



Universidade Federal de Pernambuco

Centro Acadêmico de Vitória

Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica



TAÍS HELENA GOUVEIA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA DIETA RICA EM ÁCIDOS GRAXOS  
SATURADOS SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PRESSÃO ARTERIAL,  
BALANÇO OXIDATIVO E METABOLISMO LIPÍDICO NO TECIDO ADIPOSEO DE  
RATOS

Vitória de Santo Antão

2020



Universidade Federal de Pernambuco

Centro Acadêmico de Vitória

Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica

TAÍS HELENA GOUVEIA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA DIETA RICA EM ÁCIDOS GRAXOS  
SATURADOS SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PRESSÃO ARTERIAL,  
BALANÇO OXIDATIVO E METABOLISMO LIPÍDICO NO TECIDO ADIPOSEO DE  
RATOS

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

**Área de concentração:** Bases experimentais

Orientador: Dr. João Henrique da Costa Silva

Coorientador: Dr. Almir Gonçalves Wanderley

Vitória de Santo Antão

2020

Catálogo na Fonte  
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.  
Bibliotecária Ana Ligia F. dos Santos, CRB4/2005

R696a Rodrigues, Taís Helena Gouveia

Avaliação dos efeitos de uma dieta rica em ácidos graxos saturados sobre a composição corporal, pressão arterial, balanço oxidativo e metabolismo lipídico no tecido adiposo de ratos./ Taís Helena Gouveia Rodrigues. - Vitória de Santo Antão, 2020.

88 folhas; il., fig., tab., graf.

Orientador: João Henrique da Costa Silva.

Coorientador: Almir Gonçalves Wanderley.

Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2020.

Inclui referências e anexos.

1. Transição Nutricional. 2. Tecido adiposo. 3. Estresse oxidativo.  
I. Silva, João Henrique da Costa (Orientador). II. Wanderley, Almir Gonçalves (Coorientador). I III. Título.

612.39 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-026/2020

TAÍS HELENA GOUVEIA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA DIETA RICA EM ÁCIDOS GRAXOS  
SATURADOS SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PRESSÃO ARTERIAL,  
BALANÇO OXIDATIVO E METABOLISMO LIPÍDICO NO TECIDO ADIPOSO DE  
RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Aprovada em: 27/02/2020.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. João Henrique da Costa Silva (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariana Pinheiros Fernandes (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. João Paulo Jacob Sabino (Examinador Externo)

Universidade Federal do Piauí

## AGRADECIMENTOS

*“Ano passado eu morri, mas esse ano eu não morro.”* Parafraseio a poesia de Belchior para, em palavras, tentar resumir sobre o que representou essa etapa na minha vida e a quem e ao que sou grata.

A pós-graduação sempre foi meu objetivo de vida enquanto graduanda, porém sofremos uma mudança de paradigma quando passamos de uma etapa para a outra. E ela não ocorre somente no eixo de responsabilidades, pois as cobranças são muito diferentes entre essas duas fases acadêmicas, falo mais sobre como saber administrar sua saúde mental. Comparecer a reuniões, apresentações ou escrever artigos se torna tão fácil ao comparar com como controlar a ansiedade de não saber como vai ser no outro dia, como lidar com o ego rotineiramente massageado dos colegas de laboratório que te cercam e insistem em fazer comparações para saber quem tem o currículo maior, quem mais publica, quem mais sabe sobre determinado assunto...

Você para pensar que antes almejava ensinar apenas para fazer diferença na vida de alguém, mostrar o lado bom e delicioso de aprender, mas de repente, tudo perde um pouco o sentido e os questionamentos aparecem... - Será mesmo que para ver o sol nascer você precise passar por uma tempestade? – Será que tem que ser tão frustrante assim? – Será mesmo que é esse o caminho para conquistar... Mas o que eu quero mesmo conquistar? Não entendo. Não aceito a estatística que diz que estudantes de pós-graduação tem seis vezes mais chance de enfrentar depressão e ansiedade. Eu quase adoeci, quase desisti de algo que achava ser meu sonho e minha vocação.

Daí chegamos na parte do texto em que falo sobre gratidão. Nesses dois anos de mestrado e no meio de tantas frustrações, perdas e pessoas tóxicas, em algum momento quase desistindo, olhei para o lado e percebi que não está só. Que existiam outras coisas e pessoas e sentimentos além do que esse título representava para mim. Sou tão grata a minha família de sangue, que apesar de estar longe sempre se fizeram perto, me dando o colo e as palavras exatas que eu precisava nos momentos difíceis. Sou grata também a família de coração, meus amigos antigos e os que o mestrado me deu, estes sim não desistiram de mim. Aguentaram meus momentos mais amargos, onde o que eu só tinha a oferecer era o silêncio, e mesmo assim permaneceram ao meu lado. Eu vejo muito de Deus nessas pessoas, nesses momentos, meu Deus físico foram eles, amigos e

família.

E por fim, agradeço muito a mim que não me permiti desistir, não esquecer nunca os motivos que me fizeram ingressar no mestrado e principalmente reconhecer que eu tenho uma vida muito além das paredes do laboratório. Eu hoje sinto que sou muito mais forte, madura e compreensível do que a dois anos atrás. A isso e a tudo que passei, eu sou grata. Hoje encerro esse mestrado com a sensação de que esse título não representará uma conquista intelectual, mesmo escrito numa página virtual ou diploma, e sim o apogeu da minha maturidade emocional. A representação desse título será impressa para sempre em mim!

No mais, deixo dito que precisamos CONVERSAR MAIS sobre saúde mental entre os integrantes da pós-graduação, reconhecermos a necessidade e incentivarmos a criação de um atendimento psicológico para os pós-graduandos, mesa redonda para a discussão desse tema, mais compreensão e conversa entre orientando e orientador, enfim, reconhecer que os meios não podem justificar os fins.

"Tudo isso dói. Mas eu sei que passa, que se está sendo assim é porque deve ser assim, e virá outro ciclo, depois.

Para me dar força, escrevi no espelho do meu quarto: 'Tá certo que o sonho acabou, mas também não precisa virar pesadelo, não é?' É o que estou tentando vivenciar.

Certo, muitas ilusões dançaram - mas eu me recuso a descreer absolutamente de tudo, eu faço força para manter algumas esperanças acesas, como velas. Também não quero dramatizar e fazer dos problemas reais monstros insolúveis, becos-sem-saída.

Nada é muito terrível. Só viver, não é?

A barra mesmo é ter que estar vivo e ter que desdobrar, batalhar um jeito qualquer de ficar numa boa. O meu tem sido olhar pra dentro, devagar, ter muito cuidado com cada palavra, com cada movimento, com cada coisa que me ligue ao de fora. Até que os dois ritmos naturalmente se encaixem outra vez e passem a fluir."

*(Caio Fernando Abreu)*

## RESUMO

A transição nutricional é caracterizada principalmente pela mudança de hábitos alimentares onde indivíduos passaram a ingerir alimentos processados e ultraprocessados ricos, principalmente, em ácidos graxos saturados. Tal fato é capaz de promover aumento significativo de peso ponderal e principalmente, do tecido adiposo visceral associado a complicações cardiometabólicas. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos de uma dieta hiperlipídica com alta concentração de ácidos graxos saturados sobre o crescimento somático, balanço oxidativo e metabolismo lipídico do tecido adiposo, além de parâmetros cardio-metabólicos de ratos machos *Wistar*. Durante o período de gestação e lactação, ratas virgens receberam dieta padrão de laboratório. Após o desmame, os filhotes foram divididos em dois grupos, de acordo com a dieta até os 90 dias de vida: Controle (18,6% de lipídeos [sendo 17,32% ácidos graxos saturados, 29,93% monoinsaturados e 52,76% poliinsaturados] 20,2% de proteínas, 61% de carboidratos; densidade energética de 3,69kcal/100g) e hiperlipídica (31% de lipídios [sendo 29,59% ácidos graxos saturados, 34,77% monoinsaturados e 35,64% poliinsaturados]). Realizou-se medições murinométricas, análises bioquímicas, avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca, análise da composição de tecido adiposo total, atividade de enzimas-chave do metabolismo lipídico e biomarcadores de estresse oxidativo e atividade de enzimas antioxidantes participantes do balanço oxidativo do tecido adiposo. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  epm, e para comparação entre os grupos Controle (C) e grupo Hiperlipídico (HL) foi utilizado o teste “t” de *Student* e para dados não paramétricos foi utilizado o teste de *Mann-Whitney* com nível de significância  $p < 0,05$ . Não foram observadas diferença entre os grupos quanto a composição corporal, parâmetros bioquímicos, pressão arterial, frequência cardíaca e distribuição de tecido adiposo. Porém, o grupo HL mostrou maior circunferência abdominal aos 30 dias de vida, maior síntese e menor oxidação de ácidos graxos no tecido adiposo, fatores estes propiciadores de um estado de estresse oxidativo. A ingestão da dieta rica em ácidos graxos saturados até os 90 dias apresentou ser um potente carreador de alterações metabólicas relacionadas a obesidade.

**Palavras-chave:** Gordura Saturada. Tecido adiposo. Alterações metabólicas. Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

The nutritional transition is characterized mainly by the change in eating habits where individuals started to eat processed and ultra-processed foods rich, mainly in saturated fatty acids. This fact is capable of promoting a significant increase in weight and especially in visceral adipose tissue associated with cardiometabolic complications. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of a high-fat diet with a high concentration of saturated fatty acids on the somatic growth, oxidative balance and lipid metabolism of adipose tissue, in addition to cardio-metabolic parameters of male Wistar rats. During the gestation and lactation period, virgin rats received a standard laboratory diet. After weaning, the pups were divided into two groups, according to the diet until 90 days of life: Control (18.6% lipids [17.32% saturated fatty acids, 29.93% monounsaturated and 52, 76% polyunsaturated] 20.2% protein, 61% carbohydrates; energy density of 3.69kcal / 100g) and hyperlipidic (31% lipids [29.59% saturated fatty acids, 34.77% monounsaturated and 35, 64% polyunsaturated]). Murinometric measurements, biochemical analyzes, blood pressure and heart rate assessment, analysis of the total fat tissue composition, activity of key enzymes of lipid metabolism and oxidative stress biomarkers and activity of antioxidant enzymes participating in the study were carried out. oxidative balance of adipose tissue. The results were expressed in mean  $\pm$  epm, and for comparison between the Control (C) and Hyperlipidic (HL) groups, Student's "t" test was used and for non-parametric data the Mann-Whitney with level of significance  $p < 0.05$ . No difference was observed between groups regarding body composition, biochemical parameters, blood pressure, heart rate and adipose tissue distribution. However, the HL group showed greater abdominal circumference at 30 days of life, greater synthesis and less oxidation of fatty acids in the adipose tissue, factors that provide an oxidative stress state. The intake of a diet rich in saturated fatty acids up to 90 days proved to be a potent carrier of metabolic changes related to obesity

**Keywords:** Saturated fat. Adipose tissue. Metabolic changes. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Modulação fenotípica do tecido adiposo branco..... | 23 |
|---------------------------------------------------------------|----|

## RESULTADOS

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 - Weight gain in the 21st, 30th and 90th days of life of male Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids..... | 44 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 2 - Somatic growth in the 21st, 30th and 90th days of life of male Wistar rats submitted to the Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids..... | 45 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 3 - Pressure levels at 90 days of Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids..... | 47 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 4 - Activity of lipid metabolism enzymes in epididymal adipose tissue at 90 days of Wistar rats submitted to the Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids..... | 48 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 5 - Antioxidant enzymes activity and oxidative stress biomarkers in epididymal adipose tissue at 90 days of Wistar rats submitted to the Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids..... | 49 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Exemplos de nomenclatura dos ácidos graxos saturados.....                                                                                          | 19 |
| Tabela 2 - Composição quanto aos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.....                                                          | 32 |
| Tabela 3 - Composição centesimal de nutrientes das dietas experimentais formuladas..                                                                          | 33 |
| Tabela 4 - Composição percentual de ácidos graxos quanto à presença de dupla ligação na cadeia carbônica nas dietas experimentais pós-desmame formuladas..... | 33 |

## RESULTADOS

|                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Table 1 - Food consumption in grams, calories and macronutrients and coefficient of food efficiency in the periods of 22-30, 51-60 and 81-90 days of life of male Wistar rats submitted to diets Control and Hyperlipidemia rich in saturated fatty acids..... | 46 |
| Table 2 - Biochemical parameters in the 21st, 30th and 90th days of life of male Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.....                                                                                    | 46 |
| Table 3 - Absolute (g) and relative (g / 100g) mass of adipose tissues and body adiposity index (%) at 90 days of Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.....                                                   | 47 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL - Ácidos graxos livres  
AGM - Ácidos graxos monoinsaturados  
AGNE - Ácidos graxos não esterificados  
AGP – Ácidos graxos poliinsaturados  
AGS - Ácidos graxos saturados  
AIN – Do inglês, *American Institute of Nutrition*  
CEA – Coeficiente de Eficiência Alimentar  
CEUA - Comitê de Ética para Uso Animal  
CL – Colesterol livre  
CT - Colesterol total  
DCV- Doenças cardiovasculares  
DNA – Do inglês, *deoxyribonucleic acid*  
ECR - Ensaio clínico randomizado  
FAD – Do inglês, *Flavin adenine dinucleotide*  
FAS – Do inglês, *Fatty acid synthase*  
FC – Frequência Cardíaca  
HDL – Do inglês, *High Density Lipoprotein*  
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
LDL – Do inglês, *Low-density lipoprotein*  
NAD - Do inglês, *Nicotinamide adenine dinucleotide*  
PA – Pressão arterial  
PAD – Pressão arterial diastólica  
PAS – Pressão arterial sistólica  
RI - Resistência à insulina  
RNA - Do inglês, *Ribonucleic acid*  
RPM – Rotações por minuto  
sn-2 – Substituição nucleofílica 2  
TA - Tecido adiposo  
TAB- Tecido adiposo branco  
TAE – tecido adiposo epididimal  
TAM – tecido adiposo mesentérico

TAR – tecido adiposo retroperitoneal

TAS – tecido adiposo subcutâneo

TAT – tecido adiposo total

TC- Tamanho corporal

TG - Triacilgliceróis

TNF- $\alpha$  – Do inglês, *tumor necrosis factor alpha*

VLDL – Do inglês, *Very Low Density Lipoprotein*

$\beta$ -HAD -  *$\beta$ -hidroxiacil-CoA desidrogenase*

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 APRESENTAÇÃO.....</b>                                                                                                                 | <b>15</b> |
| 1.1 MUDANÇAS NOS HÁBITOS ALIMENTARES .....                                                                                                 | 16        |
| 1.2 LIPÍDEOS: CLASSIFICAÇÃO E METABOLISMO .....                                                                                            | 17        |
| 1.3 BIOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO.....                                                                                                       | 21        |
| 1.4 RELAÇÃO DO CONSUMO DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS E RISCO DE<br>DOENÇAS CARDIOVASCULARES E METABÓLICAS .....                               | 24        |
| 1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E ASSOCIAÇÃO A DIETAS HIPERLIPÍDICAS .....                                                                          | 26        |
| <b>2 HIPÓTESE.....</b>                                                                                                                     | <b>29</b> |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>                                                                                                                   | <b>30</b> |
| 3.1 OBJETIVO GERAL .....                                                                                                                   | 30        |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                                                                            | 30        |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                                                                                                         | <b>31</b> |
| 4.1 QUESTÕES ÉTICAS .....                                                                                                                  | 31        |
| 4.2 ANIMAIS .....                                                                                                                          | 31        |
| 4.3 MANIPULAÇÃO NUTRICIONAL .....                                                                                                          | 31        |
| 4.4 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL, GANHO PONDERAL, CRESCIMENTO<br>SOMÁTICO, CONSUMO E EFICIÊNCIA ALIMENTAR.....                              | 34        |
| 4.5 NÍVEIS SÉRICOS DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS .....                                                                                         | 34        |
| 4.6 AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PRESSÃO ARTERIAL (PA) E FREQUÊNCIA<br>CARDÍACA (FC) .....                                                      | 34        |
| 4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS CHAVES NO METABOLISMO<br>LIPÍDICO, ENZIMAS ANTIOXIDANTES E BIOMARCADOR DE ESTRESSE<br>OXIDATIVO..... | 35        |
| 4.8.1 <i>Preparo do homogeneizado do tecido adiposo.....</i>                                                                               | 35        |
| 4.8.2 <i>Dosagem de proteína .....</i>                                                                                                     | 35        |
| 4.8.3 <i>Determinação da atividade da <math>\beta</math>-hidroxyacil-CoA desidrogenase (<math>\beta</math>-HAD) .....</i>                  | 36        |
| 4.8.4 <i>Avaliação da atividade da Ácido Graxo Sintetase (FAS).....</i>                                                                    | 36        |
| 4.8.5 <i>Avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da substância Reativa<br/>ao Ácido Tiobarbitúrico.....</i>          | 36        |

|                                                                                                                                                 |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.8.6 Avaliação da atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD).....                                                                      | 37        |
| 4.8.7 Avaliação da atividade enzimática da Catalase .....                                                                                       | 37        |
| 4.8.8 Avaliação da atividade enzimática Glutathione Peroxidase (GPx) .....                                                                      | 37        |
| 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....                                                                                                                    | 38        |
| <b>5 RESULTADOS .....</b>                                                                                                                       | <b>39</b> |
| 5.1 ARTIGO ORIGINAL .....                                                                                                                       | 39        |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                                                                              | <b>59</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                         | <b>60</b> |
| <b>ANEXO A - NORMAS DE SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO À REVISTA<br/>CLINICAL NUTRITION EXPERIMENTAL (E-ISSN 2352-9393) .....</b>                | <b>70</b> |
| <b>ANEXO B - DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO<br/>DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)<br/>.....</b> | <b>88</b> |

## 1 APRESENTAÇÃO

A partir da segunda metade do século XX em todo o mundo foi evidenciada mudanças demográficas, socioeconômicas e epidemiológicas, intimamente relacionadas a transição nutricional. Essa transição é caracterizada principalmente pela mudança de hábitos alimentares (maior consumo de alimentos processados e ultraprocessados, ricos principalmente em gorduras saturadas) e inatividade física (POPKIN; GORDON, 2004; BATISTA FILHO; BATISTA, 2010).

No Brasil, segundo o Relatório recente do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, famílias brasileiras apresentam um consumo de alimentos com elevado teor de gordura em sua dieta (IBGE, 2013), este padrão alimentar é denominado “dieta ocidental”, particularmente característica nos países desenvolvidos/subdesenvolvidos (POPKIN, 2001; BATISTA; RISSIN, 2003; FERREIRA, 2006). Tal fato é capaz de promover o aumento significativo de peso ponderal e principalmente, do tecido adiposo visceral, que tem sido fortemente associado em diversas pesquisas mundiais a complicações cardiometabólicas (MARCHI-ALVES *et al.*, 2010; RINALDI *et al.*, 2016).

Atualmente, estudos realizados em roedores observaram que a dieta hiperlipídica, independente da composição de ácidos graxos, apresentam dilatação ventricular e aumento de massa ventricular (PANCHAL *et al.*, 2011), aumento da pressão arterial sistêmica (MAYYAS *et al.*, 2015), ganho de peso e promove alterações em agentes chave do metabolismo lipídico (FERRON *et al.*, 2018), desregulação do estado redox (KHAKI *et al.*, 2011; FARHANGI *et al.*, 2013), dentre outras alterações.

Em humanos, há evidências de que o consumo elevado de gorduras causa comprometimento do perfil lipídico (FERRÉ; FOUFELLE, 2007), dislipidemia (MICHA; MOZAFFARIAN, 2010) e acúmulo de tecido adiposo visceral, em especial o epididimal (TCHKONIA *et al.*, 2013). Boden e colaboradores (2015) sugerem ainda que, o consumo de dieta hiperlipídica resulta em estresse oxidativo no tecido adiposo abdominal, produzindo um quadro de resistência à insulina, fortemente associada ao desenvolvimento de obesidade, hipertensão e dislipidemia (BODEN *et al.*, 2015).

