



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA METABÓLICA



TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

KARINE MEIRELLE MARINHO DE AMORIM

**EFEITO DO CONSUMO CRÔNICO DE ÓLEO DE COCO SOBRE PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS E DO *STATUS REDOX* EM RATAS SAUDÁVEIS.**

OURO PRETO

2019

KARINE MEIRELLE MARINHO DE AMORIM

**EFEITO DO CONSUMO CRÔNICO DE ÓLEO DE COCO SOBRE PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS E DO *STATUS REDOX* EM RATAS SAUDÁVEIS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
à Universidade Federal de Ouro Preto como requisito
obrigatório para a obtenção do título de Bacharel em
Farmácia.

ORIENTADORA: DANIELA CALDEIRA COSTA
COORIENTADORA: STTEFANY VIANA GOMES

OURO PRETO

2019

A524e Amorim, Karine Meirelle.
Efeito do consumo crônico de óleo de coco sobre parâmetros bioquímicos e do status redox em ratos saudáveis [manuscrito] / Karine Meirelle Amorim. - 2019.

44f.: il.: graf.; tabs.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniela Costa.
Coorientadora: Prof^ª. MSc^ª. Sttefany Gomes.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Departamento de Farmácia.

1. Ácidos graxos . 2. Óleo de coco. 3. Reação de oxidação-redução. I. Costa, Daniela. II. Gomes, Sttefany. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 665.382

Catálogo: ficha.sisbin@ufop.edu.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

Escola de Farmácia

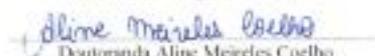


ATA DA SESSÃO DE DEFESA DA 435ª MONOGRAFIA DO CURSO DE FARMÁCIA DA ESCOLA DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO. Aos 27 do mês de junho de dois mil e dezenove, quinta-feira, realizou-se, a partir das 10 horas e 10 minutos, no auditório da Escola de Farmácia, no Campus Morro do Cruzeiro, a sessão de defesa de monografia da candidata ao grau de Farmacêutico Generalista, **Karine Meirelle Marinho de Amorim**, matrícula 14.1.2098, intitulada **Efeito do consumo crônico de óleo de coco sobre parâmetros bioquímicos e do status redox em ratas saudáveis**. A Banca Examinadora foi constituída pela Doutoranda Aline Meireles Coelho, Cbiol/NUPEB/UFOP, pela Doutora Fernanda Caetano Camini, Cbiol/NUPEB/UFOP, pela co-orientadora Mestre Stefany Viana Gomes, UFOP e pela orientadora Profa. Daniela Caldeira Costa, DECBI-ICEB-UFOP. De acordo com o regulamento do Curso, a orientadora, presidente da banca, abriu a sessão, passando a palavra à candidata, que fez a exposição do seu trabalho. Em seguida, foi realizada a arguição pelos examinadores na ordem registrada acima, com a respectiva defesa da candidata. Finda a arguição, a Banca Examinadora se reuniu, sem a presença da candidata e do público, tendo deliberado pela sua aprovação, com a NOTA 10. Comunicou-se a candidata que essa nota somente será liberada para a PROGRAD, após a entrega do exemplar definitivo de acordo com as normas estabelecidas pelo Sistema de Bibliotecas e Informação (Sisbin), Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), com as devidas correções sugeridas pela banca, com o aval escrito da orientadora. Nada mais havendo para constar, a presente ata foi lavrada por Gustavo Franco Campos, secretário do Colegiado de Farmácia, que após a leitura pública da mesma seguirá assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela Presidente do Colegiado, Ouro Preto, 27 de junho de 2019.


Profa. Dra. Daniela Caldeira Costa
(orientadora)


Dra. Fernanda Caetano Camini


Mestre Stefany Viana Gomes
(co-orientadora)


Doutoranda Aline Meireles Coelho


Profa. Dra. Glenda Nicoli da Silva
Presidente do Colegiado de Farmácia

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a **Deus** que me sustentou com Suas mãos poderosas em todos os momentos, pelo infinito amor e cuidado em fazer muito além do que sonhei.

Aos meus pais **Devair Marinho** e **Neuza Maria** que não hesitaram em me apoiar mostrando que obstáculos existem para serem superados, me ensinaram a seguir minhas decisões baseado na justiça e na moral, me mostraram a importância dos estudos na vida, e, talvez por isso, eu tenha hoje o estudo como base para qualquer realização. Em resumo, obrigada por formarem meu caráter e por guardarem meu mundo nas mãos para que eu os tivesse como refúgio.

Aos meus irmãos **Karita Bianca** e **Guilhermy Marinho** e minha querida sobrinha **Alana** que apesar da distância sempre estiveram presentes, obrigada por todo carinho.

Ao **Arthur Piau**, que sempre esteve ao meu lado, obrigada pelo companheirismo, por ser muito além de namorado, meu melhor amigo. Obrigada pelos momentos de descontração, sorrisos que proporcionamos um ao outro, pelo crescimento diário que temos juntos. Eu te amo e essa conquista é uma de muitas que quero partilhar ao seu lado. Obrigada por todo amor!

À **Lívia**, presente que Ouro Preto me deu e que carregarei comigo para sempre, obrigada pela amizade. À **Franciane, Natália, Maria Laura, Laércyo** e tantos outros por cada conversa, cada conselho.

Ao querido **Laboratório de Bioquímica Metabólica** pelo apoio e companheirismo. Agradeço à minha orientadora **Daniela** e à minha coorientadora **Sttefany** por todo conhecimento compartilhado, pela paciência, dedicação e por contribuírem tanto para minha formação. A convivência com vocês me fez crescer como pessoa e profissional, e por isso sou-lhes muito grata. Minha etapa como integrante do LBM vai se encerrando, mas termino meus trabalhos sabendo que nosso vínculo é muito mais duradouro.

Aos **professores da gloriosa Escola de Farmácia** e à **Universidade Federal de Ouro Preto** pela oportunidade concedida de me formar pessoa e profissional, pelos conhecimentos, orientação e suporte durante esses anos de curso.

Ao **LAPAC**, onde pude sentir na prática o quanto a profissão que escolhi é linda e inspiradora, obrigada pela experiência inesquecível.

Por fim, agradeço a **Ouro Preto**, cidade que sempre irei me lembrar com carinho e gratidão, obrigada por todos os momentos vividos.

RESUMO

Os lipídeos constituem uma importante reserva energética, sendo a fonte mais concentrada de energia do organismo. Porém, o consumo exagerado dos lipídeos, principalmente os ácidos graxos saturados, pode ter efeitos negativos no organismo e levar ao desenvolvimento da obesidade. Desse modo, as propriedades da dieta e sua composição são importantes na definição do estado de saúde. O óleo de coco é constituído em sua maioria por ácidos graxos saturados, dentre eles, os principais são o ácido láurico (45,78%), o ácido mirístico (18,56%) e o ácido palmítico (8,85%). Este óleo vegetal apresenta inúmeras propriedades favoráveis ao consumo, porém é rico em ácidos graxos saturados que estão associados à elevação do colesterol sanguíneo. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito do consumo crônico de óleo de coco na modulação de parâmetros metabólicos e do *status redox* em ratas saudáveis da linhagem Fisher. Para isto, foram utilizadas 17 ratas albinas saudáveis da linhagem Fisher, com peso médio de 215g. Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais, a saber: grupo controle (C, N= 8), o qual recebeu apenas água, e grupo óleo de coco (OC, N= 9). A água e o óleo de coco foram administrados por gavagem (1mL/250g de massa corpórea) e o delineamento experimental teve duração de 90 dias. Após este tempo, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue e fígado que posteriormente foram utilizados para análise dos parâmetros glicometabólicos, perfil lipídico sérico, perfil lipídico hepático e análise do *status redox*. O plasma, o soro e o fígado foram armazenados em freezer com temperatura de -80°C. A ingestão crônica de óleo de coco induziu alterações nos parâmetros glicometabólicos, em que houve aumento do índice HOMA-IR, alteração no metabolismo lipídico sérico com o aumento da fração aterogênica e um aumento da concentração de triglicerídeos, além de levar a alteração no perfil lipídico hepático, o que contribuiu para uma redução da concentração de colesterol total hepático. Em relação ao *status redox* houve aumento do dano oxidativo hepático, observado por meio do aumento nos níveis de TBARS. De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, sugere-se que o consumo de óleo de coco rico em ácidos graxos saturados deve ser realizado com moderação, já que induziu resistência à insulina, provocou alterações no perfil lipídico sérico e hepático, além de levar ao dano hepático, o que pode comprometer a homeostase metabólica em ratas saudáveis.

Palavras-chave: Óleo de coco. Ácidos graxos saturados. Parâmetros bioquímicos. *Status redox*.

