

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANTONIO EDUARDO ZANARDO BORGONHONE

**EFEITOS DA GORDURA *TRANS*, ÓLEO DE PALMA E A
GORDURA INTERESTERIFICADA DE SOJA SOBRE O PERFIL
LIPÍDICO E O PROCESSO DE ATEROGÊNESE EM RATOS**

CURITIBA

2017

ANTONIO EDUARDO ZANARDO BORGONHONE

**EFEITOS DA GORDURA *TRANS*, ÓLEO DE PALMA E A
GORDURA INTERESTERIFICADA DE SOJA SOBRE O PERFIL
LIPÍDICO E O PROCESSO DE ATEROGÊNESE EM RATOS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna do Departamento de Clínica Médica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Andrade Mulinari

Co-orientador: Prof. Dr. Raul von der Heyde

CURITIBA

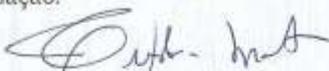
2017

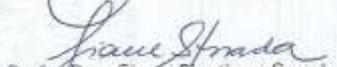


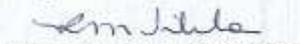
Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
= MESTRADO e DOUTORADO =

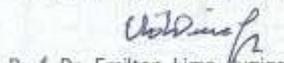
PARECER

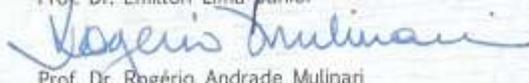
Aos dez dias do mês de maio do ano de dois mil e dezessete, a banca examinadora constituída pelos Professores: **Dra. Cristina Martins (PUC-PR)**, **Dra. Giane Bientinez Sprada (DNut -UFPR)**, **Dra. Regina Maria Vilela, (DNut-UFPR)**, **Dr. Emilton Lima Junior (DCM-UFPR)** e **Dr. Rogério Andrade Mulinari (DCM-UFPR)**, orientador, exarou o presente parecer sobre a tese de doutorado elaborada por **ANTONIO EDUARDO ZANARDO BORGONHONE**, aluno concluinte do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna - Doutorado da Universidade Federal do Paraná, intitulada: "EFEITOS DA GORDURA TRANS, ÓLEO DE PALMA E A GORDURA INTERESTERIFICADA DE SOJA SOBRE O PERFIL LIPÍDICO E O PROCESSO DE ATEROGÊNESE EM RATOS". A Banca examinadora considerou que o aluno apresentou trabalho adequado para tese, e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Doutor em Medicina Interna**. A banca considerou o trabalho de grande relevância à Saúde Pública, e recomendam a publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial depois de incorporadas às sugestões apresentadas no decurso das arguições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.


Prof. Dra. Cristina Martins


Prof. Dra. Giane Bientinez Sprada


Prof. Dra. Regina Maria Vilela


Prof. Dr. Emilton Lima Junior


Prof. Dr. Rogério Andrade Mulinari

Aos meus familiares,
àqueles que me ensinaram a Arte da Nutrição, meus professores e
aos que me incentivam em segui-la de forma correta, meus alunos e clientes.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Rogério Andrade Mulinari pela participação na elaboração deste trabalho e pela oportunidade a mim concebida de ter sido seu orientando neste curso de Doutorado.

Ao Professor Dr. Raul von der Heyde, amigo, mestre e sobretudo modelo de profissional e pesquisador, pela orientação e participação durante a elaboração desta tese. Gratidão eterna!

À professora Dra. Maria Emília Daudt von der Heyde por tudo – muito pequeno este espaço para agradecê-la.

Às secretárias Lucia Lemiszka e Valeria Knapp, do programa de pós-graduação em Medicina Interna pela atenção e presteza em ajudar sempre.

À Professora Dra. Lubomira Veronika Oliva pelo inestimável auxílio para a análise das lâminas histológicas desta pesquisa.

À Faculdade Ingá, na forma de seus diretores que compreenderam minha ausência para desempenhar as atividades pertinentes ao mestrado; aos coordenadores de curso em que leciono, particularmente Prof. Ms. Fábio Branches Xavier pelo manejo de substituições e outras formas de apoio durante este período; ao funcionário Flávio pela assistência junto ao tratamento dos animais e aos responsáveis e técnicos do Laboratório de Histologia e Laboratório de Análises Clínicas.

Aos meus familiares, particularmente a minha mãe, pai e irmã pela paciência eterna, a Tia Iza e primos pelo pouso concedido no início do programa e a todos os demais que de alguma forma me apoiaram, acreditaram na realização desta empreitada e tiveram paciência para aguardar a sua conclusão.

RESUMO

A prevalência de doenças cardiovasculares tem aumentado progressivamente nas últimas décadas, e diante de vários fatores de risco, há relação com o tipo de gordura ingerida na dieta. Há evidências que esta associação se deva ao efeito dos ácidos graxos e do colesterol presente na dieta sobre as lipoproteínas plasmáticas. O objetivo do trabalho foi investigar a influência da ingestão de diferentes tipos de ácidos graxos presentes em óleos vegetais aplicados na elaboração de margarina em determinantes da condição cardiovascular. A amostra foi composta por 38 ratos, divididos em 4 grupos, sendo um grupo controle alimentado com ração comercial padrão e três consumindo ração produzida com adição de diferentes óleos vegetais: interesterificados de soja, hidrogenados (*trans*) ou de palma. Os ratos foram sacrificados após os 60 dias de acompanhamento experimental, sendo coletado sangue para análise do perfil lipídico e exérese da artéria aorta para análise histológica. Os ratos alimentados com óleos *trans* ou de palma apresentaram níveis de colesterol total, triglicerídeos e LDL-C e LDL+VLDL aumentados, com HDL baixo, diferindo significativamente dos alimentados com gordura interesterificada ou ração comercial padrão. Os alimentados com gordura interesterificada não diferiram metabolicamente dos alimentados com ração padrão. Não foram identificadas alterações histológicas compatíveis com aterosclerose precoce ou estabelecida no tempo de seguimento de 60 dias em quaisquer grupos. Conclui-se que os óleos *trans* e os de palma promoveram alterações no metabolismo lipídico conhecidas como associadas a risco para aterosclerose. Ao contrário, gordura interesterificada na dieta não se associou a alterações lipídicas.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Perfil lipídico. Aterogênese.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the primary cause of morbidity and mortality in modern society. There is evidence that fat composition of diet has a foremost role in enhancing atherosclerosis, through the effects of cholesterol and fatty acids on plasma lipoproteins. The objective of the study was to investigate the role of different fatty acids in vegetable oils added to the diet on plasma lipids and on atherogenesis in rats. Male Wistar rats (N=38), aged 21 days, were assigned to four groups and fed chows prepared by the addition of interesterified fat (GI), hydrogenated (*trans*) fat (GT), palm oil (OP) or a regular commercial diet (CO) for 60 days. Rats had blood drawn under anesthesia at the completion of the feeding period for plasma lipids and were sacrificed for collection of the thoracic aorta for histologic examination. Rats fed with *trans* or palm oil-added diets had higher levels of total cholesterol, triglycerides, LDL-C and LDL+VLDL, with lower HDL, when compared to those fed with interesterified oils-added or regular diets. Rats fed with interesterified oils-added chow presented no significant changes in lipids as compared with those on regular diet. No signs of atherosclerosis were identified in any group by histologic examination of fragments of vascular tissue from the aortas. In conclusion, the consumption of *trans* and palm oils in the diet induced alterations in plasma lipid metabolism known to be associated with risk for atherosclerosis. On the contrary, interesterified oil imposed no additional lipid changes.

Key words: Fatty acids. Plasma lipids. Atherogenesis

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- COMPARAÇÃO DA MEDIANA DO COLESTEROL TOTAL (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL.....	28
FIGURA 2- COMPARAÇÃO DA MEDIANA DOS TRIGLICERÍDEOS (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL.....	29
FIGURA 3- COMPARAÇÃO DA MEDIANA DO HDL (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL.....	30
FIGURA 4- COMPARAÇÃO DA MEDIANA DO LDL-C (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL.....	30

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1- DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS E RESPECTIVAS RAÇÕES/ DIETAS.....	22
QUADRO 2- INGREDIENTES DA MISTURA-BASE PARA PREPARO DE RAÇÃO PRECONIZADA PELA A/N-93.....	23
TABELA 1- MEDIANA (Md) E PRIMEIRO E TERCEIRO QUARTIL (Q ₁ -Q ₃) DO CONSUMO DE RAÇÃO (g) E DO GANHO DE PESO (g) E VALORES INICIAL E FINAL DO PESO (g) DOS 38 RATOS DOS GRUPOS.....	27
TABELA 2- MEDIANA (Md) E PRIMEIRO E TERCEIRO QUARTIL (Q ₁ -Q ₃) DOS COMPONENTES DO PERFIL LIPÍDICO (mg/dl) DOS 38 RATOS DOS GRUPOS.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Acetil-CoA	- Acetil coenzima A
AG	- Ácido graxo
AGT	- Ácido graxo insaturado com carbonos na configuração <i>trans</i>
AIN	- <i>American Institute of Nutrition</i>
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Apo	- Apolipoproteína
Cis	- Ácido graxo na forma natural, em configuração <i>cis</i> ,
CO	- Grupo de ratos alimentados com ração comercial padrão padrão
CT	- Colesterol total
CV	- Cardiovascular
DCV	- Doença cardiovascular
GI	- Grupo de ratos alimentados com ração acrescida de margarina contendo gordura interesterificada
GT	- Grupo de ratos alimentados com ração acrescida de margarina contendo gordura hidrogenada ou <i>trans</i>
HDL-C	- Colesterol transportado por lipoproteína de densidade alta ou <i>high density lipoprotein</i>
Kcal	- Quilocaloria
LDL-C	- Colesterol transportado por Lipoproteína de Densidade Baixa ou <i>low density lipoprotein</i>
Lp(a)	- Lipoproteína (a)
Md	- Mediana
OP	- Grupo de ratos alimentados com ração acrescida de margarina contendo gordura de palma
Q	- Quartil
RDC	- Resolução de diretoria colegiada da ANVISA
TG	- Triacilglicerol ou triglicérido
VLDL-C	- Colesterol transportado por lipoproteínas de densidade muito baixa ou <i>very low density lipoprotein</i>
<i>trans</i>	- Gordura <i>trans</i> , hidrogenada, composta com ácidos graxos na configuração <i>trans</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1	OS ANIMAIS E AS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	21
3.2	OS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	22
3.3	INTERVENÇÃO EXPERIMENTAL.....	22
3.3.1	Água	22
3.3.2	Formulação, preparação e administração da dieta para ração	22
3.4	CIRURGIA EXPERIMENTAL E ESPÉCIMES	24
3.5	ANÁLISE DO PERFIL LIPÍDICO	24
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
3.7	HISTOPATOLOGIA DOS FRAGMENTOS DE ARTÉRIA AORTA	25
4	RESULTADOS	27
4.1	CONSUMO DE RAÇÃO E GANHO DE PESO.....	27
4.2	METABOLISMO LIPÍDICO.....	27
4.3	HISTOPATOLOGIA.....	31
5	DISCUSSÃO	32
6	CONCLUSÕES	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
	ANEXO	50

1 INTRODUÇÃO

A dieta humana e seus efeitos sobre a saúde e a doença tem atraído o interesse de pesquisas e da saúde pública. Há décadas, muito se têm publicado nas recomendações sobre a ingestão dos lipídeos, um exemplo de macronutriente presente em alimentos como óleos e gorduras, fortemente associados a agravos a saúde humana quando consumido em excesso (ARANCETA; PÉREZ-RODRIGO, 2012).

