



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**JÚLIA MARTINS VIEIRA**

**EFEITOS DA INGESTÃO DO ÓLEO DE MACADÂMIA SOBRE  
ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM TECIDO ADIPOSEO DE  
CAMUNDONGOS C57BL/6 COM AUMENTO DE  
ADIPOSIDADE**

Florianópolis - SC  
2017



**JÚLIA MARTINS VIEIRA**

**EFEITOS DA INGESTÃO DO ÓLEO DE MACADÂMIA SOBRE  
ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM TECIDO ADIPOSE DE  
CAMUNDONGOS C57BL/6 COM AUMENTO DE  
ADIPOSIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Ciências Biológicas, Departamento  
de Ciências Fisiológicas do Centro de  
Ciências Biológicas da Universidade  
Federal de Santa Catarina, como  
requisito para a obtenção do grau de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

Florianópolis – SC

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Martins Vieira, Júlia  
Efeitos da ingestão do óleo de macadâmia sobre alterações  
morfológicas em tecido adiposo de camundongos C57BL/6 com  
aumento de adiposidade / Júlia Martins Vieira ;  
orientador, Everson Araújo Nunes - Florianópolis, SC, 2017.  
64 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Obesidade. I. Araújo Nunes,  
Everson. II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

JÚLIA MARTINS VIEIRA

**EFEITOS DA INGESTÃO DO ÓLEO DE MACADÂMIA SOBRE  
ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM TECIDO ADIPOSEO DE  
CAMUNDONGOS C57BL/6 COM AUMENTO DE  
ADIPOSIDADE**

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 14 de fevereiro de 2017.

---

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti

Coordenador do Curso Graduação em Ciências Biológicas

**Banca examinadora:**

---

Prof. Dr. Everson Araújo Nunes

Presidente

---

Prof. Dr. Rodrigo Otávio Alves de Lima

Membro Titular

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Letícia Carina Ribeiro

Membro Titular



*Dedico este trabalho à minha família  
que sempre me apoiou nas minhas  
escolhas e me incentivou a nunca  
desistir e a ir atrás dos meus sonhos.*





## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer à minha família pelo amor incondicional e por todo apoio que me deram em toda minha vida: ao meu pai, Gilberto, por ser meu grande exemplo de dedicação e trabalho duro, pois vê-lo sempre querendo fazer o seu melhor me faz também querer ser melhor; à minha mãe, Vânia, por todo carinho e afeto e às várias pequenas coisas que faz todo dia para nos deixar feliz; ao meu irmão, Bruno, pela ajuda nos momentos em que eu realmente precisava e pelo apoio nas minhas decisões; à minha amada vó Lídia, que aos 93 anos tem uma vontade de viver incrível e é meu exemplo de força e saúde.

Agradeço também ao meu namorado, Rodrigo, por todo amor e carinho, pela companhia nas aventuras e por sempre me apoiar e me incentivar a buscar o melhor. Com ele veio também pessoas maravilhosas que se tornaram minha segunda família. Agradeço a eles por me acolherem tão bem desde o primeiro dia, Neca, Catito e Marília, por todos os conselhos, “mentalizações” e “cinemas” descontraídos de final de semana.

Aos meus amigos que a Biologia me presenteou, Luana, Júlia, Katia, Aruana, Leo e Marcello, por todos os risos escandalosos de fazer chorar, por ouvirem pacientemente meus desabafos e angústias e por estarem sempre ao meu lado.

Numa pesquisa científica como esta sempre há várias pessoas envolvidas. Então quero agradecer aos integrantes do LIDoC, Júlia S., Henvener, Cinthia, Maciel, Haissa e Natália por toda a ajuda que me deram no laboratório e por terem me recebido tão bem. Agradeço em especial à Thayz que além de supervisora se tornou uma amiga muito querida, sempre muito paciente comigo e de bom humor, fez meus dias no LIDoC muito mais especiais e à Amanda pelo auxílio indispensável em diversas partes deste trabalho e por sanar tantas das minhas dúvidas. Aos integrantes da banca, Dr. Rodrigo Otávio e Dra. Letícia Ribeiro, por aceitarem prontamente meu convite para participarem deste TCC. Aos técnicos do laboratório de histologia do Departamento de Morfologia da UFSC, em especial ao Gilberto e à Bel, por serem sempre muito

prestativos e por toda a ajuda durante os procedimentos histológicos. Aos técnicos do LAMEB por todo o auxílio prestado, em especial à Vanessa pela experiência e conhecimento inigualáveis sobre os equipamentos e com a análise computacional que fez toda a diferença no meu trabalho. Ao meu orientador Dr. Everson Nunes, por me conceder a oportunidade de trabalhar no LIDoC e por todo aprendizado que adquiri ao longo desse ano.

