o crescimento e desenvolvimento humano com qualidade de vida (PINHEIRO, 2005). Entretanto, características da dieta são importantes na definição do estado de saúde, em particular no que se refere às doenças crônicas. A relação entre o consumo de gorduras saturadas, níveis plasmáticos elevados de colesterol e risco de doença coronariana foi das primeiras a ser comprovada. Assim como ocorre com as gorduras saturadas, o consumo elevado de colesterol e de gordura *trans* também pode aumentar o risco de doença coronariana (MONTEIRO; MONDINI; COSTA, 2000; MENSINK et al., 2003).

As gorduras monoinsaturadas são mais resistentes ao estresse oxidativo e uma dieta rica nestes ácidos graxos faz com que as partículas de LDL colesterol fiquem enriquecidas com eles, tornando-as menos suscetíveis à oxidação (RIQUE; SOARES; MEIRELLES, 2002).

A substituição isocalórica dos ácidos graxos saturados por ácidos graxos poli-insaturados reduz o colesterol total e o LDL colesterol. Os ácidos graxos poli-insaturados possuem o inconveniente de induzir maior oxidação lipídica e diminuir o HDL colesterol quando utilizados em grande quantidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

As refeições ricas em lipídios baseadas em óleos vegetais têm sido largamente estudadas, demonstrando forte influência positiva nos níveis das lipoproteínas sanguíneas, com efeitos protetores contra diversos estados patológicos. Os mecanismos responsáveis por esta ação protetora se relacionam ao tipo de ácido graxo contido nestes óleos, particularmente os ácidos graxos das séries mono e poli-insaturados (SOARES; ITO, 2000). Já o consumo de ácidos graxos *trans* tem associação positiva com a ocorrência de doenças

cardiovasculares, tanto quanto o consumo de ácidos graxos saturados (BERTOLINO et al., 2006).

Os ácidos graxos *trans*, isômeros geométricos e de posição dos ácidos graxos insaturados, podem ocorrer naturalmente em produtos derivados da carne e leite de animais ruminantes. Entretanto, as principais fontes de ácidos graxos *trans* na alimentação são os óleos vegetais parcialmente hidrogenados, contribuindo com cerca de 80 a 90% de todos os isômeros *trans* provenientes da dieta. Constituem fontes importantes de ácidos graxos *trans* na dieta: gorduras vegetais hidrogenadas, margarinas sólidas ou cremosas, cremes vegetais, biscoitos e bolachas, sorvetes cremosos, pães, batatas fritas comerciais preparadas em *fast food*, pastéis, bolos, tortas, massas ou qualquer outro alimento que contenha gordura vegetal hidrogenada entre seus ingredientes (BERTOLINO et al., 2006).

A gordura do óleo de coco consiste de cerca de 92% de ácidos graxos saturados, dentre os quais os triglicerídeos de cadeia média (TCM) contribuem com 70% do total dos ácidos graxos. O restante dos ácidos graxos são formados por 6% de ácidos graxos monoinsaturados e 2% de ácidos graxos poli-insaturados. Entre os ácidos graxos saturados, o óleo de coco contém principalmente ácido láurico (44%), ácido mirístico (16%), ácido palmítico (8%) e ácido caprílico (8%) (CHANDRASHEKAR; LOKESH; KRISHNA, 2010).

Há um consenso na área da saúde de que o óleo de coco deve ser evitado na dieta, pois é rico em gordura saturada que está associada à elevação do colesterol sanguíneo; no entanto os TCM presentes no óleo de coco são rapidamente hidrolisados tendo pequena participação pancreática, sendo absorvidos diretamente para a circulação portal e transportados pela albumina (BUCCI, 1993), não necessitando, portanto dos quilomícrons para seu transporte, fato pelo qual não elevam os lipídios sanguíneos (LOTTENBERG, 2009).

Os TCM não necessitam de carnitina para adentrarem na mitocôndria e por este motivo são oxidados mais rapidamente que os ácidos graxos de cadeia longa, de forma semelhante ao metabolismo dos carboidratos, possuindo assim propriedades interessantes para o desempenho físico como: fonte de energia facilmente disponível; mobilização dos estoques de gordura corporal; aumento da taxa metabólica e economia da massa muscular (BUCCI, 1993).

Nenhum outro óleo vegetal é tão estável quimicamente e resistente à oxidação quanto o óleo de coco, sendo resistente ao ataque de radicais livres e, em combinação com outros óleos atua como um antioxidante, ajudando a prevenir a oxidação destes óleos (CHANDRASHEKAR; LOKESH; KRISHNA, 2010).

O ácido oléico é o mais comum dos ácidos graxos monoinsaturados, e pode ser encontrado no azeite de oliva, óleo de canola, óleo de amendoim, nozes, amêndoas e no abacate (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

O abacate possui várias características e propriedades que lhe conferem diversas possibilidades de utilização como alimento e para os mais variados fins. Por conter uma alta concentração de óleo em sua polpa, o abacate tem sido muito utilizado na indústria farmacêutica, de cosméticos e também na obtenção de óleos comerciais substitutivos ao azeite de oliva (FRANCISCO; BAPTISTELLA, 2005).

O óleo de abacate é extraído da polpa do fruto e contém ácido oléico, ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido linoléico, ácido linolênico e ácido esteárico, bem como compostos desejáveis como vitaminas, fitoesteróis, clorofila e carotenos (WATERHOUSE; THAKORLAL; ZHOU, 2011).

Segundo Tango; Carvalho e Soares (2004), a composição de ácidos graxos do óleo de abacate varia de acordo com as cultivares, estágio de maturação, região anatômica do fruto e localização geográfica de plantio.

Devido sua composição em ácidos graxos, o óleo de abacate tem um papel positivo na redução do risco de doença cardíaca coronária, catarata, diabetes, câncer de próstata e doença macular relacionada à idade (WATERHOUSE; THAKORLAL; ZHOU, 2011).

Os ácidos graxos poli-insaturados possuem dois representantes principais, ácido graxo linolênico (ômega 3) e ácido graxo linoléico (ômega 6) (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

As primeiras evidências da importância do consumo de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 na redução de DCV apareceram no final de 1970, decorrentes de estudos epidemiológicos realizados em populações que consumiam grandes quantidades de peixes que são ricos em ácidos graxos ômega 3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). Naquela época, acreditava-se que o ômega 3 proveniente do ácido α -linolênico era apenas um precursor dos ácidos graxos de cadeia longa EPA e DHA, no entanto resultados de estudos

epidemiológicos em seres humanos e animais sugerem que o ácido α -linolênico pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares (AYERZA; COATES, 2005).

A semente de chia é a mais rica fonte vegetal de ômega 3, podendo seu óleo chegar a 67,8% de ácido α -linolênico, por isso, recentemente a chia tornou-se importante para a saúde humana e nutrição, porque seu elevado conteúdo de ácidos graxos ômega 3 que promovem efeitos benéficos para a saúde (AYERZA, 2010).

O colesterol, os fosfolipídios, os triglicerídeos e os ácidos graxos são os lipídeos biologicamente mais importantes. O colesterol apesar de desempenhar diversas funções importantes no organismo, quando em excesso no sangue se torna um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose (ABADI; BUDEL, 2011).

A solubilização e transporte dos lipídeos no plasma são realizados pelas lipoproteínas. Estas são divididas em dois grupos, as ricas em triglicerídeos, representadas pelos quilomícrons, que são maiores e menos densas, e pelas VLDL, de densidade muito baixa (MARZZOCO; TORRES, 2007; OLOFSSON; WIKLUND; BORÉN, 2007).

O outro grupo refere-se às lipoproteínas ricas em colesterol, LDL, de densidade baixa e HDL, de densidade alta. Também existe uma classe de lipoproteínas de densidade intermediária, a IDL e a lipoproteína (a) (MARZZOCO; TORRES, 2007; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

A dislipidemia, associada a outros fatores de risco relacionados às doenças cardiovasculares, tem sido um grave problema de saúde pública, além de serem a causa mais importante de despesas com assistência médica pelo Sistema Único de Saúde Brasileiro (ABADI; BUDEL, 2011).

De acordo com a sua etiologia, as dislipidemias são classificadas em primárias e secundárias. As primárias são consequentes de causas genéticas, e as secundárias são ocasionadas por outras doenças, uso de medicamentos ou hábitos de vida inadequados.

De acordo com a classificação laboratorial, são classificadas em hipercolesterolemia isolada (aumento do colesterol total e/ou do LDL colesterol); hipertrigliceridemia isolada (aumento dos triglicerídeos); hiperlipidemia mista (aumento do colesterol total e triglicerídeos) e diminuição isolada do HDL colesterol

ou associada a aumento do LDL colesterol ou triglicerídeos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2001).

Estudos mostram uma melhor correlação entre os níveis de LDL colesterol com o risco de aterosclerose do que com o colesterol total. Quanto mais elevado o LDL, mais frequente a doença aterosclerótica do coração, e quanto mais elevado o HDL, menor será o risco para essa doença (PIVA; FERNANDES, 2008).

Citocinas são proteínas com atividades diversificadas que são secretadas por um tipo de célula imunológica que estimula outro tipo de célula, mediando respostas imunes e inflamatórias. As interleucinas, também conhecidas por linfocinas são proteínas (polipeptídeos) envolvidas na comunicação entre linfócitos, tendo como atividades o reconhecimento de antígenos estranhos por células T; amplificação da proliferação de células T ativadas; atração de macrófagos e identificação de mecanismos efetivos para fagocitose de microrganismos e a promoção da eritropoiese (NAOUM, 2009).

Uma das primeiras citocinas envolvidas com o início da inflamação e lesão vascular é a IL-1. Esta citocina promove o recrutamento e transmigração de leucócitos e estabelece um microambiente adequado ao desenvolvimento da inflamação do vaso (GALKINA; LEY, 2009), e contribui para o desenvolvimento do dano vascular por estimular a proliferação e diferenciação celular (LIBBY et al., 1995; KLEEMANN; ZAELAAR; KOOISTRA, 2008).

A IL-6 é caracterizada por seus efeitos pleiotrópicos e regular vários aspectos da resposta imune, reações de fase aguda e hematopoiese (KLEEMANN; ZAELAAR; KOOISTRA, 2008). Esta interleucina pode contribuir com o desenvolvimento da aterosclerose através de mecanismos da coagulação, metabólicos, endoteliais e imunológicos. Além disso, tem papel central na regulação do processo inflamatório. Dentre algumas de suas ações, a IL-6 contribui para o aumento da expressão de moléculas de adesão em células endoteliais e musculares lisas, as quais auxiliam a migração de leucócitos para a região da lesão ateromatosa. Também age nos hepatócitos estimulando a síntese de proteínas de fase aguda, como a PCR (STENVINKEL et al., 2002; GIRN et al., 2007).

A IL-10 é uma citocina com atividade inibitória sobre a ativação de células Th1 e Th2, com importante função da regulação da inflamação sistêmica e da resposta imune (GIRN et al., 2007; GALKINA; LEY, 2009). Em modelos experimentais com

camundongos nocauteados para IL-10, tem sido possível demonstrar a importância desta citocina em reduzir o acúmulo de colesterol e modulação negativa da placa aterosclerótica, diminuindo a possibilidade de ruptura da placa (TEDGUI; MALLAT, 2006).

Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) também estimula a expressão de selectinas e moléculas de adesão por células endoteliais, células musculares lisas e macrófagos (TEDGUI; MALLAT, 2006). Através da interação entre o endotélio, leucócitos e plaquetas, o TNF- α cria um ambiente pró-inflamatório e favorece a trombose. Seu envolvimento na patogênese da aterosclerose é fundamentado em sua presença nas placas ateroscleróticas (ROBERTSON; HANSSON, 2006; GIRN et al., 2007). Semelhante à IL-1, esta citocina modula a morfologia da placa e está associada com a sua ruptura. Adicionalmente, O TNF- α aumenta a expressão do Fator Tecidual por células espumosas e células endoteliais, assim como aumenta a produção de outras citocinas, como IL-1 e IL-6 (BARATH et al., 1990; TAUBAN, 1997; GIRN et al., 2007).

Na família Interferon, o IFN- γ possui diversas funções, bem como uma variedade de atividades imunomodulatórias e inflamatórias, pois contribui com a progressão da aterosclerose e promove a adesão leucocitária na lesão vascular (GIRN et al., 2007). Também, propicia o recrutamento de células T e macrófagos para a placa e a migração e proliferação de células musculares lisas. A produção da IFN- γ é bem expressada em placas ateromatosas instáveis, desestabilizando a capa fibrosa e promovendo a apoptose de células espumosas (LEON; ZUCKERMAN, 2005; HARVEY; RAMJI, 2005; ROBERTSON; HANSSON, 2006).