No entanto, muitos destes estudos aqui citados sub ou superestimaram os valores de lipídeos na dieta que vai muito além do real consumo da população brasileira e mundial ou não descrevem bem qual a composição lipídica da dieta. Assim sendo, nosso grupo de

pesquisa tem se debruçado incessantemente para desvendar os efeitos de uma dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados.

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de uma dieta hiperlipídica (rica em ácidos graxos saturados) pós-desmame sobre a composição corporal, consumo alimentar, pressão arterial, balanço oxidativo e metabolismo lipídico no tecido adiposo de ratos machos de linhagem *Wistar* a curto e longo prazo.

## 1.1 MUDANÇAS NOS HÁBITOS ALIMENTARES

Nas últimas décadas observa-se a evolução de questões econômicas, sociais e demográficas interdependentes. Tais mudanças mundiais são conhecidas como transição demográfica, transição nutricional e epidemiológica (DELISLE, 2018).

A transição nutricional é um processo caracterizado pela mudança de hábitos alimentares e atividade física (POPKIN; GORDON, 2004; BATISTA FILHO; BATISTA, 2010). Popkin (1994) inventou o termo no início dos anos 90 para descrever a mudança que ocorria dentro de uma sociedade com alta prevalência de desnutrição à prevalência dominada pelo consumo excessivo de alimentos ricos em gorduras, açúcar e sal. A mudança resultante a partir da globalização foi uma maior disponibilidade destes alimentos (processados e ultraprocessados) e convergência para uma dieta "ocidental" (rica em ácidos graxos saturados – gordura saturada), particularmente característica nos países desenvolvidos/subdesenvolvidos (POPKIN, 2001; FERREIRA, 2006; BEZERRA *et al.*, 2012).

Estudos em diversos países mostram que alimentos ultraprocessados (ricos em gordura saturada), em particular, normalmente apresentam propriedades condutoras ao seu consumo excessivo: são frequentemente hiper-palatáveis e vendidos em grandes porções; são duráveis e fáceis de transportar e, portanto, susceptível de ser consumido como lanches a qualquer momento e em qualquer lugar; e são frequentemente comercializados de forma intensiva e persuasivamente (MONTEIRO; GOMES; CANNON, 2010; LUDWIG, 2011; MOUBARAC, 2012).

No Brasil, o processo de transição nutricional não foi diferente. As principais mudanças ocorreram nas últimas duas décadas, em regiões economicamente mais desenvolvidas (Sul, Sudeste e CentroOeste), com o desbalanço energético entre o consumo e o gasto de calorias associado ao aumento da ingestão de alimentos com elevada densidade calórica e ricos em gorduras saturadas. Soma-se ainda uma redução dos níveis de atividade física (COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008; FIELD, 2014).

Assim, o Guia Alimentar para a População Brasileira (2006) preconizou que o consumo de gorduras saturadas para adultos e crianças deve ser inferior a 10 % do consumo calórico total diário (BRASIL, 2006). Contudo, a Sociedade Brasileira de Cardiologia no intuito de complementar a recomendação já vigente, propôs I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular com ingestão mais específica, destinada a indivíduos que apresentassem fatores de risco associados à doença cardiovascular, como: hipertensão arterial sistêmica, diabetes, sobrepeso ou obesidade, circunferência da cintura aumentada (acima de 88 cm ou homem com mais de 102 cm), hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, síndrome metabólica, intolerância à glicose ou aterosclerose significativa; o consumo deve ser < 7% do valor energético total diário (SANTOS *et al.*, 2013).

A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2008-2009 observou que, cerca de 82% da população geral consome um percentual de gorduras saturadas de aproximadamente 9% das calorias totais necessárias no dia, acima do limite recomendado (IBGE, 2011). Este consumo tende a aumentar de acordo com a renda familiar, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011), o limite para esse nutriente (inferior a 10% das calorias totais) é alcançado na classe de renda mensal entre 10 e 15 salários mínimos (9,5%), e ultrapassado na classe de mais de 15 salários mínimos (10,6% das calorias totais).

Desta forma, nosso grupo de pesquisa tem procurado compreender a relação entre os efeitos adversos sobre o controle cardiometabólico do consumo de dieta rica em ácidos graxos, especificamente os saturados, adaptada do estudo de Ferro Cavalcante *et al.* (2013).

Para a composição desta dieta experimental ocidentalizada Ferro Cavalcante *et al.* (2013) basearam-se na Pesquisa de Orçamento Familiar (IBGE / Brasil, SFB 2002/2003 e do Instituto Americano de Nutrição Roedor Diet-AIN-93G), com ajustes feitos na composição da proteína, a fim de manter um percentual proteico adaptado para o estágio de crescimento de ratos. A dieta controle utilizada pelos autores foi AIN93G com  $\pm$  7% de gordura (REEVES, 1993), cuja composição é recomendada para roedores nas fases reprodutiva e de crescimento. Comparado com a dieta controle, o conteúdo da dieta experimental foi maior em açúcares simples, cloreto de sódio e lipídios com 14,5% de gordura, mas proteína padrão para roedores.

## 1.2 LIPÍDEOS: CLASSIFICAÇÃO E METABOLISMO

A gordura desempenha papel importante na alimentação humana e suas repercussões vem sendo amplamente discutidas sob ótica científica. De forma geral, estes macronutrientes contribuem efetivamente como sucessores na síntese de hormônios, constituem estrutura de

membranas celulares, compõe a bile, participam do sistema de defesa imunológica e transporte de vitaminas lipossolúveis e representa a maior parte do aporte calórico da dieta (LOTTENBERG, 2009).

Dentre os tipos de lipídeos conhecidos, existem alguns que desempenham papéis importantes, sob os aspectos fisiológicos e clínicos. Os fosfolípides são responsáveis por formar a estrutura da membrana das células, o colesterol atua como precursor na síntese de hormônios esteroidais, da vitamina D e dos ácidos que compõe a bile, participa da ativação de enzimas e garante fluidez das membranas celulares; e os triglicerídeos, formados a partir da ligação de três ácidos graxos e uma molécula de glicerol, constituem a forma mais importante de armazenamento de energia no organismo, depositam-se nos tecidos adiposo e muscular (XAVIER *et al.*, 2013).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas de comprimento variando de 4 a 36 carbonos (C4 a C36). Em alguns ácidos graxos, essa cadeia é totalmente saturada (não contém ligações duplas) e não ramificada; em outros, a cadeia contém uma ou mais ligações duplas. Alguns poucos contêm anéis de três carbonos, grupos hidroxila ou ramificações de grupos metila (WAITZBERG, 2004; CALDER; DECKELBAUM, 2008).

A partir destas especificações podem-se ser classificados como ácidos graxos poli-insaturados, monoinsaturados e saturados. Os ácidos graxos poliinsaturados (AGP) conforme a localização da primeira dupla ligação entre os carbonos a partir do grupo hidroxila, possuem duas ou mais duplas ligações denominando-se ômega 3 ( $\omega$ -3) composto pelos ácidos eicosapentaenoico, docosaexaenoico e linolênico, ou ômega 6 ( $\omega$ -6) composto pelo ácido linoléico. Já os ácidos graxos monoinsaturados (AGM) possuem apenas uma dupla ligação, o mais comum encontrado na dieta é o ácido oléico ou ômega 9 ( $\omega$ -9), com 18 átomos de carbono (XAVIER *et al.*, 2013).

Por fim, aqueles que não possuem dupla ligação na molécula, os ácidos graxos saturados (AGS) que podem ser divididos em três grupos: cadeia curta (de 1 a 6 átomos de carbono na cadeia), cadeia média (entre 8 e 12 átomos de carbono na cadeia) e cadeia longa (acima de 14 átomos de carbono). Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são os produtos finais da fermentação de carboidratos produzidos pela microbiota intestinal, sendo este a principal fonte, como por exemplo o ácido butanoico (4:0). Já os ácidos graxos de cadeia média (AGCM) e longa (AGCL) mais comuns advindos da alimentação são: mirístico (14:0), encontrado no leite e seus derivados; palmítico (16:0), cujas principais fontes são a gordura animal e o óleo de palma; esteárico (18:0), presente em produtos lácteos e carnes vermelhas.

O ácido palmítico e esteárico são os mais abundantes na alimentação humana (PEARSON, 1993; ISMAIL *et al.*, 2018).

Com o intuito de atribuir nomenclatura aos ácidos graxos saturados, a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) preconiza um sistema onde são nomeados os hidrocarbonetos pertencentes ao ácido graxo com base no número de carbonos, exemplificado na Tabela 1 (FENNEMA, 2010).

Tabela 1 - Exemplos de nomenclatura dos ácidos graxos saturados.

| <b>Ácido graxo saturado</b> | <b>Nome químico do ácido graxo</b> |
|-----------------------------|------------------------------------|
| Butírico (C4:0)             | Butanóico                          |
| Capróico (C6:0)             | Hexanóico                          |
| Caprílico (C8:0)            | Octanóico                          |
| Cáprico (C10:0)             | Decanóico                          |
| Láurico (C12:0)             | Dodecanóico                        |
| Mirístico (C14:0)           | Tetradodecanóico                   |
| Palmítico (C16:0)           | Hexadodecanóico                    |
| Esteárico (C18:0)           | Octadecanóico                      |
| Araquídico (C20:0)          | Eicosanóico                        |
| Behenico (C22:0)            | Docosanóico                        |
| Lignocérico (C24:0)         | Tetradocosanóico                   |

Fonte: Adaptado de Melo (2010).

Os números que se apresentam ao lado da letra “C” mostra a quantidade de carbonos presentes na cadeia do ácido graxo, já o segundo número após os dois pontos representa o número de insaturações, como é o caso dos ácidos graxos insaturados, o número é referente ao carbono onde está localizada a insaturação (FENNEMA, 2010).

Os triacilgliceróis (TG), também chamados de triglicerídeos, gorduras ou gorduras neutras, são os lipídeos mais simples construídos a partir de ácidos graxos. Os adipócitos, células do tecido adiposo, são capazes de armazenar grandes quantidades de TG em forma de gotículas de gordura que quase preenchem toda a célula, servindo como reserva energética (CERK; WECHSELBERGER; OBERER, 2018). Assim, a oxidação de um grama de triacilgliceróis libera mais do que o dobro de energia comparado a oxidação de um grama de carboidratos. Para que ocorra a mobilização do depósito de triacilgliceróis é necessário a ação das lipases dos adipócitos, que são enzimas sujeitas a regulação hormonal, que hidrolisa os triacilgliceróis a ácidos graxos e glicerol, podendo estes produtos serem oxidados por vias

diferentes (WANG; AIROLA; REUE, 2017).

A liberação de energia a partir dos ácidos graxos ocorre por um processo catabólico chamado  $\beta$  oxidação, que consiste na sua oxidação mitocondrial. Durante todo o processo, eles sofrem remoção, por oxidação, de sucessivas unidades de dois átomos de carbono na forma de acetil-CoA. Como exemplo pode ser citado o ácido palmítico (ácido graxo de 16 carbonos), que vai sofrer sete reações oxidativas, perdendo em cada uma delas dois átomos de carbono na forma de acetil-CoA. Ao final desse todo esse processo os dois carbonos restantes estarão na forma de acetil-CoA (NAKAMURA; YUDELL; LOOR, 2015).

Como a membrana da mitocôndria não permite a entrada direta de ácidos graxos, estes passam por uma etapa de ativação. Nesta etapa, o grupo carbonila do ácido graxo se liga ao grupo SH da Coenzima A formando uma ligação tioéster entre estes grupos. Em seguida, pela ação das acil-CoA sintetase, presentes na membrana externa da mitocôndria, os ácidos graxos são convertidos à acil-CoA. O processo de ativação do ácido graxo a acil-CoA é irreversível (NELSON; COX, 2014).

Para permitir a entrada do ácido graxo ativado (acil-CoA) no interior da matriz mitocondrial é necessário mobilizar o sistema específico de transporte da carnitina (FOSTER, 2004). O acil-CoA dentro da matriz mitocondrial terá agora seu carbono  $\beta$  oxidado. Essa via metabólica é constituída por quatro reações que se repetem ao longo da cadeia carbônica do ácido graxo até que esse esteja totalmente oxidado. As quatro reações, de forma resumida, são: I. Converte-se um FAD em FADH<sub>2</sub> levando à oxidação do acil-CoA em enoil-CoA em sua forma *trans*, por meio da acil-CoA desidrogenase; II. Hidrata-se a dupla ligação, produzindo a  $\beta$ -hidroxiacil-CoA, por meio da enoil-CoA hidratase; III. Converte-se um NAD em NADH levando à oxidação do grupo hidroxila a carbonila, formando um  $\beta$ -cetoacil-CoA, por meio da  $\beta$ -hidroxiacil-CoA desidrogenase ( $\beta$ -HAD); IV. O  $\beta$ -cetoacil-CoA sofre cisão com auxílio de um CoA, por meio da tiolase, formando acetil-CoA e outro acil-CoA com menos dois carbonos, que volta para o começo do ciclo (NELSON; COX, 2014).

A energia contida na acetil-CoA mitocondrial pode ser estocada como gordura pela síntese de ácidos graxos. Essa biossíntese ocorre no citosol, onde a principal enzima é a ácido graxo sintase (FAS), que é um complexo enzimático multifuncional homodimérico responsável pela síntese endógena de ácidos graxos saturados de cadeia longa, especialmente palmitato, usando acetil-CoA como iniciador, o malonil-CoA como doador de dupla de carbonos e NADPH como equivalente redutor (LIU; CZAJA, 2013). Com isso, é possível perceber que tanto a biossíntese quando a degradação de ácidos graxos são processos

relativamente simples, a essência de um é o reverso do outro.

### 1.3 BIOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO

Junqueira e Carneiro (2008) descrevem que tecido adiposo (TA) é um tipo especial de tecido conjuntivo em que se observa predominância de células adiposas, denominadas adipócitos. Essas células podem ser encontradas isoladas ou em pequenos grupos no tecido conjuntivo frouxo, porém a maioria delas formam grandes agregados, constituindo o tecido adiposo distribuído pelo corpo.

Por décadas o desenvolvimento do TA e a bioquímica do adipócito são áreas de pesquisa que têm intrigado muitos investigadores. Originalmente, esse tecido era considerado como um simples órgão de estoque. Contudo, avanços recentes têm demonstrado que o adipócito não é apenas um estoque passivo de lipídeos, mas também uma célula secretora, extremamente dinâmica que desempenha um papel fundamental no balanço energético e, sobretudo, na homeostase corporal (WAJCHENBERG *et al.*, 2009). De fato, o TA vem sendo considerado a maior glândula endócrina no corpo, exercendo funções autócrina, parácrina e endócrina e desempenhando papéis múltiplos na regulação de processos sistêmicos que modificam a disponibilidade de nutrientes (CASTRO *et al.*, 2014).

Por ser o mais prevalente tecido do corpo humano não representa um único compartimento homogêneo, mas sim tecido com depósitos regionais específicos que possuem diferentes funções biológicas, além de estar associado mais fortemente com processos fisiológicos e patológicos do que a massa total de tecido adiposo (SHEN *et al.*, 2007). Além dos adipócitos, células que correspondem ao tecido adiposo em quase sua totalidade e são capazes de sintetizar triglicérides, em um processo denominado lipogênese e oxidar ácido graxos para obtenção de energia, através da lipólise, existem várias outras células constituintes, tais como as células tronco multipotentes, pré-adipócitos, fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais e macrófagos, sendo também irrigado por capilares e vasos sanguíneos (ARMANI *et al.*, 2010).

Segundo Ouchi *et al.* (2011), no corpo humano existem dois principais tipos de adipócitos, os do TA branco (TAB) e os dos TA marrom (TAM) podendo coexistir em todos os locais de distribuição de TA. O TAM é formado por adipócitos multiloculares e que contém numerosas gotículas lipídicas e muitas mitocôndrias, encontrado principalmente em recém-nascidos, com localização na região em torno do ombro (GESTA *et al.*, 2007; SETHI; VIDAL-PUIG, 2007). Já os adipócitos do TAB ou comum ou amarelo, são uniloculares,

contendo apenas uma gotícula de gordura que ocupa quase todo o citoplasma, quando completamente desenvolvidos. O TAB está amplamente distribuído e sua função primária é estocar triacilgliceróis (TG) em períodos de excesso de energia e liberar energia na forma de ácidos graxos livres durante deprivações de energia (GREGOIRE *et al.*, 1998). Além disso, modela a superfície corporal, protege contra choques mecânicos, contribui para o isolamento térmico do organismo, além de preencher espaços entre outros tecidos e auxiliar a manter certos órgãos em suas posições normais (CINTI *et al.*, 2012).

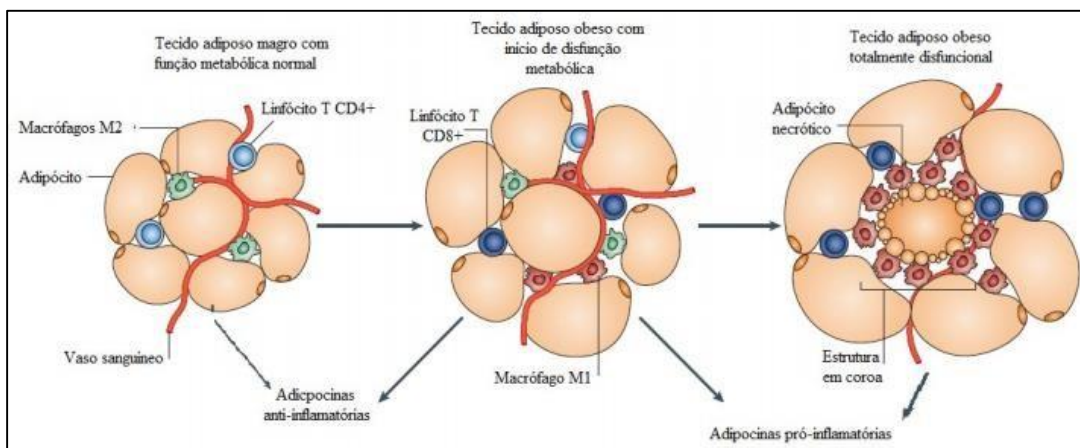
O TA branco é considerado um órgão complexo com distribuição de múltiplos depósitos subcutâneos e viscerais em todo o corpo (SORISKY *et al.*, 2013). Em humanos, os depósitos estão localizados abaixo da pele e com quantidades proeminentes no abdômen e nas pernas. Os principais locais de tecido adiposo visceral em humanos e roedores são os depósitos abdominais, mesentérico e omental. O depósito omental compreende uma fração maior de gordura corporal em humanos comparado com roedores, podendo ser o epididimal em roedores machos, funcionalmente equivalente ao omental em humanos (TCHKONIA *et al.*, 2013). Outros depósitos de TAB frequentemente estudados em roedores são o mesentérico e o retroperitoneal (DISPIRITO; MATHIS, 2015).

Quando em excesso, o TAB que se dispõe na região visceral associa-se a complicações metabólicas e com anormalidades de fatores humorais, que regulam as quantidades circulantes de glicose, insulina e lipídios. Consequentemente, quanto maiores os estoques de lipídeos viscerais, maiores os riscos de possíveis doenças cardiometabólicas (MAURIÈGE *et al.*, 1999; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007).

Devido à habilidade de se remodelar em resposta ao estado nutricional, o TAB a partir de uma série de mecanismos é capaz de alterar seu tamanho, função, estado inflamatório e distribuição corporal. A nível celular, o tecido modifica a composição da sua matriz extracelular, vascularização, tamanho e número de adipócitos, nível de estresse oxidativo e secreção de adipocinas, por exemplo (SUN, *et al.*, 2011).

Em indivíduos obesos, a sobrecarga lipídica no TAB pode torná-lo severamente disfuncional tornando-o falho em se expandir apropriadamente para armazenar a energia excedente (Figura 1). Em nível sistêmico, esta disfunção resulta em deposição desordenada de gordura em outros tecidos que regulam a homeostase metabólica (fígado, músculo esquelético, pâncreas endócrino, por exemplo), resultando em progressiva resistência à insulina e aumento do risco para diabetes do tipo 2 (KUSMINSKI *et al.*, 2016).