Agradeço à UFSC pela infraestrutura que tornou este estudo possível e pela formação acadêmica durante estes 5 anos de graduação. Aos professores do curso de Biologia pelos ensinamentos providos e por proporcionarem momentos inesquecíveis, em especial ao Prof. Rodrigo por despertar meu interesse e paixão pela Patologia e pelo apoio durante o curso.

Obrigada ao CNPq pela bolsa no programa “Ciência sem Fronteiras” que me proporcionou experiências inesquecíveis nos Estados Unidos e pela bolsa de Iniciação Científica que me forneceu essa oportunidade única de trabalhar com a pesquisa científica no LIDoC.

*“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos.”*

(Marie Curie)



## RESUMO

A obesidade é uma doença multifatorial com alta prevalência na população brasileira atual que altera diversos parâmetros metabólicos e morfológicos no indivíduo, como hipertrofia do tecido adiposo e desenvolvimento de um estado inflamatório crônico de baixo grau. No entanto, componentes bioativos da dieta alimentar, como os presentes na macadâmia, podem exercer efeitos metabólicos com o potencial de proteger o corpo contra morbidades associadas à obesidade. Um alimento que vem sendo estudado com esse objetivo é a macadâmia que possui 75% de óleo natural composto principalmente por ácidos graxos monoinsaturados, os quais estão em estudo por possuírem potenciais aplicações em doenças associadas à obesidade. A adição de macadâmia na dieta humana vem apresentando resultados promissores em dislipidemias e obesidade. Levando em conta esses dados, o presente estudo visou investigar o potencial efeito protetor do óleo de macadâmia na obesidade através da ingestão do óleo (1g/kg/dia) concomitante com a exposição à dieta de cafeteria por período de 16 semanas. Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos a partir dos 30 dias de idade separados aleatoriamente em quatro grupos experimentais: controle (CTL), óleo de macadâmia (OM), dieta de cafeteria (DC) e dieta de cafeteria + óleo (DOM). Durante o período de tratamento o consumo alimentar foi registrado semanalmente, assim como a massa corporal dos animais. O consumo de ração (g/semana) foi maior nos grupos CTL e OM, porém não houve diferenças significativas no consumo energético (kcal/semana) e na massa corporal (g) entre os quatro grupos experimentais. Após o período de tratamento, os animais foram eutanasiados e os órgãos de interesse foram coletados para pesagem e posterior emblocamento em parafina para o processamento histológico. As massas da gordura epididimal e retroperitoneal encontraram-se aumentadas nos grupos alimentados com dieta hipercalórica, e, conseqüentemente, o índice de adiposidade também foi maior nesses grupos. A morfometria dos adipócitos mostrou hipertrofia significativa nos grupos DC e DOM, sendo que foi encontrada correlação positiva, ou forte tendência, entre área dos adipócitos e massa da gordura epididimal em todos os grupos. Nas análises histológicas ao microscópio óptico de luz foram encontradas estruturas *crown-like* (CLS) indicando inflamação do tecido adiposo. A dieta de cafeteria produziu efeito significativo no aumento da quantidade de CLS com os grupos DC e DOM apresentando maior número de CLS/mm<sup>2</sup> de corte de tecido

adiposo epididimal. No entanto, não foi observada correlação positiva significativa entre área dos adipócitos e quantidade de CLS. Os resultados desse estudo mostram que a dieta de cafeteria foi eficiente em induzir obesidade nos animais, e, assim, causar distúrbios morfológicos correspondentes. Porém o óleo de macadâmia não foi eficaz em modular os efeitos morfológicos da obesidade no modelo experimental apresentado.