O fígado está envolvido em aproximadamente cinco mil funções, recebe dois suprimentos sanguíneos distintos, e é composto por cinco tipos celulares diferentes arranjados sobre uma complexa estrutura extracelular. Devido ao elevado grau de diferenciação, o hepatócito é uma célula que raramente se divide. Em ratos, somente um hepatócito, entre cerca de vinte mil, pode estar se dividindo a qualquer momento. Durante a vida adulta, o hepatócito divide-se somente uma, duas ou talvez nenhuma vez (TOLENTINO et al., 2003).

A regeneração hepática, que ocorre sempre de forma ordenada e organizada, ocorre por hiperplasia celular compensatória nos lóbulos remanescentes, com consequente aumento em suas dimensões, o que ocorre até que o fígado atinja seu

peso original. Essa proliferação de hepatócitos não se torna desregulada ou autônoma mesmo após ressecções consecutivas (RAMALHO et al., 1993).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do consumo de dieta hiperlipídica suplementada com óleo com coco, óleo de abacate e óleo de chia nos parâmetros metabólicos e inflamatórios em ratos *wistar*.

2 RESULTADOS CIENTÍFICOS

Os resultados desta dissertação estão apresentados sob a forma de dois artigos científicos, os quais serão apresentados no decorrer deste documento e serão posteriormente submetidos a periódicos Qualis A e B para Ciência de Alimentos, a serem definidos pelos autores.

2.1 Artigo 1

EFEITOS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA ASSOCIADA AO USO DE ÓLEOS VEGETAIS EM RATOS *WISTAR*

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de ácidos graxos do óleo de coco, abacate e chia e avaliar a influência do consumo destes óleos no ganho de peso, consumo de dieta, acúmulo de gordura epididimal, colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL), triglicerídeos (TG) e concentração plasmática do fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) em ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica. Após sete dias em período de adaptação, 35 ratos *wistar* receberam, por 45 dias dieta padrão (TC), dieta hiperlipídica e soro fisiológico (DHSF), dieta hiperlipídica e óleo de coco (DHCO), dieta hiperlipídica e óleo de abacate (DHAB) e dieta hiperlipídica e óleo de chia (DHCH), sendo que o soro fisiológico e os óleos foram administrados por gavagem na quantidade de 0,8 mL/kg de peso corporal. Após o tratamento proposto, verificou-se que o TC consumiu uma maior quantidade de dieta e apresentou níveis séricos mais elevados de TG. O peso do fígado foi maior nos grupos DHCO e DHAB. Com relação a ganho de peso, peso de gordura epididimal e níveis séricos de CT, HDL e LDL não houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). A concentração plasmática do TNF- α e IL-6 entre os grupos suplementados foi menor no grupo que recebeu óleo de chia. Concluiu-se que mesmo apresentando pequenas alterações nas lipoproteínas sanguíneas, os marcadores inflamatórios apresentaram importantes diferenças estatísticas entre os grupos, sugerindo o aumento do risco de doenças, em especial as cardiovasculares, principalmente no grupo que recebeu dieta hiperlipídica sem a suplementação de óleos vegetais.

Palavras-chave: Óleo de coco. Óleo de abacate. Óleo de chia. Consumo de dieta. Ganho de peso. Perfil lipídico. TNF- α . IL-6.

INTRODUÇÃO

Os padrões alimentares vêm acompanhando mudanças desde as décadas de 1970, principalmente quanto ao consumo das gorduras, onde se tem evidenciado um substancial aumento da ingestão dos alimentos de origem vegetal e a substituição da gordura suína pelos óleos vegetais que foram adicionados aos alimentos industrializados principalmente na forma *trans* (ALMEIDA et al., 2011).

Essas mudanças foram propiciadas pela disponibilidade aumentada dos produtos de origem vegetal, em particular a soja, e pela divulgação de pesquisas mostrando a relação benéfica entre as dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados e a diminuição das doenças cardiovasculares (ALMEIDA et al., 2011).

A elevação plasmática da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e o aumento de risco de doença cardiovascular são relacionados com o consumo de gordura saturada e *trans*, sendo que a substituição dessas gorduras da dieta por mono e poli-insaturadas é considerada uma estratégia para o controle da hipercolesterolemia e conseqüentemente a redução da chance de eventos clínicos (SANTOS et al., 2013).

A ingestão do óleo de coco vem sendo muito utilizada em consequência aos apelos dos veículos de comunicação e *sites* de beleza, com a promessa em reduzir peso e a circunferência abdominal, além de atuar como coadjuvante na prevenção de diversas doenças, por conter na sua composição o ácido graxo láurico. Gorduras sólidas saturadas ricas em ácido láurico resultam em perfil lipídico mais favorável do que uma gordura sólida rica em ácidos graxos *trans*, em relação aos demais tipos de gorduras saturadas, especialmente o ácido mirístico e palmítico, o ácido láurico apresenta maior capacidade em elevar o LDL e o HDL (SANTOS et al., 2013).

O óleo de abacate se destaca pela excelente qualidade nutricional, sendo rico em ácido graxo oléico, uma gordura monoinsaturada utilizada como coadjuvante no tratamento de dislipidemias. Além disso, assemelha-se muito com o azeite de oliva, por ser extraído da polpa dos frutos e pela similaridade de suas propriedades físico-químicas, principalmente pela composição de seus ácidos graxos (SALGADO et al., 2008).

O óleo de chia contém umas das maiores concentrações conhecidas de ácido α -linolênico e em função disto, tornou-se uma importante opção para a nutrição

pelos benéficos efeitos para a saúde humana (AYERZA; COATES, 2005), como a proteção contra eventos cardiovasculares (MOZZAFFARIAN, 2005).

O conhecimento da importância dos ácidos graxos insaturados como agente protetor das doenças cardiovasculares levou a um maior interesse da população no consumo desses óleos, bem como estimulou o mercado a oferecer uma diversidade desses produtos, porém em relação a alguns desses gêneros, pouco se conhece quanto as suas reais implicações na saúde humana, uma vez que as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo: mais pessoas morrem anualmente de doenças cardiovasculares do que por qualquer outra causa (SCHIMIDT et al., 2011; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2013).

Estudos relacionam a aterogênese a mecanismos inflamatórios sistêmicos que elevam a produção de citocinas e resultam na ativação endotelial, que é considerado como o primeiro passo para o desenvolvimento da placa aterosclerótica, e está relacionada a adesão dos monócitos no endotélio vascular com sua subsequente migração na parede do vaso arterial (HULTHE; FAGERBERG, 2002).

As citocinas são moléculas protéicas, glicosiladas ou não, que enviam diversos sinais estimulatórios, modulatórios ou mesmo inibitórios para as diferentes células do sistema imunológico. Têm função autócrina, parácrina ou endócrina, atuando em concentrações baixíssimas e sua síntese habitualmente ocorre após estimulação antígena. O Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) é sintetizado principalmente por macrófagos e se encontra elevado em situações de inflamação. A IL-6 pode ser produzida por vários tipos celulares, sendo as células B, T e monócitos as principais fontes e consiste em um dos maiores mediadores da fase aguda da inflamação (VARELLA; FORTE, 2001).

O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de ácidos graxos do óleo de coco, abacate e chia e avaliar a influência do consumo destes óleos no ganho de peso, consumo de dieta, acúmulo de gordura epididimal, perfil lipídico e concentração plasmática de fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6) de ratos machos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo experimental

Foram utilizados 35 ratos *wistar* (*Rattus Norvegicus*), machos, recém-desmamados (21 dias), provenientes do Biotério da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul. Os mesmos foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos, composto de sete animais cada, e alocados em gaiolas individuais por um período de adaptação de sete dias e por 45 dias de experimento. Durante este período tiveram livre acesso à água e à dieta (consumo *ad libitum*) em condições ambientais controladas, sob temperatura de 23 a 25 °C e períodos alternados de claro e escuro de 12 horas. A avaliação do consumo de dieta foi diária, e do ganho de peso corporal duas vezes por semana. No final do experimento, totalizando 53 dias, os animais foram pesados e anestesiados com ketamina/xilazina® na quantidade de 60mg/kg e 15mg/kg de peso corporal respectivamente, para coleta do material biológico.

Elaboração das dietas

Foram elaboradas dois tipos de dieta, conforme a Tabela 1: uma dieta padrão AIN 93-G (REEVES et al., 1993) com 7% de lipídios (grupo TC) e uma dieta AIN 93-G modificada com aproximadamente 35% de lipídios (4% óleo de soja e 31% de gordura vegetal hidrogenada) (CINTRA, 2008), utilizada nos demais grupos (DHSC, DHCO, DHAB e DHCH).

Ao definir este modelo experimental, procurou-se uma aproximação da dieta que está realmente sendo utilizada por parte da população, onde o consumo de gordura *trans* ainda é grande, e são utilizados óleos vegetais na forma de suplementos para a prevenção de doenças (HISSANAGA; PROENÇA; BLOCK, 2012).

Os óleos vegetais foram administrados através de gavagem na quantidade de 0,8 mL/kg de peso corporal de óleo de coco (*cocos nucifera*) virgem (grupo DHCO), óleo de abacate (*Persea americana*) extra virgem (grupo DHAB) e óleo de chia

(*Salvia hispanica*) extra virgem (grupo DHCH) e soro fisiológico (grupo DHSF). Os óleos e os demais ingredientes das dietas foram adquiridos no comércio local.

Tabela 1 – Composição das dietas ofertadas aos ratos da linhagem *wistar* durante o experimento.

Ingrediente*	TC	DHSF	DHCO	DHAB	DHCH
Amido	385	104,5	104,5	104,5	104,5
Caseína	213	213	213	213	213
Maltodextrina	132	132	132	132	132
Sacarose	100	100	100	100	100
Óleo soja	70	40	40	40	40
Gordura vegetal hidrogenada	0	310	310	310	310
Fibra	50	50	50	50	50
Mix mineral	35	35	35	35	35
Mix vitamínico	10	10	10	10	10
L-cistina	3	3	3	3	3
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
BHT	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Soro fisiológico	0,8 mL/kg peso	0,8 mL/kg peso	0 0,8 mL/kg peso	0	0
Óleo de coco	0	0	0	0 0,8 mL/Kg peso	0
Óleo de abacate	0	0	0	0	0 0,8 mL/Kg peso
Óleo de chia	0	0	0	0	0

*Ingredientes expressos em g/kg de ração;

TC: grupo com dieta padrão, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de soro fisiológico;

DHSF: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de soro fisiológico;

DHCO: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de óleo de coco;

DHAB: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de óleo de abacate;

DHCH: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de óleo de chia.

Determinação do perfil dos ácidos graxos dos óleos vegetais

A determinação do perfil dos ácidos graxos dos óleos vegetais utilizados no estudo foi realizada através de cromatografia gasosa. A derivatização dos acilgliceróis foi realizada pelo método descrito por Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) dissolvidos em hexano foram analisados por cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização em chama

(GC-FID) da marca Varian modelo Star3400CX e amostrador automático de mesma marca, modelo 4200. Os FAMES foram separados em coluna capilar HP-88 (Agilent Technologies) (100 m x 0,25 mm x 0,20 μ m). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio à pressão constante de 20 psi. O injetor manteve-se no modo split com razão de 1:50 e temperatura de 250 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 50 °C, onde permaneceu por 1 minuto, após aumentou até 185 °C com gradiente de temperatura de 15 °C/min, após até 205 °C com um gradiente de 0,5 °C/min e então taxa de aumento de 5 °C/min para atingir 220 °C mantendo-se em isoterma por 10 minutos. A identificação dos FAME foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos analitos com os padrões (FAME Mix-37, Supelco Analytical, USA). A quantificação foi feita pela normalização das áreas dos ácidos graxos e as análises foram realizadas em triplicata.

Análises bioquímicas e pesagem de órgãos e tecidos

O sangue utilizado para as análises de CT, LDL, HDL, TG, TNF- α e IL-6 foi coletado ao final do período experimental por meio de punção da veia cava e após jejum de 12 horas. As amostras foram armazenadas em tubos de polietileno (1,5 mL) e centrifugadas a 2.500 rpm por 15 minutos, a 4 °C, para a separação do soro.

Após a coleta do sangue, foi retirado o fígado e a gordura epididimal e realizadas suas pesagens.

Os níveis séricos de CT e TG foram verificados utilizando métodos de padrão enzimático com o uso de Ortho-ClinicalDiagnostics[®] reagents em um analisador totalmente automatizado (Vitros 950[®] dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA). O HDL foi medido no plasma sobrenadante após a precipitação de poliproteína B contendo lipoproteínas com sulfato de dextrano e cloreto de magnésio como descrito anteriormente (BACHORIK; ALBERS, 1986). O LDL foi estimado segundo a equação de Friedewald (1972).