Figura 1 - Modulação fenotípica do tecido adiposo branco.



Fonte: (OUCHI *et al.*, 2011).

Assim sendo, a hipertrofia dos adipócitos devido ao estoque excessivo de lipídeos mais a hiperplasia devido à diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos maduros, conduz a uma série de alterações disfuncionais nessas células que pode levar à morte eventual do adipócito ou induzir as respostas inflamatórias (ARKAN *et al.*, 2005).

Ordovas e Corella (2004) apontam a alimentação como principal fator ambiental envolvido na resposta inflamatória do TA, modulação de expressões gênicas e, segundo De Busk *et al.* (2005), um fator de risco para o desenvolvimento de doenças. Algo que Crewe e colaboradores (2017) puderam observar em roedores alimentados com dieta hiperlipídica que apresentaram correlação positiva entre fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e nível de composição corporal. Outro estudo observou roedores durante vinte semanas alimentados com dieta rica em gordura e outro grupo só com dieta rica em carboidratos. Animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maior peso corporal, maior peso do TA epididimal e maior infiltração de macrófagos no TA (TANG *et al.*, 2014). Outro estudo observa que o consumo exagerado de gordura induziu ao aumento significativo do nível de inflamação do TA tanto visceral quanto subcutâneo, além de promover alterações no metabolismo lipídico e glicídico (FORNEY *et al.*, 2018).

Como muitas funções celulares relacionadas à homeostase energética são reguladas pela expressão de genes e por interações entre genes e ambiente, as variações interindividuais de peso e de composição corporal, bem como as diferenças no metabolismo do tecido adiposo, podem ser influenciadas pela ingestão de nutrientes (DOO; KIM, 2015).

#### 1.4 RELAÇÃO DO CONSUMO DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS E RISCO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES E METABÓLICAS

Já é bem elucidado na literatura que o excesso global de gordura corporal é reconhecido como um fator de risco para doenças cardiovasculares (DCV) e fatores de risco para doenças a ela associados como *Diabetes Mellitus* tipo 2 (DM2), dislipidemias, entre outras (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013; GUEBRE-EGZIABHER *et al.*, 2013). Apesar do muito que se sabe sobre essas doenças e seus fatores de risco serem baseadas nas dosagens dos marcadores do metabolismo lipídico em jejum (THALES *et al.*, 2012; GUEBRE-EGZIABHER *et al.*, 2013; JANZ, 2017), atualmente vive-se a maior parte do tempo em um estado fora do jejum, e, com isso, há uma variação contínua no grau de lipemia (SANTOS *et al.*, 2013; LOPES; PELUZIO; HERMSDORF, 2016).

Uma sobrecarga lipídica advinda da dieta é um fator importante a ser considerado nas alterações que ocorrem no metabolismo não observadas em jejum (LOZANO *et al.*, 2013). Ao consumir lipídios em excesso em uma refeição, especialmente gordura saturada, o corpo se depara com excesso de triacilgliceróis (TG) e a remoção destes se torna ineficiente, resultando em um estado de lipemia pós-prandial (CHAN *et al.*, 2013), que está associado a DCV (KATSANOS, 2014).

Desde 2003, o relatório da Organização Mundial de Saúde já afirmava que havia evidências convincentes de que o consumo de ácidos graxos saturados, como por exemplo o óleo de palma (45% ácido palmítico e 5% ácido esteárico) contribui para um aumento do risco de desenvolvimento de DCV (WHO, 2003). Avanços nas pesquisas nas últimas décadas fornecem um corpo substancial de evidências sobre os efeitos dos ácidos graxos saturados (AGS) na saúde de um indivíduo e na gênese de doenças cardiometabólicas. A partir de meta-análises de estudos clínicos americanos, para cada 1% de energia advinda de ácidos graxos saturados, as concentrações de LDL-colesterol e HDL-colesterol aumentam em ~12.7-17.4 mg/ L e 4.3–5.0 mg / L, respectivamente (KRIS-ETHERTON; FLEMING, 2015).

Mais recentemente Micha e Mozaffarian (2010) realizaram ensaios clínicos randomizados (ECRs) sobre fatores de risco lipídico e não-lipídico, estudos de coorte prospectivos de desfechos de doença e ECRs de desfechos de doença para efeitos cardiometabólicos do consumo de AGS em humanos, incluindo se os efeitos variam dependendo do comprimento da cadeia de ácidos graxos específicos. Entre os AGS de cadeia média, o ácido láurico (12: 0) tem o maior efeito no aumento do colesterol LDL, mas aumenta o colesterol HDL, diminuindo a relação colesterol total (CT):HDL-colesterol ( $p < 0,001$ ). Os ácidos mirístico (14: 0) e palmítico (16: 0) aumentam comparativamente o colesterol LDL e

HDL ( $p = 0,832$ ); no entanto, há pouco efeito na relação CT:HDL-colesterol ( $p = 0,019$ ) (MOZAFFARIAN; MICHA, 2010; MOZAFFARIAN; MICHA; WALLACE, 2010).

Estudos com modelos animais também avaliaram os efeitos de uma dieta rica em ácidos graxos saturados sobre parâmetros pressóricos. Mayyas *et al.* (2015) observaram a resposta cardiometabólica que camundongos alimentados a 25% de gordura total na dieta durante dez semanas apresentariam a partir da pletismografia, sistema não invasivo que permite monitorar a pressão arterial e onda de pulso. Observou-se que a dieta foi associada a um possível dano oxidativo aumentando levemente a pressão arterial sistêmica.

Panchal *et al.* (2011) mostraram dilatação ventricular, aumento do volume sistólico e aumento da massa ventricular esquerda estimada em ratos alimentados com dieta rica em gorduras durante oito e dezesseis semanas. Mais recentemente, Ferron *et al.* (2018) observaram que por 20 semanas, ratos alimentados com modelo de dieta semelhante a citada anteriormente, apresentaram um comprometimento estrutural atrial-ventricular e disfunção sistólica-diastólica, além de ganho de peso, ingestão calórica, eficiência alimentar, glicose e comprometimento do perfil lipídico (maiores TG, colesterol e LDL e menor HDL). Muitos destes estudos até aqui citados sub ou superestimaram os valores de lipídeos na dieta que vai muito além do real consumo humano ou não descrevem bem qual o tipo e concentração de ácido graxo ofertado. Porém, este processo de remodelamento cardíaco nos achados científicos pode ser o primeiro passo na sequência de respostas adaptativas a dieta rica em gorduras, de maneira direta ou indireta, seguidas por outras alterações metabólicas.

Concomitantemente a estas alterações, a dieta hiperlipídica pode estar associada ao aumento da gordura corporal, que é capaz de alterar níveis de triglicerídeos e colesterol circulantes, que quando em excesso na corrente sanguínea caracteriza-se um quadro de hiperlipidemia associados também a riscos cardiovasculares (HU *et al.*, 2000; DREWNOWSKI; SPECTER, 2004). O acúmulo desordenado de lipídeos nas células do tecido adiposo caracteriza-se em um quadro denominado inflamação crônica de baixo grau ou lipotoxicidade, iniciando localmente até se tornar sistêmico e piorar o estado metabólico do adipócito (WU *et al.*, 2010).

A lipotoxicidade seria uma possível explicação sobre o comportamento inflamatório que, especificamente, o tecido adiposo branco (TAB) possui. Como o TAB é o maior reservatório de energia e combustível metabólico para o organismo, essa reserva se encontra na forma de triacilglicerol ou triglicerídeos. Os fatores que controlam a mobilização e estoque de triacilgliceróis são reguladores importantes de acúmulo de lipídeos. Com estímulo específico, rapidamente são liberados ácidos graxos não esterificados (AGNE's) por lipases a

partir de triacilglicerol, utilizados pelas células para gerar energia (LAFONTAN; LANGIN, 2009). Quando há uma liberação exagerada de AGNE's sem demanda tecidual, pode ocorrer acúmulo de metabólitos tóxicos em outros tecidos não adiposos como músculo esquelético, células  $\beta$  pancreáticas e fígado, induzindo a um estado inflamatório crônico com infiltração e ativação de macrófagos, e logo em seguida disfunção e morte celular gerando um processo chamado lipotoxicidade (WANG *et al.*, 2008; RIAL *et al.*, 2010). Metabólitos lipídicos que causam disfunção são LDLs oxidadas e glicadas, colesterol livre (CL), excesso de triacilglicerol ou diacilglicerol (RIAL *et al.*, 2010).

Para obter mais explicações, estudos foram desenvolvidos com base no consumo de uma dieta ocidental rica em gorduras saturadas tanto em adultos como em crianças, quanto em modelos animais (WELSH *et al.*, 2010; REEDY; KREBS-SMITH, 2010; DUVAL *et al.*, 2010; LUO *et al.*, 2015), e visto que há uma estreita relação entre a expansão do tecido adiposo branco epididimal e o desenvolvimento de hiperlipidemia e um estado inflamatório generalizado. Desta forma, observa-se que a obesidade visceral foi estabelecida como parte de um fenótipo complexo incluindo disfunção de armazenamento de tecido adiposo e acumulação ectópica de triglicerídeos (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013).

Além da forte relação entre hipertensão, hipertrigliceridemia e dislipidemia que foram apresentados até agora, distúrbios estes semelhantes às comorbidades associadas à obesidade humana, a dieta com alto teor de gorduras, sejam elas saturadas ou não, também interferem na susceptibilidade de um organismo a danos oxidativos. Esses danos são gerados por um quadro de estresse oxidativo.

## 1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E ASSOCIAÇÃO A DIETAS HIPERLIPÍDICAS

Um dos processos fisiológicos contínuos de função biológica relevante consiste na produção de radicais livres. São regulados por diferentes processos e vias metabólicas, na intenção de atuarem como mediadores na sinalização extra e intracelular. No entanto, quando existe uma produção excessiva de radicais livres pode resultar em danos oxidativos no desenvolvimento de um mecanismo intrínseco de defesa antioxidante (CUNNINGHAM *et al.*, 2012). Estes têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes dos mesmos (SHAMI; MOREIRA, 2004).

Assim, o estresse oxidativo constitui-se um desequilíbrio entre os sistemas de defesa antioxidantes e a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), estes agentes oxidantes, os quais são produzidos constantemente a partir das reações químicas e pela cadeia

transportadora de elétrons nas mitocôndrias, e que em quantidades excedentes e incompatíveis para o funcionamento adequado dos sistemas fisiológicos levam à injúria tecidual (BETTERIDGE, 2000; BARBOSA *et al.*, 2010; BIRBEN *et al.*, 2012). EROS são conhecidas como radicais livres contendo elétrons desemparelhados que reagem, podendo provocar reações em cadeias, oxidando biomoléculas e favorecendo o desenvolvimento de patologias como câncer, aterosclerose, hipertensão, diabetes, doenças pulmonares, distúrbios neurológicos e complicações de agravos já instalados (BARBOSA *et al.*, 2010; BIRBEN *et al.*, 2012).

Os radicais livres mais conhecidos são: radical hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ), ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), metais de transição como ferro e cobre, óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ) (PRUCHNIAK *et al.*, 2015) e peroxinitrito ( $\text{ONOO}\cdot$ ) (BETTERIDGE, 2000; FRANÇA *et al.*, 2013). Como dito anteriormente, o organismo possui um complexo e integrado sistema defesa antioxidante, capaz de retardar ou inibir a oxidação de uma forma eficaz (BARBOSA *et al.*, 2010). Pode ser classificado em não enzimático, fazendo parte deste as vitaminas A, C, E, o beta caroteno e a glutathione (BIRBEN *et al.*, 2012) e o enzimático, constituído por enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx) (BETTERIDGE, 2000; BARBOSA *et al.*, 2010) e glutathione-S-transferase (GST) (BIRBEN *et al.*, 2012).

A SOD, presente no citosol (acoplada ao cobre e zinco) e na mitocôndria (contendo manganês), representa a primeira linha de defesa antioxidante e constitui o maior sistema de defesa do organismo contra o ânion superóxido por catalisar a dismutação do ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) em oxigênio ( $\text{O}_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (STAGNARO-GREEN *et al.*, 2011; SCHNEUER *et al.*, 2012). O peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) formado pela dismutação do  $\text{O}_2^{\cdot-}$  pela SOD é convertido em água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e  $\text{O}_2$  pela catalase, outra enzima antioxidante encontrada em peroxissomos celulares (BIRBEN *et al.*, 2012).

Além da catalase, a enzima glutathione peroxidase (GPx), presente no citosol e na mitocôndria, também é capaz de neutralizar o  $\text{H}_2\text{O}_2$  por acoplar sua redução com a oxidação da glutathione reduzida (GSH). Já a glutathione-S-transferase (GST) participa da inativação de metabólitos secundários como aldeídos insaturados, epóxidos e hidroxiperoxídeos. A partir dos produtos finais das reações de peroxidação lipídica, oxidação do DNA e oxidação de proteínas, o estresse oxidativo pode ser detectado e mensurado (BIRBEN *et al.*, 2012). Os componentes da dieta podem contribuir para a integridade deste sistema ou favorecer um desequilíbrio no estado redox (produção de espécies reativas de oxigênio *versus* sistemas antioxidantes).

Farhangi *et al.* (2017) objetivaram avaliar os efeitos da ingestão de uma dieta hiperlipídica (59% de lipídeos), em ratos machos durante 16 semanas sobre parâmetros inflamatório e estresse oxidativo no tecido adiposo abdominal (epididimal, perirrenal, retroperitoneal e mesentérico). Não observaram diferença na atividade enzimática da SOD e GPx entre os grupos, no entanto a atividade da catalase foi significativamente maior no grupo que recebeu dieta hiperlipídica, além de apresentarem uma maior produção de citocinas pró-inflamatórias. Juntamente com estes resultados, observaram uma forte associação negativa entre citocinas pró-inflamatórias com a GPx e associação positiva com concentrações de MDA, indicando o papel do tecido adiposo abdominal em um possível envolvimento no estresse oxidativo potencializado pela dieta hiperlipídica, como observado anteriormente em outros estudos (KHAKI *et al.*, 2011; FARHANGI *et al.*, 2013).

Outro estudo realizado em humanos mostrou que, homens saudáveis que ingeriram durante 1 semana uma dieta hipercalórica, sendo das 6000 kcal/dia (dieta comum dos EUA) onde 35% corresponde a gordura, produziu um rápido ganho de peso de início rápido (após 2 a 3 dias) e estresse oxidativo. No tecido adiposo, esse estresse oxidativo resultou em extensa oxidação e carbonilação de várias proteínas, uma delas responsável pelo transporte de glicose. Esses resultados sugerem que um dos eventos iniciais causado pela dieta pode ser o estresse oxidativo, que produz resistência à insulina fortemente associada ao desenvolvimento de obesidade, hipertensão e dislipidemia (BODEN *et al.*, 2015).

## **2 HIPÓTESE**

A exposição a uma dieta rica em ácidos graxos saturados em ratos machos *Wistar* do período pós- desmame até os 90 dias de vida, induz: I. Acúmulo do tecido adiposo, em especial o visceral; II. Alteração nos níveis de lipídeos séricos; III. Desbalanço no metabolismo lipídico e estresse oxidativo no tecido adiposo; IV. Aumento da Pressão Arterial.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de uma dieta hiperlipídica (rica em ácidos graxos saturados) pós-desmame sobre a composição corporal, consumo alimentar, pressão arterial, metabolismo lipídico e balanço oxidativo em ratos machos de linhagem *Wistar* aos 30 e 90 dias de vida.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos de consumo de uma dieta rica em ácidos graxos saturados sobre:

- A massa corporal, crescimento somático e consumo alimentar;
- Os níveis séricos de proteínas totais, albuminas, glicose, colesterol total, triglicerídeos (TG);
- Os níveis de pressão sistólica, diastólica e média, além da frequência cardíaca;
- Tecido adiposo total e índice de adiposidade corporal;
- As atividades de enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico, tais como ácido graxo sintase (FAS) e  $\beta$ -hidroxiacil-CoA desidrogenase ( $\beta$ -HAD) no tecido adiposo epididimal;
- Determinar a atividade enzimas (SOD, catalase e GPx) e biomarcador (MDA) relacionados ao estresse oxidativo no tecido adiposo.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 QUESTÕES ÉTICAS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sob protocolo nº 23076.046459/2018-17, e seguiu as normas e padrões de manipulação de boas práticas no manejo de animais de laboratório.

### 4.2 ANIMAIS

Foram utilizadas ratas albinas primíparas da linhagem *Wistar* com peso acima de 200g e 90 dias de vida provenientes do biotério do Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Universidade Federal de Pernambuco. As ratas foram acasaladas com ratos machos férteis na proporção de 3:1 e após a confirmação da prenhez, com a observação da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal, foram então transferidas para gaiolas individuais e mantidas a uma temperatura ambiente de  $22 \pm 1$  °C com um ciclo de claro-escuro controlado (claro 18:00-06:00 h) e sendo ofertado dieta padrão de laboratório até o final da lactação. Após o nascimento dos filhotes, a prole foi reduzida para oito filhotes machos por rata. Após o desmame, os filhotes receberam uma dieta normolipídica equilibrada (grupo Controle - C) ou uma dieta hiperlipídica e rica em ácidos graxos saturados (grupo Hiperlipídico - HL) melhor descritas no tópico a seguir.

### 4.3 MANIPULAÇÃO NUTRICIONAL

As dietas utilizadas foram confeccionadas no Laboratório de Técnica Dietética do Centro Acadêmico de Vitória, dentro das especificações, normas e padrões de manipulação alimentar, conforme a Tabela 1. Foi quantificada a composição centesimal de todas as dietas experimentais (Tabela 2) e a composição de ácidos graxos das dietas pós desmame (Tabela 3). As dietas foram pesadas por gaiola e ofertadas diariamente, assim como o rejeito, para quantificação do consumo alimentar diário.

Tabela 2 - Composição quanto aos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.

| Ingredientes<br>(g por 100g de dieta) | Normoproteica/<br>Normolipídica<br>(AIN-93G) | Hiperlipídica<br>(adaptada FERRO<br>CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2013) |
|---------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Amido de milho                        | 39,7                                         | 15                                                                   |
| Amido dextrinizado                    | 13,2                                         | -                                                                    |
| Farinha de trigo                      | -                                            | 12                                                                   |
| Biscoito maisena                      | -                                            | 5                                                                    |
| Farinha de soja                       | -                                            | 6                                                                    |
| Banha de porco                        | -                                            | 5,3                                                                  |
| Creme de leite                        | -                                            | 4                                                                    |
| Margarina (65% lipídios)              | -                                            | 4                                                                    |
| Caseína (>85%)                        | 20                                           | 20                                                                   |
| Goma guar                             | -                                            | 0,5                                                                  |
| Sacarose                              | 10                                           | 18                                                                   |
| Óleo de soja                          | 7                                            | 4                                                                    |
| Fibra (celulose)                      | 5                                            | 2                                                                    |
| Vitaminas                             | 1                                            | 0,7                                                                  |
| Mineral mix                           | 3,5                                          | 2,5                                                                  |
| DL-metionina                          | 0,3                                          | 0,25                                                                 |
| Bitartarato de colina                 | 0,25                                         | 0,25                                                                 |
| BTH                                   | 0,0014                                       | 0,014                                                                |
| Glutamato monossódico<br>(12,3%)      | -                                            | 0,2                                                                  |
| Cloreto de sódio                      | -                                            | 0,3                                                                  |
| Total (g)                             | 100                                          | 100                                                                  |
| <b>Kcal /100g</b>                     | 3,69                                         | 4,46                                                                 |
| % Gorduras totais                     | 18,6                                         | 31                                                                   |
| % Proteínas                           | 20,2                                         | 20                                                                   |
| % Carboidratos                        | 61                                           | 49                                                                   |

**RODRIGUES, 2019.** A dieta AIN-93G foi confeccionada de acordo com o preconizado por Reeves *et al.* (1993); a dieta hiperlipídica foi adaptada do estudo de Ferro Cavalcante *et al.* (2013). A análise da quantidade de calorias foi determinada a partir de análise centesimal, realizada no Laboratório de Bromatologia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco.