Na forma pura, um grama de óleo ou gordura fornece 9 kcal. Em relação às qualidades nutricionais, óleos e gorduras dão consistência e características de fusão específicas aos produtos que os contêm. Também atuam como meio de transferência de calor durante o processo de fritura e são veículos para vitaminas lipossolúveis, AG essenciais, colesterol e substâncias que garantem aroma (RIBAS FILHO; SUEN, 2012). Quando adicionados a produtos, óleos e gorduras garantem o aumento do valor calórico, acentuam o sabor, conferem aeração e lubrificação, garantem estabilidade e maciez e promovem saciedade (PHILIPPI, 2006). Eles compõem alimentos em sua quase totalidade, como margarinas, manteigas e óleos vegetais de aplicação na culinária, e são intrínsecos a outros como carne, leite integral e produtos industrializados. As gorduras podem influenciar o estado de saúde geral de quem as consome, positiva ou negativamente em virtude de diferentes propriedades dos tipos de AG que lhes constituem. A quantidade de lipídios presente na dieta relaciona-se com o excedente de energia podendo ao determinar ganho ponderal ser fator promotor do excesso de peso e da obesidade.

Os lipídeos sempre fizeram parte da dieta humana. Estima-se que uma típica dieta do período Paleolítico era composta por 50% de alimentos de origem vegetal e 50% de origem animal, alimentos que naturalmente apresentam lipídeos na sua constituição (LICHTENSTEIN, 1997). Suas propriedades vão desde fonte energética até fontes de ácidos graxos (AG) essenciais, desempenhando inúmeras funções para o organismo humano (MOREIRA, 2002; RIBAS FILHO; SUEN, 2012).

As funções biológicas dos lipídeos são tão diversas quanto às químicas. Alguns lipídeos embora presentes em quantidades pequenas desempenham papéis fundamentais como cofatores enzimáticos, transportadores de elétrons,

pigmentos fotossensíveis, âncoras hidrofóbicas para proteínas, chaperonas para promover o dobramento de proteínas de membrana, componente de agentes emulsificantes no sistema digestório, hormônios e mensageiros intracelulares. Fosfolipídios e esteróis, exemplos de lipídeos, são os principais elementos estruturais das membranas biológicas. Os triacilgliceróis ou triglicerídeos (TG) são a forma mais comum de lipídeos, tanto no organismo humano como nos alimentos, em diferentes óleos e gorduras. Os TGs são formados a partir de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol e constituem uma das formas de armazenamento energético mais importantes no organismo, depositados nos tecidos adiposo e muscular (WAITZBERG, 2009; PIEPOLI et al., 2016). A hidrólise ácida dos TG leva aos correspondentes ácidos carboxílicos, conhecidos como ácidos graxos (AG) (NELSON; COX, 2012). Os AG são importantes para o balanço energético, biossíntese de membranas, produção de eicosanóides e outras funções especializadas. Nos tecidos, os AG podem ser oxidados a acetil-CoA (β -oxidação) ou esterificados a acil-glicerol, onde como triacilglicerol constituem a forma mais eficiente de reserva calórica do organismo (MOREIRA, 2002). Existem duas vantagens em usar TG como armazenamento de combustível ao invés de polissacarídeos, como o glicogênio. Primeiro, os átomos de carbono dos ácidos graxos estão mais reduzidos, e sua oxidação libera mais que o dobro de energia do que a oxidação dos carboidratos. Segundo, os TG sendo hidrofóbicos não carregam o peso extra da água da hidratação (WAITZBERG, 2009).

Para desempenhar suas funções, pelo fato de serem hidrofóbicos, devem ser incorporados às lipoproteínas. Estas permitem a solubilização e o transporte dos lipídeos no meio aquoso plasmático. São compostas por lipídeos e proteínas denominadas apolipoproteínas (Apo). As Apo têm diversas funções no metabolismo das lipoproteínas, como a formação intracelular das partículas lipoprotéicas, como Apo B100 e B48, e a atuação como ligantes a receptores de membrana, como as Apo B100 e E, ou cofatores enzimáticos, como as Apo CII, CIII e AI (SACKS, 2015).

Outras características dos lipídeos em relação a comprimento de cadeia carbônica, grau de saturação e insaturação, configuração das duplas em *cis* ou *trans* também influenciam o metabolismo humano, atuando como facilitadores

no complexo processo de lesão aterosclerótica e na etiologia das doenças cardiovasculares (GITT et al., 2016; PIEPOLI et al., 2016).

Existem quatro grandes classes de lipoproteínas separadas em dois grupos: (1) as ricas em TG, maiores e menos densas, representadas pelos quilomícrons, de origem intestinal, e pelas lipoproteínas de densidade muito baixa ou *very low density lipoprotein* (VLDL), de origem hepática; e (2) as ricas em colesterol, incluindo as de densidade baixa ou *low density lipoprotein* (LDL) e as de densidade alta ou *high density lipoprotein* (HDL). Existe ainda uma classe de lipoproteínas de densidade intermediária ou *intermediary density lipoprotein* (IDL) e a lipoproteína (a) (Lp(a)), que resulta da ligação covalente de uma partícula de LDL à Apo(a). A função fisiológica da Lp(a) não é totalmente conhecida. Ela é a carreadora preferencial de fosfolípidos oxidados e tem sido associada à formação e progressão da aterosclerose (TRPKOVIC et al., 2015).

De forma geral, os AG são classificados com base em diferentes aspectos. Os AG podem ser classificados como saturados (sem duplas ligações entre seus átomos de carbono), mono ou poliinsaturados, de acordo com o número de ligações duplas na sua cadeia. Os AG saturados mais frequentemente presentes em nossa alimentação são: láurico, mirístico, palmítico e esteárico (que variam de 12 a 18 átomos de carbono). Entre os AG monoinsaturados, o mais frequente é o ácido oléico, que contém 18 átomos de carbono. Quanto aos AG poliinsaturados, podem ser classificados como ômega-3 (eicosapentaenoico, docosaexanoico e linolênico) ou ômega-6 (linoleico), de acordo com a presença da primeira dupla ligação entre os carbonos a partir do grupo hidroxila (RIBAS FILHO; SUEN, 2012; NELSON; COX, 2012).

As propriedades dos óleos e gorduras dependem de seu perfil de AG ou se foram submetidos a alguns processos tecnológicos utilizados pela indústria alimentícia. Os AG saturados, amplamente utilizados na indústria alimentícia, não apresentam duplas ligações em sua cadeia carbônica, são menos reativos e tem ponto de fusão superior em relação aos correspondentes de mesmo tamanho de cadeia com uma ou mais duplas ligações. Já os insaturados, com dupla ligação, apresentam-se em AG *cis*, como naturalmente são encontrados e como AG *trans* (AGT) – produtos das inovações da indústria alimentícia, sendo que cada qual com propriedades físico-químicas distintas. Quando *trans*

têm ponto de fusão mais elevado do que seu isômero *cis*, sendo por isso utilizados amplamente na indústria alimentícia (COSTA; BRESSAN; SABARENSE, 2006; VITOLO, 2008; REMIG et al., 2010; FLOCK; KRIS-ETHERTON, 2011).

Os AGT não são essenciais, não conferem benefícios ao organismo humano e estão presentes em maior proporção em alimentos que foram submetidos a processos tecnológicos industriais de hidrogenação. Estão normalmente em margarinas, massas prontas, bebidas lácteas, biscoitos e bolachas, entre outros. Uma pequena parcela deles pode ser encontrada na dieta com produtos a partir de animais ruminantes (CHIARA; SICHERI; CARVALHO, 2003; VITOLO, 2008; FLOCK; KRIS-ETHERTON, 2011; REMIG et al., 2010; MOZAFFARIAN et al., 2013; WANG et al. 2014).

Diversos estudos comprovam a influência da alimentação na proporção de lipídeos sanguíneos e na evolução da aterosclerose (BORBA et al., 2012). Em 2002, Santos Filho e Martinez, já demonstravam que a ingestão de ácidos graxos é diretamente associada ao desenvolvimento de doenças crônicas, como as cardiovasculares. Podem ainda influenciar o diabetes mellitus e alguns tipos de câncer, como em estudos de Rose e Connolly (1999), Hu et al. (1997), Hu e Willett (2002), Hu et al. (2011) e Azrad, Turgeon e Demark-Wahnefried (2013).

Nas últimas décadas, a prevalência de doenças cardiovasculares (DCV) tem aumentado progressivamente, tornando-se um grave problema de saúde pública. Estudos têm demonstrado haver uma associação positiva entre a ingestão de gordura saturada e a prevalência dessas doenças, bem como uma associação negativa com a ingestão de gorduras insaturadas (LIMA, 2000; SCHAEFER, 2001; WILLETT, 2012; CHOWDHURY et al, 2014; GITT et al., 2016;).

Por volta da década de 60 descobriu-se que a ingestão excessiva de ácidos graxos saturados, relacionados principalmente ao consumo de alimentos de origem animal, atuaria no organismo humano como um fator de risco para ocorrência de várias condições patológicas. Preconizou-se então a substituição de grande parte dos ácidos graxos saturados da dieta por outros que pudessem garantir as mesmas propriedades organolépticas. A opção à época foi substituir nos alimentos os lipídeos saturados por lipídeos

insaturados, mas que haviam passado por processo de hidrogenação, ou seja, utilização de gorduras *trans* por serem igualmente plásticas. Não foi questionada a manutenção das mesmas propriedades da configuração *cis* disponível na natureza. Sugeriu-se a substituição de manteiga por margarina a base de óleos vegetais hidrogenados e da banha animal por gordura vegetal hidrogenada (SILVA et al, 2005; GANGULY; PIERCE, 2012).

O processo de hidrogenação foi patenteado por Wilhelm Normann em 1903 (PASSAMAI, 2002). Trata-se de um processo que reduz a tendência de rancidez das gorduras por atuar sobre os ácidos graxos insaturados provocando a solidificação de óleos vegetais líquidos. O produto resultante é menos suscetível à oxidação e substitui melhor as gorduras animais em alimentos que tendem a ser mais sólidos na temperatura ambiente. Ao longo do século XX, a produção de gordura vegetal parcialmente hidrogenada apresentou um significativo aumento devido ao seu baixo custo e capacidade para ser utilizada em produtos que necessitam do processo de fritura ou que requerem gordura no processamento como é o caso da margarina (ASCHEIRO; WILLETT, 1997; LICHTENSTEIN, 1997).

A reação de hidrogenação consiste em adicionar hidrogênio gasoso às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, catalisada por um metal (níquel), originando uma saturação. Durante a reação, o gás hidrogênio é misturado ao óleo na presença do catalisador. O processo é obtido em um reator totalmente fechado, sob pressão, com agitação vigorosa, e provido de serpentina para aquecimento e resfriamento, e um distribuidor do gás hidrogênio. Em seguida, o óleo é filtrado para a retirada do catalisador. Posteriormente, o óleo é branqueado com argila adsorvente e traços residuais de níquel são quelados com ácido cítrico. Temperatura, pressão de hidrogênio, tipo e quantidade de catalisador e agitação afetam a reação de hidrogenação (PASSAMAI, 2002).

Quando estão em sua forma natural os AG encontram-se na configuração *cis*, e os átomos de menor peso molecular estão paralelos. Na configuração *trans* os átomos de menor peso molecular encontram-se dispostos de forma diagonal, resultando numa molécula com ângulo menor nas duplas ligações, e uma cadeia mais linear e rígida com propriedades físicas

diferentes, inclusive termodinâmicas (SIMOPOULOS, 1991; WAITZBERG, 2009).

A indústria alimentícia conseguiu um ingrediente que substituísse a gordura saturada na elaboração de seus produtos, postulando assim que poderia manter as características dos mesmos e não mais ser responsável pela ocorrência de diversas condições patológicas. A substituição foi em série e somente com o tempo observou-se que a influência para saúde não foi das mais satisfatórias, pelo contrário. Mesmo ainda não estando completamente elucidado o papel dos AGT no metabolismo humano, sabe-se que são metabolizados no fígado e tem substancial participação no desenvolvimento de doenças cardiovasculares devido sua influência no perfil lipídico plasmático. Agem sobre as lipoproteínas, aumentando os teores de LDL e diminuindo os de HDL, além de aumentar a proporção de Lp(a) e os níveis de triglicerídeos plasmáticos (BROWER; WANDERS; KATAN, 2010; GANGULY; PIERCE, 2012; CHIUVE et al, 2012; SUN et al., 2015).