ABSTRACT

Lipids are an important energy reserve, being the most concentrated source of energy in the body. However, excessive consumption of lipids, especially saturated fatty acids, can have negative effects on the body and lead to the development of obesity. Thus, the properties of the diet and its composition are important in the definition of health status. Coconut oil is composed mainly of saturated fatty acids, among them, the main ones are lauric acid (45.78%), myristic acid (18.56%) and palmitic acid (8.85%). This vegetable oil has numerous properties favorable to consumption, but is rich in saturated fatty acids that are associated with elevated blood cholesterol. Thus, the objective of this study was to verify the effect of chronic coconut oil consumption on modulation of metabolic parameters and redox status in healthy rats of the Fisher strain. For this, 17 healthy albino rats of the Fisher strain were used, with a mean weight of 215g. The animals were distributed in two experimental groups, namely: control group (C, N = 8), which received only water, and coconut oil group (OC, N = 9). Water and coconut oil were administered by gavage (1mL / 250g body weight) and the experimental design lasted for 90 days. After this time, the animals were euthanized for collection of blood and liver, which were later used to analyze glycematol parameters, serum lipid profile, liver lipid profile and redox status analysis. Plasma, serum and liver were stored in a freezer at -80 ° C. Chronic coconut oil intake induced changes in the glycated metabolic parameters, in which there was an increase in the HOMA-IR index, alteration in serum lipid metabolism with an increase in the atherogenic fraction and an increase in the concentration of triglycerides, besides leading to a change in the lipid profile liver, which contributed to a reduction in total hepatic cholesterol concentration. Regarding the redox status, there was an increase in hepatic oxidative damage, observed through the increase in TBARS levels. According to the results obtained in this study, it is suggested that the consumption of coconut oil rich in saturated fatty acids should be carried out with moderation, since it induced insulin resistance, caused changes in serum and hepatic lipid profiles, and lead to liver damage, which may compromise metabolic homeostasis in healthy rats.

Keywords: Coconut oil. Saturated fatty acids. Biochemical parameters. *Redox status*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Avaliação do perfil lipídico sérico de ratas Fisher saudáveis	32
Figura 2: Avaliação do perfil lipídico hepático de ratas Fisher saudáveis	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição nutricional do óleo de coco informada pelo fabricante Relva Verde	24
Tabela 2: Avaliação dos parâmetros glicometabólicos em ratas Fisher saudáveis	31
Tabela 3: Avaliação do <i>status redox</i> no fígado de Ratas saudáveis	34

LISTA DE ABREVIATURAS

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica

ACAT - Acilcoesterol-aciltransferase

AG - Ácidos graxos

AGI - Ácidos graxos insaturados

AGS - Ácidos graxos saturados

CAT - Catalase

DCNT - Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DMSO - Dimetilsulfóxido

DTNB - Ácido 5,5'-Ditio-bis-(2-nitrobenzóico)

ERO - Espécies Reativas De Oxigênio

GC - Grupo controle

GPx - Glutathione Peroxidase

GSH - Glutathione reduzida

GSSG - Glutathione oxidada

H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio

HDL-c - Lipoproteína de Alta Densidade

LDL-c - Lipoproteína de baixa Densidade

MUFA - Ácidos graxos monoinsaturados

O₂- - Superóxido em oxigênio

OC - Óleo de coco

PUFA - Ácidos graxos poli-insaturados

SBEM - Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia

SOD - Superóxido dismutase

SSA - Ácido de sulfossalicílico

TBA - Ácido tiobarbitúrico

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

VLDL-c - Lipoproteína de Densidade muito Baixa

SUMÁRIO

<u>1. INTRODUÇÃO</u>	15
<u>2. REVISÃO DA LITERATURA</u>	17
2.1. ÁCIDOS GRAXOS.....	17
2.2. EFEITOS DOS ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS NA HOMEOSTASE METABÓLICA..	18
2.3. LIPÍDEOS E <i>STATUS REDOX</i>	19
2.4. ÓLEO DE COCO	20
<u>3. JUSTIFICATIVA</u>	22
<u>4. OBJETIVOS</u>	22
4.1. OBJETIVO GERAL.....	22
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
<u>5. METODOLOGIA</u>	23
5.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
5.2. OBTENÇÃO DO ÓLEO DE COCO	23
5.3. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS GLICOMETABÓLICOS.....	24
5.3.1. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE	24
5.3.2. AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INSULINA NO PLASMA	24
5.3.3. ÍNDICE HOMA-IR	25
5.4. AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO SÉRICO	25
5.5. EXTRAÇÃO E DOSAGEM DE LIPÍDEOS HEPÁTICOS	25
5.6. ANÁLISE DAS DEFESAS ANTIOXIDANTES	26
5.6.1. DOSAGEM DE PROTEÍNAS TOTAIS.....	26
5.6.2. ATIVIDADE DA CATALASE (CAT)	27

5.6.3. ATIVIDADE DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD).....	28
5.6.4. GLUTATIONA TOTAL, REDUZIDA (GSH), OXIDADA (GSSG) E RAZÃO GSH:GSSG.....	28
5.7. ANÁLISE DOS PRODUTOS DE DANO OXIDANTE	30
5.7.1. SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)	30
5.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	30
<u>6. RESULTADOS</u>	<u>31</u>
6.1. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	31
6.1.1. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS GLICOMETABÓLICOS	31
6.1.2. AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO SÉRICO E HEPÁTICO	32
6.2. AVALIAÇÃO DO <i>STATUS REDOX</i>	33
<u>7. DISCUSSÃO</u>	<u>35</u>
<u>8. CONCLUSÃO</u>	<u>39</u>
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>40</u>

1. INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, todos os países do mundo têm percebido uma mudança significativa nos padrões alimentares, na prática de atividade física, na composição corporal da população, bem como na prevalência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Essas alterações se devem em grande parte à transição nutricional, que está relacionada a mudanças no consumo de alimentos e bebidas, paralelamente a redução da prática de atividade física (POPKIN, 2015). No processo de transição nutricional tem-se observado mudanças na quantidade e qualidade dos produtos consumidos, bem como um consumo exacerbado de alimentos com elevado valor calórico, resultando em aumento do sobrepeso na população (MARATOYA, 2013).

O padrão dietético visto atualmente é caracterizado pelo consumo de alimentos com alta densidade calórica e energética (ADAIR e col., 2005), em que os alimentos são ricos em gordura e/ou açúcar e deficientes em fibras (SANTOS e col., 2013). Essa mudança de hábitos alimentares da sociedade é resultante de mudanças sociais, econômicas e culturais que intervêm diretamente no perfil de saúde da população, além de indicar um aumento no consumo de alimentos industrializados, o que contribui para o aumento da prevalência de obesidade dos brasileiros (SANTOS e col., 2013). Sendo assim, a transição nutricional pode contribuir para a patogênese de doenças crônicas, já que podem estar diretamente associadas à mudança na composição da dieta (JUMP, 2011).

Os lipídeos constituem uma importante reserva energética, sendo a fonte mais concentrada de energia do organismo, além de possuir potenciais efeitos benéficos à saúde (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2016). Porém, o consumo exagerado dos lipídeos, principalmente os provenientes de óleos vegetais, pode ter efeitos negativos no organismo de acordo com a composição dos ácidos graxos presentes nesses óleos. Os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) estão associados à melhora no perfil lipídico, enquanto que os ácidos graxos saturados (AGS) apresentam efeitos negativos no organismo (LOTTENBERG, 2012). A alta ingestão de AGS, quando associada ao sedentarismo pode levar ao desenvolvimento da obesidade (LIMA e col., 2017). Desse modo, as propriedades da dieta e sua composição são importantes na definição do estado de saúde, em particular no que se refere às doenças crônicas não transmissíveis (PINHEIRO, 2005).

O óleo de coco proveniente da espécie *Cocos nucifera L.*, é constituído em sua maioria por ácidos graxos saturados, dentre eles, os principais são o ácido láurico (45,78%), o

ácido mirístico (18,56%) e o ácido palmítico (8,85%). Este óleo vegetal apresenta inúmeras propriedades favoráveis ao consumo, porém é rico em ácidos graxos saturados que estão associados à elevação do colesterol sanguíneo (LOTTENBERG, 2009).

Portanto, sabendo que o óleo de coco apresenta alto índice de ácidos graxos saturados, torna-se relevante um estudo para avaliar o efeito do consumo crônico deste óleo na modulação de mediadores metabólicos e do *status redox* em ratas saudáveis da linhagem Fisher.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Ácidos Graxos

Os lipídeos são moléculas orgânicas essenciais, formadas a partir de ácidos graxos e álcool, que desempenham importantes funções no organismo dos seres vivos. Assim como os carboidratos e proteínas, os lipídeos são macronutrientes obtidos endogenamente, porém sua fonte principal são os alimentos, e encontram-se localizados principalmente nas membranas celulares e nas células adiposas (DEVLIN, 2006). Os ácidos graxos, por sua vez, são moléculas derivadas de hidrocarbonetos com um grupo carboxila em uma das extremidades e um grupo metil em outra (CALDER, 2008; KHAN, 2010).

Os ácidos graxos podem ser classificados de acordo com o número de carbonos presentes na cadeia carbônica, de acordo com a configuração dos átomos de hidrogênio em torno das ligações carbono-carbono e pela presença ou não de duplas ligações na cadeia carbônica. Os ácidos graxos que não possuem ligações duplas na cadeia carbônica são chamados de ácidos graxos saturados (AGS), sendo obtidos principalmente a partir da gordura de origem animal (CURI e col., 2001). Os principais representantes dos AGS são o ácido láurico (12:0), o palmítico (16:0) e o esteárico (18:0). Os ácidos graxos que possuem uma ou mais insaturações na cadeia carbônica são denominados ácidos graxos insaturados (AGI) (VASCONCELOS COSTA; BRESSAN; SABARENSE, 2006).