**Palavras chave:** inflamação, tecido adiposo, óleo de macadâmia, dieta de cafeteria, obesidade.

### ABSTRACT

Obesity is a multifactor disease with high prevalence in the Brazilian population which alters various metabolic parameters in the individual, for example adipose tissue hypertrophy and development of a low-grade chronic inflammatory state. However, bioactive components in the alimentary diet, like the ones present in macadamia nut, can exert metabolic effects that have potential to protect the body against obesity-associated morbidities. A food that has been studied with this purpose is the macadamia nut that contains 75% of natural oil composed mostly by monounsaturated fatty acids, which are under study for their potential applications in diseases associated with obesity. The addition of macadamia nut in the human diet has been presenting promising results in dyslipidemias and obesity. Taking in count these data, the present study aimed to investigate the potential protector effect of the macadamia oil in obesity by ingesting the oil (1g/kg/day) concomitant with exposure to cafeteria diet in a period of 16 weeks. Male C57BL/6 mice were used from 30 days of age and randomly separated in four experimental groups: control (CTL), macadamia oil (OM), cafeteria diet (DC) and cafeteria diet + macadamia oil (DOM). During the period of treatment the food intake was registered weekly, as well as the animals' body weight. Food intake (g/week) was higher in the CTL and OM groups, but no significant differences were detected in energy intake (kcal/week) and in body weight, between the four experimental groups. After the period of treatment, the animals were euthanized and their organs of interest were collected for weighting and latter paraffin embedment for histological processing. Epididymal and retroperitoneal

fat masses were increased in the groups fed with hypercaloric diet, and, consequently, the adiposity index was also higher in these groups. Adipocyte morphometry showed significant hypertrophy in DC and DOM groups, and a positive correlation was found, or strong tendency, between adipocyte area and epididymal fat mass in all groups. In histological analysis under optical light microscopy crown-like structures (CLS) were found indicating tissue inflammation. Cafeteria diet produced significant effect in the increase of CLS quantity with DC and DOM groups presenting higher number of CLS/mm<sup>2</sup> of epididymal adipose tissue slide. However, no positive correlation was found between adipocyte area and quantity of CLS. The results of this study showed that cafeteria diet was efficient in inducing obesity in the animals, and, therefore, cause corresponding morphological disturbances. However, the macadamia oil was not effective in modulating the morphological effects of obesity in the experimental model presented herein.

**Key words:** inflammation, adipose tissue, macadamia oil, cafeteria diet, obesity.





## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Linha do tempo representativa do estudo desde o início do tratamento dos animais (t=0) até a eutanásia dos mesmos (t=16).....	34
<b>Figura 2:</b> Parâmetros de consumo das dietas adotadas.....	38
<b>Figura 3:</b> Massa corporal (g) durante as 16 semanas de tratamento.....	39
<b>Figura 4:</b> Parâmetros de massa da gordura epididimal e retroperitoneal e de adiposidade.....	41
<b>Figura 5:</b> Área dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ) do tecido adiposo epididimal.....	43
<b>Figura 6:</b> Imagem representativa do tecido adiposo epididimal dos quatro grupos experimentais estudados.....	44
<b>Figura 7:</b> Correlação entre área dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ) e massa absoluta (mg) de gordura epididimal nos quatro grupos estudados.....	45
<b>Figura 8:</b> Imagem representativa das CLS presentes no tecido adiposo epididimal dos quatro grupos experimentais estudados.....	46
<b>Figura 9:</b> Quantidade de CLS na gordura epididimal com dados normalizados por $\text{mm}^2$ de corte de tecido.....	47
<b>Figura 10:</b> Correlação entre área dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ) e quantidade de CLS/ $\text{mm}^2$ de corte de gordura epididimal nos quatro grupos estudados.....	48



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composição do óleo de macadâmia (Pazze) fornecido aos animais do estudo.....34
- Tabela 2:** Composição das diferentes dietas que foram administradas aos animais do estudo.....35
- Tabela 3:** Massa corporal e massa de tecidos adiposos em camundongos C57BL/6 expostos a dieta de cafeteria e suplementação com óleo de macadâmia.....42



## LISTA DE ABREVIATURAS

**AGL** Ácidos Graxos Livres

**CLS** Estruturas *Crown-like*

**HF** *High-fat*

**HSL** Hormônio Lipase Sensível

**IL-1  $\beta$**  Interleucina-1  $\beta$

**IL-6** Interleucina-6

**IL-8** Interleucina-8

**IL-10** Interleucina-10

**LIDoC** Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas

**MCP-1** Proteína Quimiotática de Monócitos-1

**TAB** Tecido Adiposo Branco

**TAM** Tecido Adiposo Marrom

**TNA- $\alpha$**  Fator de Necrose Tumoral-  $\alpha$



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>32</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
3.1. Objetivos gerais.....	32
3.2. Objetivos específicos.....	32
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>33</b>
4.1. Desenho do estudo.....	32
4.2. Dietas e ingestão alimentar.....	34
4.3. Eutanásia dos animais.....	35
4.4. Pesagem dos órgãos.....	35
4.5. Histologia.....	36
4.6. Morfometria.....	36
4.7. Contagem de estruturas <i>crown-like</i> .....	36
4.8. Análise estatística dos dados.....	37
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>8. RECONHECIMENTOS.....</b>	<b>53</b>
<b>9. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>





## 1. INTRODUÇÃO

O atual estilo de vida da população, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento, está notoriamente modificado se compararmos com décadas anteriores (BRAY, 2004). Caracterizado pelo sedentarismo e consumo excessivo e/ou inadequado de alimentos, o modo de vida urbano vêm provocando aumento acentuado no número de obesos, elevando o risco de doenças como dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial e diversos tipos de cânceres (POPKIN; GORDON-LARSEN, 2004, TATEYA; KIM; TAMORI, 2013).