O consumo excessivo de alimentos ricos em gorduras *trans* pode causar prejuízos à saúde das pessoas que os ingerem por influenciar aspectos envolvidos com ocorrência de doenças cardiovasculares, como a elevação do nível do colesterol total e do LDL-C e redução dos níveis de HDL-C (KWITEROVICH, 1997; MATTHAN et al., 2001; MATTHAN et al., 2004; GANGULY; PIERCE, 2012; KRAUSS et al, 2014; TSAI et al., 2014), e contribuir para processo de aterogênese por influenciar a agregação plaquetária e aumento dos níveis de triacilglicerídeos no plasma sanguíneo (RODRIGUES; SCHIESSEL, 2009; BIELEMANN et al., 2015). Os AGT ingeridos na dieta têm sido relacionados com doença cardíaca coronariana e maior incidência de infarto agudo do miocárdio (MULLINS, 2012). Além disso, estão associados ao enfraquecimento do sistema imunológico por afetarem a estrutura e função protetora da membrana celular, permitindo agressão por microorganismos patogênicos e substâncias químicas tóxicas que penetram nas células com menor resistência, aumento da atividade de citocinas marcadores de atividade inflamatória e inibição de agentes anti-inflamatórias como a prostaglandina E1 e E3 visto que os ácidos graxos *trans* atrapalham a metabolização dos ácidos graxos essenciais (linoléico e linolênico), e aumento dos hormônios pró-inflamatórios como a prostaglandina E2 (FERNANDES, 1994; ASCHERIO,

2002; VAZ et al., 2006; LETH et al., 2006; MARTIN, 2007; SOUTO; ZANI, 2007; SIDDIQUI et al., 2009; KLEINBONGARD; HEUSCH; SCHULZ, 2010; AIT-OUFELLA et al., 2011; CHIUVE et al., 2012; HARVEY et al., 2012).

A configuração *trans* resulta em uma molécula estruturalmente mais reta. A composição química de ácidos graxos em posição *cis* ou *trans* podem ser idênticas, porém sua estrutura, sua maneira de apresentação no meio pode interferir para sua função, como principalmente na composição da bicamada lipídica que está compondo a membrana plasmática (KATZ, 2006; MARCHAND, 2010). Este fenômeno pode alterar as atividades celulares como a função das proteínas de membrana (NIU; MITCHELL; LITMAN, 2005). Os AGT podem alterar a integridade e função de diferentes locais do organismo humano, principalmente no sistema cardiovascular, vasos sanguíneos em especial, incorporando-se as membranas das células e alterando sua fluidez (ROACH et al. 2004; FLOCK; FLEMING; KRIS-ETHERTON, 2014).

As evidências científicas comprovam o impacto negativo dos AGT à saúde. Lemaitre (2001) investigou e relatou a associação da ingestão de AGT com o risco de primeiro infarto. Mozaffarian (2006) relatou evidências que os AGT são pró-inflamatórios. Outras evidências apontam que os efeitos pró-inflamatórios são mais intensos para os isômeros *trans* do ácido linoléico (C18:2-*trans*) e do ácido oléico (C18:1-*trans*) do que para os do ácido palmitoléico (C16:1-*trans*). Ainda não estão estabelecidos os mecanismos que descrevem esses efeitos, mas devem envolver a incorporação dos AGT a células que estão relacionadas à inflamação (RAZ et al., 2013). Isso pode explicar as implicações dos AGT na ocorrência de doenças cardiovasculares.

Os AGT provenientes da dieta podem ser incorporados pelo tecido corporal e fluidos humanos e em animais experimentais, como o cérebro, fígado, tecido adiposo, baço e até interferindo na composição do leite materno (LARQUÉ; ZAMORA; GIL, 2001). Pacientes com doença coronariana têm níveis elevados de AGT em seu tecido adiposo (DLOUGÝ et al., 2003; CLIFTON et al., 2004), assim como no interior de placas ateroscleróticas (VAN DE VIJVER et al., 1996; STACHOWSKA et al., 2004; XAVIER et al., 2013; PIEPOLI et al., 2016).

A sólida evidência de agravos à saúde forneceu subsídios para que o consumo de gordura parcialmente hidrogenada seja diminuído, fato confirmado

por mudanças na legislação em diversos países, levando novamente produtores e a indústria alimentícia a procurar alternativas para sua substituição (KELLENS et al., 2007; AINI; MISKANDAR, 2007; RIBEIRO, 2007; BOOKER; MAN, 2008; ARANCETA; PÉREZ-RODRIGO, 2012; WANG et al., 2014).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil colocou em vigor a resolução RDC nº 360, que obrigou os fabricantes brasileiros a informarem no rótulo de seus produtos a quantidade de AGT contida no alimento (ANVISA, 2003). Scherr e Ribeiro (2010) mostraram em seu trabalho sobre dislipidemia a importância do conhecimento da composição química dos alimentos, entre eles a margarina, pois é uma importante fonte lipídica no cotidiano do brasileiro.

A interesterificação é uma nova alternativa tecnológica desenvolvida ao processo de hidrogenação parcial. Este processo é um dos principais métodos para a preparação de gorduras plásticas com baixos teores de isômeros *trans* ou mesmo com ausência destes. Óleos provenientes da soja são normalmente utilizados para o processo, obtendo assim um composto versátil, com qualidade e características benéficas na elaboração de produtos para substituir a gordura vegetal parcialmente hidrogenada, como a própria margarina (CHONG et al., 2007; RIBEIRO, 2007).

A interesterificação é normalmente empregada para modificar as características físicas e propriedades das misturas de óleos e gorduras, por meio da alteração da distribuição dos grupos glicéricos. A interesterificação química e a enzimática são as de uso corrente. No processo enzimático, biocatalisadores, tais como lipases microbianas, são utilizados para promover a migração acila nas moléculas acilglicéricas. A interesterificação química consiste em opção tecnológica importante para produção de gorduras técnicas visando diversas aplicações alimentícias, além de ser um processo relativamente fácil, de custo baixo pois o catalisador empregado com maior frequência é o metóxido de sódio (MeONa). Para produção de gorduras usadas em margarinas, o processo é conduzido em grande escala, em regime descontínuo ou contínuo, em temperatura de 260 °C e pressão de 5 Mpa (MARANGONI; ROUSSEAU, 1995; RIBEIRO, 2007, MENSINK et al., 2016).

De acordo com Ribeiro (2007), livrar-se dos AGT não é fácil, pois a substituição das gorduras parcialmente hidrogenadas pelas gorduras de baixo teor *trans* requer grande alteração na formulação do produto a fim de garantir as mesmas características dos produzidos com *trans*, pois tecnologicamente a gordura *trans* se comporta como um produto saturado de ponto de fusão elevado, o que precisa ser compensado quando é eliminado da composição.

O óleo de palma é outro substrato alternativo usado para obtenção de uma fonte lipídica mais consistente. Ele vem ganhando destaque nesse cenário, devido a sua versatilidade, qualidade e características benéficas na elaboração de produtos, dentre eles a margarina. A palma oleaginosa tem sido uma importante fonte alimentícia para os humanos, há quase 5000 anos, chegando ao Egito vindo da Guiné Ocidental de onde se origina a palmeira *Elaeis guineensis* (BASIRON, 2007; CHONG et al., 2007; ODIA; OFORI; MADUKA, 2015).

O óleo de palma possui um ponto de fusão ao redor de 40°C, sem a necessidade de alterações por meio de processos de transformação. O óleo de palma também é conhecido como óleo ou azeite de dendê no Brasil (BASIRON, 2007; CHONG et al., 2007; GEE, 2007).

Os AGT têm sido substituídos por isômeros *cis* em margarinas e foram reduzidos em formulações de gorduras especiais, onde aumentou o uso de óleo de palma (ARO, 2006). Devido à proporção de AG saturados, o óleo de palma tem característica física que lhe permite aplicação em produtos da indústria alimentícia (ODIA; OFORI; MADUKA, 2015). Atualmente, cerca de 40% de toda produção mundial de óleos é na forma de óleo de palma, e países emergentes como China e Índia vem amplamente usufruindo deste produto (ODEGAARD et al., 2014).

O óleo de palma é constituído por mais de 95% de misturas de TG, nos quais os AG são distribuídos de forma não randomizada, sendo que alguns são líquidos à temperatura ambiente e outros são sólidos. O restante é formado por metabólitos da biossíntese da mistura de TG e produtos da atividade lipolítica, incluindo monoacilgliceróis, diacilgliceróis, ácidos graxos livres, esteróides, ésteres, fosfolipídios, pigmentos e tocoferóis (SAMBANTHAMURTHI; SUNDRAM; TAN, 2000; ODIA; OFORI; MADUKA, 2015; MENSINK et al., 2016). Além do diferencial em termos de porção lipídica, o óleo de palma

contém 15 vezes mais beta-caroteno que a cenoura e 300 vezes mais que o tomate (GRDEN, 2008; ODIA; OFORI; MADUKA, 2015).

Soares e Gioelli (2009) ao analisarem amostras de óleo de palma demonstraram que os AG saturados predominantes são oleína com 70 a 80% e a estearina com 20 a 30%. O ácido palmítico compõe 47 a 54% da estearina e o ácido oléico representa 39,8 a 44,6% da oleína. À medida que aumenta a oleína de palma nas misturas, aumenta a quantidade de AG insaturados e o índice de iodo, diminuindo a quantidade de ácidos graxos saturados. Ele contém quantidade semelhante de AG insaturado e saturado, sendo que esses dois componentes são opções interessantes para produção de grande variedade de produtos, dentre eles margarina e *shortenings* (qualquer gordura sólida à temperatura ambiente) (SOARES; GIOIELLI, 2009; FATTORE et al., 2014).

Mundialmente, a tendência tem sido pela procura por óleos mais saudáveis, em especial o de oliva nos mercados mais desenvolvidos, como na Comunidade Européia e Austrália, e outros óleos vegetais alternativos nos mercados afluentes, como China, Índia e Brasil. Analistas do Brasil estimam uma redução de 2,1% no volume comercializado entre 2015 e 2016, no total de 38 mil toneladas (VALOR ECONÔMICO, 2016). Entretanto, os brasileiros depois de alguns anos aumentando o consumo de óleos vegetais, vêm reduzindo o consumo de margarinas em sintonia com a redução do consumo de pães nas padarias (DATAMARK, 2016).

Contudo, as pesquisas sobre o impacto nutricional dos componentes alternativos das margarinas, como óleos de palma e gorduras interesterificadas de soja, na saúde humana ainda são escassas, porém necessárias para prevenir um caso *de novo* com as DCV.

2 OBJETIVOS

1. Investigar a influência da ingestão da gordura *trans*, da gordura interesterificada de soja e do óleo de palma, presentes em margarinas disponíveis no mercado nacional, no perfil lipídico em ratos.
2. Investigar a influência da ingestão dos ácidos graxos na aterogênese da estrutura vascular da artéria aorta dos ratos jovens.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi registrada pelo processo 23075.080531/2011-61 e autorizada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, com princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em “*Guide for the Care and use of experimental animals – Canadian Council on Animal Care*”.

3.1 OS ANIMAIS E AS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foram selecionados 38 ratos machos da linhagem *Wistar* procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá/ UEM, com cerca de 21 dias de vida. O experimento foi conduzido no Biotério da Faculdade Ingá, em Maringá, após quinze dias de aclimação ao novo ambiente e alimentados com ração comercial padrão para roedores da marca Nuvital[®]. Esta ração respeita as normas da AIN-93, documento que determina o processo de elaboração de rações animais, conforme Quadro 2. A fonte lipídica nesta ração era somente o óleo de soja, mas que não foi submetido ao processo tecnológico da interesterificação.