Tabela 3 - Composição centesimal de nutrientes das dietas experimentais formuladas.

| Macronutrientes (g/100g) | proteica/Normolipídica (AIN-93G) | Hiperlipídica<br>(FERRO-CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2013) |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Umidade                  | 3,5                              | 4,4                                                      |
| Lipídios                 | 6,1                              | 15,3                                                     |
| Proteínas                | 18,6                             | 22,5                                                     |
| Carboidratos             | 68,6                             | 54,7                                                     |
| Cinzas                   | 3,3                              | 3,1                                                      |

**RODRIGUES, 2019.** A dieta AIN-93G foi confeccionada de acordo com o preconizado por Reeves *et al.* (1993); a dieta hiperlipídica foi adaptada do estudo de Ferro Cavalcante *et al.* (2013). A análise de composição centesimal foi realizada no Laboratório de Bromatologia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, de acordo com a metodologia de determinação de umidade, proteínas, lipídios e cinzas da AOAC (1995). A quantidade de carboidrato presente na amostra foi obtida por diferença dos demais macronutrientes.

Tabela 4 - Composição percentual de ácidos graxos quanto à presença de dupla ligação na cadeia carbônica nas dietas experimentais pós-desmame formuladas.

| ÁCIDOS GRAXOS                | Normoproteica/<br>Normolipídica<br>(AIN-93G) | Hiperlipídica<br>(FERRO-CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2013) |
|------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Saturados</b>             |                                              |                                                          |
| Ácido octanoico (C8:0)       | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido decanoico (C10:0)      | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido láurico (C12:0)        | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido mirístico (C14:0)      | 0                                            | 1,09                                                     |
| Ácido pentadecanoato (C15:0) | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido palmítico (C16:0)      | 11,97                                        | 19,1                                                     |
| Ácido heptadecanoato (C17:0) | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido esteárico (C18:0)      | 4,62                                         | 9,4                                                      |
| Ácido araquídico (C20:0)     | 0,36                                         | 0                                                        |
| Ácido behênico (C22:0)       | 0,37                                         | 0                                                        |
| <b>Total</b>                 | <b>17,32</b>                                 | <b>29,59</b>                                             |
| <b>Monoinsaturados</b>       |                                              |                                                          |
| Ácido miristoleico (C14:1)   | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido palmitoleico (C16:1)   | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido heptadecanoico (C17:1) | 0                                            | 0                                                        |
| Ácido oleico (C18:1)         | 29,93                                        | 34,77                                                    |
| Ácido eicosenoico (C20:1)    | 0                                            | 0                                                        |
| <b>Total</b>                 | <b>29,93</b>                                 | <b>34,77</b>                                             |
| <b>Poliinsaturados</b>       |                                              |                                                          |
| Ácido linolênico (C18:3)     | 3,89                                         | 5,11                                                     |
| Ácido linoleico (C18:2)      | 48,87                                        | 30,53                                                    |
| <b>Total</b>                 | <b>52,76</b>                                 | <b>35,64</b>                                             |
| Ômega 3 (g/100g)             | 0,27                                         | 0,78                                                     |
| Ômega 6 (g/100g)             | 3,42                                         | 4,66                                                     |

**RODRIGUES, 2019.** Os ácidos graxos foram identificados segundo padrão externo (FAME Supelco™ mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA) e o percentual (%) calculado conforme normalização das áreas dos picos pelo método de cromatografia gasosa no Laboratório de Fitoquímicos e processos do Centro de Tecnologias e

Estratégias do Nordeste. A partir da determinação percentual de ácido linolênico (ômega 3) e linoléico (ômega 6) foram calculadas as quantidades (g/100g de dieta) desses ácidos graxos e obteve-se a razão de ômega 6 / 3.

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL, GANHO PONDERAL, CRESCIMENTO SOMÁTICO, CONSUMO E EFICIÊNCIA ALIMENTAR

A massa corporal dos animais foi acompanhada diariamente até o desmame da prole (21 dias de vida), em seguida a cada 10 dias até os 90 dias de idade, como previamente descrito por Brito-Alves *et al.* (2014). O ganho ponderal foi aferido a partir do delta do peso corporal referente aos períodos de 21 a 30 dias de vida e de 30 a 90 dias de vida.

A circunferência abdominal, comprimento caudal e comprimento naso-anal (aqui considerado tamanho corporal – TC) dos filhotes foram mensurados semanalmente, como previamente descrito por Bayol *et al.* (2004) e Barker *et al.* (2002), do nascimento até o 90º dia de vida.

Foi avaliada a eficiência alimentar dos animais, calculada a partir da fórmula  $(CEA\%) = [média\ do\ ganho\ de\ massa\ corporal\ do\ período \times 100\ (g) / consumo\ calórico\ do\ período\ (g)]$ , segundo Novelli *et al.* (2007). A avaliação equivale aos períodos de 22-30 e 31-90 dias de vida.

#### 4.5 NÍVEIS SÉRICOS DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

A análise foi realizada a partir do soro, coletado via veia caudal dos animais anestesiados por ketamina (80 mg/kg i.p.) e xilazina (10 mg/kg i.p) após um jejum de 6 horas aos 21, 30 e 90 dias de vida. As amostras de sangue foram condicionadas em tubos sem anti-coagulante, centrifugadas a 3500 RPM por 10 minutos para obtenção do soro. O sobrenadante foi coletado com auxílio de pipeta e transferido para um tubo Eppendorf, e encaminhado para análise do conteúdo sérico de albuminas, proteínas totais, colesterol total, triglicerídeos (TG) e glicose utilizando seus respectivos Kits padrão de laboratório (Labtest Diagnostico AS, MG, Brasil). A partir da dosagem de triglicerídeos foi obtido o valor de VLDL- colesterol pela fórmula de *Friedewald* = TG/5, conforme estabelecido na IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SPOSITO *et al.*, 1997).

#### 4.6 AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE PRESSÃO ARTERIAL (PA) E FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC)

Aos 89 dias de vida, os animais foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg i.p.) e xilazina (10mg/kg i.p) para procedimento cirúrgico com a inserção um cateter de polietileno

na artéria femoral, para registro da PA, logo em seguida o cateter foi exteriorizado subcutaneamente até a altura das escápulas como descrito por Brito-Alves *et al.* (2014). Após a cirurgia, os animais receberam uma dose intramuscular de cetoprofeno (5mg/Kg/min). O registro da pressão arterial e da frequência cardíaca foi realizado nos animais não anestesiados após um período de 18 a 24 horas de recuperação durante o ciclo claro por meio da conexão da cânula da artéria femoral com o transdutor mecanoelétrico de pressão (ML866/P, ADInstruments, Power Lab, Bella Vista, NSW, Australia), cujo sinal foi amplificado, digitalizado e amostrado em 2000 Hz em um microcomputador equipado com um software apropriado (ChartTM Pro, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Australia). O registro da pressão arterial foi selecionado a partir de um trecho estável de 10 minutos com o animal em repouso após um período de adaptação de trinta minutos, realizando o registro por cerca de duas horas para cada animal, que nesse período não tinha acesso à dieta comercial padrão.

#### 4.7 PESAGEM DE TECIDO ADIPOSEO TOTAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

Aos 90 dias e após a avaliação da pressão arterial, os animais foram anestesiados para sacrifício e realização da coleta e pesagem do tecido adiposo (epididimal, retroperitoneal, mesentérico e subcutâneo). A quantidade de gordura total foi medida pela soma dos tecidos adiposos coletados no 90º dia de vida. O índice de adiposidade foi calculado pela seguinte fórmula: Índice de adiposidade (%) = (gordura corporal total/massa corporal) x 100 (TAYLOR; PHILLIPS, 1996). Por fim, realizou-se correlações entre a massa total dos tecidos adiposos em grama com os parâmetros bioquímicos aos 90 dias.

#### 4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS CHAVES NO METABOLISMO LIPÍDICO, ENZIMAS ANTIOXIDANTES E BIOMARCADOR DE ESTRESSE OXIDATIVO

##### 4.8.1 Preparo do homogeneizado do tecido adiposo

O tecido adiposo foi homogeneizado em tampão de extração (Tris base 50 mM e EDTA 1 mM, pH 7,4; com adição de ortovanadato de sódio 1 mM e PMSF 2 mM e nodinet 1%). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1180 RPM, a 4º C, por 10 minutos e os sobrenadantes submetidos à quantificação proteica.

##### 4.8.2 Dosagem de proteína

A concentração de proteína foi determinada pelo método de BRADFORD

(BRADFORD, 1976). O princípio do método baseia-se na determinação da concentração de ligações peptídicas através da medida da absorbância do complexo proteína-corante. Este complexo absorve em comprimento de onda de 595 nm. A absorbância é considerada diretamente proporcional à concentração de proteína na solução analisada, onde uma solução de BSA (2mg/mL) foi utilizada como padrão.

#### 4.8.3 Determinação da atividade da $\beta$ -hidroxyacil-CoA desidrogenase ( $\beta$ -HAD)

A atividade da  $\beta$ -HAD foi determinada segundo ITO (ITO *et al.*, 2010). Essa enzima possui especificidade absoluta para o isômero L do substrato com a hidroxiaçila, converte a hidroxila em C-3 em uma cetona e gera NADH. Sua atividade foi avaliada em espectrofluorímetro a um comprimento de onda de 340nm, volume final de 0.25mL. Preparou-se uma solução de Imidazol a 50 mM, depois um mix de reação (Imidazol 50mM + EDTA 12mM + NADH 0.18mM). Incubou-se por um minuto o mix de Reação com 100  $\mu$ g de proteína de cada amostra e colocou-se Acetoacetyl-CoA 0.1mM para iniciar a reação e efetuou-se a leitura a 340nm de absorbância em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). Os resultados foram expressos como  $\mu$ mol/min/mg prot.

#### 4.8.4 Avaliação da atividade da Ácido Graxo Sintetase (FAS)

A atividade da enzima ácido graxo sintetase foi medida seguindo a diminuição na absorbância a 340 nm resultante da oxidação de NADPH dependente da adição de malonil-CoA, resistrada durante 3 minutos, a 25°C em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). Cada reação contem 0,1 M de fosfato de potássio, 0,025 mM de acetil-CoA, 0,18 mM de NADPH, 3 mM de EDTA, 24 mg de albumina e malonil-CoA 0.2 mM. A reação foi iniciada pela adição do substrato da enzima. (Goodridge A. JBC 1972, 247:6946-52). Os resultados foram expressos como  $\mu$ mol/min/mg prot.

#### 4.8.5 Avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico

Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de BUEGE e AUST (BUEGE; AUST, 1978), sendo uma técnica muito utilizada para avaliar a lipoperoxidação, pois o ácido tiobarbitúrico reage com os produtos da LPO, entre eles o malondialdeído e

outros aldeídos. Adicionou-se a uma alíquota (300  $\mu$ g proteína) do homogeneizado ao ácido tricloroacético (TCA) a 30%, o material foi centrifugado a 1180g por 10 minutos, o sobrenadante retirado e adicionado ao ácido tiobarbitúrico a 0.73% que reage com os produtos da lipoperoxidação formando um composto de coloração rosada. A mistura foi incubada por 15 minutos a 100°C e em seguida resfriada, utilizada para a leitura da absorbância a 535nm em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA), utilizando cubetas de quartzo. Os resultados foram expressos em mMol/mg de proteína.

#### *4.8.6 Avaliação da atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD)*

A determinação da atividade de SOD foi feita de acordo com MISRA e FRIDOVICH (MISRA; FRIDOVICH, 1972). Homogenato de fígado (100  $\mu$ g de proteína) foi incubado no tampão carbonato de sódio (0,05 %, pH 10.2, 0.1 mM de EDTA) em banho-maria a 37°C, antes da avaliação da atividade enzimática. A reação teve início pela adição de 20  $\mu$ M de epinefrina (150 mM), em ácido acético (0.05 %). A absorbância foi lida a 480nm por 3 min em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de proteína requerida para inibir a auto-oxidação de 1  $\mu$ mol de epinefrina por minuto.

#### *4.8.7 Avaliação da atividade enzimática da Catalase*

A atividade da catalase foi monitorada de acordo com AEBI. O princípio do ensaio é baseado na determinação da constante k de decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que nas nossas condições de temperatura e pH foi definido como  $4.6 \times 10^7$ . Assim, 0,3M de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi adicionado a amostra (100  $\mu$ g de proteína), seguido de adição do tampão fosfato 50mM, pH 7.0 a 20°C, a absorção de decaimento foi monitorizada por 4 min a 240nm em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína (AEBI, 1984). Uma unidade de catalase foi definida como quantidade de proteína requerida para converter 1  $\mu$ mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O por minuto.

#### *4.8.8 Avaliação da atividade enzimática Glutathione Peroxidase (GPx)*

As amostras foram previamente preparadas, adicionando-se uma mistura de cianetos para inibir a atividade pseudo-peroxidase da hemoglobina, transformando-a em

cianometaemoglobina. A atividade da glutathione peroxidase (GPx) foi monitorada pela diminuição de absorbância do NADPH a 340 nm, em um meio contendo: tampão fosfato (50mM) e EDTA (5mM), NADPH (0.28mM), Azida sódica (3.75mM), GSH (5mM) e Glutathione redutase (GR). A reação começou com 2.2mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A absorbância foi registrada por um período de 3 minutos, a 37°C, em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). O consumo de NADPH foi monitorado por aproximadamente 5 minutos, com os resultados expressos em U/mg de proteína. Uma unidade de GPx foi definida como quantidade de proteína requerida para oxidar 1μmol de NADPH por minuto (PAGLIA, 1967).

#### 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média±epm (erro padrão da média). Para comparação entre os grupos Controle (C) e grupo Hiperlipídico (HL) foi utilizado o teste “t” de *Student* e para dados não paramétricos foi utilizado o teste de *Mann - Whitney*. O nível de significância foi considerado quando  $p < 0,05$ . Para as correlações entre os tecidos adiposos e parâmetros bioquímicos foi utilizado o teste de *Correlação de Pearson*, os valores foram expressos em coeficiente de correlação e nível de significância considerado quando  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ARTIGO ORIGINAL

#### **HYPERLIPIDIC DIET RICH IN SATURATED FATTY ACIDS AND THEIR MORPHOLOGICAL, CARDIOMETABOLIC AND BIOCHEMICAL EFFECTS IN RODENTS**

Taís Helena Gouveia Rodrigues<sup>1</sup>

Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima<sup>2</sup>

Mariana Pinheiro Fernandes<sup>3</sup>

Almir Gonçalves Wanderley<sup>4</sup>

João Henrique da Costa Silva<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Master student in Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity - UFPE Vitória de Santo Antão / Pernambuco - Brazil  
taishgrodrigues@gmail.com / (81) 99808-1358

<sup>2</sup> Master student in Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity - UFPE Vitória de Santo Antão / Pernambuco - Brazil  
taishgrodrigues@gmail.com / (81) 99808-1358

<sup>3</sup> PhD in Medical Pathophysiology by the State University of Campinas - UNIFESP  
Adjunct Professor IV of the Physical Education and Sports Sciences Center - UFPE Vitória de Santo Antão / Pernambuco - Brazil  
marianapfernandes@yahoo.com.br/ (81) 99948-2243

<sup>4</sup> PhD in Pharmacology from the Federal University of São Paulo - UNIFESP Full Professor,  
Department of Physiology and Pharmacology - UFPE  
Recife / Pernambuco - Brazil almir.wanderley@gmail.com / (81) 99948-2243

<sup>5</sup> PhD in Physiology from the University of São Paulo - USP  
Adjunct Professor IV of the Physical Education and Sports Sciences Center - UFPE Vitória de Santo Antão / Pernambuco - Brazil  
joaohenriq@hotmail.com / (81) 98155-9171

<sup>1</sup> Federal University of Pernambuco, Academic Center of Vitória, Laboratory of Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity. R. Alto do Reservatório, s / n., Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

Article based on the dissertation of THG RODRIGUES, entitled “Evaluation of the effects of a diet rich in saturated fatty acids on body composition, lipid metabolism and blood pressure in rats”. Federal University of Pernambuco; 2020.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of a high-fat saturated fatty acid diet on lipid and adipose tissue metabolism and cardio-metabolic parameters of male Wistar rats. During gestation and lactation virgin rats received standard laboratory diet. After weaning, the pups were divided into two groups, according to the diet: balanced normolipid diet (Control - C group) and hyperlipidic diet rich in saturated fatty acids (Hyperlipidic group - HL). Murinometric measurements, biochemical analyzes, assessment of blood pressure and heart rate, analysis of total adipose tissue composition and oxidative stress were performed. Results were expressed as mean  $\pm$  epm, with significance level  $p < 0.05$ . No differences were observed between groups regarding body composition, biochemical parameters, blood pressure and heart rate and fat distribution. However, the HL group showed higher abdominal circumference at 30 days of life, a tendency to a state of oxidative stress, greater synthesis and less fatty acid oxidation. Ingestion of the reproduced diet rich in saturated fatty acids up to 90 days proved to be a potent carrier of obesity-related metabolic changes.

Keywords: Saturated fat, Adipose tissue, Metabolic changes, Oxidative stress.

## INTRODUCTION

From the second half of the 20th century around the world, demographic, socioeconomic and epidemiological changes were evidenced, closely related to the nutritional transition. This transition is mainly characterized by changes in eating habits (higher consumption of processed and ultra-processed foods, mainly rich in saturated fats) and physical inactivity <sup>[1]</sup>, <sup>[2]</sup>.

In Brazil, according to a recent report by the Brazilian Institute of Geography and Statistics, they showed that Brazilian families consume foods with a high fat content in their diet <sup>[3]</sup>, this eating pattern is called “western diet”, particularly prevalent in developed / underdeveloped countries <sup>[4]</sup>, <sup>[5]</sup>. This fact is capable of promoting a significant increase in weight and especially visceral adipose tissue, strongly associated in worldwide research with cardiometabolic complications <sup>[6]</sup>, <sup>[7]</sup>.

Currently, studies carried out in rodents have observed that the high-fat diet, regardless of the composition of fatty acids, has an increase in systemic blood pressure <sup>[8]</sup>, weight gain,

changes in key agents of lipid metabolism <sup>[9]</sup>, deregulation of the redox state <sup>[10]</sup>, among other changes.

In humans, there is evidence that high fat consumption compromises the lipid profile <sup>[11]</sup>, dyslipidemia <sup>[12]</sup> and accumulation of visceral adipose tissue, especially the epididymal one <sup>[13]</sup>. Boden *et al.* suggest that the consumption of a high-fat diet results in oxidative stress in the abdominal adipose tissue, resulting in insulin resistance, strongly associated with the development of obesity, hypertension and dyslipidemia <sup>[14]</sup>.

However, many of these studies cited here underestimate or overestimate the values of lipids in the diet that go far beyond the actual consumption of the Brazilian and world population or do not describe well what the lipid composition of the diet is. Thus, our research group has been working incessantly to unravel the effects of a high-fat diet rich in saturated fatty acids.

## METHODS

This work was approved by the Ethics Committee for Animal Use (CEUA-UFPE), under protocol n° 23076.046459 / 2018-17 and followed the norms and standards for handling good practices in the handling of laboratory animals.

Primiparous albino rats of the Wistar strain weighing more than 200g 90 days old from the vivarium of the Academic Center of Vitória (CAV / UFPE). The rats were mated with 3: 1 fertile male rats and after confirmation of pregnancy, with the observation of the presence of sperm in the vaginal smear, they were then transferred to individual cages and kept at an ambient temperature of  $22 \pm 1$  ° C with a controlled chiaroscuro cycle (between 6:00 pm and 6:00 am), being offered a standard laboratory diet until the end of lactation. After the birth of the puppies, the offspring was reduced to eight male puppies per rat and at 21 days were divided into groups according to the experimental diet.