A quantificação do TNF- α e IL-6 foi realizada pelo método de ELISA utilizando *kits* comerciais (eBIOSCIENCE, San Diego, USA), de acordo com as instruções do fabricante.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada por meio do programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 16.0. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2 são apresentadas as médias e o desvio padrão (DP) do perfil de ácidos graxos dos óleos vegetais ofertados por gavagem aos ratos durante o período experimental.

Tabela 2 - Percentual de ácidos graxos presentes nos óleos de coco virgem, abacate extra virgem e chia extra virgem.

Ácidos graxos (%)	Óleo de coco	Óleo de abacate	Óleo de chia
	Média e DP	Média e DP	Média e DP
C6 (caprótico)	0,40±0,04	-	-
C8 (caprótico)	5,58±0,14	-	-
C10 (cáprico)	5,11±0,15	-	-
C12 (láurico)	43,95±1,81	-	-
C14 (mirístico)	18,11±0,88	0,05±0,01	-
C16 (palmítico)	10,11±0,58	16,34±0,05	6,57±0,12
C16:1 (palmitoléico)	-	6,29±0,07	0,24±0,01
C17:1 (heptadecanóico)	-	0,08±0,01	-
C18 (esteárico)	4,02±0,12	0,71±0,04	2,89±0,05
C18:1 cis (oléico)	7,62±1,38	56,6±0,18	5,86±0,12
C18:2 (linoléico)	1,81±0,73	16,04±0,13	19,38±0,06
C18:3n6 (linolênico)	0,10±0,01	0,08±0,01	0,26±0,01
C20 (araquídico)	-	-	0,27±0
C18:3n3 (α-linolênico)	0,09±0,01	1,45±0,03	62,48±0,25
C18:3 (linolênico)	-	0,20±0,01	0,13±0,01
C23 (tricosanóico)	3,10±0,26	2,16±0,17	1,93±0,07

Verificou-se que o óleo de coco é rico em gorduras saturadas, apresentando, em média, 43,95% de ácido graxo láurico (C12), 18,11% de ácido graxo mirístico (C14) e 10,11% de ácido graxo palmítico (C16). Em estudo realizado por Marina,

Che Man e Nazimah (2009) as amostras de óleo de coco virgem analisadas apresentaram composição semelhante ao encontrado neste estudo, sendo o ácido graxo láurico predominante (46-48%), bem como 17-18,9% de ácido graxo mirístico e 7-9,55% de ácido graxo palmítico.

Quanto a análise do perfil lipídico do óleo de abacate, esse apontou em média 56,6% de ácido graxo oléico (C18:1 cis), fonte de gordura monoinsaturada. No entanto, possui também uma quantidade expressiva de gorduras saturadas e poli-insaturadas, com média de 16,34% de ácido graxo palmítico (C16) e 16,04% de ácido graxo linoléico (C18:2). Em estudo realizado por Salgado e colaboradores (2008) avaliaram o perfil de ácidos graxos do óleo de abacate e encontraram respectivamente 55,81%, 22,74% e 15,30% de ácido graxo oléico, palmítico e linoléico, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo, com exceção do ácido palmítico. Segundo esses mesmos autores, as diferenças no teor de ácidos graxos podem ser decorrentes da variedade do abacate e pelo método o qual é extraído o óleo. Neste estudo por ter sido utilizado um óleo comercial de abacate não se tem a referência em relação à variedade da fruta da qual o óleo foi extraído ou se ocorreu uma mistura de variedades, fator que pode ter influenciado este resultado.

Com relação ao óleo chia, o mesmo é rico em gorduras poli-insaturadas, apresentando, em média, 62,48% de ácido graxo α -linolênico (C18:3n3) e 19,38% de ácido graxo linoléico (C18:2). Ayerza (2010) encontrou 60,05-67,33% e 15,6-19,7% de ácido graxo linolênico e linoléico, respectivamente, não diferindo dos valores encontrados nesse estudo.

Os dados referentes à média do consumo de dieta e ganho de peso corporal dos ratos durante o período experimental são apresentados na figura 1.

O consumo médio de dieta (Figura 1A) foi maior no grupo TC, que se diferenciou estatisticamente dos demais grupos experimentais. Esse fato provavelmente foi decorrente do tipo de dieta ofertada a este grupo (dieta padrão) que possui menor conteúdo lipídico (7% lipídios) em relação à dieta hiperlipídica (35% lipídios) ofertada aos grupos experimentais, sendo provavelmente o conteúdo lipídico o responsável por causar maior efeito de saciedade nos ratos.

Em estudos que utilizaram dieta hiperlipídica em ratos, os resultados foram semelhantes ao presente estudo, quando o grupo controle apresentou um maior

consumo de dieta em relação aos grupos que consumiram dieta hiperlipídica (FRANCO; CAMPOS; DEMONTE, 2009; SANTOS et al., 2010). Dados da literatura revelam também que não houve diferença estatística no ganho de peso dos ratos submetidos a dietas hiperlipídicas (SANTOS et al., 2010; ALMEIDA, 2011).

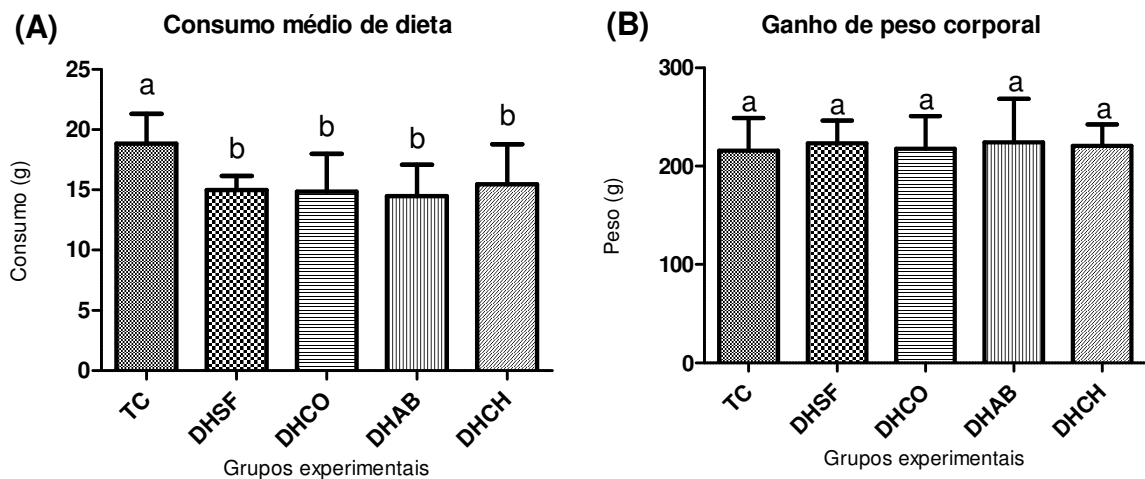


Figura 1 - Consumo médio de dieta e ganho de peso corporal de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais. TC: tratamento controle; DHSF: dieta hiperlipídica; DHCO: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de coco virgem; DHAB: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de abacate extra virgem; DHCH: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de chia extra virgem. Sobrescritos diferentes no mesmo gráfico são estatisticamente diferentes, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

Já com relação ao ganho de peso corporal dos ratos *wistar* analisados (Figura 1B) os grupos experimentais não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) quando comparados ao tratamento controle, o que pode ter ocorrido pelo fato de serem recém-desmamados e necessitarem de quantidade elevada de energia e de armazenamento de gordura para o crescimento (REEVES et al., 1993).

O peso do fígado e da gordura epididimal dos ratos pesquisados são apresentados na figura 2.

O peso do fígado (figura 2A) apresentou diferença estatística entre os grupos de tratamento controle e dieta hiperlipídica, sendo maior nos grupos DHCO e DHAB.

Já o peso da gordura epididimal (figura 2B) não apresentou diferença estatística entre os grupos experimentais e tratamento controle.

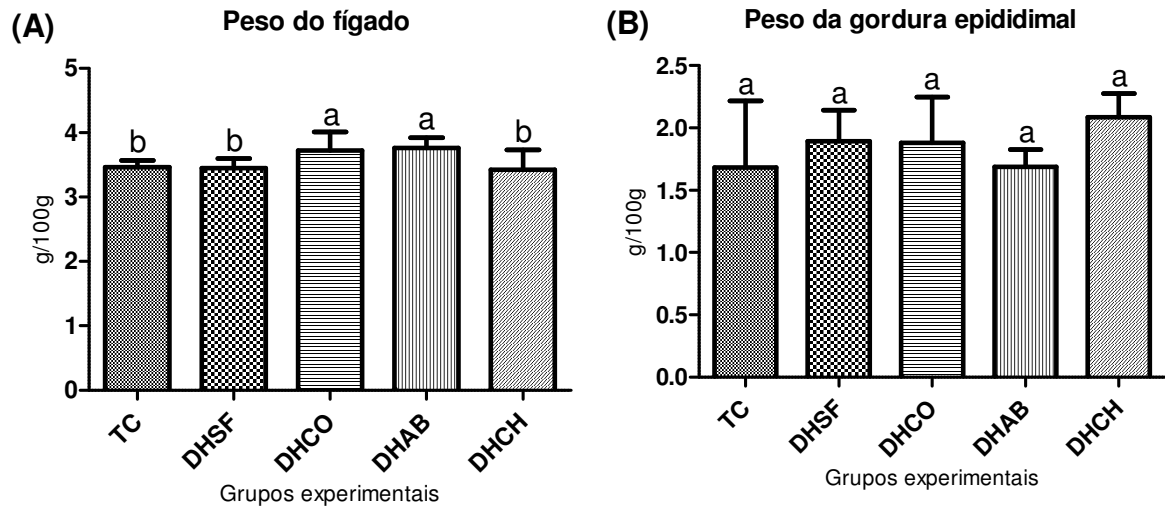


Figura 2 – Peso do fígado e peso da gordura epididimal de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais. TC: tratamento controle; DHSF: dieta hiperlipídica; DHCO: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de coco virgem; DHAB: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de abacate extra virgem; DHCH: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de chia extra virgem. Sobrescritos diferentes no mesmo gráfico são estatisticamente diferentes, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

Em estudo realizado por Cherem e Bramorski (2008) avaliaram o peso do fígado de ratos alimentados com dieta hiperlipídica (12% lipídios) suplementadas com colesterol ou quitosana, e verificaram que o grupo controle diferenciou-se estatisticamente dos demais grupos ($p < 0,05$), apresentando um menor peso hepático em relação aos grupos alimentados com dieta hiperlipídica.

Fernandes (2009) também avaliou o peso do fígado de ratos que realizavam exercícios físicos recebendo dieta normo e hiperlipídica com gordura vegetal hidrogenada (4% e 16% lipídios, respectivamente) e ácido linoléico conjugado (CLA) concluindo que este apresentou um aumento do peso do fígado nos animais, e que esse aumento estava diretamente relacionado ao consumo de dieta hiperlipídica, já que ambos fizeram atividade física e consumiram CLA. O autor também refere que aumento do peso fígado dos animais pode ser decorrente da incorporação de ácidos graxos no fígado. No presente estudo, os grupos DHCO e DHAB apresentaram maior peso de fígado em relação aos demais grupos, demonstrando que o aumento do peso deste órgão não está relacionado apenas ao consumo de dieta hiperlipídica, mas sim à qualidade dos lipídios ingeridos, onde os ácidos graxos saturados e monoinsaturados presentes respectivamente no óleo de coco e abacate, causaram efeitos metabólicos no fígado.

Hoefel (2011) também avaliou o peso da gordura epididimal em ratos *wistar* recebendo dieta hiperlipídica (43,2% de lipídios) com gordura saturada e monoinsaturada e verificou que não houve diferença estatística entre os grupos analisados, corroborando com os resultados da presente pesquisa.

Na figura 3 são apresentados os resultados referentes ao perfil lipídico sanguíneo dos ratos estudados.