Os ratos foram aleatoriamente divididos no 16^o dia em quatro grupos com 10 animais cada nos grupos com ração adicionada de margarinas e oito no grupo controle. Eles foram mantidos individualmente em gaiola de chapa de polipropileno e tampas de arame de inox com dimensões de 43x43x20cm, em um total de 38 gaiolas.

A higienização foi realizada em dias alternados, com troca por caixas previamente lavadas, secas e com serragem não pulverizada. Em observações diárias, este procedimento era repetido quando necessário, independentemente do período planejado.

O ambiente foi iluminado artificialmente com ciclo claro/escuro de 12 horas. O condicionamento ambiental manteve a temperatura média de 25°C, com exaustão e arejamento constantes. Durante o período, o consumo da ração foi registrado entre diariamente e em dias alternados e a alteração de peso dos animais foi acompanhada semanalmente.

O período experimental durou 60 dias, tempo suficiente para um rato alcançar a idade de animal adulto, atingindo peso entre 250 a 300g. Além do que, esse prazo sinaliza para um modelo experimental na qual o animal pode desenvolver a obesidade, que uma vez instalada, doenças crônicas associadas também podem ocorrer, como no caso da dislipidemia.

3.2 OS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os grupos de ratos receberam um tratamento experimental específico com administração de quatro diferentes rações, conforme o QUADRO 1:

QUADRO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS E RESPECTIVAS RAÇÕES/ DIETAS

GRUPO	DIETA
CO	Ração comercial padrão / sem margarina
GI	Ração com margarina a base de gordura interesterificada de soja
OP	Ração com margarina a base de óleo de palma
GT	Ração com margarina a base de óleos vegetais hidrogenados / gordura <i>trans</i>

FONTE: O autor (2016)

3.3 INTERVENÇÃO EXPERIMENTAL

3.3.1 Água

O fornecimento de água foi *ad libitum*, acondicionada em bebedouros específicos. A troca foi feita em dias alternados, durante a higienização das caixas ou se houvesse necessidade antes deste prazo. Não houve mensuração da ingestão. Nos dias de higienização da gaiola, completava-se o volume de água nos bebedouros.

3.3.2 Formulação, preparação e administração da dieta para ração

O preparo ocorreu de acordo com critérios do *American Institute of Nutrition (AIN-93)*. O grupo controle (CO) manteve consumo da ração comercial padrão, sem margarina, desde o desmame. Os demais grupos foram alimentados com rações elaboradas com margarinas fontes de diferentes

lipídeos: margarina a base de óleo de soja interesterificado (GI), margarina a base de óleo de palma (OP) e margarina a base de óleo vegetal hidrogenado (GT).

A composição de margarinas emprega processos de hidrogenação e interesterificação para que óleos vegetais, que normalmente fluidos a temperatura ambiente tornam-se mais consistentes. O óleo de palma não necessita destes processos visto que sua proporção de lipídeos saturados, normalmente garantindo uma maior consistência e, portanto, podendo ser usados na elaboração de margarinas. Todo procedimento de preparo das rações foi realizado no Laboratório de Técnicas Dietéticas da Faculdade Ingá/ UNINGÁ, em Maringá/ PR.

Inicialmente, preparou-se uma mistura-base com os ingredientes e suas devidas proporções, conforme o QUADRO 2. Os ingredientes foram adquiridos em lojas de produtos veterinários e de comércio varejista.

QUADRO 2 - Ingredientes da mistura-base para preparo de ração preconizada pela A/N-93

INGREDIENTES	g/100g DE DIETA
Amido	55
Sacarose	10
Fibra (celulose microcristalina)	5
Caseína	20
Óleo de soja	5
Mistura de minerais	3,5
Mistura de vitaminas	1
Bitartarato de colina	0,25

Fonte: REEVES; NIELSEN; FAHEY (1993)

Os ingredientes foram submetidos a um triturador (marca ANODILAR®) para que fossem triturados e misturados. Os diferentes tipos de margarina foram acrescentados à mistura-base para que todas as rações com gordura acrescida em teste tivessem a mesma proporção de lipídeos, ou seja, 25g de lipídeos em 100g de ração. Esta quantidade garante uma ração com característica rígida para possibilitar o consumo pelo animal roedor.

Na composição da ração oferecida para grupo GI utilizou 27,00g de margarina a base de gordura interesterificada, para grupo OP utilizou 22,05g

de margarina a base de óleo de palma e para grupo GT utilizou 29,40g de margarina com óleos vegetais hidrogenados.

Na sequência, foi acrescentada água e submetida a uma batedeira planetária (marca Wallita[®]) para obtenção de uma massa homogênea. Por fim, a massa foi peletizada em extrusora (marca ANODILAR[®]) e posteriormente secada e esterilizada em estufa (marca Odontobrás[®]) a 65°C por 24h.

A dieta foi fornecida *ad libitum*, sendo a ração pesada antes do oferecimento ao animal. A reposição nos comedouros era realizada a cada troca para higienização da caixa. Os pellets remanescentes no comedouro eram pesados com o intuito de acompanhar o consumo do animal, no princípio do resto-ingesta, e a seguir descartados, por segurança de higiene.

3.4 CIRURGIA EXPERIMENTAL E ESPÉCIMES

Concluídos os 60 dias do período de experimentação e observação, os animais foram submetidos a jejum por 12 horas como preparação para a cirurgia experimental e coleta de sangue para análise laboratorial.

Os ratos foram anestesiados com Ketamina (130mg/kg) e Xilazina (5,0mg/kg) previamente à cirurgia. Na sequência, foi realizada a laparotomia e toracotomia para coleta de sangue por punção no coração com seringa de 5ml. O sangue foi acondicionado em tubos heparinizados. Finalmente, realizou-se exérese da porção torácica da artéria aorta, privilegiando pontos de ramificação arterial.

O sangue coletado foi encaminhado para o Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade Ingá. Os fragmentos da artéria aorta foram fixados em solução de formol a 10% e encaminhados para histopatologia.

3.5 ANÁLISE DO PERFIL LIPÍDICO

As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm e analisadas automaticamente em analisador COBASMIRA[®], marca ROCHE no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade Ingá - UNINGÁ, empregando *kits* comerciais para verificação de colesterol total com o princípio de colesterol oxidase (*Colesterol liquiform Cat.76* – marca Labtest[®]), dosagem de lipoproteínas de alta densidade com inibição seletiva de detergente (*HDL LE Cat.98* – marca Labtest[®]) e triglicerídeos com glicerol fosfato oxidase (*Triglicerídeos Liquiform*

Cat.87). A obtenção de LDL-colesterol foi realizada por meio de equação matemática de Friedewald (1972). Os resultados foram expressos em mg/dl.

Na maioria dos estudos clínicos, o LDL-C tem sido calculado pela fórmula de Friedewald: $LDL-C = CT - (HDL-C + TG/5)$; onde TG/5 representa o colesterol ligado à VLDL ou VLDL-C. O valor calculado do LDL-C é baseado em uma série de pressupostos: (1) erros metodológicos podem se acumular, pois a fórmula exige três análises separadas, ou seja, CT, TG e HDL-C; (2) presume-se proporção constante de colesterol e triglicérides nas partículas de VLDL, com valores de TG > 400 mg/dl a fórmula não pode ser usada; (3) o uso da fórmula de Friedewald não é indicado quando o sangue é obtido sem jejum, pois o colesterol não-HDL pode ser determinado nestas condições.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como mediana e quartis, quando pertinente, consideradas a distribuição e o número de amostras de cada parâmetro.

A diferença significativa entre as medianas dos dados de distribuição não-paramétricos entre os grupos foi aferida por meio do teste de análise de variância de Kruskal-Wallis. Diferença significativa foi considerada com erro alfa de 5%. O teste post-hoc de Dunn foi aplicado para verificar onde a diferença foi significativa. As análises foram realizadas no software estatístico R, disponível no site <http://www.r-project.org/>.

3.7 HISTOPATOLOGIA DOS FRAGMENTOS DE ARTÉRIA AORTA

Lâminas foram preparadas com cortes transversais de 6 micrômetros de espessura da aorta, em micrótomo Spencer 820 (American Optical Company, USA) e coradas pela técnica da Hematoxilina e Eosina.

A análise histopatológica das aortas dos animais no intuito de identificar presença ou sinais de processo aterogênico foi realizada por uma anatomopatologista colaboradora da Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital de Clínicas da UFPR. O material foi examinado por microscopia óptica sob os aumentos 50x, 100x e 400x. As lâminas foram rotuladas e numeradas de forma aleatória para que a avaliadora não conhecesse a procedência.

A artéria músculo-elástica foi observada quanto às seguintes variáveis: patência e características da parede arterial – porção de túnica adventícia, túnica média e túnica íntima. O laudo concluiu pela presença ou não de sinais de ateromatose em cada uma das lâminas analisadas.

4 RESULTADOS

Os quatro grupos encerraram o período de acompanhamento sem intercorrências.

4.1 CONSUMO DE RAÇÃO E GANHO DE PESO

Os grupos apresentaram ganho de peso dentro dos valores correspondentes à fase adulta. O consumo total de ração no período em gramas e o ganho de peso dos animais em gramas estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1: MEDIANA (Md) E PRIMEIRO E TERCEIRO QUARTIL (Q₁-Q₃) DO CONSUMO TOTAL DE RAÇÃO (g) E DO GANHO DE PESO (g) E VALORES INICIAL E FINAL DO PESO (g) DOS 38 RATOS DOS GRUPOS

	CO		GI		OP		GT	
	Md	Q ₁ -Q ₃	Md	Q ₁ -Q ₃	Md	Q ₁ -Q ₃	Md	Q ₁ -Q ₃
Consumo ração	1456,5	1432-1477	1222 ^a	1208-1259	1294,0	1279-1311	1229,5 ^b	1207-1284
Ganho de peso	252,5	248-266	168,5 ^c	158-179	166,5	157-175	136,5 ^d	104-177
Peso inicial - final	146,5 - 397,0		141,0 - 309,0		140,0 - 309,5		147,5 - 281,0	

Notas: ^a:p<0,05 vs CO ^b:p<0,05 vs CO, GI e OP ^c:p<0,05 vs CO ^d:p<0,05 vs CO e OP
 FONTE: O autor (2016)

Houve consumo menor de ração pelos animais no grupo GI e GT (p<0,05) quando comparados com os demais.

O ganho de peso nos grupos GI e GT foi estatisticamente diferente os grupos OP e CO (p<0,05).

4.2 METABOLISMO LIPÍDICO

As determinações de colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos, VLDL-colesterol e LDL-colesterol tiveram comportamentos diferenciados entre os grupos GT, GI, OP e CO (p<0,001) ao final do período experimental (TABELA 2). O somatório de LDL e VLDL está representado para comparação.