No Brasil, observa-se um aumento da ingestão de alimentos processados e industrializados com alto teor de gorduras saturadas, gorduras *trans*, carboidratos refinados e diminuição no consumo de fibras (LEVY et al., 2012). Essa mudança no padrão alimentar da população brasileira, assim como em outros países, pode ser explicada, mas não apenas, pela palatabilidade desses alimentos (ERLANSON-ALBERTSON, 2005).

Comidas palatáveis, aquelas ricas em gordura e açúcar, aumentam a ingestão alimentar por meio da ativação do sistema de recompensa que se sobressai ao estímulo normal de saciedade. Esse estímulo, por meio de cascatas de sinalização não é corretamente ativado devido à resistência do corpo a esses elementos, como é o caso da resistência à leptina observada em indivíduos obesos (ERLANSON-ALBERTSON, 2005). Todos esses fatores, e outros, levam ao desenvolvimento da obesidade que já é considerada uma epidemia no Brasil (IBGE, 2008/2009) e no mundo (JAMES, 2008).

A obesidade é definida como uma doença crônica de caráter multifatorial (fator genético, ambiental, sociocultural e comportamental) determinada pelo excesso de tecido adiposo (WANDERLEY; FERREIRA, 2010, PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004). Em 2006, o índice de sobrepeso na população adulta no Brasil era 43%. Hoje esse índice aumentou para 52,5%, dos quais 17,9% são de pessoas obesas. Além disso, as doenças crônicas, como a síndrome metabólica, são responsáveis por 72% dos óbitos no país (VIGITEL BRASIL, 2014).

O excesso de gordura, característico da obesidade, é ocasionado pelo aumento da ingestão de calorias, principalmente derivadas de dietas com alto teor de gordura, combinado com a falta de atividade física (MOKDAD; FORD; BOWMAN, 2003). Esse aumento da adiposidade pode ocorrer via hipertrofia e/ou hiperplasia, já que o tecido adiposo responde rapidamente ao excesso e à mudança de nutrientes ingeridos (HALBERG; WERNSTEDT-ASTERHOLM; SCHERER, 2008). Enquanto a hipertrofia (aumento do tamanho dos adipócitos) ocorre devido à estocagem excessiva de lipídios dentro dos adipócitos, a hiperplasia (aumento do número de adipócitos) resulta da proliferação e posterior diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos (adipogênese). Dentre essas duas alterações, a hipertrofia é a mais frequente no tecido adiposo de obesos e geralmente está associada à inflamação (ARNER et al., 2010; LOLMÈDE et al., 2011).

Dentre os tipos de tecido adiposo encontramos predominantemente o branco (TAB) e o marrom (TAM). O TAB é o tecido adiposo mais abundante nos humanos adultos e tem importantes funções como: fornecer proteção mecânica contra choques, auxiliar na manutenção da temperatura corporal, além de realizar um importante papel endócrino com a secreção de adipocinas (WOZNIAK, 2009, AHIMA; FLIER, 2000). Já o TAM, é mais conhecido por seu importante papel na manutenção da temperatura corporal em condições de baixas temperaturas (HARMS; SEALE, 2013), mas também preserva o balanço energético e limita o ganho de peso em roedores em resposta ao excesso de calorias (ROTHWELL; STOCK, 1979).

Os depósitos de gordura são classificados como gordura visceral, subcutânea e intramuscular dependendo da região do corpo em que estão localizados e apresentam repercussões fisiológicas distintas (KISSEBAH; KRAKOWER, 1994; WAJCHENBERG; 2000). O tecido adiposo visceral, que é encontrado revestindo órgãos internos, representa aproximadamente 20% da gordura corporal total, enquanto que o subcutâneo compreende quase 80% (BERGMAN et al., 2006). Porém, indivíduos com quantidades maiores de gordura visceral apresentam maiores riscos de desenvolverem doenças metabólicas e cardiovasculares (KISSEBAH, 1997). Isso ocorre por que, como seus adipócitos são mais ativos metabolicamente e mais sensíveis à lipólise, mobilizam ácidos graxos livres (AGLs) mais rapidamente para o fígado,

onde são liberados diretamente via sistema porta (BJÖRNTORP, 1991, BJÖRNTORP, 1992, MONTAGUE, 1998, KELLEY, 2000).