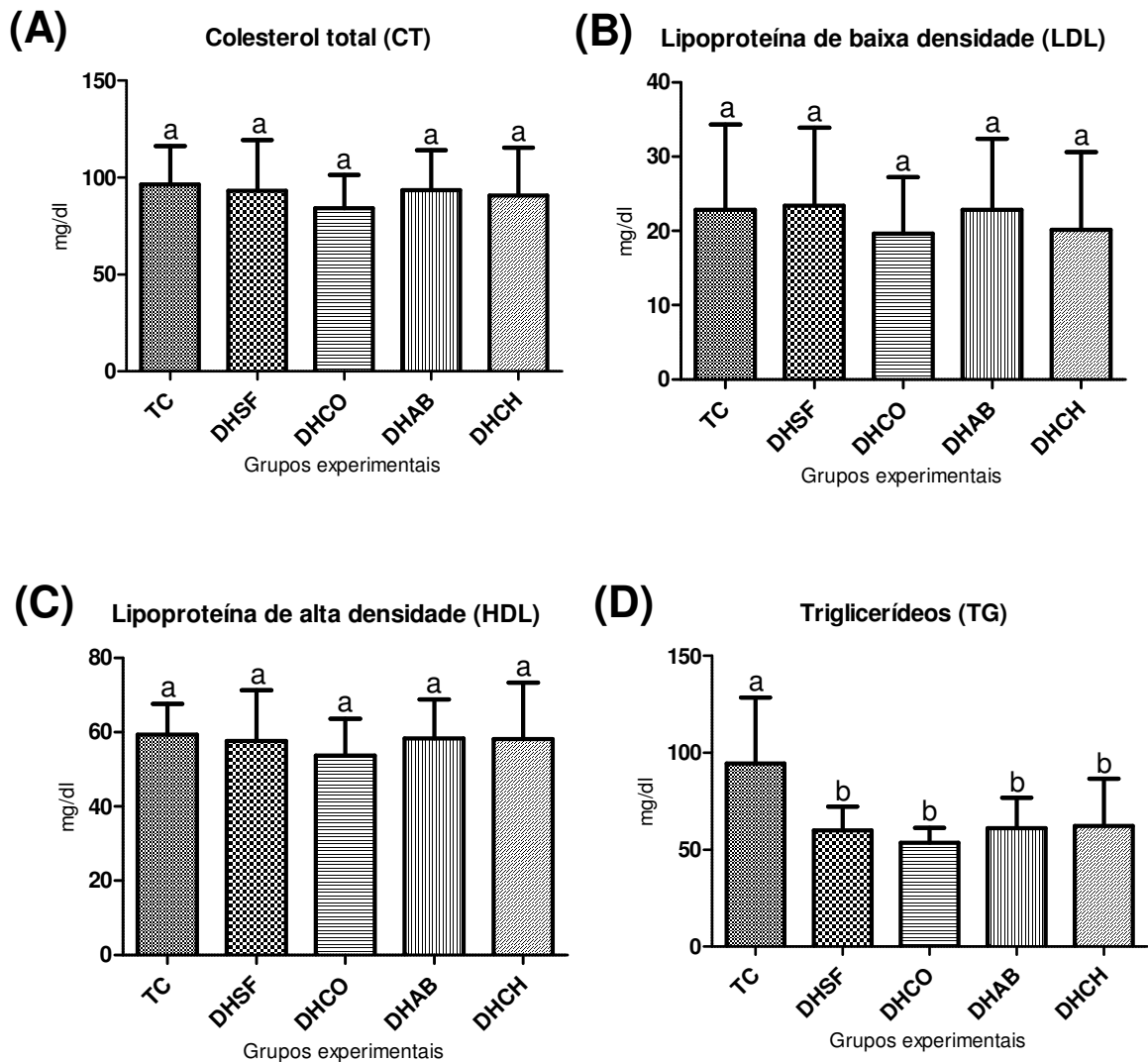


Figura 3 – Colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos (TG) de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais. TC: tratamento controle; DHSF: dieta hiperlipídica; DHCO: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de coco virgem; DHAB: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de abacate extra virgem; DHCH: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de chia extra virgem. Sobrescritos diferentes no mesmo gráfico são estatisticamente diferentes, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

De acordo com a figura 3 observa-se que não houve diferença estatística entre os diferentes grupos em relação ao CT (Figura 3A), LDL (Figura 3B) e HDL

(Figura 3C), no entanto, em relação aos TG (Figura 3D) o grupo TC diferenciou-se estatisticamente dos demais, apresentando valores superiores, o que sugere que a dieta hiperlipídica, a qual possui menor teor de carboidratos (CHO) e conseqüentemente menor carga glicêmica, pode exercer papel protetor contra a elevação dos TG.

Em estudo que avaliou os lipídios séricos de ratos exercitados recebendo dieta hiperlipídica, observou-se que não houve aumento dos TG mesmo quando alimentados com dieta hiperlipídica (14% lipídios) (FRANCO; CAMPOS; DEMONTE, 2009). Dietas hipolipídicas (até 30% do Valor Energético Total - VET) na forma de lipídios são, frequentemente, hiperglicídicas e, portanto ricas em carboidratos (mais de 60% do VET), os quais acabam sendo principalmente aqueles provenientes de alimentos processados e com alto índice glicêmico, que podem apresentar graves efeitos adversos à saúde, como a hipertrigliceridemia (POLACOW; JUNIOR, 2007). A dieta do TC do presente estudo contém 61,7% de CHO (Reeves et al., 1993), enquanto que a dieta hiperlipídica contém 33,65% de CHO (CINTRA, 2008), o que pode explicar o fato do TC apresentar hipertrigliceridemia.

Em 2004, Tholstrup e colaboradores realizaram um estudo com homens saudáveis onde substituíram parte da gordura habitual da dieta por 70g de ácidos graxos de cadeia média (AGCM) ou ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) e concluíram que a dieta rica em AGCM causou aumento dos níveis plasmáticos de CT, LDL e HDL, o que sugere que os AGCM presentes no óleo de coco exercem efeitos negativos sobre as lipoproteínas plasmáticas.

No entanto, em outro estudo, o consumo de óleo de coco e outros suplementos foram avaliados em ratos com atividade física regular e os autores concluíram que o óleo de coco parece ser eficiente ao fornecer benefícios a saúde em termos de tratamentos cardiovasculares (NAGHII, 2012). Os resultados acima divergem dos encontrados nesse estudo, pois não houve alteração das lipoproteínas do plasma com a suplementação do óleo de coco.

Segundo Rodrigues (2012) com a descoberta dos malefícios da gordura *trans*, a indústria de alimentos vem buscando alternativas para o preparo dos alimentos, sendo uma delas o óleo de coco, no entanto, a substituição da gordura *trans* pela gordura saturada do óleo de coco pode não ser benéfica para a saúde, pois a gordura saturada está associada à elevação do colesterol total. Porém a gordura

saturada presente no óleo de coco é composta por uma maior quantidade de ácidos graxos de cadeia média (AGCM), diferente de outras gorduras saturadas que possuem maior quantidade de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL). Os AGCM possuem efeito metabólico diferente, pois são rapidamente absorvidos no intestino, mesmo sem sofrer a ação da enzima lipase pancreática e são transportados pela veia porta para o fígado, onde são rapidamente oxidados, gerando energia. Ao contrário dos AGCL, os AGCM não participam do ciclo do colesterol e não são estocados em depósitos de gorduras (LIAU, 2011).

Baseada na literatura científica, esperava-se que o grupo DHAB, o qual foi suplementado com óleo de abacate, rico em ácido graxo monoinsaturado (MUFA) apresentasse efeito na redução dos níveis sanguíneos de CT, LDL e TG (SOARES; ITO, 2000; CARRANZA et al., 2004; SALGADO, 2008; CREDÍDIO, 2010). No entanto este óleo, no modelo experimental utilizado, não alterou as frações lipídicas dos animais, não apresentado diferença estatística em relação ao grupo TC. Em outro modelo experimental, a dieta com 7% de óleo de oliva foi a que apresentou a maior redução dos triglicerídeos séricos entre as fontes lipídicas estudadas (óleo de soja, óleo de canola e gordura suína), mostrando que a diminuição da oxidação do colesterol não está associada somente ao tipo do graxo, e sim a outros componentes como a oleuropeína, que é um composto fenólico presente no azeite de oliva (MORAIS et al., 2003) (FITÓ et al., 2005).

Nieman e colaboradores (2009) avaliaram o efeito do consumo de semente de chia (50g/dia) por doze semanas nas lipoproteínas sanguíneas de adultos com sobrepeso e verificaram que não houve diferença estatística entre os grupos (chia e placebo), resultado semelhante ao encontrado na presente pesquisa. Segundo Prasad (2009), estudos com a suplementação de ácido graxo α -linolênico (ALA) (C18:3 n3), ômega 3 de origem vegetal, através do uso de linhaça em animais de experimentação, apresentaram resultados que variam de efeito nulo a discreta redução lipídica, indo ao encontro da presente pesquisa, onde o grupo suplementado com o óleo de chia, rico em ALA, não apresentou diferenças estatísticas em relação ao grupo TC e DHSF ($p < 0,05$).

Na figura 4 são apresentados os valores da concentração plasmática de TNF- α e IL-6 encontrados nos ratos pesquisados.

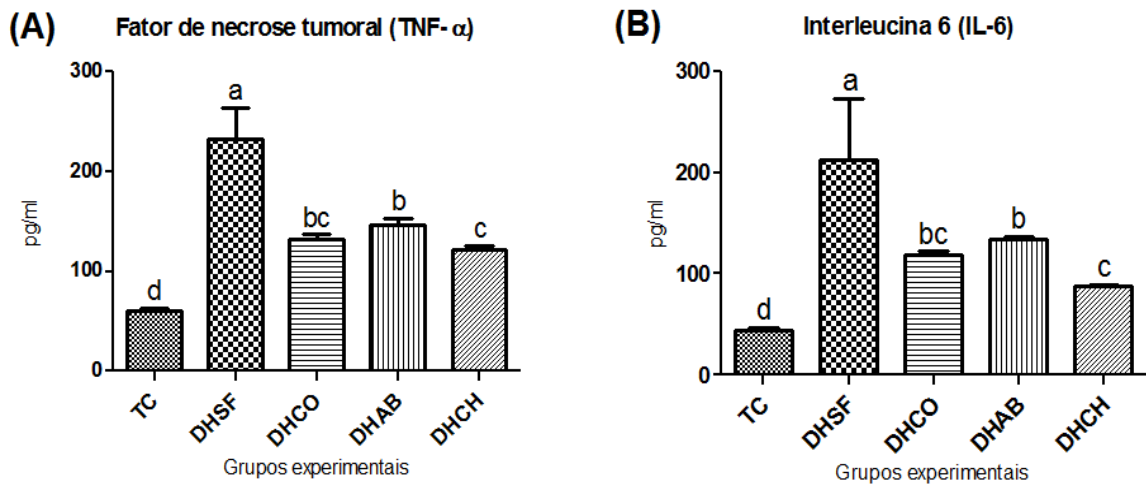


Figura 4 – Fator de necrose tumoral (TNF α) e Interleucina 6 (IL-6) de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais. TC: tratamento controle; DHSF: dieta hiperlipídica; DHCO: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de coco virgem; DHAB: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de abacate extra virgem; DHCH: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de chia extra virgem. Sobrescritos diferentes no mesmo gráfico são estatisticamente diferentes, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

A partir da análise da figura 4A é possível verificar que tanto o TNF- α quanto a IL-6 (figura 4B) obtiveram maior concentração plasmática no grupo DHSF, seguido respectivamente pelos grupos DHAB, DHCO, DHCH e TC, sendo possível afirmar que o tratamento concomitante da dieta hiperlipídica suplementada de óleos vegetais foi efetivo em todos os grupos pesquisados (DHCO, DHAB, DHCH), sendo que dentre os grupos suplementados com óleos vegetais, o óleo de chia foi o que obteve menor concentração plasmática tanto de TNF- α , quanto de IL-6, demonstrando que o ALA apresenta efeitos positivos na redução de marcadores inflamatórios, reduzindo desta forma o risco de doenças, em especial as cardiovasculares o que sinaliza o início dos eventos dessas doenças.

O consumo de 14g/dia de ALA por quatro semanas reduziu significativamente a produção de TNF- α em humanos (CAUGHEY et al., 1996) e o consumo de 15mL/dia de óleo de linhaça por doze semanas diminuiu a IL-6 (PASCHOS, 2005).

Estudos em indivíduos saudáveis e portadores de hipercolesterolemia, utilizando 7% do valor calórico total na forma de ácidos graxos *trans* demonstraram aumento da concentração plasmática de TNF- α e IL-6 (HAN et al., 2002; BAER et al., 2004), indo ao encontro dos resultados do presente estudo.

Santos et al. (2013) salientam que o uso de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) está relacionado com a redução de marcadores inflamatórios, no entanto, no presente estudo o grupo suplementado com óleo de abacate (DHAB) apresentou maior concentração plasmática de IL-6 que o grupo suplementado com óleo de chia e tratamento controle, o que sugere que a suplementação com ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) foi mais eficiente na redução dos marcadores inflamatórios do que os MUFA na presente pesquisa.

Em pesquisa feita com 50 homens saudáveis, o consumo de dieta com 8% do VET de ácido láurico (C12) e palmítico (C16), bem como de ácido esteárico (C18), durante cinco semanas não causou efeito sobre a IL-6 (BAER et al., 2004). Entre indivíduos com hipercolesterolemia, uma dieta de um mês com 16,7% do VET composto de ácidos graxos saturados (manteiga), em comparação com 12,5% do VET de ácidos graxos poli-insaturados (óleo de soja) resultou em tendência de maior produção de TNF- α , sem causar efeitos sobre a IL-6 (HAN et al., 2002). Os resultados encontrados acima vão de encontro aos valores da presente pesquisa, pois o grupo suplementado com óleo de coco ($43,95 \pm 1,81\%$ de ácido láurico) apresentou maior concentração plasmática de TNF- α e IL-6 em relação ao tratamento controle.