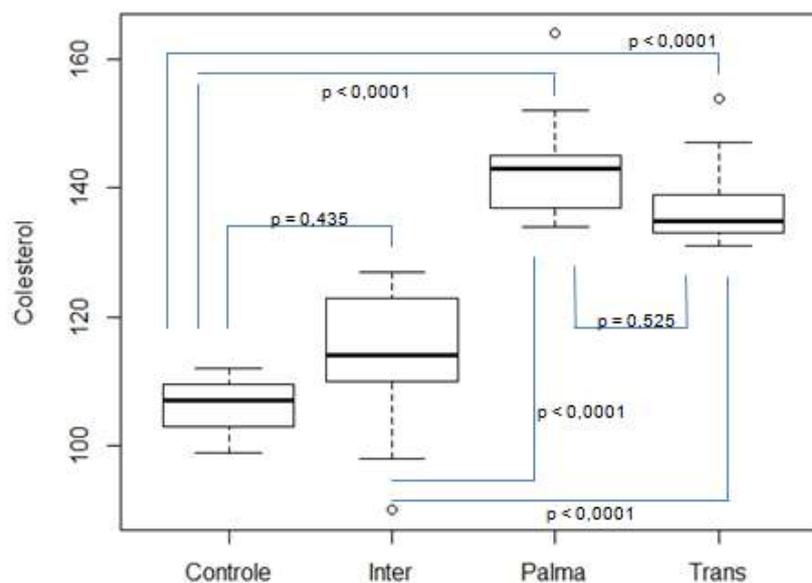
TABELA 2- MEDIANA (Md) E PRIMEIRO E TERCEIRO QUARTIL (Q₁-Q₃) DOS COMPONENTES DO PERFIL LIPÍDICO (mg/dl) DOS 38 RATOS DOS GRUPOS

	CO		GI		OP		GT	
	Md	(Q ₁ -Q ₃)						
Colesterol	107	104-109	114	110-123	143	137-145	135	133-139
Triglicerídeos	66,5	62,5-71,0	57	54-64	88	86-92	94	89-100
HDL-C	39	38,8-41,8	37	36-39	27	24-28	29	28-31
LDL-C	51,5	50,1-54,5	64,2	56,8-70,6	96,8	94,6-101,4	88	85- 92,2
VLDL-C	13,3	12,5-14,2	11,4	10,8-12,8	17,6	17,2-18,4	18,8	17,8-20
LDL+VLDL	65	63,8-68,3	75	73,0-83,0	114	112-123	107	105-111

FONTE: O autor (2016)

Os grupos GT e OP apresentaram níveis de colesterol total superiores aos grupos GI e CO ($p < 0,0001$). Não se observou diferença estatística entre os níveis de colesterol total nos grupos GT e OP, ou entre os grupos GI e CO (FIGURA 1).

Figura 1: Comparação da mediana do colesterol total (mg/dl) entre os grupos ao final do período experimental

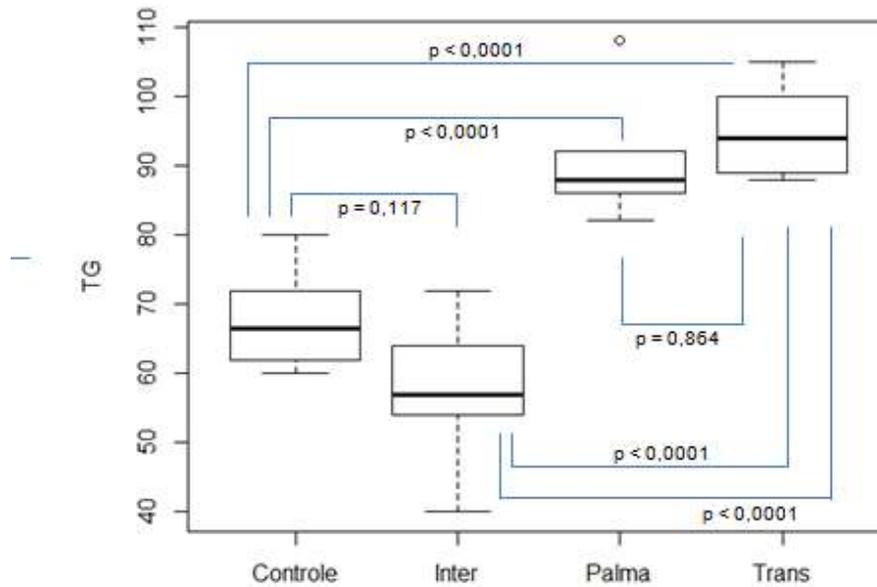


FONTE: O autor (2016)

Os grupos GT e OP apresentaram níveis de triglicerídeos superiores aos grupos GI e CO ($p < 0,0001$). Não se observou diferença estatística entre os

níveis de triglicerídeos nos grupos GT e OP, ou entre os grupos GI e CO (FIGURA 2).

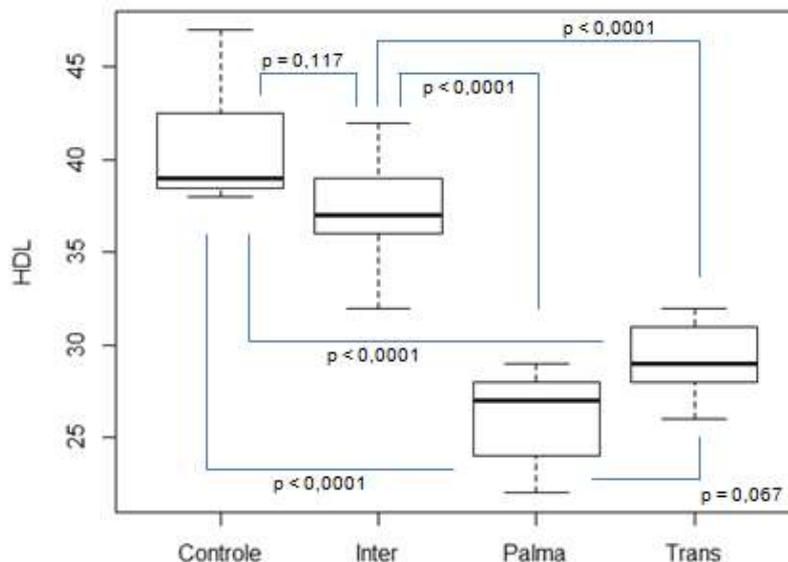
FIGURA 2: COMPARAÇÃO DA MEDIANA DOS TRIGLICERÍDEOS (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL



FONTE: O autor (2016)

Os grupos GT e OP apresentaram níveis de HDL-C inferiores aos grupos GI e CO ($p < 0,0001$). Não se observou diferença estatística entre os níveis de HDL-colesterol nos grupos GT e OP, ou entre os grupos GI e CO (FIGURA 3).

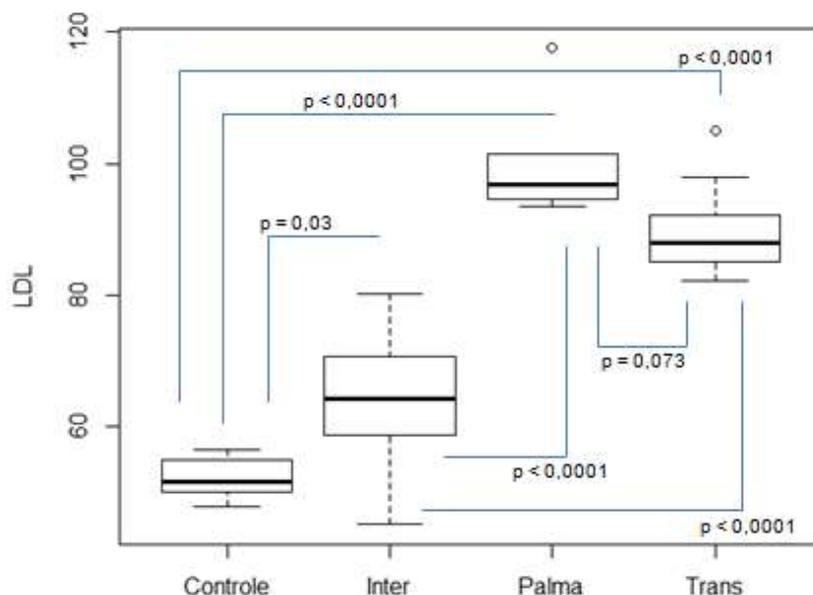
FIGURA 3: COMPARAÇÃO DA MEDIANA DO HDL-C (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL



FONTE: O autor (2016)

Os grupos GT e OP apresentaram níveis de LDL-colesterol superiores aos grupos GI e CO ($p < 0,0001$). O grupo GI apresentou níveis de LDL-C estatisticamente similares ao grupo CO. Não se observou diferença estatística entre os níveis de colesterol LDL nos grupos GT e OP (FIGURA 4).

FIGURA 4: COMPARAÇÃO DA MEDIANA DO LDL-C (mg/dl) ENTRE OS GRUPOS AO FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL.



FONTE: O autor (2016)

4.3 HISTOPATOLOGIA

As lâminas apresentaram material histológico constituído por um ou mais cortes transversais de estrutura tubular, com características de uma artéria músculo-elástica, com calibre de cerca de 2mm x 1,2mm, rodeada por tecido adiposo, com grandes e pequenos vacúolos. Havia presença de estrutura venosa, de calibre semelhante, bem como pequenos vasos e focos de hemorragia recente em alguns cortes, aspectos que não impediram a avaliação do material. O aspecto histológico demonstra luz ampla e pérvia em 100% dos casos e parcialmente ocupada por hemácias íntegras e fragmentos celulares em uns poucos.

A histologia da parede arterial mostrou material liso e regular em 100% dos casos. A túnica adventícia estava constituída de tecido conjuntivo frouxo preservado e sem alterações em 100% dos casos. Sobre a camada túnica média, observou-se 7 a 9 camadas de fibras elásticas, refringentes e íntegras, alternadas com células musculares lisas, uniforme e normalmente orientadas, também íntegras em 100% dos casos.

Observou-se a túnica íntima muito fina, sem qualquer sinal de espessamento, sem hiperplasia, sem infiltração de macrófagos, linfócitos ou polimorfonucleares, sem deposição conjuntiva amorfa ou de fibras, e sem depósitos amorfos em 100% dos casos. O revestimento vascular interno estava constituído por células endoteliais, com citoplasma imperceptível e seus núcleos íntegros e salientes na superfície interna do vaso. Não havia no material analisado evidências de alterações estruturais ou adesão de substâncias, materiais ou células em quaisquer dos casos. O exame histológico dos cortes teciduais não evidenciou qualquer sinal macroscópico ou microscópico de ateromatose, instalada ou insipiente.

5 DISCUSSÃO

As evidências científicas dos agravos desencadeados pela gordura *trans* na saúde humana estão bem estabelecidas, mas a influência do consumo de ácidos graxos alternativos livres de *trans*, como óleo de palma e gordura interesterificada de soja, para a saúde humana não têm recebido a mesma atenção. Estas últimas gorduras têm sido amplamente empregadas na preparação de alimentos pela indústria e pelo comércio em substituição à *trans* pela sua plasticidade e sabor.

A relação entre a oferta de lipídeos por meio dos óleos e gorduras da dieta e o risco para doenças cardiovasculares tem sido estudada por diversas abordagens. As evidências indicam que os ácidos graxos dos alimentos desempenham papel no desencadeamento das doenças, além de que o somatório de gorduras na dieta, independentemente do tipo, aumenta a oferta energética e pode desencadear obesidade (WILLETT, 2012; MOZAFFARIAN et al., 2013; WANG et al., 2014).

Ganho Ponderal e Consumo de Ração

As dietas ricas em gorduras promovem um ganho ponderal maior, em virtude da carga calórica. Estas dietas têm uso extensivo em modelos experimentais de obesidade humana. Entretanto, não foi este o comportamento entre os grupos experimentais. Observou-se que os grupos que receberam dietas acrescidas de margarinas com uma das três gorduras distintas tiveram ganhos ponderais menores que aquele que o que recebeu dieta comercial padrão, atingindo cerca de 2/3 do peso deste último grupo.

O consumo de dietas foi menor nos animais com margarina acrescida e significativo nos grupos com palma e interesterificada, entre 11 e 16% apenas para efeitos relativos com o consumo de ração padrão no grupo controle e consistente com o maior valor calórico por peso da ração enriquecida. As dietas acrescidas de margarinas têm maior percentual de lipídios na sua composição, 25 g em comparação com 5 g por 100g da dieta controle. Esta maior oferta calórica tende a gerar aumento da gordura corporal e consequente aumento do peso corporal. No entanto, não é o que se observa em estudos com ratos juvenis pós-desmame (21 dias, como os deste estudo), onde o

ganho ponderal total é similar em animais alimentados com dieta rica ou pobre em gorduras. O consumo total de ração é também menor nos que recebem dieta rica em gorduras. A aplicação de dieta sólida rica em gorduras a ratos logo após o desmame gera apenas maior deposição de adiposidade corporal (HAUSMANN et al., 1997; ARCHER et al., 2007). Por outro lado, a associação de uma dieta líquida rica em gorduras associada à sólida aplicada na transição para ração sólida rica em gorduras em ratos juvenis permitiu que obesidade fosse alcançada já em nove semanas (ARCHER et al., 2007; FURNES et al., 2009).