Os ácidos graxos podem ser classificados também de acordo com o número de átomos de carbono presentes em sua estrutura em ácidos graxos de cadeia curta, que possuem de 4 a 6 átomos de carbono, ácidos graxos de cadeia média, com 8 a 12 átomos de carbono, ácidos graxos de cadeia longa, com 14 a 18 átomos de carbono e cadeia muito longa, que possui 20 ou mais átomos de carbonos (SANTOS e col., 2013). Sendo que, o ácido palmítico é o ácido graxo de cadeia longa mais presente na alimentação humana (LOTTENBERG e col., 2012).

Após serem absorvidos, os AGS podem ser transportados por diferentes formas, de acordo com o tamanho da cadeia carbônica. Os ácidos graxos de cadeia média são transportados via circulação sanguínea ligados a albumina, e alcançam o fígado por meio da veia porta para serem metabolizados. Assim, esses ácidos graxos não ocasionam aumento na concentração sérica de quilomicrons (SANTOS e col., 2013).

Já os ácidos graxos saturados de cadeia longa são esterificados nos enterócitos e formam os triglicerídeos. Os triglicerídeos são transportados via quilomícrons no sistema linfático e depois para a corrente sanguínea. Na corrente sanguínea, eles são hidrolisados pela enzima lipase lipoproteica, ocorrendo a liberação dos ácidos graxos para os tecidos. No fígado esses ácidos graxos podem ser re-esterificados formando novas moléculas de triglicerídeos que posteriormente são transportados para o tecido adiposo para serem armazenados (SANTOS e col., 2013).

2.2. Efeitos dos ácidos graxos saturados na homeostase metabólica

O consumo de dietas ricas em gordura saturada é comprovadamente um dos fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade em humanos e em animais experimentais (FEOLI e col., 2003). Além disso, o consumo excessivo de gordura saturada também está associado ao aumento da concentração sérica de colesterol (LAUBER; SHEARD, 2001) e suas frações, especialmente as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-c) e baixa densidade (LDL-c) (MASON e col., 2009; JACC, 2010). Ademais, os ácidos graxos saturados (AGS) também estão envolvidos na ativação da resposta inflamatória, levando a uma alta suscetibilidade no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (WALL-MEDRANO e col., 2017).

Os AGS, provenientes da dieta que possuem forte relação com o desenvolvimento de hipercolesterolemia são principalmente os ácidos graxos mirístico, láurico e palmítico (KRIS-ETHERTON e col., 1997). O ácido graxo láurico, em especial, se comporta tanto como um ácido graxo de cadeia média, que durante o processo de absorção e transporte é direcionado diretamente ao fígado para produção de energia, como também se comporta como ácido graxo de cadeia longa, sendo, portanto, transportado por quilomícrons (DENKE e GRUNDY, 1992; SWIFT e col., 1990). O ácido graxo láurico possui efeito aterogênico e também possui a capacidade de elevar HDL-c e LDL-c (TURPEINEN e col., 1979; GARCI-FUENTES e col., 2003; WALL-MEDRANO e col., 2017).

Além disso, outro efeito do consumo crônico de AGS está ligado à diminuição na secreção de insulina, exercendo efeito negativo na homeostase da glicose (RISÉRUS; WILLETT, 2009). O tecido adiposo branco possui uma capacidade para absorção e armazenamento de lipídeos circulantes, quando essa capacidade é ultrapassada cronicamente,

os ácidos graxos acumulam-se em outros tecidos tais como o fígado e o músculo esquelético, porém esses tecidos apresentam capacidade limitada para armazenar lipídeos, e o acúmulo anormal nesses órgãos está relacionado com o surgimento de resistência a insulina (SAMUEL, 2011).

2.3. Lipídeos e *status redox*

O desequilíbrio *redox* decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesas antioxidantes que existem na célula. Essas alterações podem causar dano por oxidação das estruturas celulares como as membranas, proteínas, lipídios e DNA, levando à alteração ou cessação das vias de sinalização celular e ativação ou inativação de enzimas metabólicas. Desse modo, o desequilíbrio *redox* tem relevantes implicações sobre o processo etiológico de numerosas enfermidades crônicas não transmissíveis (FARÍAS e col., 2017).

Dentre os vários fatores que modulam o processo *redox*, destaca-se a dieta. O consumo excessivo de lipídeos, em especial os ácidos graxos saturados (AGS), está relacionado com a formação demasiada de espécies reativas de oxigênio (ERO) e/ou com a ineficácia dos mecanismos de defesa antioxidantes que impedem a neutralização das ERO, ocasionando o comprometimento da homeostase *redox* e executando importante papel na fisiopatologia da obesidade, esteatose hepática, aterosclerose e doenças cardiovasculares (PELUSO e col., 2012; ESTADELLA e col., 2003).

As defesas antioxidantes têm o objetivo de controlar a formação das espécies reativas e a ocorrência dos danos às células, sendo esta defesa realizada por sistemas enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes não enzimáticos em sua maioria são exógenos, ou seja, necessitam ser absorvidos pela alimentação apropriada, e incluem a vitamina C e E, carotenoides e flavonoides. Os antioxidantes enzimáticos incluem as enzimas, Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx) (BARBOSA e col., 2010). A SOD realiza esse efeito por meio da dismutação do superóxido de oxigênio (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 formado pode ser convertido em água por ação da CAT ou da GPx (NAUDI e col., 2011; DASURI; ZHANG; KELLER, 2013).

A CAT é responsável por catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Essa enzima utiliza o ferro ou manganês como cofator da reação, protegendo

assim a célula (DRÖGE; GANDHI; ABRAMOV, 2002; DASURI; ZHANG; KELLER, 2013). E, por fim, a GPx possui a capacidade de converter o peróxido de hidrogênio em água, além de promover a reação da glutatona reduzida (GSH) com o peróxido de hidrogênio, convertendo GSH em glutatona oxidada (GSSG). É necessária a redução da GSSG em GSH para que o sistema continue funcionando, sendo que a enzima Glutaciona Redutase (GR) é o catalisador da reação (LU, 2000; HAYES; FLANAGAN; JOWSEY, 2005).

Entretanto, quando a produção de espécies reativas excede o nível basal, a capacidade de ação dos antioxidantes estará comprometida, ocorrendo assim o favorecimento da oxidação de biomoléculas, gerando metabólitos específicos, os marcadores do estresse oxidativo. Tais marcadores são derivados da oxidação de lipídeos, como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA) (BARBOSA e col., 2010). Sendo assim, os organismos vivos possuem sistemas regulados para que a produção e a eliminação de ERO sejam bem equilibradas resultando em níveis estacionários de ERO (LUSHCHAK, 2014).

2.4. Óleo de coco

O coco (*Cocos nucifera*) pertence à família dos *Coconut Arecaceae (Palmae)*, a subfamília *Cocoideae* (CHAN; ELEVITCH, 2006). O óleo extraído do coco é composto pelos ácidos graxos: ácido láurico 12:0 (49%), ácido palmítico 16:0 (10%), ácido caprílico 8:0 (8%), ácido mirístico 14:0 (8%), ácido cáprico 10:0 (7%), ácido oleico 18:1 (6%), ácido linoleico 18:2 (2%) e ácido esteárico 18:0 (2%). Esses ácidos graxos não participam da biossíntese e transporte de colesterol, pois o óleo de coco é constituído em sua maior parte por ácidos graxos saturados de cadeia média, que durante o processo de absorção e transporte vão diretamente para o fígado para produção de energia (DEBMANDAL; MANDAL, 2011).

Apesar de ser altamente saturado, o óleo de coco é líquido à temperatura ambiente, devido à predominância de ácidos graxos de cadeia média (70 – 80%), sendo o ácido láurico (12:0) o principal representante (MARTINS; SANTOS, 2015).

Um estudo evidenciou os efeitos benéficos do óleo de coco virgem *in vitro* mostrou que este óleo reduziu o colesterol total, triglicerídeos, fosfolipídeos, LDL-c, VLDL-c e aumentou os níveis de HDL-c. A fração de polifenóis do óleo de coco virgem mostrou atividade de prevenção da oxidação de LDL-c. Os benefícios do consumo de óleo de coco

virgem que incluem atividade antiulcerogênica, antinoceptiva, anti-inflamatória, antimicrobiana e hepatoprotetora também foram evidenciados (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004).

Sabe-se que ácidos graxos saturados com altos níveis de ácido láurico levam a um perfil lipídico mais favorável do que uma gordura rica em ácidos graxos *trans*. Em contrapartida, os demais tipos de gorduras saturadas, especialmente ácido mirístico e palmítico, apresentam alto potencial em aumentar LDL-c e HDL-c (SANTOS e col., 2013), além de causarem resistência à insulina e contribuírem para o acúmulo de gordura corporal (BENOIT e col., 2009). O AGS mirístico presente no óleo de coco, assim como outros ácidos graxos saturados possui efeitos negativos a saúde. Nos países industrializados, o seu consumo em excesso está relacionado ao aumento de colesterol plasmático e mortalidade por doenças cardiovasculares (RIOUX e col., 2011).

Neste sentido, nos últimos anos aumentou-se consideravelmente o consumo do óleo de coco sustentado pela difusão do conhecimento de que este óleo funcionaria como um alimento complementar com inúmeras propriedades benéficas para a saúde, como fortalecimento do sistema imunológico, melhor digestão e redução da gordura abdominal. Por isto, recentemente, foi divulgado o posicionamento oficial da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) e a Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO) sobre o uso de óleo de coco para perda de peso. A SBEM e a ABESO posicionaram-se contra a utilização terapêutica do óleo de coco para esta finalidade, considerando tal conduta não ter evidências científicas de eficácia e apresentar potenciais riscos à saúde. Também não recomendaram o uso regular deste óleo para cozimento de alimentos, devido ao seu alto teor de gorduras saturadas e perfil pró-inflamatório.