No modelo experimental utilizado, tanto a dieta hiperlipídica quanto as dietas suplementadas com óleos vegetais apresentaram efeitos positivos em relação ao consumo de dieta, que foi maior no tratamento controle, bem como nos triglicerídeos, que ficaram aumentados neste mesmo grupo. No entanto, o óleo de coco e abacate apresentaram efeitos negativos com relação ao peso do fígado, mostrando aumento de peso do órgão nestes grupos suplementados.

A menor concentração plasmática de TNF- α e IL-6 foi encontrada no tratamento controle, demonstrando que uma dieta equilibrada é a melhor opção para redução dos níveis plasmáticos dos marcadores inflamatórios, sendo que entre grupos suplementados com óleos vegetais, o óleo de chia foi o que apresentou menor concentração plasmática de TNF- α e IL-6, demonstrando que o ALA apesar de não apresentar efeitos na redução das lipoproteínas plasmáticas, apresentou importante efeito na redução dos marcadores inflamatórios.

O óleo de coco, óleo de abacate e a gordura *trans* não aumentaram as lipoproteínas sanguíneas, no entanto causaram aumento da concentração plasmática dos marcadores inflamatórios, o que contribui para o risco de DCV.

CONCLUSÃO

Conclui-se que mesmo apresentando poucas diferenças quanto ao perfil lipídico dos respectivos grupos em estudo, os marcadores inflamatórios apresentaram importantes diferenças estatísticas, mostrando o início do processo doenças, em especial as cardiovasculares, ocorrendo de forma silenciosa sem investigação habitual, principalmente no grupo que recebeu dieta hiperlipídica sem a suplementação de óleos vegetais, o que mostra a importância de seguir a orientação de uma adequação do uso de ácidos graxos na dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA et al. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Rev. Nutr., Campinas**, v. 24, n. 1, p. 143-152, jan./fev. 2011.

AYERZA, R. Effects of seed color and growing locations on fatty acid content and composition of two chia (*Salvia hispânica* L.) genotypes. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 87, p. 1161-1165, 2010.

AYERZA, R.; COATES, W. Effect of groundchia seed and chia oil on plasma total cholesterol, LDL, HDL, triglyceride content, and fatty acid composition when fed to rats. **Nutr Res.**, v. 11, p. 995-1003, 2005.

BAER, D. J. et al. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. **Am J Clin Nutr.**, v. 79, n. 6, p. 969-973, 2004.

BACHORIK, P. S.; ALBERS, J.J. Precipitation methods for quantifications of lipoproteins. **Methods Enzymol**, v. 129, p. 78-100, 1986.

CARRANZA et al. Efecto de dos cantidades menores de aguacate como fuente cotidiana de grasas monoinsaturadas em lós lipídios séricos y membranales, función endotelial, agregación plaquetaria y proteína C reactiva em pacientes com síndrome metabólico. **Med Int Mex**, v. 20, n. 6, p. 409-416, nov./dez. 2004.

CAUGHEY, G. E. et al. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. **Am J Clin Nutr.**, v. 63, p. 116-122, 1996.

CHEREM, A. R.; BRAMORSKI, A. Excreção de gordura fecal de ratos (*Rattus noervegicus*, *Wistar*) submetidos a dietas hiperlipídicas e hipercolesterolêmicas suplementadas com quitosana. **Rev. Bras. Ciênc. Farmacêuticas**, vol. 44, n. 4, p. 701-706, out./dez., 2008.

CINTRA, D.E.C. **Integração entre vias metabólicas e inflamatórias durante a esteatose hepática induzida por dieta hiperlipídica**. 2008. 100p. Tese (Doutorado em Clínica Médica) – Curso de Pós-graduação em Clínica Médica, Universidade Estadual de Campinas, SP.

CREDÍDIO, E. V. **Estudo do efeito do abacate nos lipídios sanguíneos em humanos**. 2010. 117p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, SP.

FERNANDES, S. A. T. **Interação da dieta hiperlipídica, do ácido linoleico conjugado e do exercício físico no metabolismo lipoproteico em camundongos geneticamente modificados para aterosclerose**. 2009. 65p. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

FITÓ, M. et al. Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. **Atherosclerosis**, v. 181, p. 149-158, 2005.

FORTI, N., DIAMENT, J. Lipoproteínas de alta densidade: Aspectos metabólicos, clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Atualização para os clínicos. **Arq Bras Cardiol**, v. 87, p. 672-679, 2006.

FRANCO; CAMPOS; DEMONTE. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. **Rev. Nutr.**, v. 22, n. 3, p. 359-366, maio/jun., 2009.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of preparative ultracentrifuge. **Clin Chem** 1972;18:499-502.

HAN, S. N. et al. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. **J Lipid Res.**, v. 43, n. 3, p. 445-452, 2002.

HISSANAGA, V. M.; PROENÇA, R. P. C.; BLOCK, J. M. Ácidos graxos *trans* em produtos alimentícios brasileiros: uma revisão sobre aspectos relacionados à saúde e à rotulagem nutricional. **Rev. Nutr.**, v. 24, n. 4, p. 517-530, jul./ago., 2012.

HOEFEL, A. L. **Efeitos da dieta hiperlipídica com gordura saturada e monoinsaturada em parâmetros bioquímicos de ratos wistar.** 2011. 32 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

HULTHE, J.; FAGERBERG, B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 22, p. 1162-1167, 2002.

LIAU, K. M. et al. An open-label pilot study to assess the efficacy and safety of virgin coconut oil in reducing visceral adiposity. **ISRN Pharmacology**, v. 2011, 2011.

MARINA, A.M.; CHE MAN, Y. B.; NAZIMAH, S. A. H. Chemical properties of virgin coconut oil. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 86, p.301-307, 2009.

MORAIS, C. S. N. et al. Efeitos das fontes e níveis de lipídios nas dietas de ratos machos da linhagem *wistar (Rattus norvegicus)* sobre frações lipídicas do sangue. **Ciênc. Agrotec.**, v. 27, n. 5, p. 1082-1088, set./out., 2003.

MOZZAFFARIAN, D. Does alpha-linolenic acid intake reduce the risk of coronary heart disease? A review of the evidence. **Altern Ther Health Med.**, v. 11, n. 3, p. 24-30, 2005.

NAGHII, M. R. Effect of combination therapy of fatty acids, calcium, vitamin D and boron with regular physical activity on cardiovascular risk factors in rat. **J. Oleo Sci.**, v. 61, n. 2, p. 103-111, 2012.

NIEMAN, D. C. Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. **Nutrition Research**, v. 29, p. 414-418, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. Fact sheet nº 317; 2013. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>. Acesso em: 23 mar 2013.

PASCHOS, G. K. et al. Apolipoprotein E genotype in dyslipidemic patients and response of blood lipids and inflammatory markers to alpha-linolenic acid. **Angiology**, v. 56, p. 49-60, 2005.

POLACOW, V. O.; JUNIOR, A. H. L. Dietas hiperglicídicas: Efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal, e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 3, p. 389-400, 2007.

PRASAD, K. Flaxseed and cardiovascular health. **J Cardiovasc Pharmacol.**, v. 54, n. 5, p. 367-377, 2009.

REEVES, P.G. et al. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

RODRIGUES, A. Óleo de coco – Milagre para emagrecer ou mais um modismo? **Revista da ABESO**, n. 56, p.5-7, abril, 2012.

SALGADO, J. M. et al. O óleo de abacate (*Persea americana Mill*) como matéria-prima para a indústria alimentícia. **Rev. Ciênc. e Tecnol. Alimt.**, Campinas, v. 28(supl.), p. 20-26, dez. 2008.

SANTOS, R. D. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol.**, v. 100(1Supl.3), p. 1-40, 2013.

SANTOS, A. C. A. et al. Estudo biométrico de ratos alimentados com dois tipos de dieta. **Colloquium Vitae**, v. 2, n.2, jul./dez., 2010.

SCHIMIDT et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **The Lancet**, v. 377, n. 4, jun. 2011.

SOARES, H. F.; ITO, M. K. O ácido graxo monoinsaturado do abacate no controle das dislipidemias. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, vol. 9 (2), 47-51, maio/ago., 2000.

THOLSTRUP, T. et al. Effects of médium-chain fatty acids and oleico n blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. **Am J Clin Nutr.**, v. 79, p. 564-569, 2004.

VARELLA, P. P. V.; FORTE, W. C. N. Citocinas: revisão. **Revista Brasileira de alergia e imunopatologia**, v. 24, n. 4, jul./ago. 2001. Disponível em: <http://www.asbai.org.br/revistas/Vol244/citocinas.htm>. Acesso em: 07 abril 2013.

2.2 Artigo 2

EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM ÓLEOS VEGETAIS NAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E MORFOMETRIA HEPÁTICA DE RATOS *WISTAR*

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a concentração plasmática de interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (IFN- γ), bem como o número de células e a área do citoplasma dos hepatócitos de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e suplementação de óleo de coco, óleo de abacate e óleo de chia. Após sete dias em período de adaptação, 35 ratos *wistar* receberam, por 45 dias dieta padrão (TC), dieta hiperlipídica e soro fisiológico (DHSF), dieta hiperlipídica e óleo de coco (DHCO), dieta hiperlipídica e óleo de abacate (DHAB) e dieta hiperlipídica e óleo de chia (DHCH), sendo que o soro fisiológico e os óleos foram administrados por gavagem na quantidade de 0,8 mL/kg de peso corporal. As maiores concentrações plasmáticas da IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ foram encontradas no grupo DHSF, e as menores concentrações, no grupo TC. Entre os grupos tratados com óleos vegetais, o grupo DHCH foi o que apresentou as menores concentrações plasmáticas IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ . Em relação a IL-10, a maior concentração plasmática foi encontrada no DHCH, seguido respectivamente do TC, DHCO, DHSF e DHAB. Houve aumento do número de células e redução da área do citoplasma no grupo DHCH. Pode-se concluir que os ácidos graxos *trans* elevaram as citocinas pró-inflamatórias ocasionando o aumento da área do citoplasma. O ácido α -linolênico reduziu a concentração plasmática das citocinas pró-inflamatórias, bem como a área do citoplasma, o que torna importante o consumo desse ácido graxo na alimentação para prevenção de DCV.

Palavras-chave: Óleo coco. Óleo abacate. Óleo de chia. Citocinas. Morfometria de fígado.

INTRODUÇÃO

O consumo de gordura *trans* está fortemente associado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), não só por sua ação sobre os lipídios plasmáticos, mas também por atuarem em outras vias metabólicas que estão envolvidas na indução da aterogênese, como os processos inflamatórios (SANTOS, 2013).

As citocinas são secretadas por vários tipos celulares, sendo os macrófagos sua principal fonte de origem. São responsáveis por modular aspectos da inflamação vascular, alterar a proliferação, diferenciação e função de uma variedade de tipos celulares onde ocorre a comunicação intercelular, podendo assim gerar as DCV. Os produtos das células imunes são especialmente importantes na regulação de respostas imunes e inflamatórias e atuam em diversas etapas da imunidade (BIASILLO et al., 2010).

Com base em diferentes estudos, tem sido sugerido que as citocinas podem ser classificadas quanto ao seu envolvimento na aterosclerose em citocinas pró-aterogênicas e citocinas anti-aterogênicas. Entre o primeiro grupo se incluem a L-1, IL-6, TNF- α e o IFN- γ , e entre as citocinas com atividades anti-inflamatórias está a IL-10 (GALKINA; LEY, 2009).

A atividade inflamatória nas doenças cardiometabólicas tem sido extensivamente pesquisada, contudo, os mecanismos pelos quais os lipídios induzem inflamação vascular na aterosclerose ainda não estão bem elucidados. Sabe-se que a resposta é coordenada aos estímulos nocivos, com o objetivo do sistema retornar ao normal. A identificação desses marcadores inflamatórios preditores de doenças cardiovasculares poderia auxiliar na detecção precoce, prevenção e tratamento da aterosclerose, pois as citocinas funcionam como potentes mediadores ou reguladores da inflamação, pela habilidade de recrutar e ativar subpopulações específicas de leucócitos (PEREIRA, 2011).

O fator de necrose tumoral (TNF- α) é responsável pela indução de atividade macrófaga tumoricida, estimulando a produção de outras citocinas e desempenhando inúmeras atividades biológicas, relacionadas aos processos inflamatórios e imunes, agindo em diferentes partes do corpo (COSTA, 2005).

O TNF- α é secretado por macrófagos, linfócitos e monócitos, sendo a presença de lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos o principal estímulo para que isto ocorra (VITALE; ANDRADE; RIBEIRO, 2007).