Uma dieta de transição, que poderia melhorar a aceitabilidade, entre outros benefícios, não foi aplicada aos grupos deste estudo. Entretanto, a geração de obesidade não estava entre os objetivos, mas apenas a oferta de dietas potencialmente hipercolesterolêmicas.

Por outro lado, as dietas ricas em gordura apresentam uma menor digestibilidade, quando comparadas com dietas com conteúdo normal ou reduzido de gorduras, fundamentalmente pelo maior conteúdo de fibras nestas últimas (HAUSMANN et al., 1997). Este aspecto parece particularmente relevante, considerando que o consumo total de ração foi similar entre os grupos alimentados com dietas ricas em gorduras de palma e interesterificadas. Este fator pode ter influenciado o menor ganho de peso corporal dos animais submetidos a rações com margarinas adicionadas.

É relevante notar que apesar do mesmo ganho ponderal entre os grupos alimentados com gordura de palma e gordura interesterificada, ocorreu comportamento diferenciado entre estes dois grupos, com elevação significativa do colesterol e suas frações nos de palma. Diversamente, os grupos que receberam gordura *trans* e de palma apresentaram ganhos ponderais diferenciados, menor no *trans*, entretanto o comportamento do colesterol e frações foi indistinto entre ambos. Estes elementos sugerem não serem os diferenciais de ganho de peso e de consumo alimentar as justificativas para os desvios observados no perfil lipídico dos grupos experimentais.

Finalmente, o uso de modelos experimentais para estudo de obesidade apresenta vários desafios, podendo limitar as inferências obtidas. (CAMINHOTTO; LIMA, 2016). Estas limitações não afetam diretamente o estudo corrente, considerando que o modelo proposto foi de dieta

hipercolesterolêmica. Apesar da diferença de ganho ponderal a menor quando comparados aos alimentados com dieta controle, não se estabeleceu diferenças ponderais finais entre os três grupos experimentais acrescidos de gorduras.

O Cálculo do LDL-C

O aumento da concentração sérica de LDL-C e a redução dos níveis de HDL-C estão dentre os elementos que têm relação com a formação da placa de ateroma (BROWER; WANDERS; KATAN, 2010; MUREDDU; BRANDIMARTE; LUCA; 2011; BIELEMANN et al., 2015). A maioria dos estudos que avaliaram o impacto do tratamento com fármacos sobre o risco CV se basearam na análise do CT, do HDL-C e do LDL-C, sendo que o benefício clínico da utilização de outros índices, entre as quais a apo B e o colesterol não-HDL, não foram ainda estabelecidos na prática. Desta forma, estas medidas tradicionais de risco CV são corroboradas por evidências de numerosos estudos, constituindo-se no principal alvo terapêutico na prevenção da doença CV (PIEPOLI et al., 2016).

O uso da fórmula de Friedewald-Levy-Frederickson, ou simplesmente Friedewald, no cálculo do LDL-C está consagrada na prática clínica. A fórmula tem sabidamente simplificações que na maioria dos casos não trazem prejuízo à correta interpretação. Uma destas fragilidades afeta em especial em casos de Dislipidemia Tipo IV, com níveis de triglicerídeos superiores a 400 mg/dl (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON; 1972; ROBERTS, 1988). Somente mais recentemente a dosagem do LDL-C está disponível nos laboratórios clínicos nacionais com alguma variabilidade entre métodos e também está recomendada como alternativa no Brasil na V Diretriz Brasileira para Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (CORDOVA et al., 2004; XAVIER et al., 2013).

Entretanto, a aplicação da fórmula de Friedewald a modelos animais de hipercolesterolemia e aterosclerose, e a ratos em especial, tem demonstrado superestimar o LDL-C quando comparado com a mensuração por ensaio com ultracentrifugação ou precipitação. Diferenças metabólicas entre ratos e humanos justificam esta observação. Ratos são mamíferos ditos HDL, pela predominância desta fração do colesterol, com níveis de VLDL-C intermediários

e de LDL-C muito baixos e baixa propensão para ateromatose. Já os humanos são mamíferos LDL, com a clara predominância desta fração e uma propensão documentada para aterogênese (KEEVIL, 2007; SANCHEZ-MUNIZ; BASTIDA, 2008).

O LDL-C estimado pela fórmula de Friedewald pode superar em 200 % o LDL-C medido por ultracentrifugação ou precipitação em ratos quando o colesterol está acima de 100mg/dl, ou até mais quando está acima de 210 mg/dl. Recomenda-se a determinação por ensaio específico para LDL-C nestes cenários. Sanchez-Muniz e Bastida (2008) sugerem como alternativa que se pode empreender uma correção para esta diferença metabólica, utilizando o somatório de LDL-C com VLDL-C nos estudos com ratos expostos a dietas hipercolesterolêmicas.

A alimentação dos animais deste experimento com dietas acrescidas de margarina que continha gordura *trans* ou óleo de palma promoveu alterações similares no perfil lipídico, com aumento do CT, do VLDL-C e do LDL-C. Estas fontes de ácidos graxos elevaram o LDL-C significativamente em comparação com a dieta comercial padrão, e apenas para efeitos de raciocínio em cerca de 71% e 88%, respectivamente. A avaliação comparativa do somatório LDL+VLDL manteve o comportamento similar entre os alimentados com *trans* e palma, e apenas para efeitos de raciocínio com elevação de cerca de 65 e 75%, respectivamente, sugerindo que ambas as fontes de ácidos graxos podem promover aterosclerose (TABELA 2).

Em contraste, a dieta enriquecida com gordura interesterificada teve comportamento comparável à dieta comercial padrão quando avaliados os marcadores do metabolismo lipídico neste estudo, sem alterações significativas no CT, no VLDL-C e no LDL-C, ou mesmo se analisado o somatório LDL+VLDL (TABELA 2).

O Comportamento do HDL-C

O HDL-C tem sido percebido como protetor de DCV em humanos, apesar de alguma controvérsia ainda persistir sobre por que vias o papel protetor do HDL-C se manifesta sobre a aterogênese. Os efeitos antiinflamatórios, antioxidantes e antitrombóticos do HDL-C, além da sua atividade na mobilização periférica do colesterol e sua eliminação pela via biliar

têm sido demonstrados e justificam seu papel favorável sobre as DCV. Entretanto, a falha na elevação farmacológica isolada, entre outras situações com elevado HDL-C, em prevenir as DCV tem motivado questionamento sobre sua atividade antiaterogênica específica (LEANÇA et al., 2010).

A composição dos AG provenientes da dieta é um fator importante sobre a concentração do colesterol sérico. Os efeitos dos AG saturados e dos AG *trans* sobre o LDL-C são similares. O aspecto mais nocivo é que os ácidos graxos *trans* promovem uma redução nos níveis de lipoproteínas de alta densidade (MATTHAN et al., 2001; MATTHAN et al., 2004; GANGULY; PIERCE, 2012). Além disso, estes isômeros inibem a enzima paraoxonase, que está envolvida na prevenção da oxidação lipídica e conseqüentemente aumentam o risco de doença cardiovascular (ROOS, 2002). As evidências científicas apontam que há maior influência dos hábitos alimentares para o controle dos níveis de LDL-colesterol do que sobre os níveis de HDL-colesterol nos humanos (COLANDRE; DIEZ; BERNAL, 2011; GANGULY; PIERCE, 2012; BIELEMANN et al., 2015).

Craig-Schmidt (2006) relata a importância de conhecer a quantidade de AGT contida na dieta, devido aos efeitos que esses isômeros provocam no organismo como problemas cardiovasculares, desenvolvimento de diabetes mellitus e inflamação das membranas. Esses efeitos adversos são confirmados quando se observa que o consumo dos AGT é maior nos Estados Unidos, no Canadá e em países da Europa e menor no Japão e em países do Mediterrâneo, onde a incidência de doenças cardiovasculares é diretamente proporcional ao consumo (COSTA; BRESSAN; SABARENSE, 2006; MOSS, 2006).

Observou-se que os grupos de ratos alimentados com gordura *trans* ou de palma além de apresentarem valores aumentados de CT, TG, LDL-C, VLDL-C e também do somatório LDL+VLDL, tiveram os níveis de HDL-C reduzidos quando comparados ao grupo alimentado com dieta comercial padrão. Em contraste, o grupo alimentado com gordura interesterificada acrescida na dieta não alterou significativamente o HDL-C.

A utilização de modelos experimentais nos estudos da aterosclerose é extensa. A oferta de dietas com sobrecarga de gorduras permite estudar o comportamento metabólico em resposta a ácidos graxos específicos.

Entretanto, sabe-se da diversidade metabólica entre os mamíferos HDL, como ratos, e os LDL, como os humanos. Nos mamíferos HDL, a oferta de uma dieta rica em colesterol promove uma sobreexpressão da proteína sequestradora (*scavenger*) de receptores B tipo 1 (SR-B1) que rapidamente transforma HDL-C em sais biliares viabilizando sua redução no soro (RIGOTTI et al, 1997). Esta resposta em ratos demonstra que hipercolesterolemia está presente. (SANCHEZ-MUNIZ; BASTIDA, 2008).

Desta forma, a observação de redução do HDL-C nos ratos submetidos às dietas com gordura *trans* ou de palma pode representar apenas a confirmação do potencial hipercolesterolêmico de ambas e não um efeito deletério específico do tipo de gordura sobre o metabolismo do HDL-colesterol. É importante observar que a dieta com ácidos graxos interesterificados não promoveu alteração do HDL-C, sugerindo que de fato não foi reconhecida como hipercolesterolêmica pelo metabolismo dos ratos.

Gorduras alternativas na indústria

A indústria alimentícia vem substituindo as gorduras *trans* pela de palma, mas sem investigar sua metabolização, sua influência e consequência para quem a consome. As evidências científicas sobre a influência do uso de óleo de palma para a saúde humana, principalmente sobre a saúde cardiovascular são escassas se comparadas com os estudos com a gordura *trans*, mas alguns ratificam os resultados encontrados neste experimento. Em meta-análise, Sun et al. (2015) sugerem que o consumo de óleo de palma aumenta níveis séricos de LDL-colesterol, provavelmente devido a proporção de ácidos graxos saturados disponíveis.

Por outro lado, transparece deste estudo que os animais alimentados com margarina a base de gordura interesterificada de soja não desenvolveram alterações potencialmente promotoras de aterosclerose como as demais gorduras estudadas, não se diferenciando do perfil da ração comercial padrão. Sugere-se que possa ser opção alternativa menos agressiva ao perfil lipídico quando comparado à *trans* e ao óleo de palma. Os estudos de Farvid et al. (2014) e Mensink et al. (2016) concluíram que o uso de gordura interesterificada de soja poderia ser uma opção menos deletéria para a saúde cardiovascular, porém enfatizaram a necessidade de novos estudos.

A ausência de lesões histopatológicas

Não foi observado em nenhum grupo a ocorrência de processo ateromatoso nos fragmentos de artéria aorta pesquisados, provavelmente devido o tempo experimental proposto neste trabalho que envolveu ratos entre o desmame e o terceiro mês de vida, portanto de juvenis a jovens. A oferta de ração hipercolesterolêmica por períodos adicionais poderá aferir a influência em um rato adulto de idade mais avançada.