Sendo assim, mais estudos tornam-se necessários para averiguar as alterações metabólicas que podem ser induzidas pelo consumo crônico de óleo de coco na ausência de patologias pré-existentes.

3. JUSTIFICATIVA

Devido às mudanças observadas quanto ao consumo de lipídeos na dieta, especialmente ao aumento no consumo de óleos vegetais em substituição a gordura suína, pesquisas que busquem elucidar os efeitos deste tipo de gordura sobre a homeostase de indivíduos saudáveis são importantes, uma vez que o tipo e a quantidade de gordura podem contribuir na prevenção ou no desenvolvimento de diversas patologias. Neste sentido, a pergunta central do nosso trabalho baseia-se na averiguação das possíveis alterações bioquímicas e do *status redox* em ratas sem doença pré-existente, ou seja, em ratas metabolicamente saudáveis.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Verificar o efeito do consumo crônico de óleo de coco na modulação de parâmetros metabólicos e do *status redox* em ratas saudáveis da linhagem Fisher. Para isso foram abordados os seguintes objetivos específicos.

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do consumo crônico de óleo de coco sobre os parâmetros glicometabólicos (glicemia, insulina e o índice HOMA-IR) em ratas saudáveis;
- Avaliar os efeitos do consumo crônico de óleo de coco sobre o perfil lipídico sérico (triglicerídeos, colesterol total, HDL-c e fração aterogênica VLDL-c + LDL-c) em ratas saudáveis;
- Avaliar os efeitos do consumo crônico de óleo de coco sobre o perfil lipídico hepático (triglicerídeos e colesterol total) em ratas saudáveis;
- Avaliar os efeitos do consumo crônico de óleo de coco sobre as defesas antioxidantes através da análise da atividade das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) e da concentração de glutatona total e suas frações, bem como a razão GSH:GSSG no fígado de ratas saudáveis e

- Verificar os efeitos do consumo crônico de óleo de coco sobre o biomarcador de produto de dano oxidante (TBARS) no fígado de ratas saudáveis.

5. METODOLOGIA

5.1. Delineamento Experimental

Foram utilizadas 17 ratas albinas saudáveis da linhagem Fisher, com peso médio de 215g, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição (ENUT) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais, a saber: Grupo controle (C, N= 8), o qual recebeu apenas água, e Grupo óleo de coco (OC, N= 9). A água e o óleo de coco foram administrados por gavagem (1mL/250g de massa corpórea) e o delineamento experimental teve duração de 90 dias. A determinação do volume de 0,9 mL de óleo de coco e água foi realizada de acordo com Ortiz-Avila e col. (2015), que propõem a administração de 1mL/ 250g de massa corpórea (equivalente aprox. 3,6g/kg por dia) não ultrapassando o volume máximo de 1,5mL/dia.

Todos os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno (41x34x16cm) com temperatura, luminosidade e umidade controladas. Durante todo o experimento os animais receberam água e ração comercial (Nuvilab CR1- Nuvital®- colombo, Brasil) “*ad libitum*”. Todos os procedimentos adotados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), com número de protocolo 079/2016 (Anexo 1).

Após 90 dias, os animais foram anestesiados por inalação com isoflurano seguido de exsanguinação dos vasos que irrigam a região do plexo braquial. O sangue foi coletado e posteriormente centrifugado para obtenção do plasma e soro, sendo esses usados para análise da concentração de glicose e perfil lipídico, respectivamente. O fígado foi extraído e pesado, e posteriormente utilizado para análise do perfil de lipídeos e análise do *status redox*. O plasma, o soro e o fígado foram armazenados em freezer com temperatura de -80°C.

5.2. Obtenção do óleo de coco

O óleo de coco utilizado no experimento foi obtido através do site comercial da marca Relva Verde. A composição nutricional informada no rótulo está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição nutricional do óleo de coco informada pelo fabricante Relva Verde

	Quantidade por porção (porção de 13 mL - 1 colher de sopa)	%VD*
Valor Energético	108 kcal (= 454 KJ)	5
Gorduras Totais, das quais:	12g	22
Gorduras Saturadas	11g	50
Gorduras Insaturadas, das quais:	0,9g	-
Gorduras Monoinsaturadas	0,7g	-
Gorduras Poli-insaturadas	0,2g	-
Gorduras <i>Trans</i>	0g	-

Não contém quantidades significativas de carboidratos, proteínas, gorduras *trans*, fibra alimentar e sódio. * %: Valores diários com base em uma dieta de 2.000Kcal ou 8.400KJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

5.3. Avaliação dos parâmetros glicometabólicos

5.3.1. Determinação da concentração de glicose

A análise da concentração plasmática de glicose foi realizada por meio de kit comercial do laboratório LABTEST® (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante.

5.3.2. Avaliação da concentração de insulina no plasma

Foi utilizado o kit comercial *ELISA Kit For Insulin (INS), Rattus norvegicus (Rat)* Cloud-Clone Corp. (Houston, EUA), para a determinação da concentração de insulina no plasma pelo método imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) de inibição competitiva, seguindo orientações do fabricante. A determinação da concentração de insulina no plasma foi feita em placa com poços sensibilizados, em que foram adicionados 50 µL de um anticorpo anti-insulina e 50 µL de amostra. Após a sensibilização, a placa foi incubada a 37 °C por 1 hora.

Em seguida, foram adicionados 100 µL do anticorpo anti-insulina (ligado a peroxidase) seguido de incubação a 37 °C por 30 minutos e foi feita a lavagem dos poços.

Posteriormente, foram adicionados 90 μL da solução de substrato (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB)) a cada poço seguido de nova incubação a 37 °C por 20 minutos. A leitura das absorbâncias foi feita em leitor de ELISA a 450nm.

A partir da equação da reta gerada, foi obtida a concentração de insulina no plasma a partir das diluições do padrão de insulina.

5.3.3. Índice HOMA-IR

A fim de verificar se os animais do estudo desenvolveram resistência à insulina após o consumo crônico do óleo de coco, foi calculado o índice HOMA (MATTHEWS e col. 1985). Esse cálculo matemático prediz o nível de resistência à insulina de acordo com a concentração de glicose e insulina em jejum, de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{IJ} \times \text{Gj}}{22,5}$$

Onde:

IJ: insulinemia de jejum (mU/L)

Gj: glicemia de jejum (mmol/L)

5.4. Avaliação do perfil lipídico sérico

Os triglicerídeos, colesterol total, HDL e fração aterogênica (VLDL-c + LDL-c) no soro foram realizados através de kit comercial do laboratório LABTEST (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante.

5.5. Extração e dosagem de lipídeos hepáticos

Para realizar a dosagem de lipídeos hepáticos foi necessário extrair os lipídeos totais do fígado, que foi feita de acordo com o método proposto por Folch e col. (1957).

Suscintamente, 200 mg de tecido hepático foram homogeneizados utilizando 4 mL de solução clorofórmio-metanol (2:1 vol/ vol). Depois, foram adicionados 400 µL de metanol ao homogenato e o mesmo agitado no vórtex por 3 minutos. Após agitação, o homogenato foi centrifugado a $3.000 \times g$, por 10 minutos.

Retirou-se o sobrenadante e o transferiu para um novo tubo previamente pesado, ao qual foram adicionados 800 µL de clorofórmio e 320 µL de solução de NaCl 0,73%. Em seguida, houve nova centrifugação a $3.000 \times g$, por 10 minutos. Descartou-se o sobrenadante e o precipitado foi lavado 3× com 150 µL de solução de Folch (48% metanol + 47% água + 3% de clorofórmio + 2% de NaCl 0,2%). O produto lipídico foi seco em estufa semiaberta a 50°C para total evaporação do solvente.

Após a total evaporação do solvente, os tubos foram transferidos para o dessecador e pesados novamente. A quantidade de lipídeos na amostra foi determinada de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Quantidade de lipídeos (g)} = \text{Pt final} - \text{Pt inicial} / \text{peso relativo do órgão}$$

Onde:

Pt final: peso final do tubo

Pt inicial: peso inicial do tubo

Após a extração, os lipídeos foram solubilizados em 200 µL de isopropanol. Em seguida, determinou-se a concentração de triglicerídeos e colesterol total hepático, utilizando-se LABTEST®, sendo os protocolos disponibilizados pelo fabricante.

5.6. Análise das defesas antioxidantes

5.6.1. Dosagem de proteínas totais

A concentração de proteínas totais foi determinada baseada no método de Lowry (Lowry e col., 1951). Este método foi utilizado para quantificar proteínas totais nos homogenatos que foram utilizados para a dosagem de catalase e SOD, a fim de fornecer informações necessárias para os cálculos subsequentes.

Primeiramente, foi preciso preparar os reagentes de acordo com o descrito abaixo:

Reagente A: Acrescentou-se 0,25g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 0,5g de citrato de sódio em 100 mL de água destilada;

Reagente B: Dissolveu-se 5g de carbonato de sódio e 1g de hidróxido de sódio em 250 mL de água destilada e depois foi armazenado em temperatura ambiente.

Reagente C: Acrescentou-se 1 mL do reagente A em 50 mL do reagente B. Para 50 mL de reagente B, adicionar 1 mL de reagente A (reagente este que foi preparado na hora da dosagem);

Reagente D: Dissolveu-se 1 mL de Folin Ciocalteau em 1 mL de água destilada.