O interferon gama (IFN- γ) além de ativar macrófagos, induz os mesmos à apoptose. Os macrófagos possuem característica necrótica e pró-aterogênica das lesões complexas que ocorrem em fases avançadas do processo aterosclerótico (INAGAKI et al., 2002).

Os hepatócitos sintetizam glicoproteínas que formam a maioria das proteínas de fase aguda (PFA), e sua produção é mediada por citocinas pró-inflamatórias, sendo as mais importantes as IL-6 e IL-1 e o TNF- α (JAIN, 1989). A origem desta resposta pode ser atribuída a causas infecciosas, imunológicas, neoplásicas, traumáticas e, atualmente tem sido muito pesquisada em DCV, sendo que seu propósito é restaurar a homeostase e remover a causa do desequilíbrio. A resposta de fase aguda é muito rápida, desenvolve-se antes do estímulo do gatilho imune específico e, em muitos casos, antes do início dos sinais clínicos; por isso, as proteínas de fase aguda (PFA) podem ser consideradas marcadores precoces de qualquer processo patológico ou doença, entre elas as DCV (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005).

A modulação da produção das proteínas pelo fígado depende de uma ação sinérgica entre as citocinas: TNF- α induz proteólise periférica, aumentando o fluxo de aminoácidos para o fígado; IL-1 estimula a síntese de PFA e a IL-6 está envolvida na liberação de PFA dos hepatócitos e o IFN- γ amplifica a resposta inflamatória (PALTRINIERI, 2007).

O objetivo deste estudo foi verificar a concentração plasmática de IL-1, IL-6, L-10, TNF- α e IFN- γ , bem como o número de células e a área do citoplasma dos hepatócitos de ratos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e suplementação de óleo de coco, abacate e chia.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo experimental

Foram utilizados 35 ratos *wistar* (*Rattus Norvegicus*), machos, recém-desmamados (21 dias), provenientes do Biotério da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul. Os mesmos foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos, composto de sete animais cada, e alocados em gaiolas individuais por um período de adaptação de sete dias e por 45 dias de experimento. Durante este período tiveram livre acesso à água e à dieta (consumo *ad libitum*) em condições ambientais controladas, sob temperatura de 23 a 25 °C e períodos alternados de claro e escuro de 12 horas. A avaliação do consumo de dieta foi diária, e do ganho de peso corporal duas vezes por semana. No final do experimento, totalizando 53 dias, os animais foram pesados e anestesiados com ketamina/xilazina® na quantidade de 60mg/kg e 15mg/kg de peso corporal respectivamente, para coleta do material biológico.

Elaboração das dietas

Foram elaboradas dois tipos de dieta, conforme a Tabela 1: uma dieta padrão AIN 93-G (REEVES et al., 1993) com 7% de lipídios (grupo TC) e uma dieta AIN 93-G modificada com aproximadamente 35% de lipídios (4% óleo de soja e 31% de gordura vegetal hidrogenada) (CINTRA, 2008), utilizada nos demais grupos (DHSC, DHCO, DHAB e DHCH).

Ao definir este modelo experimental, procurou-se uma aproximação da dieta que está realmente sendo utilizada por parte da população, onde o consumo de gordura *trans* ainda é grande, e são utilizados óleos vegetais na forma de suplementos para a prevenção de doenças (HISSANAGA; PROENÇA; BLOCK, 2012).

Os óleos vegetais foram administrados através de gavagem na quantidade de 0,8 mL/kg de peso corporal de óleo de coco (*cocos nucifera*) virgem (grupo DHCO), óleo de abacate (*Persea americana*) extra virgem (grupo DHAB) e óleo de chia

(*Salvia hispanica*) extra virgem (grupo DHCH) e soro fisiológico (grupo DHSF). Os óleos e os demais ingredientes das dietas foram adquiridos no comércio local.

Tabela 1 – Composição das dietas ofertadas aos ratos da linhagem *wistar* durante o experimento.

Ingrediente*	TC	DHSF	DHCO	DHAB	DHCH
Amido	385	104,5	104,5	104,5	104,5
Caseína	213	213	213	213	213
Maltodextrina	132	132	132	132	132
Sacarose	100	100	100	100	100
Óleo soja	70	40	40	40	40
Gordura vegetal hidrogenada	0	310	310	310	310
Fibra	50	50	50	50	50
Mix mineral	35	35	35	35	35
Mix vitamínico	10	10	10	10	10
L-cistina	3	3	3	3	3
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
BHT	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Soro fisiológico	0,8 mL/kg peso	0,8 mL/kg peso	0	0	0
Óleo de coco	0	0	0,8 mL/kg peso	0	0
Óleo de abacate	0	0	0	0,8 mL/Kg peso	0
Óleo de chia	0	0	0	0	0,8 mL/Kg peso

*Ingredientes expressos em g/kg de ração;

TC: grupo com dieta padrão, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de soro fisiológico;

DHSF: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de soro fisiológico;

DHCO: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de óleo de coco;

DHAB: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de óleo de abacate;

DHCH: grupo com dieta hiperlipídica, recebendo gavagem de 0,8 mL/kg de peso de óleo de chia.

Análises bioquímicas e histológicas

O sangue utilizado nas análises da IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α e INF- γ foram coletados ao final do período experimental por meio de punção da veia cava e após jejum de 12 horas. As amostras foram armazenadas em tubos de polietileno (1,5 mL) e centrifugadas a 2.500 rpm por 15 minutos, a 4 °C, para a separação do soro.

A quantificação foi realizada pelo método de ELISA utilizando *kits* comerciais (eBIOSCIENCE, San Diego, USA), de acordo com as instruções do fabricante.

Para realizar a análise histológica, os fígados foram retirados, pesados e fixados em solução de Bouin por 24 horas, após desidratada em série alcoólica de concentrações crescentes (70%, 85% e 100%), diafanizados em xilol, embebidos e incluídos em parafina. Os blocos foram trimados e cortes de 6 μm de espessura foram obtidos com o micrótomo Easy Path EP-31-20094 utilizando navalhas descartáveis. As lâminas foram coradas com a coloração de Hematoxilina e Eosina e a coloração segundo Goldner para a caracterização dos diferentes tipos celulares.

Foram utilizadas técnicas morfométricas para quantificar a ocorrência das estruturas em estudo, com o auxílio do programa Digimizer®.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada por meio do programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 16.0. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações plasmáticas de IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α e IFN- γ dos ratos pesquisados são apresentados na figura 1.

A partir da análise da figura 1, é possível verificar que as maiores concentrações plasmáticas das citocinas IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ foram encontradas no grupo DHSF, e as menores concentrações, no tratamento controle. Com relação aos grupos tratados com óleos vegetais, o grupo DHCH foi o que apresentou as menores concentrações plasmáticas de IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ , seguido respectivamente, do grupo DHCO e do grupo DHAB.

Em relação à IL-10, em ordem decrescente de concentração plasmática, temos o grupo DHCH, TC, DHCO, DHSF e DHAB.

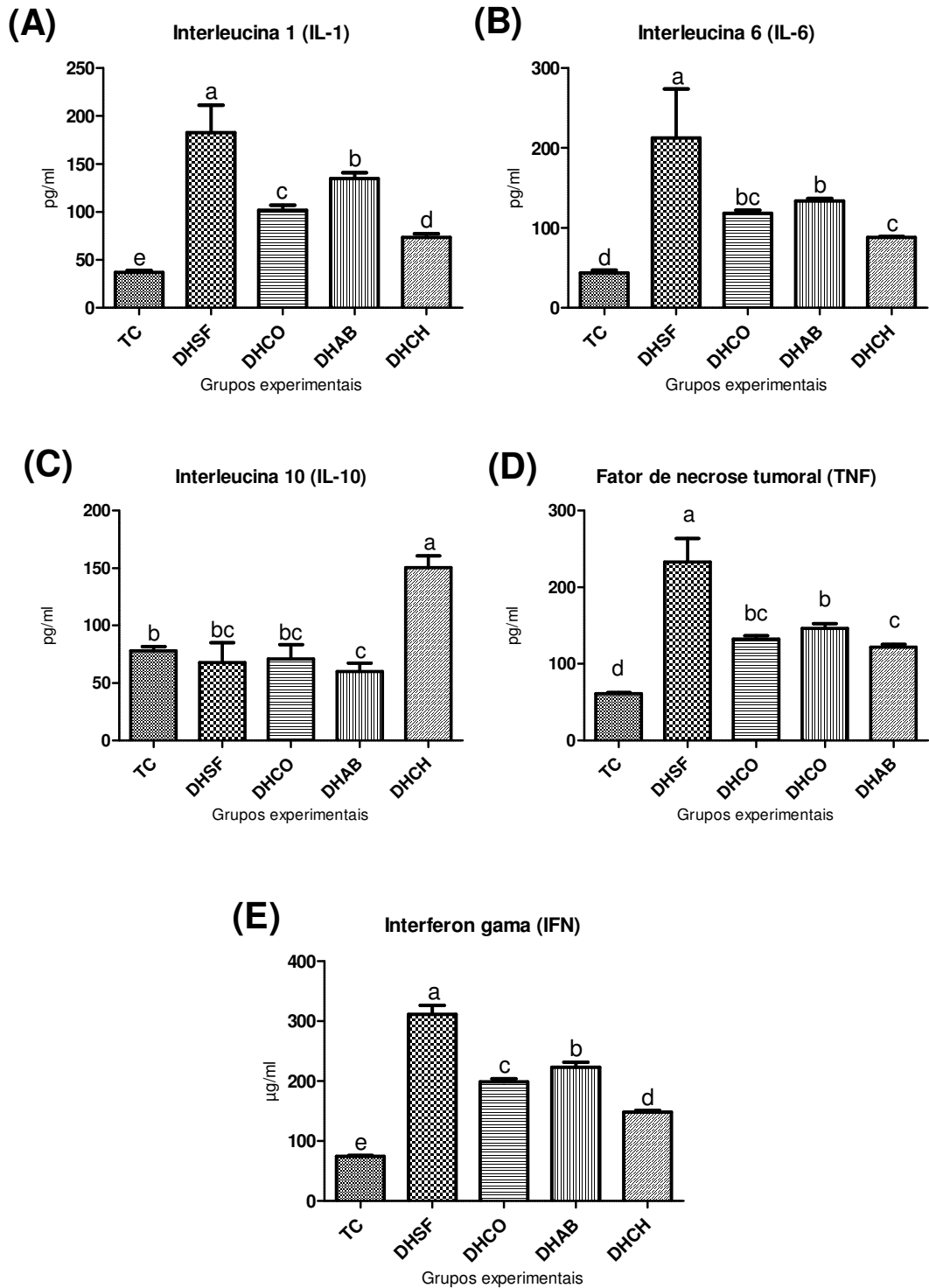


Figura 1 – Interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), Fator de Necrose Tumoral (TNF) e Interferon gama (IFN- γ) de ratos machos *wistar* alimentados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais. TC: tratamento controle; DHSF: dieta hiperlipídica; DHCO: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de coco virgem; DHAB: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de abacate extra virgem; DHCH: dieta hiperlipídica suplementada com óleo de chia extra virgem. Sobrescritos diferentes no mesmo gráfico são estatisticamente diferentes, de acordo com o teste de Duncan ($p < 0,05$).

Os efeitos da ingestão de ácidos graxos *trans* foram observados no grupo dieta hiperlipídica (DHSF) com a elevação das citocinas pró-aterogênicas (SAÍN et al., 2013).

Os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), como os ácidos graxos monoinsaturados (MUFAS), são transportados pelo sistema linfático, enquanto que os ácidos graxos de cadeia média (AGCM) são transportados pelo sistema veia porta o que interfere na diminuição da liberação dos triglicerídeos e influencia nos marcadores inflamatórios (CALABRESE et al., 1999; PIETRASZEK et al., 2011). Os resultados do presente estudo confirmam estes resultados onde o grupo DHAB, fonte de MUFAS, apresentou citocinas inflamatórias superiores em relação ao grupo DHCO, fonte de AGCM.

No entanto o grupo DHCH com óleo fonte de ácido graxo α -linolênico (ALA), ômega 3 de origem vegetal, apresentou redução das citocinas pró-inflamatórias em relação a todos os grupos com intervenção de ácido graxo *trans*. Jump (2011) em estudo realizado em pacientes com síndrome metabólica e dieta hiperlipídica observou que a administração de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAS) ômega 3, resultou na diminuição de genes envolvidos no metabolismo e progressão da diabetes e obesidade.