Comentários finais

A remoção dos AGT da dieta humana resultou em melhorias na ocorrência das doenças cardiovasculares. Segundo Hu et al. (1997), substituir apenas 2% da energia da dieta proveniente dos AGT por outros ácidos graxos, porém não-hidrogenadas, principalmente os insaturados, poderia reduzir o risco de doenças cardíacas em até 53%. Leth et al. (2006) demonstraram uma redução de 60% na ocorrência de doença cardiovascular na Dinamarca depois que a legislação determinou a limitação do uso de AGT nos alimentos daquele país.

No Brasil há determinação para não utilização de AGT na elaboração de alimentos industrializados (PROENÇA; HISSANAGA, 2008). A falta de fiscalização e de conscientização da indústria alimentícia mantém o uso mesmo diante de diversas evidências científicas que demonstram malefícios e indiretamente contraindicam sua utilização.

O projeto de lei de 2015 da Câmara de Deputados, enumerado como 2.068, que limita a quantidade de gorduras *trans* nos alimentos industrializados, podendo assim conter somente 2g de gordura *trans* e determina a adaptação das indústrias por um período de 2 anos após data da publicação da lei. Este projeto de lei foi apensado a outro em discussão que remonta a 2003, o PL-2356/2003.

Em 30 de março de 2016, o Plenário da Câmara dos Deputados aprovou substitutivo ao projeto de Lei 8194/14 do Senado, que define o uso de gordura *trans* até 1 de janeiro de 2019. O Senado Federal finalmente aprovou como Lei Ordinária nº 13.305 em 4 de julho de 2016.

Finalmente, as evidências científicas da agressividade das gorduras *trans* para vários aspectos da saúde humana estão bem demonstradas. Entretanto, são poucos os estudos sobre as demais fontes lipídicas utilizadas pela indústria alimentícia, como o óleo de palma. Este estudo alerta para a ocorrência de riscos similares quando utilizadas fontes alternativas de lipídios, sem a demonstração de suas características metabólicas.

O uso de matérias primas alimentares alternativas, focando a melhoria das características organolépticas dos alimentos, deve levar em consideração os princípios de segurança alimentar e nutricional, evitando expor os consumidores a riscos secundários a efeitos adversos sobre o metabolismo humano.

6 CONCLUSÕES

1. A oferta de dieta com gordura *trans* induziu alterações no perfil lipídico consistentes com a promoção de aterogênese.
2. A oferta de dieta com óleo de palma induziu alterações no perfil lipídico similares às observadas com gordura *trans*.
3. A gordura interesterificada de soja ofertada na dieta não induziu as alterações significativas no perfil lipídico.
4. Não foram observados indícios de lesão arteriosclerótica nos ratos jovens submetidos a dietas com gorduras adicionadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINI, I. N.; MISKANDAR, M. S. Utilization of palm oil and palm products in shortenings and margarines. **Eur J Lipid Sci Technol**, Weinheim, v.109, n.4, p.422-432, 2007.
- AIT-OUFELLA H., et al. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, Dallas, v. 31, p. 969–979, 2011.
- ARANCETA, J., PÉREZ-RODRIGO, C. Recommended dietary reference intakes nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review. **Br J Nutr**, Cambridge, v. 107, Suppl. 2, p. S8 - S22, 2012.
- ARCHER, Z. A. et al, Solid and liquid obesogenic diets induce obesity and counter-regulatory changes in hypothalamic gene expression in juvenile Sprague-Dawley rats. **J Nutrition**, Rockville, v. 137, p 1483-1490, 2007.
- ARO, A. The scientific basis for *trans* fatty acid regulations – Is it sufficient? A European perspective. **Atherosclerosis Suppl**, Amsterdam, v.7, p.77-68, 2006.
- ASCHEIRO, A.; WILLETT, W. Health effects of *trans* fatty acids. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v.66, p.1006-1010, 1997.
- ASCHERIO, A. Epidemiologic studies on dietary fats and coronary heart disease. **Am J Medicine**, Philadelphia, v.113, p.9-12, 2002.
- AZRAD, M.; TURGEON, C.; DEMARK-WAHNEFRIED, W. Current evidence linking polyunsaturated fatty acids with cancer risk and progression. **Front Oncol**, Lausanne, v. 3, p. 224-230, 2013.
- BASIRON, Y. Palm oil production through sustainable plantations. **Eur J Lipid Sci Technol**, Weinheim, v. 109, n. 4, p. 289-295, 2007.
- BIELEMANN, R.M. et al. Consumo de alimentos ultraprocessados e impacto na dieta de adultos jovens. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 49, p. 28-38, 2015.
- BOOKER, C.S., MAM, J.L. *Trans* fatty acids and cardiovascular health: translation of the evidence base. **Nutr Metab Cardiovascular Dis**, Amsterdam, v. 18, n. 6, p. 448-56, 2008.
- BORBA, E. et al. Perfil lipídico e obesidade em homens de um município da região sul do Brasil. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 22, n.1, p. 18-24, 2012.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC n. 360, de 26 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc

BRASIL, Câmara dos Deputados, Projeto de lei nº 2068/2015. Autor: Antonio Goulart dos Reis. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 24 jun. 2015. Disponível em: <<http://www.camara.gov.br/sileg/integras/1357353.pdf>>

BRASIL, Câmara dos Deputados, Projeto de lei nº 2356/2003. Autor: João Sandes Júnior. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 23 out. 2003. Disponível em:

<http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao;jsessionid=46EA111D6EF35812548B00E6172507CF.proposicoesWeb1?idProposicao=139253&ord=0>

BRASIL, Senado Federal, Lei Ordinária nº 13.305/2016. Autor: Paulo Bauer. **Senado Federal**, Brasília, DF, 5 jul. 2016. Disponível em: <http://legis.senado.leg.br/legislacao/ListaTextoIntegral.action?id=250694&norma=270110>.

BROWER., J.A., WANDERS, A.J., KATAN, M.B. Effect of animal and industrial *trans* fatty acids on HDL e LDL cholesterol levels in humans. **PloS One**, São Francisco, v. 5, n. 3, p. e9434, 2010.

CAMINHOTTO, R. O.; LIMA, F. B. Low carbohydrate high fat diets: when models do not match reality. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo v. 60, n. 4, não p., 2016.

CHIARA, V. L. SICHIERI, R.; CARVALHO, T. D. S. F. D. Teores de ácidos graxos *trans* de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. **Rev Nutr**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 227-233, 2003.

CHIUVE, S.E., et al. Dietary fat quality and risk of sudden cardiac death in women. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 96, n. 3, p.498-507, 2012.

CHONG, C. L. et al. Thermal and structural behaviour of crude palm oil: crystallisation at very slow cooling rate. **Eur J Lipid Sci Technol**, Weinheim, v. 109, n.4, p.410-427, 2007.

CHOWDHURY, R. et al. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: a systematic review and meta-analysis. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v. 160, p.398–406, 2014.

CLIFTON, P.M.; KEOGH, J.B.; NOAKES, M. *Trans* fatty acids in adipose tissue and food supply are associated with myocardial infarction. **J Nutrition**, Rockville, v.134, p.874-879, 2004.

COLANDRE, M. E., DIEZ, R. S., BERNAL, C. A. Metabolic effects of *trans* fatty acids on an experimental dietary model. **Br J Nutr**, Cambridge, v. 89, p. 631–639, 2011.

CORDOVA, C.M.M. et al. Comparison of LDL-cholesterol direct measurement with the estimate using the Friedewald formula in a sample of 10,664 patients. **Arq Bras Cardiol**, São Paulo, v.83 n.6, não p., 2004.

COSTA, A. G. V.; BRESSAN, J.; SABARENSE, C. M. Ácidos graxos *trans*: Alimentos e efeitos na saúde. **Arch Latinoamericano de Nut**, Caracas, v. 56, n. 1, p. 12-21, 2006.

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

DATAMARK. São Paulo, 2016. Disponível em: <http://www.datamark.com.br/noticias/2016/2/consumidor-usa-menos-margarina-e-manteiga-193762/>. Acesso em: 22 de março de 2016.

DLOUHÝ, P. et al. Higher content of 18:1 *trans* fatty acids in subcutaneous fat of persons with coronarographically documented atherosclerosis of the coronary arteries. **Ann Nutr Metab**, Basileia, v. 47, p. 302–305, 2003.

EUROMONITOR INTERNATIONAL. Londres, 2015. Disponível em : http://blog.euromonitor.com/wp-content/uploads/2015/09/pdf_oilsfats-v1-2.pdf. Acesso em: 22 de março de 2016.

FARVID, M.S. et al. Dietary linoleic acid and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **Circ**, Dallas, v. 130, n. 18, p.1568–78, 2014.

FATTORE, E. et al. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 99, p.1331–50, 2014.

FERNANDES, G., Dietary lipids and risk of autoimmune disease. **Clin Immunol Immunopathol**, Amsterdam, v. 72, p. 193–197, 1994.

FLOCK, M. R.; KRIS-ETHERTON, P. M., Dietary Guidelines for Americans 2010: implications for cardiovascular disease. **Curr Atherosclerosis Rep**, Cham, v.136, p. 499–507, 2011.

FLOCK, M.R.; FLEMING, J.A.; KRIS-ETHERTON, P.M. Macronutrient replacement options for saturated fat: effects on cardiovascular health. **Curr Opin Lipidol**, Londres, v. 25, p. 67–74, 2014.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chemistry**, Washington, v. 18, n. 6, p. 499-502/1972.

FURNES, W et al. Feeding behavior and body weight development: lessons from rats subjected to gastric bypass surgery or high-fat diet. **J Physiol Pharmacol**, Cracóvia, v. 60, supl. 7, p. 25-31, 2009.

GANGULY, R., PIERCE, G. *Trans* fat involvement in cardiovascular disease. **Mol Nutr Food Res**, Weinheim, v. 56, p. 1090-1096, 2012.

GEE, P. T. Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. **Euro J Lipid Sci Technology**, Weinheim, v.109, n.4, p.373-379, 2007.

GITT, A.K.; et al. Low-density lipoprotein cholesterol in a global cohort of 57,885 statin-treated patients. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v.74, p.190-198, 2016.

GRDEN, L. Produção e comparação entre sorvete com gordura de palma (sem *trans*) e com gordura vegetal hidrogenada (com *trans*). **Food Sci Technol**. Campinas, v.2, n. 8, p. 1-8, 2008.

HARVEY, K.A. et al. *Trans* fatty acids: induction of pro-inflammatory phenotype in endothelial cells. **Lipids**, Cham, v. 47, n. 7, p. 647-57, 2012.

HAUSMANN, W et al. Adipose tissue expansion and the development of obesity: influence of dietary fat type. **Asia Pacific J Clin Nutrition**, Elm Grove, v. 6, n. 1, p 49-55, 1997.

HU, F. B. et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. **New Engl J Med**, Boston, v. 337, p. 1491–1499, 1997.

HU, F. B.; WILLETT, W. C. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. **JAMA**, Chicago, v. 288, p. 2569–2578, 2002.

HU, J. et al. Dietary *trans* fatty acids and cancer risk. **Eur J Cancer Prev**, Hasselt, v. 20, n. 6, p. 530-538, 2011.

KATZ, A. M. Should *trans* fatty acids be viewed as membrane-active drugs? **Atherosclerosis Suppl**. Amsterdam, v. 7, p. 41-42, 2006.

KEEVIL, J.G. et al. Implications of cardiac risk and low-density lipoprotein cholesterol distributions in the United States for the diagnosis and treatment of dyslipidemia: Data from National Health and Nutrition Examination Survey 1999 to 2002. **Circ**, Dallas, v.70, p. 115-1363, 2007.

KELLENS, M.; GIBON, V.; HENDRIX, M.; DE GRYT, W. Palm oil fraction. **Euro J Lipid Sci Tech**, Weinheim, v.109, n.4, p.336-349, 2007.

KLEINBONGARD, P.; HEUSCH, G.; SCHULZ, R. TNFalpha in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. **Pharmacology Ther**, Amsterdam, v. 127, p. 295–314, 2010.