Suscintamente, 100 μL de amostra foram colocados em tubos de polietileno, posteriormente, 1 mL do reagente C foi acrescentados em todos os tubos (amostras, padrões e branco) e a mistura foi incubada a temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida, foram adicionados 100 μL do reagente D em todos os tubos, e incubados no escuro a temperatura ambiente por 30 minutos. Para o branco, foi utilizado 100 μL de água destilada. As leituras das absorvâncias foram realizadas no espectrofotômetro a 660 nm. Por fim, os cálculos basearam-se na equação da reta obtida, em que uma solução de albumina 2 mg/ mL e as respectivas diluições forneceram os 5 pontos da curva.

5.6.2. Atividade da catalase (CAT)

A determinação da atividade da enzima catalase é baseada na sua capacidade de clivar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio molecular, conforme descrito por AEBI (1984).

Resumidamente, um fragmento de 100 mg de tecido hepático foi homogeneizado em 1 mL de tampão fosfato 0,1 M, (pH 7,2) e em seguida centrifugado a 10.000 g por 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi retirado e utilizado como amostra biológica. Inicialmente foi realizado um teste para verificar a linearidade das absorvâncias e a necessidade ou não de diluir as amostras. Após o teste, optou-se por diluir a amostra 50 \times (490 μL de água destilada e 10 μL da amostra). Desta amostra diluída foram retirados 10 μL e colocados em novo tubo. A reação foi iniciada pela adição de 990 μL de H_2O_2 (10 mM). As absorvâncias foram determinadas a cada minuto, durante 2 minutos, a 240 nm. O tampão fosfato 0,1M (pH 7.2)

foi utilizado como branco. Usualmente a atividade desta enzima é representada em Unidade por mg de proteína.

$$\text{Catalase (U/mg de proteína)} = \frac{\Delta A * \text{diluição}}{V * \epsilon * \text{mg de proteína}}$$

Onde:

ΔA : variação da absorbância

ϵ : Coeficiente de extinção molar ($0,071 \text{mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1} / 1\text{U}$)

V: volume da amostra (mL)

5.6.3. Atividade da Superóxido dismutase (SOD)

Resumidamente, 100 mg de tecido hepático foram homogeneizados em 1 mL de tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 7.2). O homogenato foi centrifugado a 10.000 g por 10 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi retirado para ser utilizado como amostra biológica.

Foi utilizada microplaca de Elisa de 96 poços para a dosagem. Primeiro foram adicionados aos poços 30 μL de amostra diluída (20 \times) na microplaca, posteriormente acrescidos 99 μL de tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 7.2), 6 μL de MTT, 15 μL de pirogalol. Depois, a placa foi incubada por 5 minutos na estufa a 37°C. Após o período de incubação, a reação foi finalizada pela adição de 150 μL de dimetilsulfóxido (DMSO). As absorbâncias foram lidas no leitor de Elisa a 570 nm. Usualmente a atividade da SOD é representada em Unidade por mg de proteína.

5.6.4. Glutaciona total, reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e razão GSH:GSSG

A glutaciona está presente nas células principalmente na sua forma reduzida (GSH) (90%), o restante aparece na forma de glutaciona oxidada (GSSG). Esta dosagem foi adaptada do kit comercial Sigma #CS0260, e utiliza um método cinético para mensurar os níveis de

glutationa total (GSH+GSSG) em amostras biológicas, através da redução do DTNB (Ácido 5,5'-Ditio-bis-(2-nitrobenzóico) à TNB.

Inicialmente, 100 mg de fígado foram homogeneizados com 1 mL de ácido de sulfossalicílico (SSA) 5%, e em seguida centrifugado a 10.000 g por 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi retirado e usado como amostra biológica.

Para analisar a concentração de glutatona total foi utilizada microplaca de 96 poços para a dosagem, nos quais foram adicionados aos poços 10 µL de amostra diluída (2×), e para o branco foi utilizado 10 µL de SSA 5%. Em seguida foram adicionados aos poços 150 µl da mistura de trabalho, composta por glutatona redutase, DTNB, e tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 7,2). As amostras foram incubadas por 5 minutos e em seguida a reação foi iniciada com a adição de 50 µl de solução de NADPH (0,16 mg/ mL). Com o início da reação, a absorbância foi imediatamente medida a 405 nm utilizando um leitor de placa de ELISA (Biotek ELx808). Foram realizadas 5 leituras com intervalo de 1 minuto entre as leituras.

Para análise da concentração de glutatona oxidada, o procedimento anterior foi realizado da mesma maneira, porém a amostra biológica passou por um processo de derivatização antes do início da dosagem. Para isso em tubos de polietileno foram adicionados 100 µl de amostra e acrescentado a esse 2 µl de vinilpiridina e 5 µl de TEA. Em seguida, foi mensurado o pH das amostras e as mesmas apresentaram pH entre 6-7. Posteriormente os tubos foram incubados a temperatura ambiente por 1 hora, e após esse período 10 µl de amostra foi transferido dos tubos para os poços de uma microplaca de 96 poços. Posteriormente foi acrescentado aos poços a mistura de trabalho, como descrito anteriormente.

As concentrações da glutatona total e oxidada foram encontradas a partir da equação da reta gerada, onde foram utilizados padrões com concentração de 10 mM e suas diluições. Para encontrar a concentração de glutatona reduzida (GSH), a glutatona total foi subtraída do valor da concentração da glutatona oxidada. A razão GSH/ GSSG foi obtida através da divisão da concentração de glutatona reduzida (GSH) pela concentração de glutatona oxidada (GSSG).

5.7. Análise dos Produtos de Dano Oxidante

5.7.1. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

O TBA (ácido tiobarbitúrico) possui a capacidade de se ligar a lipídeos oxidados, permitindo a quantificação de TBARS por espectrofotometria (BUEG e AUST, 1978).

Resumidamente, 100 mg de tecido foram homogeneizados em 1 mL de tampão Tris HCl (pH 7,4). Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e utilizado na dosagem.

Para realizar a dosagem de TBARS, inicialmente foram adicionados 250 µL de sobrenadante em tubos de polietileno e, posteriormente, adicionados 125 µL de TCA, 125 µL de TBA e 62,5 µL de BHT. Os tubos foram agitados e incubados por 15 minutos em termobloco a 95°C. Em seguida, os tubos foram colocados por 5 minutos em banho de gelo e, em seguida, centrifugados por 10 minutos a 13.000 g a 4°C. Após a centrifugação, foram retirados 200 µL do sobrenadante e colocados em placa de 96 poços. A leitura foi realizada em leitor de placa a 535 nm.

5.8. Análises Estatísticas

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a normalidade dos dados. Para os dados que apresentaram distribuição normal foi utilizado o teste t de *student*, e os resultados expressos como média ± desvio padrão.

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism 5.0 para Windows e diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1. Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos

6.1.1. Avaliação dos Parâmetros Glicometabólicos

Com o objetivo de avaliar se o consumo crônico de óleo de coco levou a alterações dos parâmetros glicometabólicos de ratas saudáveis foram determinadas as concentrações de glicose e insulina. A partir das concentrações de glicose e insulina em jejum, foi possível calcular o índice HOMA-IR, de acordo com a metodologia descrita anteriormente. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Avaliação dos parâmetros glicometabólicos em ratas Fisher saudáveis.

Parâmetros	C (n=8)	OC (n=9)
Glicose (mmol/L)	140,1 ± 38,05 ^a	162,7 ± 33,48 ^a
Insulina (mU/L)	820,4 ± 128,4 ^a	836,8 ± 130,1 ^a
Índice HOMA-IR	7,549 ± 2,169 ^a	9,399 ± 1,928 ^b

Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade dos dados, seguido do Teste t *Student*. Os dados foram expressos como média ± SD. Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$ e representadas por letras diferentes. Grupo controle (C); grupo óleo de coco (OC).

Em relação aos parâmetros glicometabólicos não foram observadas diferenças significativas em relação às concentrações de glicose e insulina em jejum entre os grupos experimentais. Entretanto, ao analisar o índice HOMA-IR observa-se um aumento desse parâmetro nos animais do grupo OC quando comparado ao controle.

6.1.2. Avaliação do Perfil Lipídico Sérico e Hepático

A fim de avaliar possíveis alterações no metabolismo lipídico das ratas saudáveis submetidas à ingestão crônica de óleo de coco, foram determinadas as concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, HDL e fração aterogênica (figura 1). Também foi determinada a concentração de colesterol total e triglicerídeos hepáticos (figura 2). Os resultados obtidos na análise do perfil lipídico sérico e hepático estão representados nas figuras 1 e 2, respectivamente.