Marx et al. (2004) refere a regulação de fatores de expressão em genes de vias que abrangem o metabolismo hepático. Os PUFAS do ômega 3 são potentes ativadores do PPAR α (receptores ativados por proliferador de peroxissomo), o qual aumenta a oxidação de ácidos graxos e diminui genes pró-inflamatórios como o TNF- α e a IL-6 (TETRI et al., 2008), corroborando com os resultados do presente estudo onde o óleo de chia causou efeito protetor em relação às citocinas inflamatórias e aumento da IL-10 no grupo DHCH (figura 1). A IL-10 é uma citocina com atividade inibitória sobre a ativação de células Th1 e Th2, com importante função da regulação da inflamação sistêmica e da resposta imune (GIRN; ORSI; HOMER-VANNIASINKAM, 2007; GALKINA; LEY, 2009).

Estudos recentes mostram que os macrófagos do tecido adiposo (ATMs) participam na obesidade e contribuem para a resistência à insulina, sendo que as propriedades destas células ainda não são bem compreendidas. No entanto, pesquisas apontam que uma dieta com elevada concentração de lipídios estimulam o macroambiente de ATMs por fatores que incluem o aumento da circulação de

citocinas inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- α , assim como o rearranjo na inflamação hepática e no acúmulo de macrófagos no tecido adiposo (XU et al., 2003).

Na tabela 2 são apresentados os valores encontrados na morfometria dos fígados dos ratos estudados .

Tabela 2 – Valores morfométricos médios do número e da área do citoplasma de hepatócitos de ratos machos *wistar* tratados com dieta hiperlipídica e óleos vegetais.

	Número de células		Área citoplasma	
	Média e DP	Sig.	Média e DP	Sig.
TC	45,88 \pm 8,55	1	65,66 \pm 36,45	1
DHSF	47,95 \pm 8,87	0,12	64,47 \pm 31,94	0,3
DHCO	42,91 \pm 8,88	0,06	65,42 \pm 33,27	0,850
DHAB	43,76 \pm 9,99	0,160	63,63 \pm 38,69	0,13
DHCH	52,00 \pm 13,15	0,001*	49,69 \pm 28,44	0,000*

*diferença estatística ($p > 0,05$) em relação ao tratamento controle pelo teste de Duncan.

Analisando a tabela 2 e as figuras 2 e 6 observa-se que houve aumento significativo do número de células hepáticas (hiperplasia) no grupo tratado com óleo de chia (DHCH) e redução na área do citoplasma neste mesmo grupo em relação ao tratamento controle.

O fígado é um órgão considerado muito susceptível a lesões, e responsável pela homeostase metabólica, participa da biotransformação de metabólitos circulantes e da respectiva desintoxicação, excreção de resíduos e de contaminantes externos, entre eles os de origem alimentar (ALVARADO-RICO; CASTRO, 2010).

Os hepatócitos têm como característica a presença de dois ou mais núcleos, sendo considerados células multinucleares, que geralmente apresentam tamanho uniforme (GAYOTTO; ALVES, 2001), que contam com mecanismos efetivos para enfrentar as modificações em seu entorno, seja aumentando seu tamanho ou incrementando seu número de células por meio de divisão celular (ALVARADO-RICO; CASTRO, 2010).

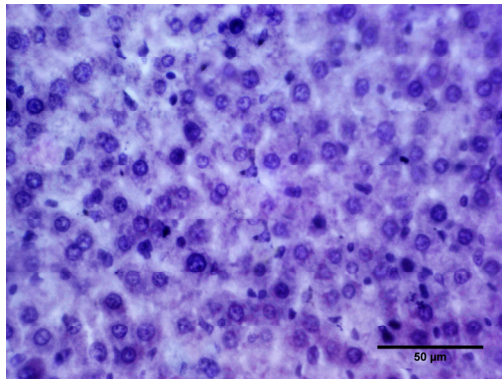


Figura 2 – Aspecto morfométrico do fígado de ratos do TC.

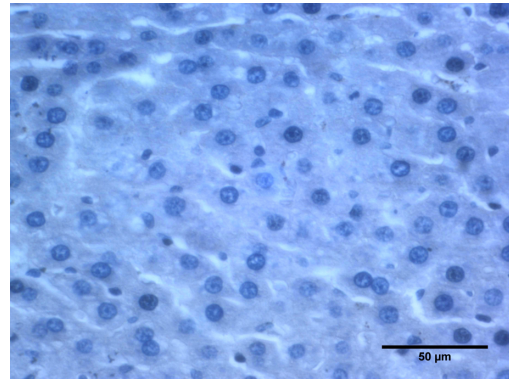


Figura 3 – Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHSF.

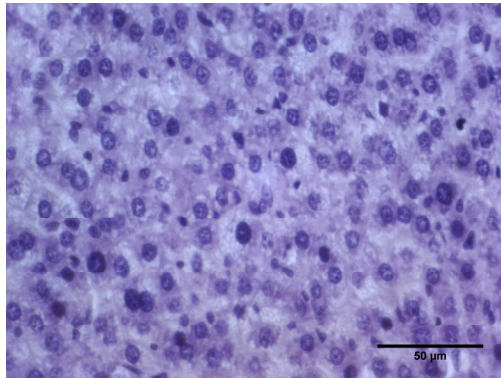


Figura 4 – Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHCO.

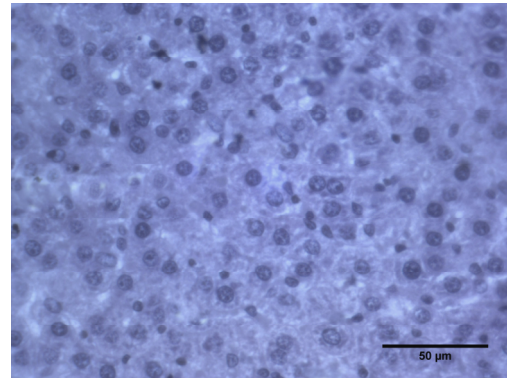


Figura 5 – Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHAB.

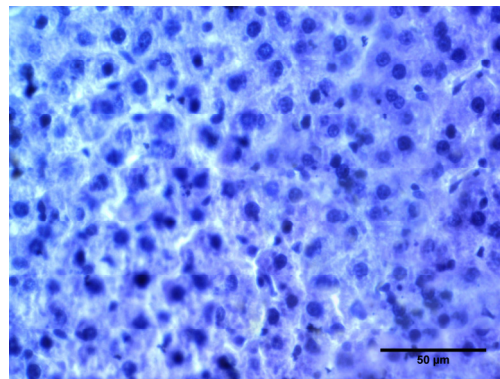


Figura 6 – Aspecto morfométrico do fígado de ratos do grupo DHCH. Notar aumento do número de células e redução da área do citoplasma em relação ao TC.

A hipertrofia celular acontece quando as células aumentam consideravelmente de tamanho, podendo ocorrer também o aumento do núcleo celular (GAYOTTO; ALVES, 2001). As alterações morfológicas de tumefação ou

aumento de células, resultam em alterações funcionais na bomba de sódio com retenção deste elemento e de água no citoplasma, são achados comuns em processos inflamatórios no fígado (LORA, 2007).

A IL-1 é capaz de inibir a proliferação de hepatócitos, porém o grau de inibição da síntese de DNA não é completa, permanecendo um nível de cerca de 20% de síntese. A IL-6 também possui capacidade inibitória da proliferação de hepatócitos, porém menor, sendo conhecida por sua intensa atividade no fígado, redirecionando a síntese protéica em direção à síntese de proteínas de fase aguda como a proteína C Reativa, de resposta inflamatória. Seu efeito na síntese de DNA reflete uma reprogramação ordenada na expressão gênica, na qual a síntese de proteínas de fase aguda passa a preceder os processos de síntese que conduzem à replicação do hepatócito (RAMALHO et al., 1993).

As pesquisas citadas acima corroboram com os resultados encontrados no presente estudo, onde dentre os grupos tratados com óleos vegetais, o óleo de chia (DHCH) foi o que apresentou menor concentração plasmática de IL-1 e IL-6 e aumento de hepatócitos e da IL-10, demonstrando que o tratamento com dieta hiperlipídica associado ao uso de óleo de chia não promoveu resposta inflamatória de fase aguda que se refere a uma reação complexa e inespecífica de um organismo animal e se desenvolve rapidamente após qualquer injúria tecidual (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005).

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que os ácidos graxos *trans* promoveram um ambiente pró-inflamatório ao elevar as citocinas pró-inflamatórias por meio da IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ e pelo aumento da área do citoplasma, sendo o ácido graxo α -linolênico, presente em grande quantidade no óleo de chia, importante no reparo da modulação do macroarranjo inflamatório sistêmico, pela diminuição das citocinas pró-inflamatórias e redução da área do citoplasma, o que torna importante o consumo desse ácido graxo na alimentação para prevenção de DCV.

Ressalta-se que o consumo de uma dieta nutricionalmente adequada é a melhor opção para manutenção da saúde, visto que o TC apresentou as menores concentrações plasmáticas de citocinas pró-inflamatórias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARADO-RICO, S.; CASTRO, L. Histología del hígado de ratas tratadas con una infusión de hojas de higuera (*Ficus carica*). Reporte de caso. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 51, n. 2, p. 99-103, 2010.

BIASILLO, G. et al. Inflammatory biomarkers and coronary heart disease: from bench to bedside and back. **Inter. Emerg. Med.**, v. 5, p. 225-233, 2010.

CALABRESE, C. et al. A cross-over study of the effect of a single oral feeding of medium chain triglyceride oil vs. canola oil on postingestion plasma triglyceride levels in healthy men. **Altern. Med. Rev.**, v. 4, p. 23-28, 1999.

CERÓN, L. L.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005.

CINTRA, D.E.C. **Integração entre vias metabólicas e inflamatórias durante a esteatose hepática induzida por dieta hiperlipídica**. 2008. 100p. Tese (Doutorado em Clínica Médica) – Curso de Pós-graduação em Clínica Médica, Universidade Estadual de Campinas, SP.

COSTA, M. R. P. Fator de necrose tumoral: um novo paradigma. **Rev. Médica Ana Costa**, v. 10, n. 4, out./dez., 2005.

GALKINA, E.; LEY, K. Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. **Annu. Rev. Immunol**, v.27, p. 165-197, 2009.

GAYOTTO, L. C. C.; ALVES, V. A. F. (Ed.). **Doenças do fígado e vias biliares**. Vol. 1. Rio de Janeiro: Atheneu. 2001. 664 p.

GIRN, H. R. S.; ORSI, N. M.; HOMER-VANNIASINKAM, S. An overview of cytokine interactions in atherosclerosis and implications for peripheral arterial disease. **Vascular Medicine**, v. 12, p. 299-309, 2007.

HISSANAGA, V. M.; PROENÇA, R. P. C.; BLOCK, J. M. Ácidos graxos *trans* em produtos alimentícios brasileiros: uma revisão sobre aspectos relacionados à saúde e à rotulagem nutricional. **Rev. Nutr.**, v. 24, n. 4, p. 517-530, jul./ago., 2012.

INAGAKI, Y. et al. Interferon-gamma-induced apoptosis and activation of THP-1 macrophages. **Life Sci.** v. 71, n. 21, p. 2499-2508, 2002.

JAIN, N. C. Acute phase proteins. In: KIRK, R.W. **Current veterinary therapy X: small animal practice**. Philadelphia: Saunders, 1989. p. 468-471.

JUMP, D. B. Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 14, n. 2, p. 115-120, 2011.

LORA, J. **Avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de folhas de *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE)**. 2007. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.

MARX, N. et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. **Circ Res.**, v. 94, p. 1168-1178, 2004.

NAOUM, P. C. **Citocinas e Interleucinas**. Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP, Nov./ 2009. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/cien-news/citocinas.pdf>. Acesso em: 11 maio 2013.

PALTRINIERI, S. Early biomarkers of inflammation in dogs and cats: the acute phase proteins. **Veterinary Research Communications**, v. 31, supl. 1, p. 125-129, 2007.

PEREIRA, M. M. **Perfil de citocinas e quimiocinas envolvidas na imunopatogenia e regulação imune da aterosclerose em uma população de Salvador – Bahia**. 2011. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Curso de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal da Bahia, BA.

PIETRASZEK, A. et al. The Review of Acute Effects of Dietary Fat on Inflammatory Markers and Gene Expression in First-Degree Relatives of Type 2 Diabetes Patients. **Rev. Diabet. Stud.**, v. 8, p. 477-489, 2011.

REEVES, P.G. et al. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

SAÍN, J. et al. Effects of Trans -Fatty Acids on Liver Lipid Metabolism in Mice Fed on Diets Showing Different Fatty Acid Composition. **Ann. Nutr. Metab.**, v. 62, p. 240-247, 2013).

SANTOS, R. D. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol.**, v. 100(1Supl.3), p. 1-40, 2013.

TETRI, L. H. et al. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a highfructose corn syrup equivalent. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v. 295, p. 987-995, 2008.