KRAUSS, R.M. All low-density lipoprotein particles are not created equal. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, Dallas, v.34, p.959–61, 2014.

KWITEROVICH, P. O. The effect of dietary fat, antioxidants, and pro-oxidants on blood lipids, lipoproteins and atherosclerosis. **J Am Diet Assoc**, Amsterdam, v. 97, S31–S41, 1997.

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S., GIL, A. Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. **Early Hum Dev**, Amsterdam, v. 65, Suppl, p. S31-S41, 2001.

LEANÇA, C.C. et al. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 54, n. 9, não p., 2010.

LEMAITRE, R.N. Cell Membrane *trans*-fatty acids and risk of primary cardiac arrest. **Circ**, Dallas, v.105, p. 697-701, 2001.

LETH, T., et al. The effect of the regulation on *trans* fatty acid content in Danish food. **Atherosclerosis Suppl**, Amsterdam, v.7, p.53-56, 2006.

LICHTENSTEIN, A. L. Dietary fat: a history. **Nutr Rev**, Weinheim, v.57, p.11-14, 1997.

LIMA, A. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Rev Nutr**, Campinas, v.13, n.2, p.73-80, 2000.

MARANGONI, A. G.; ROUSSEAU, D. Engineering triacylglycerols: the role of interesterification. **Trends Food Sci Technol**, Amsterdam, v. 329, n. 6, 1995.

MARCHAND, V. *Trans* fats: what physicians should know. **Paediatr Child Health**, Weinheim, v. 15, p. 373–378, 2010.

MARTIN, C. A. *Trans* fatty acid-forming processes in foods: a review. **An Acad Bras Ciênc**, Rio de Janeiro, v.79, n.2, p.343-350, 2007.

MATTHAN, N. R., et al. Dietary hydrogenated fat increases high-density lipoprotein apoA-I catabolism and decreases low-density lipoprotein apoB-100 catabolism in hypercholesterolemic women. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, Dallas, v. 24, p. 1092–1097, 2004.

MATTHAN, N. R., et al. Hydrogenated fat consumption affects acylation-stimulating protein levels and cholesterol esterification rates in moderately hypercholesterolemic women. **J. Lipid Res**, Rockville v. 42, p. 1841–1848, 2001.

MENSINK, R. P. et al. The Increasing Use of Interesterified Lipids in the Food Supply and Their Effects on Health Parameters. **Adv Nutr**, Rockville, v. 7, n. 4, p. 719-29, 2016.

MOREIRA. A.C. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutrire Rev Bras Alim e Nutr**, São Paulo, v. 24, p.105-123, 2002.

MOSS, J. Labeling of *trans* fatty acid content in food, regulations and limits – The FDA view. **Atherosclerosis Suppl**, Amsterdam, v.7, p. 57-59, 2006.

MOZAFFARIAN, D, et al. *Trans*-palmitoleic acid, other dairy fat biomarkers, and incident diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 97, n. 4, p. 854-861, 2013.

MOZAFFARIAN, D. *Trans* fatty acids – effects on systemic inflammation and endothelial function. **Atherosclerosis Suppl**, Amsterdam, v.7, p. 29-32, 2006.

MULLINS, G.E. The heart speaks: embracing integrative medicine for heart health. **Nutr Clin Pract**, Thousand Oaks, v. 27, n. 3, p. 426-427, 2012.

MUREDDU, G. F., BRANDIMARTE, F., DE LUCA, L., High-density lipoprotein levels and risk of cardiovascular events: a review. **Journal Cardiovascular Medicine**, Hagerstown, v. 12, n. 11, p.843-847, 2011.

NELSON, D. L. Lipídeos. In: NELSON D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5. ed. São Paulo: Sarvieri, 2012.

NIU, S. L., MITCHELL, D. C., LITMAN, B. J. *Trans* fatty acid derived phospholipids show increased membrane cholesterol and reduced receptor activation as compared to their *cis* analogs. **Biochemistry**, Washington, v. 44, p. 4458–4465, 2005.

ODEGAARD, A.O. et al. Dietary patterns and mortality in a Chinese population. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 100, p. 877–83, 2014.

ODIA, O.J., OFORI, S., MADUKA O. Palm oil and the heart: A review. **World J Cardiol**, Pleasanton, v. 7, n. 3, p. 144-149, 2015.

PASSAMAI, M. R. B. Gordura interesterificada aplicada a produtos diet, chocolates e confeitos. **FI-FOOD Ingredients**, São Paulo, n. 17, p. 47-49, 2002.

PHILIPPI, S. T. Óleos e gorduras. In: _____ **Nutrição e Técnica Dietética**. 2.ed. Barueri: Manole, 2006.

PIEPOLI, M. F. et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 252, p. 207-74, 2016.

PROENÇA, R. P. da C.; HISSANAGA, V. M. O controle de gorduras *trans* no processo produtivo de refeições. **Revista do Conselho Regional de Nutricionistas – 2ª Região**, RS e SC (CRN 2), v. 2, n. 16, p. 13, 2008.

RAZ, O. et al. The effect of two iso-caloric meals containing equal amounts of fats with a different fat composition on the inflammatory and metabolic markers in apparently healthy volunteers. **J Inflamm**, London, v.10, n. 3, não p, 2013.

REEVES, P.G., NIELSEN, F.H., FAHEY, G.C. 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 Nutrition**. Rockville, v. 123, n. 11, p.1939-51, 1993.

REMIG, V.; FRANKLIN, B.; MARGOLIS, S.; KOSTAS, G. *Trans* fats in America: a review of their use, consumption, health implications, and regulation. **J Am Diet Assoc**, Amsterdam, v. 110, p. 585–592, 2010.

RIBAS FILHO, D.; SUEN, V.Z. **Tratado de Nutrologia**. São Paulo: Manole, 2012, 576p.

RIBEIRO, A. P. B. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gordura zero *trans*. **Quim Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1295-1300, 2007.

RIGOTTI, A. et al. A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger receptor class B type I reveals its key role in HDL metabolism. **Proc Nat Acad Science**, Washington, v. 94, p. 12610–12615. 1997.

ROACH, C. et al. Comparison of *cis* and *trans* fatty acid containing phosphatidylcholines on membrane properties. **Biochemistry**, Washington, v. 43, p. 6344–6351, 2004.

ROBERTS, W. C. The Friedewald-Levy-Fredrickson formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol, the basis for lipid-lowering therapy. **Am J Cardiol**, Amsterdam, v. 62, p. 345–6, 1988.

RODRIGUES, E.; SCHIESSEL, D.L. Perfil lipídico e glicêmico de ratos suplementados com diferentes quantidades de gordura interesterificada. **Revista Salus**, Guarapuava, v. 3, n. 2, p. 33-44, 2009.

ROOS, N. M. *Trans* monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids have similar effects on postprandial flow-mediated vasodilation. **Eur J Clin Nutr**, New York, v.56, n.7, p.674-679, 2002.

ROSE, D. P., CONNOLLY, J.M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacol Therap**, Kansas City, v. 83, n. 3, p. 217-244, 1999.

SACKS, F.M. The crucial roles of apolipoproteins E and C-III in apoB lipoprotein metabolism in normolipidemia and hypertriglyceridemia. **Curr Opin Lipidol**, Londres, v. 26, p.56–63, 2015.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUNDRAM, K.; TAN, Y. A. Chemistry and biochemistry of palm oil. **Progress Lipid Res**, Amsterdam, v. 39, n.6, p. 507-558, 2000.

SANCHEZ-MUNIZ, F.J.; BASTIDA, S. Do not use the Friedewald formula to calculate LDL-cholesterol in hypercholesterolaemic rats. **Eur J Lipid Science Technology**, Weinheim, v.110, n.4, p. 295-301, 2008.

SANTOS FILHO, R.D.; MARTINEZ, T.L.R. Fatores de risco para doença cardiovascular: velhos e novos fatores de risco, velhos problemas. **Arquivos Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 212-214, 2002.

SCHAEFER, E. J. Lipoprotein, nutrition, and health disease. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v.75, p.191-212, 2001.

SCHERR, C.; RIBEIRO, J. P. Gorduras em laticínios, ovos, margarinas e óleos: implicações para a aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**. São Paulo, v. 95, n. 1, p. 55-60, 2010.

SIDDIQUI, R. A. et al. n-3 fatty acids prevent whereas *trans*-fatty acids induce vascular inflammation and sudden cardiac death. **Br J Nutr**, Cambridge, v. 102, p. 1811–1819, 2009.

SILVA, A.P. et al. Ácidos graxos plasmáticos, metabolismo lipídico e lipoproteínas de ratos alimentados com óleo de palma e óleo de soja parcialmente hidrogenado. **Rev Nutr**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 229-237, 2005.

SIMOPOULOS, A.P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 54, p. 438-63, 1991.

SOARES, F. A. S. D. M; GIOIELLI, L. A. **Efeito de interesterificação química sobre as propriedades físico-químicas de misturas de estearina e oleína de palma**. São Paulo, 2009. Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. 2009.

SOUTO, A. A.; ZANI, V. T. Ácidos graxos *trans*: nutrição no envelhecimento e fontes nos alimentos. In: BUSNELLO, F. M. **Aspectos nutricionais no processo do envelhecimento**. São Paulo: Atheneu, 2007.

STACHOWSKA, E., et al. Dietary *trans* fatty acids and composition of human atheromatous plaques. **Eur J Nutrition**, Cham, v. 43, p. 313–318, 2004.

SUN, Y. et al. Palm Oil Consumption Increases LDL Cholesterol Compared With Vegetable Oils Low in Saturated Fat in a Meta-Analysis of Clinical Trials. **J Nutrition**, Rockville, v. 145, n. 7, p. 1549-1558, 2015.

TRPKOVIC, A. et al. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. **Crit Rev Clin Lab Science**, Abingdon-on-Thames, v. 52, n. 2, p. 70-85, 2015

TSAI, M.Y. et al. New automated assay of small dense low-density lipoprotein cholesterol identifies risk of coronary heart disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, Dallas, v. 34, p.196–201, 2014.

VALOR ECONÔMICO. São Paulo, 2016. Disponível em : <http://www.valor.com.br/empresas/4447252/consumidor-usa-menos-margarina-e-manteiga/>. Acesso em: 22 de março de 2016.

VAN DE VIJVER, L. P. et al. *Trans* unsaturated fatty acids in plasma phospholipids and coronary heart disease: a casecontrol study. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 126, p. 155–161, 1996.

VAZ, J. S., et al. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. **Rev Nutr**, Campinas, v. 19, p. 489-500, 2006.

VITOLO, M. R. **Nutrição**: da gestação ao envelhecimento. Rio de Janeiro: Ed. Rubio, 2008.

WAITZBERG, D. **Lípídeos**. 1 ed, São Paulo: Ed. Ilsi, 2009.

WANG, Q. et al. Plasma phospholipid *trans*-fatty acids levels, cardiovascular diseases, and total mortality: the cardiovascular health study. **J Am Heart Assoc**, Dallas, v. 3; n. 4, não p., 2014.

WILLETT, W.C. Dietary fats and coronary heart disease. **J Internal Medicine**, Weinheim, v. 272, n. 1, p. 13-24, 2012.

WILLETT, W.C.; STAMPFER, M.J.; SACKS, F.M. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v. 161, p. 453, 2014.

XAVIER H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**, São Paulo, v. 101, n. 4, supl.1, não p., 2013.

ANEXO



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins de direito que o docente Antônio Eduardo Zanardo Borgonhone, realizou atividades práticas com ratos da linhagem "wistar" no biotério da Faculdade Ingá – UNINGÁ, no período compreendido entre 01 de setembro de 2011 a 20 de fevereiro de 2012.

Maringá 05 de março de 2012


Prof. Me. Fábio Branches Xavier
Coordenador do Curso de Nutrição