The control diet was prepared according to the guidelines of the American Institute of Nutrition <sup>[15]</sup> and the high fat diet prepared as described by Ferro-Cavalcante *et al.* <sup>[16]</sup>, with adaptations. The macronutrient composition of the diets will be arranged as follows (in g / 100g): Control (18.6% lipids [17.32% saturated fatty acids, 29.93% monounsaturated and 52.76% polyunsaturated] 20.2 % protein, 61% carbohydrates; energy density of 3.69kcal / 100g) and hyperlipidic (31% lipids [29.59% saturated fatty acids, 34.77% monounsaturated and 35.64% polyunsaturated] 20% proteins, and 49% carbohydrates; energy density of 4.46kcal / 100g).

The animals' body mass was monitored daily until weaning at 21 days of age, then every 10 days until 90 days of age <sup>[17]</sup>. Weight gain was measured from the delta of body weight for the periods from 21 to 30 days of life and from 30 to 90 days of life. The abdominal circumference, caudal length and naso-anal length (here considered body size - CT) of the pups were measured weekly, from birth to the 90th day of life <sup>[18]</sup>. The feeding efficiency of the animals was calculated according to the formula described by Novelli *et al.* <sup>[19]</sup> in the periods from 22nd to 30th and 31st to 90th day of life.

The analysis of biochemical parameters was performed from the serum, collected via the caudal vein of animals anesthetized by ketamine (80 mg / kg ip) and xylazine (10 mg / kg ip) after a 6-hour fast at 21, 30 and 90 days of life. Serum albumin content, total proteins, total cholesterol, triglycerides (TG) and glucose were analyzed using their respective standard laboratory kits (Labtest Diagnostico AS, MG, Brazil). From the dosage of triglycerides, the value of VLDL-cholesterol was obtained by the formula of Friedewald = TG / 5 <sup>[20]</sup>.

Blood pressure was recorded at 89 days of life, 24 hours after the surgical procedure, so that the animals recover from anesthesia. The recording of mean arterial pressure, systolic, diastolic and heart rate (HR) were performed by connecting the femoral artery cannula to a mechanical pressure transducer and a signal amplifier (ML866 / P, ADInstruments, Power Lab, Bella Vista, NSW, Australia) <sup>[17]</sup>.

At 90 days the animals were anesthetized for sacrifice and to perform the collection and weighing of adipose tissue (epididymal, retroperitoneal, mesenteric and subcutaneous). The amount of total fat was measured by the sum of the collected adipose tissues and the adiposity index was calculated using the following formula: Adiposity index (%) = (total body fat / body mass) x 100 <sup>[21]</sup>.

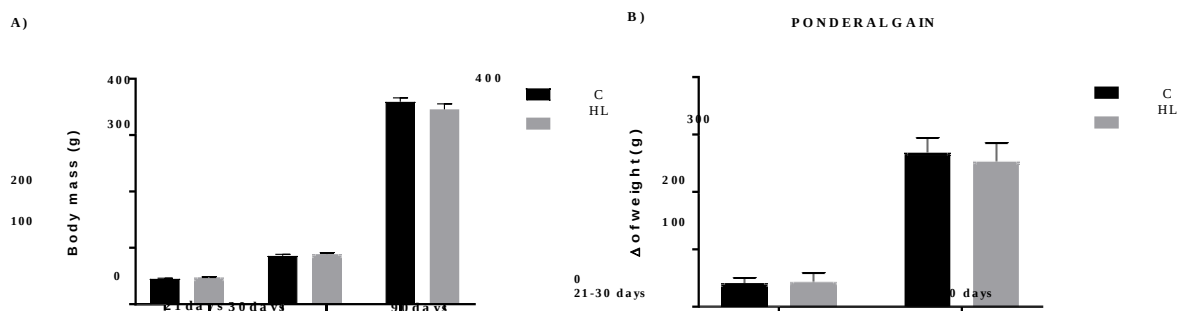
To evaluate the activity of the main lipid metabolism enzymes, antioxidant enzymes and biomarkers of oxidative stress, epididymal adipose tissue homogenate was prepared in an extraction buffer followed by protein quantification <sup>[22]</sup>. The enzymatic analysis of  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase ( $\beta$ -HAD) was determined according to Ito <sup>[23]</sup> and the fatty acid synthase (FAS) was measured following the decrease in absorbance at 340 nm resulting from the oxidation of NADPH dependent on the addition of malonyl -CoA, resisted for 3 minutes, at 25 ° C in a FLUOstar Omega spectrofluorimeter (BMG Labtech, USA). The assessment of lipid peroxidation levels <sup>[24]</sup>, antioxidant enzymes SOD <sup>[25]</sup>, catalase<sup>[26]</sup> and GPx <sup>[27]</sup> followed the previously described methodologies.

The results were expressed as mean  $\pm$  epm (standard error of the mean). For comparison between the Control groups (C) and the Hyperlipidic group (HL), the Student's "t" test was

used and the Mann - Whitney test was used for non-parametric data. The level of significance was considered when  $p < 0.05$ .

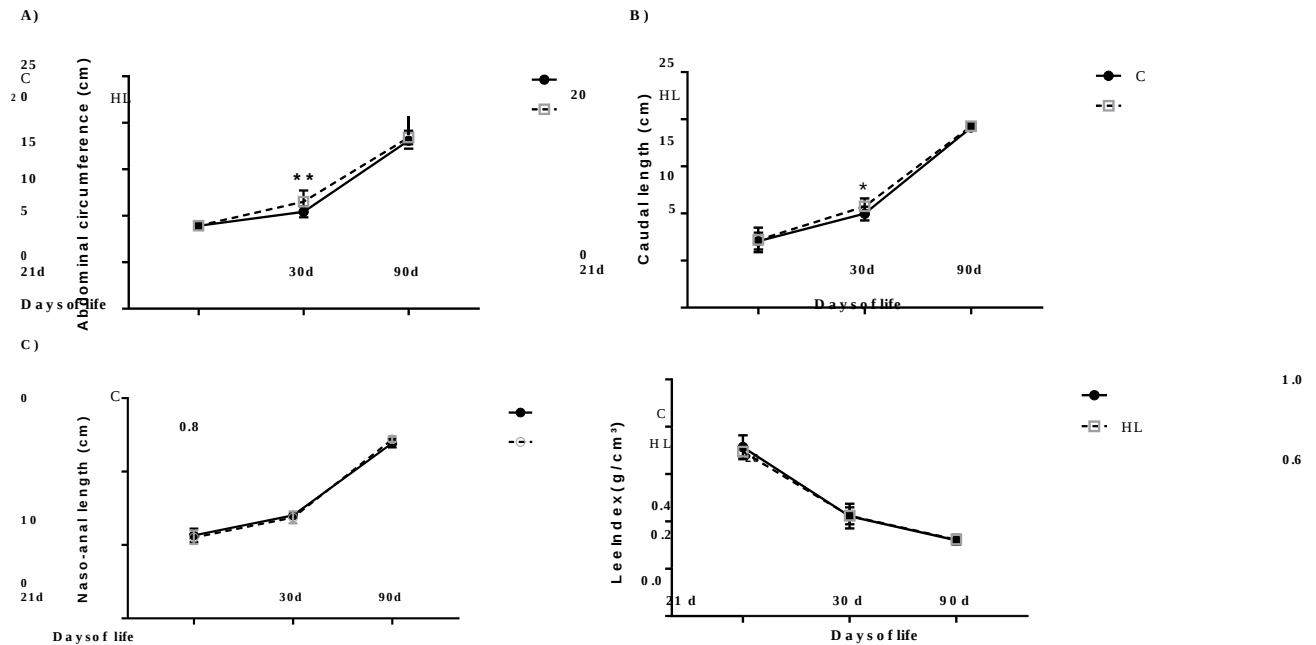
## RESULTS

In Figure 1A and 1B, the body mass and weight delta of both groups became equivalent over the course of growth with no significant difference.



**Figure 1. Weight gain in the 21st, 30th and 90th days of life of male Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.** In (A) body mass in grams and (B) weight delta in grams. The bars in black represent the Control group (C) and the ashes the Hyperlipidic group rich in saturated fatty acids (HL). The graphs were expressed as mean  $\pm$  SEM after the unpaired Student t-test considering significance level of  $p < 0.05$  (\* $p < 0.05$ ) ( $n = 14-26$ ).

As for the assessment of somatic growth (Figures 2A and 2B), it is noted that at 30 days of life, the hyperlipidic group had a higher abdominal circumference ( $C = 10.43 \pm 0.16$ ;  $HL = 11.54 \pm 0.37$ ,  $p < 0.0099$ ) and flow length ( $C = 9.98 \pm 0.20$ ;  $HL = 10.77 \pm 0.26$ ,  $p < 0.0289$ ) but with no difference in the other ages. There was no difference in any of the ages for naso-anal length as seen in Figures 2C and 2D.



**Figure 2. Somatic growth in the 21st, 30th and 90th days of life of male Wistar rats submitted to the Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.** In (A) abdominal circumference, (B) caudal length, (C) naso-anal length and (D) Lee's index. The solid black lines with filled circles represent the Control group (C) and the dotted lines with empty squares in gray the group Hyperlipidic rich in saturated fatty acids (HL). The graphs were expressed as mean  $\pm$  SEM after applying the unpaired Student's "t" test considering the significance level of  $p < 0.05$  (\*  $p < 0.05$ ) ( $n = 5 - 12$ ).

Table 1 shows the food consumption verified at the ages of 22 to 30 days of life, from 51 to 60 days and 81 to 90 days of life. In the period of 22 to 30 days, the animals of the HL group had a lower total consumption in grams, calories and carbohydrates when compared to the control group, except for the consumption of proteins. The consumption of lipids was higher in the HL group in the period of 22-30 days of life, due to the composition of the high-fat diet rich in saturated fatty acids, remaining higher in the following periods. The FEC showed a statistical difference only in the initial period (22-30 days of life). The animals in the HL group remained consuming less carbohydrates and more lipids in the periods of 51-60 days and 81-90 days of life.

Table 1. Food consumption in grams, calories and macronutrients and coefficient of food efficiency in the periods of 22-30, 51-60 and 81-90 days of life of male Wistar rats submitted to diets Control and Hyperlipidemia rich in saturated fatty acids.

| <i>Parameters of Food Consumption</i> | <i>22-30 days</i> |               | <i>51-60 days</i> |              | <i>81-90 days</i> |              |
|---------------------------------------|-------------------|---------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
|                                       | <i>C</i>          | <i>HL</i>     | <i>C</i>          | <i>HL</i>    | <i>C</i>          | <i>HL</i>    |
| <b>Total consumption (g)</b>          | 84.3 ± 3,7        | 63,2 ± 5,02*  | 183,7 ± 6,6       | 169,4 ± 7,9  | 191,3 ± 11,3      | 183,4 ± 8,3  |
| <b>Calories (Kcal)</b>                | 311 ± 12,1        | 281,9 ± 23,5* | 678 ± 24,3        | 755,6 ± 35,4 | 705,7 ± 41,9      | 818 ± 37,1   |
| <b>Proteins (g)</b>                   | 15, 6 ± 0,6       | 14,2 ± 1,1    | 34,2 ± 1,2        | 38,1 ± 1,7   | 35,5 ± 2,1        | 41,2 ± 1,8   |
| <b>Carbohydrates (g)</b>              | 57,8 ± 2,2        | 34,5 ± 2,8*   | 126,1 ± 4,5       | 92,6 ± 4,3*  | 131,2 ± 7,7       | 100,3 ± 4,5* |
| <b>Lipids (g)</b>                     | 5,1 ± 0,2         | 9, 6 ± 0,8*   | 11,2 ± 0,4        | 25,9 ± 1,2*  | 11,6 ± 0,6        | 28,1 ± 1,2*  |
| <b>FEC (g diet / kg body weight)</b>  | 0,58 ± 0,02       | 0,71 ± 0,01*  | 0,41 ± 0,02       | 0,37 ± 0,01  | 0,14 ± 0,01       | 0,17 ± 0,01  |

FEC - Food efficiency coefficient; C - Control Group; HL - Hyperlipidic group rich in saturated fatty acids. The results were expressed as mean ± SEM after the unpaired Student t test considering significance level of  $p < 0.05$  (\*  $p < 0.05$ ) (n = 3 - 12).

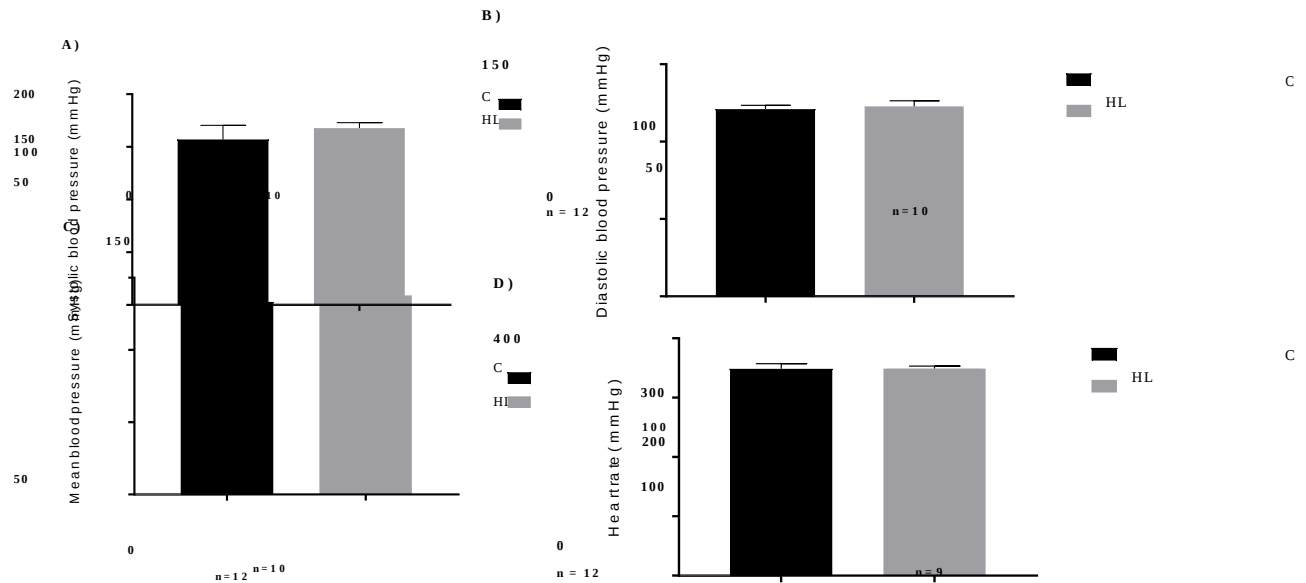
There was no statistical difference between the groups regarding the biochemical analysis of total proteins, albumin, glucose, total cholesterol, VLDL and triglycerides at any age, as shown in Table 2.

Table 2. Biochemical parameters in the 21st, 30th and 90th days of life of male Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.

| <i>Biochemical Parameters</i> | <i>21 days</i> |              | <i>30 days</i> |              | <i>90 days</i> |              |
|-------------------------------|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
|                               | <i>C</i>       | <i>HL</i>    | <i>C</i>       | <i>HL</i>    | <i>C</i>       | <i>HL</i>    |
| <b>PTN total (g/dL)</b>       | 5,4 ± 0,2      | 5,9 ± 0,2    | 4,7 ± 0,1      | 4,9 ± 0,1    | 6,2 ± 0,1      | 6,04 ± 0,1   |
| <b>Albumin (g/dL)</b>         | 3,1 ± 0,1      | 2,9 ± 0,2    | 4,1 ± 0,03     | 4,2 ± 0,05   | 4,2 ± 0,1      | 4,2 ± 0,1    |
| <b>Glucose (mg/dL)</b>        | 111,8 ± 6,3    | 108 ± 5,6    | 107,4 ± 6,0    | 113,1 ± 7,4  | 136,9 ± 9,1    | 136,7 ± 10,9 |
| <b>Cholesterol (mg/dL)</b>    | 107 ± 6,9      | 101,3 ± 7,5  | 88,2 ± 8,2     | 94,5 ± 7,8   | 86,5 ± 5,3     | 88,3 ± 2,8   |
| <b>VLDL (mg/dL)</b>           | 25,9 ± 2,6     | 27,6 ± 2,7   | 45,9 ± 3,9     | 34,5 ± 4,7   | 26,3 ± 2,06    | 23,8 ± 1,4   |
| <b>TG (mg/dL)</b>             | 135,1 ± 12,5   | 130,4 ± 12,0 | 211,5 ± 20,8   | 197,4 ± 30,5 | 131,5 ± 10,2   | 113,6 ± 7,3  |

PTN - proteins; VLDL - very low density lipoprotein; TG - triglycerides. The results were expressed as mean ± SEM after the unpaired Student t test considering significance level of  $p < 0.05$  (\*  $p < 0.05$ ) (n = 13 - 23).

As well as at 90 days, the animals did not show differences in the values of systolic and diastolic blood pressure (Figure 3A and 3B), mean arterial pressure (Figure 3C) and heart rate (Figure 3D); The hyperlipidic diet did not promote a greater accumulation in grams of adipose tissue and body adiposity index (Table 3).



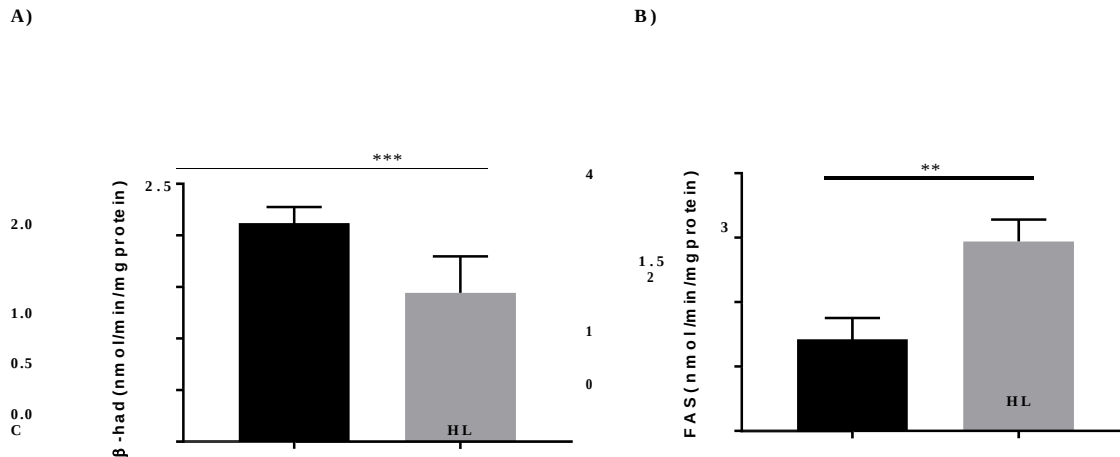
**Figure 3. Pressure levels at 90 days of Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.** In (A) SBP - systolic blood pressure, (B) DBP - diastolic blood pressure, (C) MAP - mean arterial pressure and (D) FC - heart rate. The bars in black represent the Control group (C) and the ashes the Hyperlipid group rich in saturated fatty acids (HL). The graphs were expressed as mean  $\pm$  SEM after the unpaired Student t test using significance level of  $p < 0.05$  (\*  $p < 0.05$ ) (n = 9 - 12).