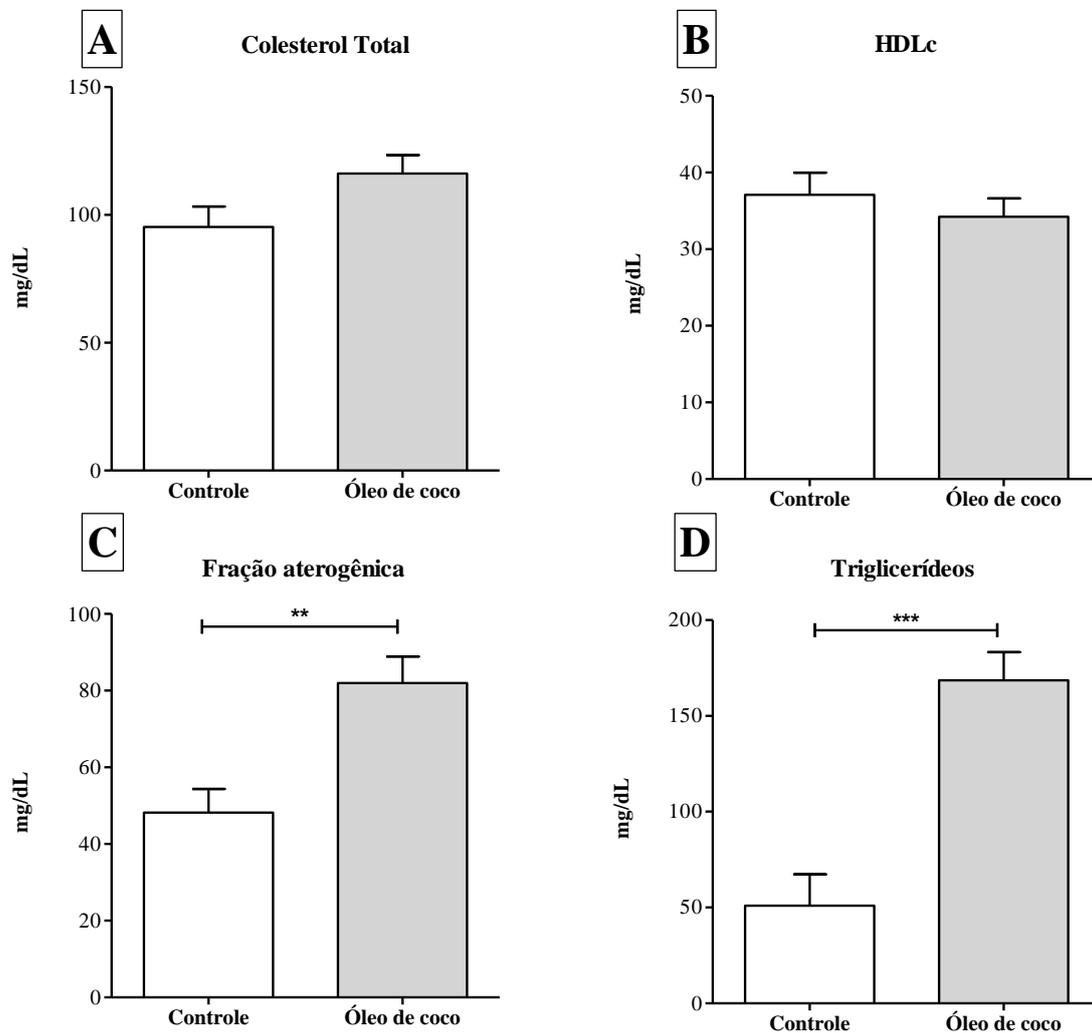


Figura 1: Avaliação do perfil lipídico sérico de ratas Fisher saudáveis. Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade dos dados, seguido do Teste t *Student*. Os dados foram expressos como média \pm SD. Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Em relação ao perfil lipídico sérico, o colesterol total (painel A) e HDL-c (painel B) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Entretanto, observamos um aumento da fração aterogênica (painel C) no grupo OC em relação ao grupo C. Também foi verificado um aumento da concentração de triglicerídeos (painel D) no grupo OC.

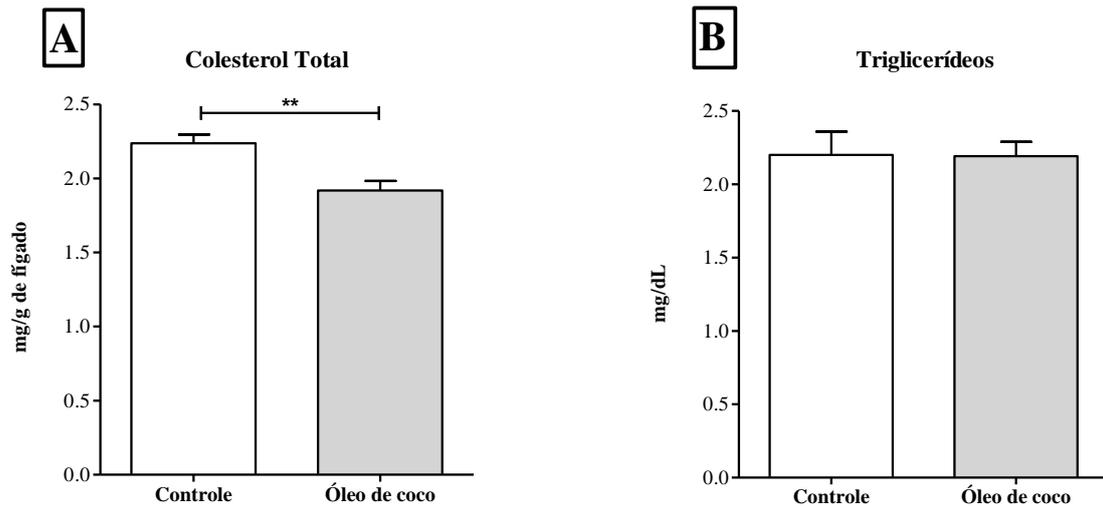


Figura 2: Avaliação do perfil lipídico hepático de ratas Fisher saudáveis. Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade dos dados, seguido do Teste t *Student*. Os dados foram expressos como média \pm SD. Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$; $**p < 0,01$.

Ao analisar o perfil lipídico hepático, observa-se uma redução na concentração de colesterol total (painel A) no grupo OC em relação ao controle. Não foi observada diferença significativa entre os grupos em relação à concentração de triglicerídeos hepático (painel B).

6.2. Avaliação do *Status redox*

Com a finalidade de avaliar os efeitos do consumo crônico de óleo de coco sobre as possíveis alterações no *status* antioxidante no fígado de ratas saudáveis foram determinadas a atividade das enzimas, catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), a concentração de glutatona total e suas frações, bem como a razão GSH:GSSG.

Além disso, para uma melhor compreensão a respeito do balanço redox após o consumo crônico do óleo de coco, também foi determinada a concentração de substâncias

reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), um biomarcador de peroxidação lipídica. Os resultados obtidos estão representados na tabela 3.

Tabela 3: Avaliação do *status redox* no fígado de ratas saudáveis.

Parâmetros	C (n=8)	OC (n=9)
SOD (U/ mg de proteína)	1,808 ± 0,2617 ^a	1,666 ± 0,2556 ^a
CAT (U/ mg de proteína)	218,9 ± 102,8 ^a	188,7 ± 56,13 ^a
GSSG (nmols/ mL)	25,05 ± 13,88 ^a	23,57 ± 16,08 ^a
GSH (nmols/ mL)	325,7 ± 142,5 ^a	264,1 ± 147,8 ^a
Razão GSH/ GSSG	14,42 ± 3,729 ^a	12,15 ± 3,115 ^a
TBARS (nmol – mL ⁻¹ / mg de proteínas)	0,202 ± 0,075 ^a	0,329 ± 0,105 ^b

Os dados foram expressos como média ± erro padrão. Foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade dos dados. Para os dados que apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste t de *student*, onde diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0.05$ quando comparados ao grupo controle e representadas por letras diferentes. Grupo controle (C); grupo óleo de coco (OC); Superóxido Dismutase (SOD); Catalase (CAT); Glutathione Oxidada (GSSG); Glutathione Reduzida (GSH); Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Em relação às defesas antioxidantes (SOD, CAT, glutathione oxidada, glutathione reduzida e razão GSH/GSSG), não foi observada diferenças significativas entre os grupos. Porém, quando analisamos o produto de dano oxidativo, houve um aumento de TBARS no grupo OC em relação ao grupo controle.

7. DISCUSSÃO

Em nossos resultados, observamos que o óleo de coco induziu alteração nos parâmetros glicometabólicos, em que houve aumento do índice HOMA-IR, alterações no metabolismo lipídico sérico com o aumento da fração aterogênica e um aumento da concentração de triglicérides, além de levar a alteração no perfil lipídico hepático, o que contribuiu para uma redução da concentração de colesterol total hepático. Em relação ao *status redox* houve aumento do dano oxidativo hepático, observado por meio do aumento nos níveis de TBARS. As diferenças estatísticas encontradas nesses resultados e as hipóteses levantadas serão discutidas no decorrer deste texto.

Compreende-se que o consumo exagerado de lipídeos, principalmente os provenientes de óleos vegetais, pode ter efeitos negativos no organismo de acordo com a composição da gordura proveniente da dieta. Desse modo, a alta ingestão de ácidos graxos saturados quando associada ao sedentarismo pode levar ao desenvolvimento da obesidade e outras doenças crônicas não transmissíveis (LIMA e col., 2017). Sendo assim, este estudo é necessário para averiguar as alterações metabólicas que podem ser induzidas pelo consumo crônico de óleo de coco na ausência de alterações metabólicas pré-existentes.

Em relação aos parâmetros glicometabólicos, verificamos que o grupo óleo de coco não apresentou diferenças significativas nas concentrações de glicose e insulina. Entretanto, ao calcularmos o índice HOMA-IR percebe-se que houve aumento desse parâmetro nesse grupo.