VITALE, R. F.; ANDRADE, F.; RIBEIRO, Q. O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido na orelha média. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 73, n. 1, p. 123-127, 2007.

XU, H. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J. Clin. Invest.**, v. 112, p. 1821–1830, 2003.

3 DISCUSSÃO GERAL

A determinação do perfil de ácidos graxos do óleo de coco utilizado neste estudo demonstrou que o mesmo é rico em gorduras saturadas, especialmente em ácido láurico, que é um TCM, dispondo, em média de 43,95% deste ácido graxo. Já o óleo de abacate é rico em gorduras monoinsaturadas, apresentando em média, 56,6% de ácido oleico. E, o óleo de chia apresentou-se como uma importante fonte de ácido α -linolênico, ômega 3 de origem vegetal, contendo em média 62,48% deste ácido graxo.

A média do consumo de dieta entre os grupos foi maior no TC, visto que neste tratamento foi oferecida dieta padrão AIN-93G (7% lipídios) (REEVES et al., 1993), e os demais grupos consumiram dieta hiperlipídica (35% de lipídios) (CINTRA, 2008), demonstrando que conteúdo de lipídios da dieta exerce efeito sacietogênico.

O ganho de peso e o peso da gordura epididimal não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos, o que também ocorreu em estudos semelhantes (SANTOS et al., 2010; ALMEIDA, 2011; HOEFEL, 2011).

O peso do fígado foi maior nos grupos DHCO e DHAB, demonstrando que a dieta hiperlipídica associada a fontes de ácidos graxos saturados e monoinsaturados causaram a incorporação destes ácidos graxos no fígado (FERNANDES, 2009).

Com relação ao perfil lipídico sanguíneo, não houve diferença estatística entre os grupos para CT, LDL e HDL, sendo que o TG foi maior no TC, pois este grupo recebeu dieta padrão que é rica em CHO (61,7%), que podem apresentar graves efeitos adversos à saúde, como a hipertrigliceridemia (POLACOW; JUNIOR, 2007).

Já as citocinas sistêmicas apresentaram diferenças estatísticas em todos os grupos, sendo que as maiores concentrações plasmáticas da IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ foram encontradas no grupo DHSF, e as menores concentrações, no grupo TC. Entre os grupos tratados com óleos vegetais, o grupo DHCH foi o que apresentou as menores concentrações plasmáticas de IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ . Em relação à IL-10, a maior concentração plasmática foi encontrada no DHCH, seguido respectivamente do TC, DHCO, DHSF e DHAB.

Os resultados acima demonstram que o ácido graxo *trans* utilizado na dieta hiperlipídica causou resposta inflamatória sistêmica nos grupos estudados, e que o ácido α -linolênico presente no óleo de chia, apresentou efeito protetor quando associado à dieta hiperlipídica, reduzindo as concentrações plasmáticas de IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ e aumentando a concentração plasmática de IL-10. No entanto, as menores concentrações plasmáticas de IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ foram verificadas no TC, que recebeu dieta AIN-93G formulada pelo *American Institute of Nutrition Rodent Diets* para a fase de crescimento, gravidez e lactação (REEVES et al., 1993), demonstrando que uma dieta equilibrada nutricionalmente é a melhor opção para redução de fatores inflamatórios.

A morfometria do fígado apresentou aumento do número de hepatócitos e redução da área do citoplasma no grupo DHCH em relação ao TC, demonstrando que a dieta hiperlipídica associada ao uso do óleo de chia não causou processos inflamatórios no fígado (LORA, 2007; ALVARADO-RICO; CASTRO, 2010).

4 CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados encontrados no presente estudo, concluiu-se que a intervenção do consumo de dieta hiperlipídica com ácido graxo *trans* permitiu observar que a alteração do perfil lipídico é precedido de um ambiente inflamatório sistêmico, o qual é modulado pelo ácido graxo ômega 3 (α -linolênico), presente no óleo de chia, o qual reverteu este quadro, mas não sobrepõe-se ao consumo de uma dieta equilibrada observada pelo grupo TC. Isto comprova que a intervenção dietética para prevenir a ocorrência de DCV deve estar associada a escolhas adequadas da ingestão de lipídios, mantendo um aporte adequado de ácido graxo ômega-3, evidenciado no trabalho pela diminuição das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ) e aumento da IL-10, considerada anti-inflamatória.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, Luciani Brauner; BUDEL, Jane Manfron. Aspectos clínicos laboratoriais das dislipidemias. **Cad. da Escola de Saúde**, Curitiba, 5: 158-169 vol. 1, 2011.

ALMEIDA et al. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Rev. Nutr., Campinas**, v. 24, n. 1, p. 143-152, jan./fev. 2011.

ALVARADO-RICO, S.; CASTRO, L. Histología del hígado de ratas tratadas con una infusión de hojas de higuera (*Ficus carica*). Reporte de caso. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 51, n. 2, p. 99-103, 2010.

AYERZA, R. Effects of seed color and growing locations on fatty acid content and composition of two chia (*Salvia hispânica L.*) genotypes. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 87, p. 1161-1165, 2010.

AYERZA, R.; COATES, W. Effect of groundchia seed and chia oil on plasma total cholesterol, LDL, HDL, triglyceride content, and fatty acid composition when fed to rats. **Nutr Res.**, v. 11, p. 995-1003, 2005.

BARATH, P. et al. Tumor necrosis factor gene expression in human vascular smooth muscle cells detected by in vitro hybridization. **American Journal of Pathology**, v. 137, p. 503-509, 1990.

BARRETO, S. M., et al. Hypertension and clustering of cardiovascular risk factors in a community in Southeast Brazil- The Bambui Health and ageing study. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**. v. 77, n.6, p.576-581, 2001.

BERTOLINO, C. N. Influência do consumo alimentar de ácidos graxos *trans* no perfil de lipídios séricos em nipo-brasileiros de Bauru, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 22, n. 2, p. 357-364, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância à Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Diretrizes e recomendações para o cuidado integral de doenças crônicas não-transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/mp3/diretrizes_recomendacoes_dcnt.pdf. Acesso em: 15 mai. 2013.

BUCCI, L. **Nutrients as Ergogenics aids for Sports and Exercise**. 1ª Ed. Houston: CRC Press, 1993.

CHANDRASHEKAR, P.; LOKESH, B. R.; KRISHNA, A. G. G. Hipolipidemic effect of blends of coconut oil with soybean oil or sunflower oil in experimental rats. **Food Chemistry**, v. 123, p. 728-733, 2010.

CINTRA, D.E.C. **Integração entre vias metabólicas e inflamatórias durante a esteatose hepática induzida por dieta hiperlipídica**. 2008. 100p. Tese (Doutorado em Clínica Médica) – Curso de Pós-graduação em Clínica Médica, Universidade Estadual de Campinas, SP.

CUPPARI, I. **Nutrição clínica no adulto**. 2º Ed. Barueri, SP: Manole, 2005.

ETTINGER, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lipídios. In: MAHAN, L. K., ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10 ed. São Paulo: Roca, p.30-64, 2002.

EYKEN, E. B. B. D. V.; MORAES, C. L. Prevalência de fatores de risco para doenças cardiovasculares entre homens de uma população urbana do sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 25(1): 111-123, jan. 2009.

FERNANDES, S. A. T. **Interação da dieta hiperlipídica, do ácido linoleico conjugado e do exercício físico no metabolismo lipoproteico em camundongos geneticamente modificados para aterosclerose**. 2009. 65p. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

FRANCISCO, V. L. F. dos. S.; BAPTISTELLA, C. da S. L. Cultura do abacate no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 35, n. 5, 2005. Disponível em: <http://www.almanaquedocampo.com.br/imagens/files/A%20Cultura%20do%20Abacate%20tec3-0505.pdf>. Acesso em: 28 abril 2013.

GALKINA, E.; LEY, K. Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. **Annu. Rev. Immunol**, v.27, p. 165-197, 2009.

GIRN, H. R. S.; ORSI, N. M.; HOMER-VANNIASINKAM, S. An overview of cytokine interactions in atherosclerosis and implications for peripheral arterial disease. **Vascular Medicine**, v. 12, p. 299-309, 2007.

HARVEY, E. J.; RAMJI, D. P. Interferon- γ and atherosclerosis: Pro- or anti-atherogenic? **Cardiovascular Research**, v. 67, p. 11-20, 2005.

HOEFEL, A. L. **Efeitos da dieta hiperlipídica com gordura saturada e monoinsaturada em parâmetros bioquímicos de ratos wistar.** 2011. 32 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

KLEEMANN, R.; ZAELAAR, S.; KOOISTRA, T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. **Cardiovascular Research**, v. 79, p. 360-376, 2008.

LEON, M. L.; ZUCKERMAN, S. H. Gamma interferon: a central mediator in atherosclerosis. **Inflamm. Res.**, v. 54, p. 395-411, 2005.

LIBBY, P. et al. Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 25, n. 2, p. 9-12, 1995.

LORA, J. **Avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de folhas de *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE).** 2007. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.

LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 53, n. 5, 2009.

MACKAY, J.; MENSA, G. A. The atlas of heart disease and stroke. Geneva: **World Health Organization**; 2004. Disponível em: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/. Acesso em: 26 abril 2013.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica.** 3° Ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2007; 87-98.

MENSINK, R. P., et al. Effects of dietary 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. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p.1146-1155, 2003.

MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; COSTA, R. B. L. Mudanças na composição e dequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-996). **Revista. Saúde Pública.** v.34, n.3, p.251-258, 2000.

NAOUM, P. C. **Citocinas e Interleucinas.** Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP, Nov./ 2009. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/cien-news/citocinas.pdf>. Acesso em: 11 maio 2013.

OLOFSSON, S. O.; WIKLUND, O.; BORÉN, J. Apolipoproteins A-I and B: biosynthesis, role in the development of atherosclerosis and targets for intervention against cardiovascular disease. **Vascular Health and Risk Management** 2007, v. 3, n. 4, p. 491-502.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cardiovascular diseases (CVDs).** Fact sheet nº 317; 2013. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>. Acesso em: 23 mar 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Global status report on non communicable diseases 2010.** Disponível em: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report2010/en/. Acesso em: 15 mai. 2013.

PINHEIRO, A. R. O. A alimentação saudável e a promoção da saúde no contexto da segurança alimentar e nutricional. **Saúde em Debate.** V.29, n. 70, p. 125-139. Rio de Janeiro, 2005.

PIVA, J. P. J.; FERNANDES, T. R. L. Comparação analítica de valores de LDL-colesterol utilizando a dosagem direta e o cálculo pela fórmula de Friedewald. **Rev. Bras. Anal. Clínicas**, v. 40, n. 4, p. 279-283, 2008.

POLACOW, V. O.; JUNIOR, A. H. L. Dietas hiperglicídicas: Efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal, e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 3, p. 389-400, 2007.

RAMALHO, F.S. et al. Regeneração hepática: algumas definições num universo de incertezas. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 8, n. 4, 1993.

REEVES, P.G. et al. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

RIQUE, A. B. R.; SOARES, E. de A.; MEIRELLES, C. de M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 8, n. 6, p. 244-254, nov./dez., 2002.

ROBERTSON, A. K. L.; HANSSON, G. K. T Cells in Atherogenesis. For Better or For Worse? **Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 26, p. 2421-2432, 2006.

SANTOS, A. C. A. et al. Estudo biométrico de ratos alimentados com dois tipos de dieta. **Colloquium Vitae**, v. 2, n.2, jul./dez., 2010.

SIMÃO, A. N. C. et al. Efeitos e mecanismos de ação dos ácidos graxos poliinsaturados N-3 na prevenção de doenças cardiovasculares. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 11, n. 3, p. 225-233, set./dez 2007.

SOARES, H. F.; ITO, M. K. O ácido graxo monoinsaturado do abacate no controle das dislipidemias. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, vol. 9 (2), 47-51, maio/ago., 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol**, vol. 88 (supl 1):1-19, abr. 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III **Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, 2001**. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/publicacoes/geral/diretrizcorreta.pdf>. Acesso em: 26 abril 2013.

STENVINKEL, P. et al. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? **Kidney Int.**, v. 61, suppl. 80, p.103-108, 2002.

TANGO, J. S. T.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Physical and chemical characterization of avocado fruits aiming its potencial for oil extraction. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 26, n. 1, 2004.

TAUBMAN, M. B. et al. Tissue factor in the pathogenesis of atherosclerosis. **Thromb. Haemost.**, v. 78, p. 200-204, 1997.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. **Physiol. Rev.**, v.86, p. 515-581, 2006.

TOLENTINO, E. C. et al. Oxigenoterapia hiperbárica e regeneração hepática. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, supl. 5, 2003.

VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. São Paulo: Varela, 2006, p.120.

WATERHOUSE, D. S.; THAKORLAL, J.; ZHOU, J. Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oils. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1575-1585, 2011.