**Table 3. Absolute (g) and relative (g / 100g) mass of adipose tissues and body adiposity index (%) at 90 days of Wistar rats submitted to Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.**

| Variable     | Groups            |                         | p value |
|--------------|-------------------|-------------------------|---------|
|              | Control Group (C) | Hyperlipidic Group (HL) |         |
| MAT (g)      | 4,63 $\pm$ 0,28   | 5,17 $\pm$ 0,49         | 0,33    |
| MAT (g/100g) | 1,25 $\pm$ 0,83   | 1,42 $\pm$ 0,09         | 0,19    |
| EAT (g)      | 4,81 $\pm$ 0,31   | 5,69 $\pm$ 0,64         | 0,19    |
| EAT (g/100g) | 1,34 $\pm$ 0,10   | 1,56 $\pm$ 0,13         | 0,22    |
| RAT (g)      | 6,73 $\pm$ 0,63   | 7,05 $\pm$ 0,78         | 0,74    |
| RAT (g/100g) | 1,82 $\pm$ 0,17   | 1,93 $\pm$ 0,16         | 0,64    |
| SAT (g)      | 4,05 $\pm$ 0,32   | 4,64 $\pm$ 0,53         | 0,33    |
| SAT (g/100g) | 1,10 $\pm$ 0,10   | 1,27 $\pm$ 0,11         | 0,26    |
| TAT (g)      | 20,40 $\pm$ 1,43  | 22,58 $\pm$ 2,27        | 0,41    |

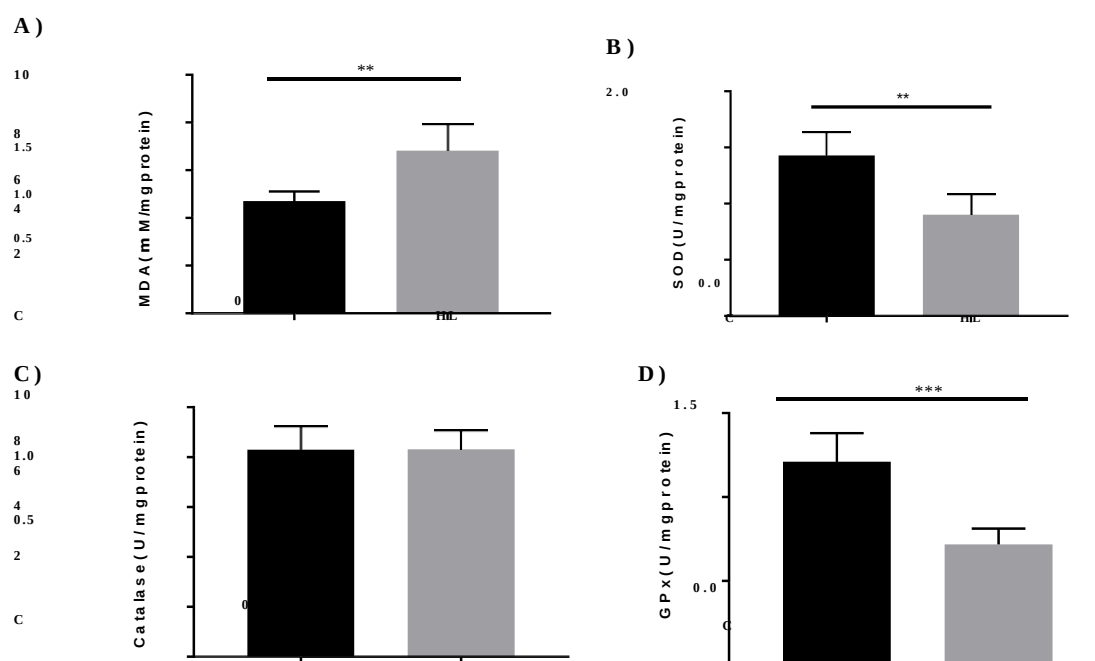
| Adiposity index (%)                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 5,53 ± 0,42 | 6,20 ± 0,44 | 0,28 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|------|
| MAT - mesenteric adipose tissue; EAT - epididymal adipose tissue; RAT - retroperitoneal adipose tissue; SAT - subcutaneous adipose tissue; TAT - total adipose tissue. The results were expressed as mean ± SEM after the unpaired Student t test considering a significance level of p <0.05 (* p <0.05) (n = 10 - 12). |             |             |      |

With regard to lipid metabolism, the group of animals fed a high-fat diet showed less oxidation capacity and greater fatty acid synthesis when compared to the Control group (Figure 4).



**Figure 4. Activity of lipid metabolism enzymes in epididymal adipose tissue at 90 days of Wistar rats submitted to the Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.** In (A) Enzyme  $\beta$ -HAD -  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and in (B) Enzyme FAS. The black bars represent the Control group (C) and the ashes the Hyperlipidic group rich in saturated fatty acids (HL). The graphs were expressed as mean  $\pm$  SEM after applying the unpaired Student's "t" test considering the significance level of p <0.05 (\* p <0.05) (n = 6 - 7).

The HL group had higher levels of MDA than the Control group. Regarding the antioxidant system (Figure 5), there was no difference regarding the activity of catalase between the groups, however, the HL group showed less activity of SOD and GPx.



**Figure 5. Antioxidant enzymes activity and oxidative stress biomarkers in epididymal adipose tissue at 90 days of Wistar rats submitted to the Control and Hyperlipidic diets rich in saturated fatty acids.** In (A) MDA - Malondialdehyde, in (B) SOD - Superoxide dismutase, in (C) Catalase and in (D) GPx - Glutathione peroxidase. The black bars represent the Control group (C) and the ashes the Hyperlipidic group rich in saturated fatty acids (HL). The graphs were expressed as mean  $\pm$  SEM after applying the unpaired Student's "t" test considering the significance level of  $p < 0.05$  (\*  $p < 0.05$ ) ( $n = 6 - 7$ ).

## DISCUSSION

Studies on the physiological and metabolic consequences of exacerbated fat consumption early and during life often use Westernized diets [16], [28], [29], [30] to try to replicate real human consumption. However, the quality of the food used and the proportion of macronutrients vary widely according to the experimental model, with diets produced with a very high intake of fats (without discriminating their chemical structure) and protein deficits [9].

The present study reproduced the experimental diet of Ferro-Cavalcanti [16] and offered it to male rats in the post-weaning period, where the protein content was adapted to the normal growth of rats, and the amount of ingredients was modified in order to change the proportion of lipids to resemble a human diet typically known as the Western diet. Thus, monosodium

glutamate was used because it is a substance used in experimental diets to induce obesity <sup>[31]</sup>, <sup>[32]</sup>. Lard was the main lipid source, since it represents the most used ingredient for the composition of high-fat diets in other studies <sup>[33]</sup>, <sup>[34]</sup>, <sup>[35]</sup>.

In addition to lard, the lipid composition of the diet was added to margarine, which, despite having a lower saturated fatty acid profile than that of butter <sup>[36]</sup>, is produced using the interesterification method <sup>[37]</sup>. This process is the subject of several studies on the deleterious effect of fats obtained from it, since the formation of isomers with AGS (mainly palmitic acid) occurs in the central position of the triacylglycerol molecule (sn-2) allows greater absorption of these lipids by the body <sup>[38]</sup>. Exaggerated consumption promotes an increase in atherogenic potential in animal experimentation <sup>[39]</sup>, <sup>[40]</sup>.

Just as excessive fat accumulation is a common feature in rats fed more palatable diets (rich in fatty acids), so is hyperphagia <sup>[41]</sup>, <sup>[42]</sup>. Approximately 12 weeks consuming a high-fat diet rich in saturated fatty acids, the animals did not show weight gain, fat accumulation and adiposity index. These results differ from those performed by Bortolin and collaborators, in which a diet based on the human western diet (42% of lipids) was designed and compared to a hyperlipidic diet with 60% of lipids commonly used to induce obesity in rodent models, using as ingredients main to compose the lipid profile of lard and soy oil. After 18 weeks, the rats fed on these diets showed completely different phenotypes, revealing that the Western diet more effectively induced obesity and obesity-related disorders <sup>[43]</sup>.

Sampey and colleagues showed that rodents fed a high-fat diet gained weight similar to the group fed with control diet (similar to the control group in this study), but gained more weight than rats fed standard laboratory ration, pointing out the importance of diet selection used as a parameter <sup>[44]</sup>.

It is observed that in the initial period of experimentation there is a reduction in food consumption expressed in grams and calories of animals fed a high-fat diet, and this seems to be related to the increase in the amount of energy present in this type of diet (4.46kcal / g), when compared to the Control diet (3.69kcal / g). Diets with a high fat content reduce feed efficiency and increase metabolic efficiency <sup>[41]</sup>, <sup>[45]</sup>, which may explain that the control of the weight of our animals occurred independently of food consumption.

It is known that the consumption of high-fat diets in the long term can promote lipid overload, an important factor to be considered in the changes that occur in serum metabolism <sup>[46]</sup>. When consuming excess lipids in a meal, especially saturated fat, the body is faced with excess triacylglycerols (TG) and their removal becomes inefficient, resulting in a postprandial lipemia state <sup>[47]</sup>, which is associated with diseases cardiovascular diseases <sup>[9]</sup>, <sup>[48]</sup>.

In this study, there was no statistical difference between any of the serum values of both groups, and the time of exposure to the diet or the composition of saturated fatty acids was insufficient to promote some type of serum overload, especially in relation to the lipid profile, an end that has already been found in other studies <sup>[49], [50]</sup>; or there has been a disorderly accumulation of lipids in the cells of adipose tissue characterizing a condition called lipotoxicity or chronic low-grade inflammation, which starts locally until it becomes systemic and worsens the metabolic state of the adipocyte <sup>[51]</sup>.

An association of these results can occur when observing the activity of key enzymes of lipid metabolism, which showed that there was greater oxidation capacity and less synthesis in animals fed a diet rich in saturated fatty acids. Excessive consumption of saturated fat is able to generate changes in lipid metabolism with a homeostatic imbalance due to its ability to increase the expression of inflammatory pathways, decrease the expression of anti-inflammatory pathways, alter the permeability of the cell membrane and increase expression inflammatory cytokines and oxidative stress <sup>[52]</sup>.

When evaluating the parameters of oxidative stress in the epididymal adipose tissue, it was found that the consumption of a higher content of saturated fatty acids increased the levels of MDA, which correlates positively with visceral fat because it is a predictor of lipid peroxidation <sup>[53]</sup>, in addition to being an indicator of cell damage by the increase in reactive oxygen species (EROS) <sup>[54]</sup>. In addition, the hyperlipidic diet impaired the antioxidant capacity by reducing the activity of the enzymes SOD and GPx, and these results may indicate a greater induction of oxidative stress in visceral adipose tissue.

Inadequate food is the main cause of cardiovascular mortality and the low consumption of polyunsaturated fat, replacing saturated fat, increases mortality from ischemic heart disease, as shown by recent research conducted in Brazil <sup>[55]</sup>. However, in this study there is no difference between the groups regarding blood pressure values, however, regardless of the diet composition of the control and hyperlipidic groups rich in saturated fatty acids, the SBP remained higher when compared with data presented by Carvalho and collaborators (119.5  $\pm$  3 mmHg), while DBP and HR remained within the values recommended by the literature <sup>[56], [57]</sup>.

## CONCLUSION

In this study, note which diet model rich in saturated fat does not cause morphological changes during the animals' 90 days of life. However, the increase in lipid peroxidation and

reduction in the activity of antioxidant enzymes led to believe that a hyperlipidic diet is related to a greater induction of oxidative stress that rapidly amplifies the inflammatory process caused by visceral adipose tissue. This local inflammatory response promotes long-term or increased exposure of adipokines with an inflammatory action that plays a crucial role in triggering peripheral insulin resistance triggered by other obesity-related comorbidities.

Although the deleterious effect of saturated fatty acids has already been elucidated, the main result of this research is the increased consumption of these fats has many effects, depending on the type of their composition, the time of exposure and the food source. Our scientific findings may be the first step in the sequence of adaptive responses to a high-fat diet, directly or indirectly, followed by other metabolic changes.

#### Conflict of Interest

None of the authors have any conflict of interest to report.

#### Statement of authorship

RODRIGUES THG, COSTA-SILVA JH and WANDERLEY AG contributed to a design and study design, analysis and interpretation of data. RODRIGUES THG contributed to the preparation and writing of the manuscript.

#### Funding sources

This work was supported by the Foundation of Support in Science and Technology of the State of Pernambuco - FACEPE.

#### REFERENCES

1. Popkin BM, Gordon LP. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *Int J Obes Relat Metab Disord*. Califónia, 2004; 28 (3), 2-9. DOI: 10.1038/sj.ijo.0802804
2. Batista Filho MF, Batista LV. Transição alimentar/ nutricional ou mutação antropológica? *Cienc. Cult.* [Internet]. São Paulo, 2010; 62(4): 26-30. Available from: [http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0009-67252010000400010&lng=en](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252010000400010&lng=en).
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009, 2011. Acesso em: 21 mar. 2019. Disponível em: <<http://www>.

ibge.gov.br/home/xml/pof\_2008\_2009.shtm.>

4. Popkin BM. The nutrition transition and obesity in the developing world. *J. Nutr.* Oxford, 2001. Mar;131(3):871S-873S. DOI: 10.1093/jn/131.3.871S
5. Ferreira VAMR. Obesidade no Brasil: Tendências atuais. *Rev. portuguesa de Saúde Pública.* Porto, 2006; 13 (2): 234-41.
6. Marchi-Alves LM, Nogueira MS, Mendes IAC, Godoy S. Leptina, hipertensão arterial e obesidade: importância das ações de enfermagem. *Acta paul. enferm.* [online]. São Paulo, 2010, vol.23, n.2, pp.286-290. ISSN 0103-2100. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-21002010000200021>.
7. Oliveira RP, Remor JM, Matsuo AR, Dada RP, Mendes AA, Santos TLC *et al.* Índice de adiposidade visceral como preditor de risco cardiometabólico em crianças e adolescentes. *Rev Bras Med Esporte* [Internet]. São Paulo, 2017; 23(3): 222-226. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-86922017000300222&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922017000300222&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/1517-869220172303172626>.
8. Mayyas F, Alzoubi KH, Al-Taleb Z. An evaluation of the effect of pentoxifylline on blood pressure and myocardial oxidative status following intake of western diet. *Clin Exp Hypertens.* Londres, 2015;37(8):666-73. doi: 10.3109/10641963.2015.1047944.
9. Ferron AJT, Francisqueti FV, Minatel IO, Silva CCVA, Bazan SGZ, Kitawara KAH *et al.* Association between Cardiac Remodeling and Metabolic Alteration in an Experimental Model of Obesity Induced by Western Diet. *Maryland*, 2018;10(11). pii: E1675. doi: 10.3390/nu10111675.
10. Khaki KF, Yaghoubi A, Zarghami N, Rahbani M, Babaie H. Evaluation of hs-CRP, antioxidant markers and MDA in patients of coronary artery disease (CAD) containing nonsmokers and non-diabetics. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*, Tabriz, 2011; 2 (4): 13–18.
11. Ferré P, Fougelle F. SREBP-1c transcription factor and lipid homeostasis: clinical perspective. *Horm Res.* Paris, 2007;68(2):72-82.
12. Micha R, Mozaffarian D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids.* Chicago, 2010; 45(10):893-905. doi: 10.1007/s11745-010-3393-4.
13. Tchkonina T, Thomou T, Zhu Y, Karagiannides I, Pothoulakis C, Jensen MD *et al.* Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *Cell metabolism*, Cambridge, 2013; 17(5):644-656. doi: 10.1016/j.cmet.2013.03.008.
14. Boden G, Homko C, Barrero CA, Stein TP, Chen X, Cheung P *et al.* Excessive

caloric intake acutely causes oxidative stress, GLUT4 carbonylation, and insulin resistance in healthy men. *Sci. Trans. Med. New York*, 2015; 7(304):304re7. doi: 10.1126/scitranslmed.aac4765.

15. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GCJR. 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. *J Nutr.*, Oxford, 1993; 123(11):1939-51.
16. Ferro Cavalcante TC, Lima da Silva JM, da Marcelino da Silva AA, Muniz GS, da Luz Neto LM, Souza SL, Castro RM *et al.* Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. *Lipids*, Chicago, 2013; 48(11):1157-68. doi: 10.1007/s11745-013-3833-z.
17. Brito Alves JL, Nogueira VO, de Oliveira GB, da Silva GS, Wanderley AG, Leandro CG *et al.* Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. *Br J Nutr*, Oxford, 2014; 111(4):606-15. doi: 10.1017/S0007114513002833.
18. Bayol S, Jones D, Goldspink G, Stickland NC. The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. *British Journal Of Nutrition*, Oxford, 2004; 91(3):331-9.
19. Novelli EL, Souza GA, Ebaid GM, Rocha KK, Seiva FR, Mani F *et al.* Energy expenditure and oxygen consumption as novel biomarkers of obesity-induced cardiac disease in rats. *Obesity* (Silver Spring). Maryland, 2010; 18(9):1754-61. doi: 10.1038/oby.2009.470.
20. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC, Afiune NA, Souza AD *et al.* IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol.* São Paulo, 2007; 88(Suppl 1):2-19. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2007000700002&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007000700002&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2007000700002>.
21. Phillips DIW, Caddy S, Ilic V, Fielding BA, Frayn KN, Borthwick AC, *et al.* Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: Evidence for a relationship in nondiabetic subjects. *Cell Metabolism*. Cambridge, 1996; 40(8): 947-950. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(96\)90260-7](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(96)90260-7).
22. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. New York, 1976; 72 (7):248-54.
23. Ito M, Jaswal JS, Lam VH, Oka T, Zhand L, Beker DL *et al.* High levels of fatty

acids increase contractile function of neonatal rabbit hearts during reperfusion following ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, Bethesda, 2010; 298 (5): 1426-1437.

24. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52:302-10.

25. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* Campinas, 1972; 247(10):3170-5.

26. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol.* Califórnia, 1984; 105: 121-126.

27. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* México, 1967; 70(1):158-69.

28. Armani A, Mammi C, Marzolla V, Calanchini M, Antelmi A, Rosano GM *et al.* Cellular models for understanding adipogenesis, adipose dysfunction, and obesity. *Journal of Cellular Biochemistry*, Londres, 2010; 110(3):564-72. doi: 10.1002/jcb.22598.

29. Baena M, Sanguesa G, Hutter N, Beltrán JM, Sánchez RM, Roglans N *et al.* Liquid fructose in Western-diet-fed mice impairs liver insulin signaling and causes cholesterol and triglycerideload without changing calorie intake and body weight. *J Nutr Biochem.* Londres, 2017; 40:105-115. doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.10.015.

30. Zinöcker MK, Lindseth IA. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients*, Londres, 2018; 10(3). pii: E365. doi: 10.3390/nu10030365.

31. Araújo TR, Freitas IN, Vettorazzi JF, Batista TM, Santos-Silva JC, Bonfleur ML *et al.* Benefits of L-alanine or L-arginine supplementation against adiposity and glucose intolerance in monosodium glutamate-induced obesity. *Eur J Nutr.* Surrey, 2016; 56(6):2069-2080. doi: 10.1007/s00394-016-1245-6.

32. Bautista RJH, Mahmoud AM, Königsberg M, Guerrero NELD. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and antiobesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother.* South Carolina, 2019;111:503-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.108>.

33. Correia-Santos AM, Suzuki A, Vicente GC, Anjos JS, Pereira AD, Lenzi-Almeida KC, *et al.* Effect of maternal use of flaxseed oil during pregnancy and lactation on glucose metabolism and pancreas histomorphometry of male offspring from diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract.* Barcelona, 2014; 106(3):634-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2014.09.022>.

34. Correia-Santos AM, Vicente GC, Suzuki A, Pereira AD, Anjos JC, Lenzi-Almeida

KC, *et al.* Maternal use of flaxseed oil during pregnancy and lactation prevents morphological alterations in pancreas of female offspring from rat dams with experimental diabetes. *Int J Exp Pathol.* Oxford, 2015; 96(2):94-102. <http://dx.doi.org/10.1111/iep.12126>.

35. Kai M, Miyoshi M, Fujiwara M, Nishiyama Y, Inoue T, Maeshige N, *et al.* A lard-rich high-fat diet increases hepatic peroxisome proliferator-activated receptors in endotoxemic rats. *J Surg Res.* New York, 2017;15(212):22-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2016.11.048>.

36. Llopis M, Sánchez J, Priego T, Palou A, Picó C. Maternal fat supplementation during late pregnancy and lactation influences the development of hepatic steatosis in offspring depending on the fat source. *J Agric Food Chem.* Washington, 2014;62(7):1590-601. <http://dx.doi.org/10.1021/jf405161e>.