O índice HOMA-IR é um Modelo de Avaliação da Homeostase que serve para avaliar a resistência à insulina e a atividade do pâncreas. Segundo McGuinness e col., (2009), o uso desse índice em roedores pode levar a uma variação nos níveis de glicose e insulina, de modo que um jejum prolongado pode acarretar na ativação do sistema contra regulatório que é ativado quando a glicose no sangue está abaixo de 80 mg/dL, levando a falsas interpretações (AYALA e col., 2010).

O aumento do índice HOMA-IR observado no grupo óleo de coco pode ter ocorrido em virtude da composição de ácidos graxos desse óleo, uma vez que ele é rico em ácidos graxos saturados. Desse modo, sugerimos que a resistência à insulina observada nos animais do grupo OC, pode ter ocorrido devido a um aumento de lipídeos circulantes, especialmente os ácidos graxos livres e seus metabólitos como o diacilglicerol, acetil-CoA e as ceramidas (SHULMAN, 2004; SAVAGE; PETERSEN e SHULMAN, 2007). Esses metabólitos são

provenientes da oxidação das gorduras, e possui a capacidade de ativar proteínas sinalizadoras importantes e comprometer a sinalização da insulina levando à resistência a insulina (SHULMAN, 2004).

São raros os estudos que avaliam a relação entre o consumo do óleo de coco e parâmetros glicometabólicos. No estudo de Assunção e col., (2009), mulheres com obesidade abdominal que ingeriram suplementos dietéticos diários com óleo de coco exibiu maior liberação de insulina e, também, aumento significativo do valor do índice HOMA-IR.

Ainda em relação aos parâmetros bioquímicos, analisamos os efeitos do óleo de coco sobre o perfil lipídico sérico e hepático. Nossos resultados apontam que não houve diferenças significativas nas concentrações de HDL-c e de colesterol total sérico. Porém, houve aumento das concentrações séricas de triglicerídeos e da fração aterogênica (LDL-c + VLDL-c) no grupo óleo de coco. Em relação aos efeitos do consumo do óleo de coco sobre o perfil lipídico hepático, constatamos uma redução do conteúdo de colesterol total.

O consumo excessivo de dietas ricas em gordura saturada está associado ao aumento da concentração sérica de colesterol (LAUBER; SHEARD, 2001) e suas frações, especialmente as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-c) e baixa densidade (LDL-c) (MASON e col., 2009; JACC, 2010). O óleo de coco é composto principalmente por ácidos graxos saturados, cerca de 80%, sendo que os principais saturados presentes são o caprílico (C8:0), láurico (C12:0) e mirístico (C14:0), chamados de ácidos graxos de cadeia média (MARTINS e col., 2015; MARIANA e col., 2009).

Desse modo, sugerimos que os efeitos observados após a ingestão crônica de óleo de coco sobre as modificações do perfil lipídico sérico e hepático dos animais podem estar relacionado à composição de ácidos graxos presentes nesse óleo.

O ácido graxo láurico possui efeito aterogênico e também possui a capacidade de elevar HDL-c e LDL-c (TURPEINEN e col., 1979; GARCI-FUENTES e col., 2003). O ácido graxo mirístico (C14:0) presente no óleo de coco, assim como outros ácidos graxos saturados possui efeitos negativos a saúde. Nos países industrializados, o seu consumo em excesso está relacionado ao aumento de colesterol plasmático e mortalidade por doenças cardiovasculares (RIOUX e col., 2011).

Resultados semelhantes aos encontrados na análise do perfil lipídico sérico, também foram encontrados por Wall-Medrano e col., (2017). Eles avaliaram o efeito do consumo de

óleo de coco sobre o perfil lipídico em animais e encontraram um efeito aterogênico com a elevação de LDL-c e VLDL-c e também mostraram aumento dos níveis de triglicerídeos sérico. Celeski e col., (2013) também evidenciaram que a administração do óleo de coco em ratos mostrou-se promotora de hipertrigliceridemia significativa, porém não foi acompanhada de hipercolesterolemia.

No presente estudo observamos um aumento significativo entre os grupos em relação à fração aterogênica sérica, porém observamos uma diminuição do colesterol total hepático. Sabe-se que o consumo de gordura saturada (C12:0, C14:0 e C16:0), especialmente o ácido graxo mirístico, está relacionado com aumento da concentração plasmática de colesterol. Diversos mecanismos são propostos para justificar essa alteração, dentre eles podemos destacar a redução dos receptores de LDL-c hepáticos e a maior atividade da ACAT (acilcolesteril-aciltransferase), aumentando a esterificação do colesterol (DAUMERIE; WOOLLETT e DIETSCHY, 1992; LEE e CARR, 2004). Esses mecanismos, analisados em conjunto, poderiam justificar a redução de colesterol hepático observada em nossos resultados, pois o aumento na taxa de esterificação do colesterol leva a uma diminuição nos níveis de colesterol hepático livre. Além disto, o aumento da fração aterogênica sérica pode ser justificado pela redução dos receptores de LDL-c hepático e, conseqüentemente, aumento nos níveis de LDL-c sérico representado, parcialmente neste estudo, pela fração aterogênica (LDL-c + VLDL-c).

Ademais os resultados observados neste estudo estão de acordo com os observados por Lecker e col., (2010) que relataram que o grupo de hamsters tratado com óleo de coco apresentou um aumento significativo da fração não HDL-c (neste estudo denominada fração aterogênica) e triglicerídeos séricos. Os resultados encontrados também estão de acordo com Lee e Carr (2004), eles evidenciaram que hamsters alimentados com dieta rica em ácido graxo palmítico e ácidos graxos trans apresentaram concentrações de colesterol não-HDL no plasma mais altas comparadas com aquelas alimentadas com ácido oleico e ácido linoléico, além de encontrarem resultados com redução de colesterol total hepático nesses animais.

Em relação aos biomarcadores do *status redox* nossos resultados evidenciaram que houve um aumento na produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no grupo óleo de coco, mas sem alteração no *status* antioxidante.

Os marcadores do estresse oxidativo são derivados da oxidação de lipídeos e são constituídos por TBARS, proteínas e ácido desoxirribonucleico. A oxidação de biomoléculas

lipídicas ocorre quando a produção de espécies reativas excede o nível basal e a capacidade de ação dos antioxidantes está de algum modo comprometida, gerando assim, esses metabólitos específicos (BARBOSA e col., 2010; LUSHCHAK, 2014). Desse modo, o consumo crônico de óleo de coco aumentou a peroxidação lipídica, porém não houve alterações na atividade das enzimas antioxidantes. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos prévios por Paula (2017) e Olivero e col., (2003), no qual a suplementação com óleo de coco aumentou as concentrações de TBARS.

8. CONCLUSÃO

O crescente aumento no consumo de óleo de coco pela população tornam necessários estudos que busquem elucidar o impacto do seu consumo na saúde dos indivíduos. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o consumo de óleo de coco, rico em ácidos graxos saturados, deve ser realizado com moderação, uma vez que o seu consumo causou alterações na homeostase metabólica e *redox* em animais saudáveis submetidos à ingestão crônica do óleo de coco. Desta forma, mais estudos são necessários para verificar o seu efeito na saúde dos indivíduos, bem como estabelecer valores seguros para o seu consumo pela população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAIR, Linda S.; POPKIN, Barry M. Are child eating patterns being transformed globally?. **Obesity research**, v. 13, n. 7, p. 1281-1299, 2005.
- ASSUNÇÃO, M.L. e col. Effects of dietary coconut oil on the biochemical and anthropometric profiles of women presenting abdominal obesity. **Lipids**, 44: 593 – 601, 2009;
- BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira e col. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 23, n. 4, p.629-643, ago. 2010.
- BUEG, J. A., AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v. 52, p. 302-310, 1978.
- CALDER, P. C. **Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases**. *Molecular nutrition & food research*, v. 52, n. 8, p. 885-897, 2008.
- CELESKI, I. C.; FERGUTZ, J. K.; PEREIRA, E. M.; ZÉTOLA, M.; BAZZO, G. C.; PEZZINI, B. R. Avaliação da indução de hiperlipidemia em ratos por dexametasona e óleo de coco. **Infarma**, v. 25, n. 3, p. 126-131, 2013.
- CHAN, E.; ELEVITCH, C. R. *Cocos nucifera* (coconut). **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**, v. 2, p. 1-27, 2006.
- CURI, R.; POMPEIA, C.; MYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. Entendendo a Gordura-Os Ácidos Graxicos. **Editora Manole Ltda**, 2001.
- DASURI, K.; ZHANG, L.; KELLER, J. N. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 62, p. 170-185, 2013.
- DAUMERIE C. M.; WOOLLETT L. A.; DIETSCHY J. M. Fatty acids regulate hepatic low density lipoprotein receptor activity through redistribution of intracellular cholesterol pools. **Proc Natl Acad Sci USA**. 1992;89(22):10797-801.
- DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): in health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 241-247, 2011.
- DENKE, M. A.; GRUNDY, S. M. Comparison of effects of lauric acid and palmitic acid on plasma lipids and lipoproteins. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 5, p. 895-898, 1992.
- DEVLIN, T. M. e col. (Ed.). **Textbook of biochemistry: with clinical correlations**. 2006.
- DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological reviews**, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.
- ESTADELLA, D.; DA PENHA OLLER DO NASCIMENTO, C. M.; OYAMA, L. M.; FEOLI, A. M.; ROEHRIG, C.; ROTTA, L. N.; KRUGER, A. H.; SOUZA, K. B.; KESSLER,

A. M.; PERRY, M. L. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. **Nutrition**, v. 19, n. 9, p. 789-793, 2003.

FARIÁS, Jorge e col. Antioxidant Therapeutic Strategies for Cardiovascular Conditions Associated with Oxidative Stress. **Nutrients**, [s.l.], v. 9, n. 9, p.966-989, 1 set. 2017.