37. Adhikari A, Tondkar RH. Environmental Factors Influencing Accounting Disclosure Requirements of Global Stock Exchanges. *Journal of Inter Fianc Manag and Accoun.* Waukesha, 1992; 4(2):75- 105. <https://doi.org/10.1111/j.1467-646X.1992.tb00025.x>.

38. Karupaiah T, Sundram K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. *Nutrition & Metabolism*, Guelph, 2007; 4(1): 16. DOI: 10.1186/1743-7075-4-16.

39. Zhongyang L, Yanchun L, Colleen WB, Lopes-Virella M, Yan H. Cooperative stimulation of atherogenesis by lipopolysaccharide and palmitic acid-rich high fat diet in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Journal Atherosclerosis, México*, j atherosclerosis2017; 265: 231–241. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.09.008.

40. Karbasforush S, Nourazarian A, Darabi M, Rahbarghazi R, Khaki-Khatibi F, Biray Avci Ç *et al.* Docosahexaenoic acid reversed atherosclerotic changes in human endothelial cells induced by palmitic acid in vitro. *Cell Biochem Funct.* Cambridge, 2018; 36(4):203-211. doi: 10.1002/cbf.3332.

41. Berthoud HR, Zheng H. Modulation of taste responsiveness and food preference by obesity and weight loss. *Physiol Behav*, Zurich, 2012; 107: 527–532.

42. Oliveros E, Somers VK, Sochor O, Goel K, Lopez-Jimenez F. The concept of normal weight obesity. *Prog Cardiovasc Dis.* New York, 2014; 56: 426–433.

43. Bortolin R, Vargas A, Gasparotto J, Chaves PR, Schnorr CE. *et al.* A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *Int J Obes.* Londres, 2018; 42, 525–534. doi:10.1038/ijo.2017.225

44. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT *et al.* Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Int J Obes. Londres*, 2011, 19: 1109-1117.
45. Macedo IC, Freitas JS, Silva Torres IL. The influence of palatable diets in reward system activation: a mini review. *Adv Pharmacol Sci, Bethesda*, 2016; 2016: 1–7.
46. Lozano A, Perez-Martinez P, Marin C, Tinahones FJ, Delgado-Lista J, Cruz-Teno C. *et al.* An acute intake of a walnut-enriched meal improves postprandial adiponectin response in healthy young adults. *Nutr Res. New York*, 2013; 33(12):1012-8. doi: 10.1016/j.nutres.2013.08.010.
47. Chan DC, Pang J, Romic G, Watts GF. Postprandial hypertriglyceridemia and cardiovascular disease: current and future therapies. *Curr Atheroscler Rep. Berlim*, 2013; 15(3):309. doi: 10.1007/s11883- 013-0309-9.
48. Katsanos CS. Clinical considerations and mechanistic determinants of postprandial lipemia in older adults. *Adv Nutr. Massachusetts Lowell*, 2014; 5(3): 226-34, 2014. <https://doi.org/10.3945/an.113.004903>
49. Razny U, Wator L, Polus A, Kiec-Wilk B, Yvonne Wan Y. J, Dyduch G, *et al.* Modulatory effect of high saturated fat diet-induced metabolic disturbances on angiogenic response in hepatocyte RXR knockout mice. *Pharmacol Rep. Bethesda*, 2010; 62(6):1078-89.
50. Stranahan AM, Cutler RG, Button C, Telljohann R, Mattson MP. Diet-induced elevations in serum cholesterol are associated with alterations in hippocampal lipid metabolism and increased oxidative stress. *J Neurochem. Aachen*, 2011;118(4):611- 5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471- 4159.2011.07351.x>
51. Wu H, Perrard XD, Wang Q, Perrard JL, Polsani VR, Jones PH. *et al.* CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol. Filadélfia*, 2010; 30(2):186-92. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.198044.
52. Leite BF, Jamar G, Caranti DA. Ácidos graxos e Síndrome Metabólica. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo*, 2014; 39(1): 113-129.
53. Lee SM, Cho YH, Lee SY, Jeong DW, Cho AR, Jeon JS. *et al.* urinary malondialdehyde is associated with visceral abdominal obesity in middle-aged men. *Mediators of Inflammation. Cairo*, 2015; 2015:524291. doi: 10.1155/2015/524291.
54. França, BK, Alves MRM, Souto MS, Tiziane L, Boaventura RF, Guimarães A. *et al.* Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *GE J Port Gastreenterol. Porto*, 2013; 20(5):199-206. <https://doi.org/10.1016/j.jpg.2013.04.002>
55. Hilgenberg FE, Santos ASAC, Silveira EA, Cominetti C. Fatores de risco

cardiovascular e consumo alimentar em cadetes da Academia da Força Aérea Brasileira. Ciênc. saúde coletiva. Rio de Janeiro, 2016; 21(4): 1165-1174.  
<http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232015214.15432015>.

56. Carvalho GD, Masseno APB, Zanini MS, Zanini SF, Porfírio LC, Machado JP, *et al.* Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. Revista CERES, Viçosa, 2009; 56(1):51-57.
57. FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ (FIOCRUZ). Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. Salvador (2005).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A gordura é um nutriente essencial para a manutenção de funções metabólicas do organismo. Representa uma das principais fontes de energia da dieta, compõe a estrutura das membranas celulares, participam do transporte de vitaminas lipossolúveis, da resposta autoimune e compõe a bile. Por outro lado, o excesso na ingestão de gorduras, bem como o tipo de gordura consumida, associados a outros fatores comportamentais representa um fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas tais como as dislipidemias, a obesidade, o diabetes, as doenças cardiovasculares, entre outras.

No presente estudo, sugeriu-se que a ingestão de elevado teor de gorduras saturadas no curto e médio prazo não foi capaz de provocar alterações morfológicas, no entanto, promoveu desequilíbrio no metabolismo lipídico e um estado de estresse oxidativo. É possível que o desbalanço oxidativo e metabólico possa ser gatilho desencadeador na gênese das doenças crônicas supracitadas relacionadas ao consumo de ácidos graxos saturados.

Por fim, pode-se dizer que estudos sobre o consumo de gorduras são relevantes para o conhecimento do perfil de consumo deste nutriente que inclui aspectos quantitativos e qualitativos e que podem auxiliar na construção de evidências que subsidiem ações e estratégias direcionadas à redução da produção e do consumo de alimentos com alto teor de gorduras.

## REFERÊNCIAS

- ARKAN, M. C. *et al.* IKK-[beta] links inflammation to obesity-induced insulin resistance. **Nature medicine**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 191, 2005.
- ARMANI, A. *et al.* Cellular models for understanding adipogenesis, adipose dysfunction, and obesity. **Journal of Cellular Biochemistry**, Cambridge, v. 110, p. 564-572, 2010.
- BAENA, M. *et al.* Liquid fructose in Western-diet-fed mice impairs liver insulin signaling and causes cholesterol and triglyceride loading without changing calorie intake and body weight. **J Nutr Biochem**. Londres, v. 40, p. 105-115, 2017.
- BAKER, D. H. Animal Models in Nutrition Research. **The Journal Of Nutrition**, Rockville, v. 138, p.391-396, 2008.
- BARBOSA, K.B.F. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p:629-643. 2010.
- BARQUISSAU, V. *et al.* Control of adipogenesis by oxylipins, GPCRs and PPARs. **Biochimie**. Londres, v.136, p. 3-11, 2017.
- BARRES, R. *et al.* Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. **Cell Metab**. Cambridge, v. 15, p. 405–411, 2012.
- BARRES, R. *et al.* Weight loss after gastric bypass surgery in human obesity remodels promoter methylation. **Cell Rep**. Cambridge, v. 3, p. 1020–1027, 2013.
- BATISTA FILHO, M. F.; BATISTA, L. V. Transição alimentar/ nutricional ou mutação antropológica? **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 62, p. 26-30, 2010.
- BAYOL, S. *et al.* The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. **British Journal Of Nutrition**, Wallingford, v. 91, p.331-339, 2004.
- BERGER, J. M. The mechanisms of action of PPARs. **Annu. Rev. Med.** Califórnia, v. 53, p. 409–35, 2002.
- BETTERIDGE, D.J. What Is Oxidative Stress? **Metabolism**, Boston, v. 49, n. 2, suppl 1, p.3-8. 2000.
- BEZERRA, I. N. *et al.* Contribution of foods consumed away from home to energy intake in Brazilian urban areas: the 2008– 09 Nationwide Dietary Survey. **J Nutr**. Oxford, v. 31, p. 1–8, 2012.
- BIRBEN, E; SAHINER, U.M; SACKESSEN, C; ERZURUM, S; KALAYCI, O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **WAO Journal**. Filadélfia, v. 5, p. 9-19, 2012.
- BIZEAU, M. E. *et al.* Protein-1c binding the regulatory element of skeletal muscle sterol decreases with food deprivation and increases with feeding in rats. **J Nutr**. Oxford, v. 133, p.

1787- 1792, 2003.

BJÖRNTORP, P. “Portal” adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**. New York, v. 10, p. 493–496, 1990.

BODEN, G.; *et al.* Excessive caloric intake acutely causes oxidative stress, GLUT4 carbonylation, and insulin resistance in healthy men. **Sci. Trans. Med.** New York, v. 9, p. 304, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira**: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Ministério da Saúde , 2006. 210 p. (Série A. Normas e manuais técnicos).

Disponível em: [http:// 189.28.128.100/nutricao/docs/geral/ guia\\_alimentar\\_conteudo.pdf](http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/guia_alimentar_conteudo.pdf). Acesso em: 21 mar. 2019.

BRITO ALVES, J. L. *et al.* Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O(2)/CO(2) chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. **Br J Nutr**, Oxford, v. 111, p. 606-615, 2014.

BUSK, R. M. *et al.* Nutritional genomics in practice: where do we begin? **J Am Diet Assoc.** Cleveland, v. 105, p. 589-98, 2005.

CALDER, P. C.; DECKELBAUM, R. J. Omega-3 fatty acids: time to get the messages right! **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. Bruxellas, v. 11, p. 91-93, 2008.

CASTRO, A. V. B. *et al.* Obesidade, resistência à insulina e comorbidades? Mecanismos de associação. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v.58, p.600-609, 2014.

CERK, I. K.; WECHSELBERGER, L.; OBERER, M. Adipose Triglyceride Lipase Regulation: An Overview. **Curr Protein Pept Sci**. Gainesville, v. 19, p. 221-233, 2018.

CHAN, D. C. Postprandial hypertriglyceridemia and cardiovascular disease: current and future therapies. **Curr Atheroscler Rep**. Berlin, v. 15, p. 309, 2013.

CHEN, L. *et al.* Influence of resveratrol on endoplasmic reticulum stress and expression of adipokines in adipose tissues/adipocytes induced by high-calorie diet or palmitic acid. **Endocrine**, Washington, v. 55, p. 773–785, 2017.

CINTI, S. The adipose organ at a glance. **Disease Models & Mechanisms**, Cambridge, v. 5, p. 588-594, 2012.

COMINETTI, C.; ROGERO, M. M.; HORST, M. A. **Genômica nutricional**: dos fundamentos à nutrição molecular. Barueri, SP: Monole, 2017.

COUTINHO, J. G.; GENTIL, P. C.; TORAL, N. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. **Cad Saude Publica**. Rio de Janeiro, v. 24, p. 332-340, 2008.

CREWE, C.; NA, Y. A.; SCHERER, P. E. The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. **J Clin Invest.** Baltimore, v. 127, p. 74-82, 2017.

CUNNINGHAM, F. G. *et al.* Tireóide e outros distúrbios endócrinos. In: CUNNINGHAM, F. G. *et al.* **Obstetrícia de Williams**. 23 ed. Porto Alegre: Artmed-McGraw-Hill, 2012. p.1126-44.

DELISLE, H. La transition nutritionnelle, ses de'terminants et ses conse'quences. In: MARTIN-PREVEL, Y.; MAIRE, B. (eds.). **La nutrition dans un monde globalisé: Bilan et perspectives a` l'heure des ODD**. Paris: Karthala-IRD, 2018.

DISPIRITO, J. R.; MATHIS, D. Immunological contributions to adipose tissue homeostasis. **Seminars in Immunology**, Milão, v. 27, p. 315-321, 2015.

DOO, M.; KIM, Y. Obesity: interactions of genome and nutrients intake. **Prev Nutr Food Sci.** Busan, v. 20, p. 1-7, 2015.

DREWNOWSKI, A.; SPECTER, S. E. Poverty and obesity: the role of energy density and energy costs. **Am J Clin Nutr**, Rockville, v. 79, p. 6-16, 2004.

DUVAL, C. *et al.* Adipose tissue dysfunction signals progression of hepatic steatosis towards nonalcoholic steatohepatitis in C57BL/6 mice. **Diabetes**. Arlington, v. 59, p. 3181-3191, 2010.

ELISSING, L. *et al.* De novo lipogenesis in human fat and liver is linked to ChREBP- $\beta$  and metabolic health. **Nat Commun**. Londres, v. 4, p. 1528, 2013.

FARHANGI, M. A. *et al.* Serum transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) is associated with body mass index in healthy women. **Acta Endocrinologica**. Bucharest, v. 9, p. 361-368, 2013.

FARHANGI, M. A. *et al.* Adipose Tissue Inflammation and Oxidative Stress: The Ameliorative Effects of Vitamin D. **J. Inflammation**. Macclesfield, v. 40, p. 1688-1697, 2017.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química dos alimentos de Fennema**. São Paulo: Artmed. 4ª ed. p. 132-170. 2010.

FERRÉ, P.; FOUFELLE, F. SREBP-1c transcription factor and lipid homeostasis: clinical perspective. **Horm Res**. Roma, v. 68, p. 72-82, 2007.

FERREIRA, V. A. M. R. Obesidade no Brasil: Tendências atuais. **Rev. portuguesa de Saúde Pública**. Lisboa, v. 13, p. 234-41, 2006.

FERRO CAVALCANTE, T. C. *et al.* Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**. Chicago, v. 48, p. 1157- 1168, 2013.

FERRON, A. J. T. *et al.* Association between Cardiac Remodeling and Metabolic Alteration

in an Experimental Model of Obesity Induced by Western Diet. **Nutrients**. Londres, v. 10, p. 1675, 2018.

FIDAN-YAYLALI, G. *et al.* The Association between Central Adiposity and Autonomic Dysfunction in Obesity. **Med Princ Pract**. Basel, v. 25, p. 442-448, 2016.

FIELD, B. C. Neuroendocrinology of obesity. **British medical bulletin**. Oxford, v. 109, n. 1, 2014.

FONSECA-ALANIZ, M. H. *et al.* Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **Jornal de Pediatria**. São Paulo, v.83, p. 192 – 203, 2007.

FORNEY, L. A. *et al.* Dietary Quercetin Attenuates Adipose Tissue Expansion and Inflammation and Alters Adipocyte Morphology in a Tissue-Specific Manner. **Int J Mol Sci**. Basel, v. 17, p. 17-19, 2018.

FOSTER, D. W. The role of the carnitine system in human metabolism, **Ann N Y Acad Sci**. New York, v. 1033, p. 1-16, 2004.

FRANÇA, B.K. *et al.* Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **GE J Port Gastreenterol**. Lisboa, v. 20, n. 5, p.199-206, 2013.

GALLAGHER, E. J.; LEROITH, D. Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality. **Physiol Rev**. Birmingham, v. 95, p. 727-48, 2015.

GESTA, S. *et al.* Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source. **Cell metabolism**, Cambridge, v. 131, p. 242-256, 2007.

GILLIES, P. J. Nutrigenomics: the Rubicon of molecular nutrition. **J Am Diet Assoc**. Cleveland, v. 103, p. 50-55, 2003.

GREGOIRE, F. M. *et al.* Understanding Adipocyte Differentiation. **Physio Rev**, Bethesda, v. 78, p. 783-809, 1998.

GUEBRE-EGZIABHER, F. *et al.* Ectopic lipid accumulation: a potential cause for metabolic disturbances and a contributor to the alteration of kidney function. **Biochimie**. Londres, v. 95, p. 1971– 1979, 2013.

HERMAN, M. A. *et al.* A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism. **Nature**. Rio de Janeiro, v. 19, p. 333-338, 2012.

HERNÁNDEZ-RODAS, M. C. *et al.* Supplementation with Docosahexaenoic Acid and Extra Virgin Olive Oil Prevents Liver Steatosis Induced by a High-Fat Diet in Mice through PPAR- $\alpha$  and Nrf2 Upregulation with Concomitant SREBP-1c and NF-kB Downregulation. **Mol Nutr Food Res**. Munster, v. 61, p. 12, 2017.

HOLLOSZY, J. O. Regulation of skeletal muscle exercise of mitochondria and GLUT4. **J Physiol Pharmacol**. Ottawa, v.7, p. 5–18, 2008.

HU, D. *et al.* Effects of obesity and body fat distribution on lipids and lipoproteins in

nondiabetic american indians: the strong heart study. **Obesity Research**. Baton Rouge, v. 8, p. 411- 421, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/xml/pof\\_2008\\_2009.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/xml/pof_2008_2009.shtm). Acesso em: 21 mar. 2019.

ISMAIL, S. R. *et al.* Systematic review of palm oil consumption and the risk of cardiovascular disease. **PLOS One**. Califórnia, v.13, p. 1-16, 2018.

JANZ, K. F. *et al.* Physical Activity, Not Sedentary Time, Predicts Dual-Energy X-ray Absorptiometry-measured Adiposity Age 5 to 19 Years. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Indianópolis, v. 49, n. 10, p. 2071-2077, 2017.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Guanabara e Koogan, São Paulo, 2008.

KATSANOS, C. S. Clinical considerations and mechanistic determinants of postprandial lipemia in older adults. **Adv Nutr**. Massachusetts Lowell, v. 5, p. 226-34, 2014.

KAWAI, M.; DE PAULA, F. J.; ROSEN, C. J. New insights into osteoporosis: the bone-fat connection. **J Intern Med**. Hoboken, v. 272, p. 317–329, 2012.

KHAKI, F. K. *et al.* Evaluation of hs-CRP, antioxidant markers and MDA in patients of coronary artery disease (CAD) containing nonsmokers and non-diabetics. **Journal of Cardiovascular and Thoracic Research**. Tabriz, v. 2, p. 13–18, 2011.

KOTHARI, V. *et al.* High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis**. Amsterdam, v. 1863, p. 499-508, 2017.

KRIS-ETHERTON, P. M.; FLEMING, J. A. Emerging Nutrition Science on Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Nutritionists' Perspectives. **Adv Nutr**. Massachusetts Lowell, v. 6, p. 326S-337S, 2015.

KURSAWE, R. *et al.* Decreased transcription of ChREBP- $\alpha/\beta$  isoforms in abdominal subcutaneous adipose tissue of obese adolescents with prediabetes or early type 2 diabetes: associations with insulin resistance and hyperglycemia. **Diabetes**. Arlington, v. 62, p. 837-44, 2012.

KUSMINSKI, C. M. *et al.* Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. **Nat Rev Drug Discov**, Filadélfia, v. 15, p. 639-660, 2016.

LAFONTAN, M.; LANGIN, D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. **Prog Lipid Res**. Minato, v. 48, p. 275-297, 2009.

LING, C. *et al.* Epigenetic regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. **Diabetologia**. São Paulo, v. 51, p. 615–622, 2008.

LIU, H., J. Y. *et al.* Biochemistry, molecular biology, and pharmacology of fatty acid

synthase, an emerging therapeutic target and diagnosis/prognosis marker. **Int J Biochem Mol Biol**, Indiana, v.1, n.1, p.69-89, 2010.

LOPES, L. L.; PELUZIO, M. C. G.; HERMSDORFF, H. H. M. Monounsaturated fatty acid intake and lipid metabolism. **J. vasc. bras.** São Paulo, v.15, p.52-60, 2016.

LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab.** São Paulo, v. 53, p. 595-607, 2009.

LOZANO, A. *et al.* An acute intake of a walnut-enriched meal improves postprandial adiponectin response in healthy young adults. **Nutr Res.** New York, v. 33, p. 1012-1018, 2013.

LUDWIG, D. S. Technology, diet, and the burden of chronic disease. **JAMA**, Boston, v. 305, p. 1352–1353, 2011.

LUO, Y. *et al.* Metabolic phenotype and adipose and liver features in a high-fat Western diet-induced mouse model of obesity-linked NAFLD. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** Bethesda, v. 310, p. 418–439, 2016.

MAEKAWA, R. *et al.* Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is required for moderate high-fat diet- but not high-carbohydrate diet-induced weight gain. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** Bethesda, v. 314, p. E572-E583, 2018.

MAURIÈGE, P. *et al.* Subcutaneous adipose tissue metabolism at menopause: importance of body fatness and regional fat distribution. **J Clin Endocrinol Metab.** Bethesda, v. 85, p. 2446-2454, 2000.

MAYYAS, F.; ALZOUBI, K. H.; AL-TALEB, Z. An evaluation of the effect of pentoxifylline on blood pressure and myocardial oxidative status following intake of western diet. **Clinical and Experimental Hypertension.** Oxfordshire, v. 37, p. 666 – 673, 2015.

MELO, Maria Andrea Mendes Formiga. **Avaliação das propriedades de óleos vegetais visando a produção de biodiesel.** 2010. Tese (mestrado em química) – Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, 2010.

MICHA, R.; MOZAFFARIAN, D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. **Lipids.** Chicago, v. 45, p. 893-905, 2010.

MONTEIRO, C. A.; GOMES, F. S.; CANNON, G. The snack attack. **Am J Public Health.** New York, v. 100, p. 975–981, 2010.

MOUBARAC, J. C. The big issue is ultra-processing. Sexing up ultra-processed products. **World Nutrition**, Londres, v. 3, p. 62–80, 2012.

MOZAFFARIAN, D.; MICHA, R.; WALLACE, S. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS Med.** Califórnia, v. 7, 2010.

NAKAMURA, M. T.; YUDELL, B. E.; LOOR, J. J. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. **Prog Lipid Res.** Minato, v. 53, p. 124 – 144, 2013.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** 6. ed. Porto Alegre, Artmed, 2014.

ORDOVAS, J. M. *et al.* Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism. Evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. **Circulation.** Filadélfia, v. 106, p. 2315-2321, 2002.

OUCHI, N. *et al.* Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature reviews. Immunology,** Londres, v. 11, p. 85, 2011.

PANCHAL, S. K. *et al.* High-carbohydrate, High-fat Diet—Induced Metabolic Syndrome and Cardiovascular Remodeling in Rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** Detroit, v. 57, p. 611–624, 2011.

PEARSON, T. A. Metabolic consequences of stearic acid relative to long-chain fatty acids. Paper presented to conference on metabolic consequences of stearic acid relative to other long-chain fatty acids. **Am. J. Clin. Nutr.** Atlanta, v. 60, p. 983-1072, 1993.

POPKIN, B. M. The nutrition transition and obesity in the developing word. **J. Nutr.** Oxford, v. 131, p. 871-873, 2001.

POPKIN, B. M. The nutrition transition in lowincome countries: an emerging crisis. **Nutr Rev.** Oxford, v. 52, p.285-298, 1994.

POPKIN, B. M.; GORDON, L. P. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. **Int J Obes Relat Metab Disord,** Califórnia, v. 28, p.2-9, 2004.

PUIGSERVER, P.; SPIEGELMAN, B. M. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. **Endocr Rev.** Washington, v. 24, p. 78-90, 2003.

REEDY, J.; KREBS-SMITH, S. M. Dietary sources of energy, solid fats, and added sugars among children and adolescents in the United States. **J Am Diet Assoc.** Cleveland, v. 110, p. 1477-1484, 2010.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C., JR. 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. **J Nutr.** Oxford, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

RIAL, E. *et al.* Lipotoxicity, fatty acid uncoupling and mitochondrial carrier function. **Biochim Biophys Acta.** Amsterdam, v. 1797, p. 800-6, 2010.

ROBERTS, L. D. *et al.*  $\beta$ -Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic beta-oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors. **Cell Metab.** Cambridge, v. 19, p. 96–108, 2014.

SANTOS, R. D. *et al.* I Diretriz sobre o Consumo de gorduras e saúde Cardiovascular. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, São Paulo, v. 100, n. 1, Supl.3, 2013.

SCHNEUER, F. J. *et al.* Association and predictive accuracy of high TSH serum levels in first trimester and adverse pregnancy outcomes. **J Clin Endocrinol Metab.** Bethesda, v. 97, p. 3115-22, 2012.

SETHI, J. K.; VIDAL-PUIG, A. J. Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. **Journal of lipid research**, Rockville, v. 48, p. 1253-1262, 2007.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr.** Campinas, v.17, p. 227-36, 2004.

SHEN, W. *et al.* MRI-measured bone marrow adipose tissue is inversely related to DXA-measured bone mineral in Caucasian women. **Osteoporosis international**, Nyon, v. 18, p. 641- 647, 2007.

SHIMANO, H. SREBP-1c and Elovl6 as Targets for Obesity-related Disorders. **Yakugaku Zasshi**. Tóquio, v. 135, p. 1003-1009, 2015.

SHIMOMURA, I. *et al.* Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. **J Clin Invest.** Baltimore, v. 99, p. 846- 854, 1997.

SOFTIC S. *et al.* Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling. **J Clin Invest.** Baltimore, v. 127, p. 4059-4074, 2017.

SORISKY, A. *et al.* Macrophage-induced adipose tissue dysfunction and the preadipocyte: should I stay (and differentiate) or should I go? **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, Rockville, v. 4, p. 67-75, 2013.

SPOSITO, A. C. *et al.* IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. Rio de Janeiro, v. 88, p. 2-19, 1997.

STAGNARO-GREEN, A. *et al.* Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. **Thyroid**. New York, v. 21, p. 1081-125, 2011.

STAMATIKOS, A. D. *et al.* Tissue Specific Effects of Dietary Carbohydrates and Obesity on ChREBP $\alpha$  and ChREBP $\beta$  Expression. **Lipids**. Chicago, v. 51, p. 95-104, 2016.

SUN, K. *et al.* Adipose tissue remodeling and obesity. **The Journal of clinical investigation**, Accra, v. 121, p. 2094, 2011.

TANG, L. L. *et al.* Effect of high fat or high glucose diet on obesity and visceral adipose tissue in mice. **RG Journal**. Osaka, v. 36, p. 614-619, 2014.

TCHERNOF, A.; DESPRES, J. P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. **Physiol Rev**. Birmingham, v. 93, p. 359–404, 2013.

TCHKONIA, T. *et al.* Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. **Cell metabolism**, Cambridge, v. 17, p. 644-656, 2013.

THALES, J. P.; YI, C.; SCHUR, E. A.; *et al.* Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans, **The Journal of Clinical Investigation**. Accra, v.122, p.153-162, 2012.

TONG, X. *et al.* E4BP4 is an insulin-induced stabilizer of nuclear SREBP-1c and promotes SREBP-1c-mediated lipogenesis. **J Lipid Res**. Rockville, v. 57, p. 1219-1230, 2016.

TYAGI, S. *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. **J Adv Pharm Technol Res**. Londre, v.2, p. 236–40, 2011.

VEIGAS, F. M. S. *et al.* Anti-obesogenic effects of WY14643 (PPAR-alpha agonist): Hepatic mitochondrial enhancement and suppressed lipogenic pathway in diet-induced obese mice. **Biochimie**. Londres, v. 140, p. 106-116, 2017.

WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. edição. São Paulo: Atheneu, 2004.

WAJCHENBERG, B. L. *et al.* Adipose tissue at the crossroads in the development of the metabolic syndrome, inflammation and atherosclerosis. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab**. São Paulo, v. 53, p.145-150, 2009.

WANG, H.; AIROLA, M. V.; REUE, K. How lipid droplets "TAG" along: Glycerolipid synthetic enzymes and lipid storage. **Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids**. Cambridge, v. 1862, p. 1131-1145, 2017.

WANG, X. *et al.* Disruption of Rpn4-induced proteasome expression in *Saccharomyces cerevisiae* reduces cell viability under stressed conditions. **Genetics**. v. 180, p. 1945-1953, 2008.

WANG, X. *et al.* SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. **Cell Metabolism**. Cambridge, v. 77 p. 53-62, 1994.

WELSH, J. A. *et al.* Caloric sweetener consumption and dyslipidemia among US adults. **JAMA**. Boston, v. 303, p. 1490-1497, 2010.

WITTE, N. *et al.* The Glucose Sensor ChREBP Links De Novo Lipogenesis to PPAR $\gamma$  Activity and Adipocyte Differentiation. **Endocrinology**, Washington, v. 156, p. 4008–4019, 2015.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases, 2003.

WU, H. *et al.* CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, New York, v. 30, n. 2, p. 186-192, 2010.

WU, W. *et al.* Fat and carbohydrate in western diet contribute differently to hepatic lipid

accumulation. **Bioc Bioph Resear Comm.** Cambridge, v. 461, p. 681-686, 2015.

XAVIER, H. T. *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção de aterosclerose. **Arq Bras Cardiol.** São Paulo, v. 101, p. 1-22. 2013.

YAMAMOTO, S. *et al.* Visceral Fat Accumulation, Insulin Resistance, and Elevated Depressive Symptoms in Middle-Aged Japanese Men. **PLoS One.** Califórnia, v. 11, p. 36, 2016.

YANG, T. *et al.* Crucial step in cholesterol homeostasis: sterols promote the binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates the retention of SREBPs in the ER. **Cell Metabolism.** Cambridge, v.110, p. 489-500, 2002.

ZENG, Z. *et al.* Lycopene Improves Insulin Sensitivity through Inhibition of STAT3/Srebp-1c-Mediated Lipid Accumulation and Inflammation in Mice fed a High-Fat Diet. **Exp Clin Endocrinol Diabetes.** Londres, v. 125, p. 610-617, 2017.

ZHOU, Y. *et al.* Lipotoxicity reduces  $\beta$  cell survival through islet stellate cell activation regulated by lipid metabolism-related molecules. **Cell Metabolism.** Cambridge, v. 19, p. 30186-7, 2019.

## ANEXO A - NORMAS DE SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO À REVISTA CLINICAL NUTRITION EXPERIMENTAL (E-ISSN 2352-9393)



### Introduction

*Clinical Nutrition Experimental* is the peer-reviewed open-access official journal of ESPEN, The European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. With the aim to stimulate experimental research activities in the field of Clinical Nutrition, the journal welcomes the latest and most exciting experimental articles on methodology, nutrient physiology and metabolism, nutritional neurosciences, nutritional toxicities, nutritional immunology, nutrigenomics, molecular nutrition, vitamins, trace elements, antioxidants, genetics and microbiota. Completing the existing journals: *Clinical Nutrition* and *Clinical Nutrition ESPEN*, CNX will promote methodology and basic science in the field of Clinical Nutrition.

### Easy Submission Process

The Editorial Office has implemented an Easy Submission Process. We only ask you that with initial submission the manuscripts are double-spaced (including references, tables, and figure legends) and lines are numbered continuously, beginning in the title page and thus every line has a unique number (Microsoft WORD: /Page Layout>Line Numbers).

All required items below need to be completed in formatting prior to final acceptance of a manuscript. Before submitting your paper to the journal make sure that you have covered all relevant items as indicated on this checklist: [https://www.elsevier.com/\\_data/promis\\_misc/CNX\\_Submission\\_Checklist.docx](https://www.elsevier.com/_data/promis_misc/CNX_Submission_Checklist.docx)

**Full Length Articles.** Should be organized in the following successive sections and manuscript preparation and format information above to be followed: Title Page, Abstract (Background & Aims - Methods - Results - Conclusions). Introduction, Materials and Methods (including statistical considerations and ethical statement), Results, Discussion, Acknowledgements, Statement of Authorship, Conflict of Interest Statement and Funding

sources, References; Figure and Table Legends. The Introduction should be limited to 1.5 pages (450 words) and the Discussion to 4 pages (1200 words).

**Review Article.** Should contain at least 2 Figures and 2 Tables to summarize the most important data and/or concepts.

**(Inter)national Guidelines.** Can be submitted after consultation with the Editorial Office (espenjournals@espen.org).

**ESPEN Guidelines.** Are submitted in collaboration with the Editorial Office (espenjournals@espen.org).

**ESPEN Endorsed Recommendations.** Are submitted in collaboration with the Editorial Office (espenjournals@espen.org).

**Letter to the Editor.** Is considered for publication provided it does not contain material that has been submitted or published elsewhere. The text, not including references, must not exceed 450 words. The letter must have no more than five references and one figure or small table and should not be signed by more than three authors. When a letter refers to an article recently published in *Clinical Nutrition Experimental*, the opportunity for reply will be given to the authors of the original article. Such a reply will be published along with the letter. Start the letter with "Dear Editor".

**Editorial.** Are submitted by members of the Editorial Board.

**Short Communications.** Should not contain more than 10 references and organized as Full Length Articles. Maximum 1500 words.

**Opinion Papers.** Should be organized as Full Length articles.

**Educational Papers.** Should be organized as Full Length articles and contain at least 2 Figures and 2 Tables to summarize the most important data and/or concepts.

**Invited Editorial.** Is by invitation from the Editor-in-Chief.

**Randomized Controlled Trials.** Should be organized as Full Length Articles. All

Randomized controlled Trials submitted for publication in *Clinical Nutrition*

*Experimental* should include a completed Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) 2010 checklist. Please refer to the CONSORT statement website at <http://www.consort-statement.org> for more information. The checklist can also be downloaded from here. You will be asked to upload this completed checklist at the time of submission and this file is mandatory for submission. *Clinical Nutrition Experimental* has adopted the proposal from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) which requires, as a condition of consideration for publication of clinical trials, registration in a public trials registry. Clinical trials are defined as "biomedical or health related studies in human beings that follow a defined protocol." In addition to intervention studies, this definition encompasses observational, prevention, quality of life, diagnostic, and screening trials ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)). Any clinical trial for which subject recruitment began after July 1, 2008 must be registered in one of the five ICMJE-approved public trials registries (i.e., [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), [www.isrctn.org](http://www.isrctn.org), [www.umin.ac.jp](http://www.umin.ac.jp), [www.trialregister.nl](http://www.trialregister.nl)). Is this study appropriately registered? If so, please report the study ID number and the website where the clinical trial is registered on the title page of the paper. If the study is not registered, authors must do so before the submitted paper will be considered for peer-review. If the study began before July 1, 2008, the initial recruitment date should be reported in the appropriate place in the Materials and Methods section. *Clinical Nutrition Experimental* requires prospective registration of all trials.

**Report.** Should be organized as Full Length Articles and are submitted by chairs of Special Interest Groups (SIG) or are submitted in collaboration with the Editorial Office.

**Meta-analyses.** Should be organized as Full Length Articles. All Meta-analyses submitted for publication in *Clinical Nutrition Experimental* should also include a completed uploaded PRISMA Statement. We have adopted the definitions of systematic review and meta-analysis used by the Cochrane Collaboration. A systematic review is a review of a clearly formulated question that uses systematic and explicit methods to identify, select, and critically appraise relevant research, and to collect and analyze data from the studies that are included in the review. Statistical methods (meta-analysis) may or may not be used to analyze and summarize the results of the included studies. Meta-analysis refers to the use of statistical techniques in a systematic review to integrate the results of included

studies. Downloadable forms are located at <http://www.prisma-statement.org/>.



## **Before You Begin**

### Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms sex and gender should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work using the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest <http://icmje.org/conflicts-of-interest>. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If there are no conflicts of interest then please indicate this in the form. See also <https://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

### Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

### Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

### Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

### Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. More details and an example

## Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

## Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

## *Registration of clinical trials*

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with International Committee of Medical Journal Editors recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any

biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

### *Article transfer service*

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. More information.

### Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (see more information on this). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

### *Author rights*

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

### *Elsevier supports responsible sharing*

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

### Open access

Please visit our Open Access page from the Journal Homepage for more information.

### *Language (usage and editing services)*

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific

English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Author Services.

*Submit your article*

Please submit your article

Via <https://www.editorialmanager.com/yclnex/default.aspx?pg=mainpage.html>.



## Preparation

### NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process. As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

### *References*

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

### *Formatting requirements*

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords,

Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions. If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes. Divide the article into clearly defined sections.

#### *Figures and tables embedded in text*

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

#### Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

#### REVISED SUBMISSIONS

##### *Use of word processing software*

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

#### Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- ***Author names and affiliations.*** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- ***Corresponding author.*** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

## Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

## Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented

separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### *Graphical abstract*

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

### *Keywords*

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

### *Abbreviations*

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### *Acknowledgements*

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

*Footnotes*

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

**Artwork***Electronic**artwork**General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed guide on electronic artwork is available.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

*Formats*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'. TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

### *Illustration services*

Elsevier's Author Services offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

### References

#### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset]

immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/clinical-nutrition-experimental>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

### *Reference formatting*

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

### *Reference style*

References have to be cited in the text by Arabic numerals and numbered in the order in

which they are cited. The reference section should be typed double-spaced at the end of the text, following the sample format given below. Abbreviate journal titles according to the List of Journals Indexed in Index Medicus (available from the Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, D.C. 20402, USA, DHEW Publication No. (NIH) 91-267; ISSN 0093-3821. Provide all authors' names. Provide article titles and inclusive pages. 'Unpublished data' and 'personal communications' do not qualify as References and should be placed in parentheses in the text. Accuracy of reference data is the responsibility of the author. Refer to the Vancouver style of citation with your reference manager program or use the suggestion below. Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015.  
<http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

### *Sample references*

#### Article in a journal

1. Cummings J H, MacFarlane G T. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. Clin Nutr 1997; 16: 3–11.

#### Book

2. McLaren D S, Meguid M M. Nutrition and its disorders, 4th edn. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1988.

#### Chapter in a book

3. Goodwin S C, Liu S. Radiologic techniques for enteral access. In: Rombeau J L, Rolandelli R H, Eds. Enteral and tube feeding, 3rd edn. Philadelphia: W B Saunders, 1997: 193–206.

#### Website

4. U.S. positions on selected issues at the third negotiating session of the Framework Convention on Tobacco Control. Washington, D.C.: Committee on Government Reform, 2002. (Accessed March 4, 2002, at  
[http://www.house.gov/reform/min/inves\\_tobacco/index\\_accord.htm](http://www.house.gov/reform/min/inves_tobacco/index_accord.htm).)

### Online journal article

Tenesa A, Noble C, Satsangi J *et al.* Association of DLG 5 and inflammatory bowel disease across human populations. *Eur Journal Hum Genet* 2006: published online Jan 4.  
DOI:10.1038/sj.ejhg.5201516

### Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link

articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### *Mendeley Data*

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

#### *Submission checklist*

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it

to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.



### **After Acceptance**

#### Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

## ANEXO B - DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências  
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
Fones: 2126 8842  
ceua@ufpe.br

Recife, 05 de junho de 2019

Ofício nº 30/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. João Henrique da Costa Silva**

**Centro Acadêmico de Vitória**

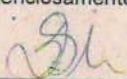
Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.046459/2018-17

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação dos efeitos de uma dieta em ácidos graxos saturados sobre a composição corporal, o metabolismo lipídico e a pressão arterial de ratos submetidos a desnutrição perinatal.**" registrado com o nº 23076.046459/2018-17 sob a responsabilidade de **Prof. João Henrique da Costa Silva** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/05/2019.

|                                     |                                      |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Finalidade                          | ( ) Ensino (X) Pesquisa Científica   |
| Vigência da autorização             | 28/05/2019 a 01/04/2023              |
| Espécie/linhagem/raça               | Rato heterogenico                    |
| Nº de animais                       | 68                                   |
| Peso/Idade                          | 100g/ 30 dias                        |
| Sexo                                | Macho (56 ) Femea (12)               |
| Origem: Biotério de Criação         | Biotério do Departamento de Nutrição |
| Destino: Biotério de Experimentação | Biotério do CAV                      |

Atenciosamente,

  
 Prof. Sebastião R. F. Silva  
 Vice-Presidente CEUA/UFPE  
 SIAPE 2345691