FRANCESCHINI S. C.C.; PRIORE S. E. Disponibilidade domiciliar de lipídeos para consumo e sua relação com os lipídeos séricos de adolescentes. **Rev Paul Pediatr**, v. 30, n. 2, p. 229-36, 2012.

GARCIA-FUENTES, E.; GIL-VILLARINO, A.; ZAFRA, M. F.; GARCIA-PEREGRIN, E. Influence of fasting status on the effects of coconut oil on chick plasma and lipoprotein composition. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 59, n. 2, p. 101-110, 2003.

GANDHI, S.; ABRAMOV, A. Y. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2012, 2012.

GONÇALVES V. S. S.; CHAVES O. C.; RIBEIRO S. M. R.; SANT'ANA L. F. R.; HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. Glutathione transferase. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 51-88, 2005.

JACC Study Group Yamagishi Kazumasa Iso Hiroyasu iso@ pbhel. med. osaka-u. ac. jp Yatsuya Hiroshi Tanabe Naohito Date Chigusa Kikuchi Shogo Yamamoto Akio Inaba Yutaka Tamakoshi Akiko. Dietary intake of saturated fatty acids and mortality from cardiovascular disease in Japanese: the Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk (JACC) Study. **The American journal of clinical nutrition**, 92(4), 759-765, 2010.

JUMP, D.B. Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. v. 14, p. 115–120, 2011.

KHAN, N. A. Polyunsaturated fatty acids in the modulation of T-cell signalling. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)**, v. 82, n. 4, p. 179-187, 2010.

KRIS-ETHERTON, P. M.; YU, S. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. **The American journal of clinical nutrition**, v. 65, n. 5, p. 1628S-1644S, 1997.

LAUBER, R. P.; SHEARD, N. F. The American Heart Association dietary guidelines for 2000: a summary report. **Nutrition reviews**, v. 59, n. 9, p. 298-306, 2001.

LECKER, J. L.; MATTHAN N. R.; BILLHEIMER J. T.; RADER D. J.; LICHTENSTEIN A. H. Impact of dietary fat type within the context of altered cholesterol homeostasis on cholesterol and lipoprotein metabolism in the F1B hamster. **Metabolism**, 59(10):1491-501, 2010.

LEE J. Y.; CARR T. P. Dietary fatty acids regulate acyl-CoA: cholesterol acyltransferase and cytosolic cholesteryl ester hydrolase in hamsters. **J Nutr.**,134(12):3239-44, 2004.

LIMA, Laydiane Pereira de; SAMPAIO, Helena Alves de Carvalho. Caracterização socioeconômica, antropométrica e alimentar de obesos graves. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro , v. 12, n. 4, p. 1011-1020, Ago. 2007 .

LOTTENBERG, A.M e col. The role of dietary fatty acids in the pathology of metabolic syndrome. **Journal of Nutrition Biochemistry** 23 (2012).

LOTTENBERG, A.M.P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos brasileiro de Endocrinologia metabólica**, 2009.

LU, S. C. Regulation of glutathione synthesis. **Current Topics in Cellular regulation**, v. 36, p. 95-116, 2000.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164-175, 2014.

MORATOYA, E. E.; CARVALHAES, G. C.; WANDER, A. E.; ALMEIDA, L. M. de M. C. Mudanças no padrão de consumo alimentar no Brasil e no mundo. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, DF, v. 22, n. 1, p. 72-84, jan./fev./mar. 2013.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V. D.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E. D.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, 2006.

MARTINS, J. S.; SANTOS, J. C. O. Estudo comparativo das propriedades de óleo de coco obtido pelos processos industrial e artesanal. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 515-526, 2015.

MASON, P. e col. Saturated fatty acid consumption: outlining the scale of the problem and assessing the solutions. **Nutrition bulletin**, v. 34, n. 1, p. 74-84, 2009.

NEVIN, K. G.; RAJAMOHAN, T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. **Clinical biochemistry**, v. 37, n. 9, p. 830-835, 2004.

OLIVEROS, L. B.; VIDELA, A. M.; RAMIREZ, D. C.; GIMENEZ, M. S. Dietary fat saturation produces lipid modifications in peritoneal macrophages of mouse. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 14, n. 7, p. 370-377, 2003.

ORTIZ-AVILA, O; ESQUIVEL-MARTÍNEZ, M.; OLMOS-ORIZABA, B.E.; SAAVEDRA-MOLINA, A., RODRIGUEZ-OROZCO, A.R.; CORTÉS-ROJO, C. Avocado Oil Improves Mitochondrial Function and Decreases Oxidative Stress in Brain of Diabetic Rats. **Journal of diabetes Research**, 2015.

PAULA, M. T D. Alterações metabólicas induzidas por uma dieta rica em gordura em *Drosophila melanogaster* e os efeitos da hesperidina. **Tese de Doutorado**. Tese (Doutorado em Bioquímica Toxicológica) - Universidade Federa de Santa Maria. Uruguaiana. 2017.

PELUSO, I.; MORABITO, G.; URBAN, L.; IOANNONE, F.; SERAFI, M. Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. **Endocrine**,

Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets- Immune, Endocrine & Metabolic Disorders), v. 12, n. 4, p. 351-360, 2012.

PERREAULT, M.; ROKE, K.; BADAWI, A.; NIELSEN, D. E.; ABDELMAGID, S. A.; EL-SOHEMY, A.; MUTCH, D. M. Plasma levels of 14: 0, 16: 0, 16: 1n-7, and 20: 3n-6 are positively associated, but 18: 0 and 18: 2n-6 are inversely associated with markers of inflammation in young healthy adults. **Lipids**, v. 49, n. 3, p. 255-263, 2014.

PINHEIRO, A.R.O. A alimentação saudável e a promoção da saúde no contexto da segurança alimentar e nutricional. **Saúde em Debate**, 29: 125-139, 2005.

POPKIN, Barry M. Nutrition transition and the global diabetes epidemic. **Current diabetes reports**, v. 15, n. 9, p. 64, 2015.

RIBEIRO, E. B.; DAMASO, A. R.; DE PIANO, A. Lipotoxicity: effects of dietary saturated and transfatty acids. **Mediators of inflammation**, v. 2013, 2013.

RIOUX, V.; PÉDRONO, F.; LEGRAND, P. Regulation of mammalian desaturases by myristic acid: N-terminal myristoylation and other modulations. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1811, n. 1, p. 1-8, 2011.

RISÉRUS, U.; WILLETT, W. C.; HU, Frank B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. **Progress in lipid research**, v. 48, n. 1, p. 44-51, 2009.

SAMUEL, V. T. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n. 2, p. 60-65, 2011.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; MAGNONI, C. D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A. M. e col. Sociedade Brasileira de Cardiologia: I diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.100, supl.3, p.1-40, 2013.

SAVAGE, D. B.; PETERSEN, K. F; SHULMAN, G. I. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. **Physiological reviews**, v. 87, n. 2, p. 507-520, 2007.

SHULMAN, G. I. Unraveling the cellular mechanism of insulin resistance in humans: new insights from magnetic resonance spectroscopy. **Physiology**, v. 19, n. 4, p. 183-190, 2004.

SWIFT, L. L.; HILL, J. O.; PETERS, J. C.; GREENE, H. L. Medium-chain fatty acids: evidence for incorporation into chylomicron triglycerides in humans. **The American journal of clinical nutrition**, v. 52, n. 5, p. 834-836, 1990.

TURPEINEN, O.; PEKKARINEN, M.; MIETTINEN, M.; ELOSUO, R.; PAAVILAINEN, E. Dietary prevention of coronary heart disease: the Finnish Mental Hospital Study. **International Journal of Epidemiology**, v. 8, n. 2, p. 99-118, 1979.

VASCONCELOS COSTA, A. G.; BRESSAN, J.; SABARENSE, C. M. Ácidos graxos trans: Alimentos e efeitos na saúde. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 56, n. 1, p. 12-21, 2006.

WALL-MEDRANO, A.; DE LA ROSA, L. A.; VÁZQUEZ-FLORES, A. A.; MERCADO-MERCADO, G.; GONZÁLEZ-ARELLANES, R.; LÓPEZ-DÍAZ, J. A.; MOLINA-CORRAL, F. J. Lipidomic and antioxidant response to grape seed, corn and coconut oils in healthy Wistar rats. **Nutrients**, v. 9, n. 1, p. 82, 2017.

ANEXO 1



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro – ICEB-II, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370
Email: ceua@propp.ufop.br



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais nº. **2016/25**, intitulado **“Efeito do consumo crônico de diferentes óleos vegetais sobre parâmetros bioquímicos e mediadores inflamatórios em ratas da linhagem Fisher”**, que tem como responsável o/a Prof(a). Dr(a). **Daniela Caldeira Costa**, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP, de acordo com tabela abaixo:

Dados dos Animais Aprovados				
Espécie/linhagem	N.º de Animais	Idade	Sexo	Procedência
Rato/Fisher	40	4 semanas	Fêmeas	BIOTERIO DO ENUT

Restrição de dieta: () sim (X) não

Especificar:

Este Certificado expira em: 01/05/2020

Ouro Preto, 11 de maio de 2016.

(Assinatura)