Pacientes obesos geralmente apresentam excesso de gordura visceral, o qual tem a característica de secretar maiores concentrações de adipocinas ligadas ao processo pró-inflamatório, como resistina, IL-6 (MCTERNAN, 2002, WAJCHENBERG; 2000) e TNF- $\alpha$  (HUBE, 1999, WINKLER, 2003), provocando inflamação no tecido. No entanto, o tecido adiposo predominante em humanos obesos é o subcutâneo e, mesmo apresentando menos lipólise por adipócito, pode ser tão importante quanto o visceral no desenvolvimento de alterações metabólicas (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004). Em murinos obesos, o tecido adiposo epididimal, um tipo de gordura visceral, é bem desenvolvido, explicando seu amplo uso em estudos metabólicos (GIORGINO; LAVIOLA; ERIKSSON, 2005).

O tecido adiposo é composto predominantemente por adipócitos, mas também são encontrados, em condições normais, pré-adipócitos, fibroblastos, células endoteliais e macrófagos em menor quantidade. Esse tecido representa a maior reserva de energia do corpo estocando lipídios principalmente na forma de triglicerídeos (ésteres de ácidos graxos e glicerol) (QUEIROZ et al., 2009, WOZNIAK, 2009), sendo seu principal produto de secreção os AGL, derivados da lipólise de triglicerídeos (BAYS; MANDARINO; DEFRONZO, 2004).

Os lipídios, além da função energética, também apresentam função estrutural por constituírem os fosfolipídios e os glicolipídios que formam as membranas biológicas. Quase todos os lipídios têm como componentes essenciais os ácidos graxos (YETUKURI et al., 2007), os quais possuem a capacidade de modular a atividade celular ligando-se a receptores de membrana ou modificando a ativação de proteínas (ROCHA et al., 2016).

A hidrólise de triglicerídeos libera AGL para a circulação sanguínea formando complexos com a albumina do sangue e são, dessa forma, absorvidos como fonte de produção de energia por diversos órgãos, principalmente músculo esquelético e miocárdio (SWIERCZYNSKI; SLEDZINSKI, 2012). Porém, a liberação excessiva desses AGL no sangue, como ocorre na obesidade, contribui para o desenvolvimento de doenças metabólicas através dos seus efeitos

lipotóxicos em outros órgãos como no fígado, no rim e no pâncreas, colaborando, assim, para a resistência à insulina e prejudicando o metabolismo da glicose (PASSOS et al., 2016). Essa elevação das concentrações de AGL circulantes pode ser consequência da obesidade visceral já que, promovendo resistência à insulina, o tecido inibe a atividade antilipolítica da insulina nos adipócitos (BAYS; BALLANTYNE, 2006, JOHNSON et al., 2001, JENSEN, 2006).

Além de estocar lipídios, o tecido adiposo produz e secreta adipocinas, que são um conjunto de substâncias endócrinas, como hormônios e citocinas, com poder de influenciar intensamente o metabolismo e o gasto energético (FANTUZZI, 2005). Dentre elas temos: TNF- $\alpha$  e IL-6, com propriedades pró-inflamatórias e que se encontram em concentrações aumentadas no obeso (SETHI; HOTAMISLIGIL, 1999; WARNE, 2003), e adiponectina, com efeitos anti-inflamatórios no tecido adiposo, mas em concentrações reduzidas nesses pacientes (LAU et al., 2005; CHANDRAN et al., 2003).

A produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias, juntamente com a redução de citocinas anti-inflamatórias e o aumento do fluxo de ácidos graxos livres no sangue por meio da lipólise, acarretam no desenvolvimento de uma inflamação crônica de baixo grau característica da obesidade (MARINO et al., 2010; ZEYDA; STULNIG, 2009). Concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  e IL-6 estão diretamente relacionadas com a adiposidade e a resistência à insulina (COTTAM et al., 2004). O TNF- $\alpha$ , produzido principalmente por macrófagos, induz lipólise nos adipócitos liberando AGL e contribui para a resistência à insulina (HOTAMISLIGIL; SHARGIL; SPIEGELMAN, 1993, ZHANG et al., 2002). Além do TNF- $\alpha$ , os macrófagos também são responsáveis pela produção de 50% de IL-6 no tecido adiposo, que também irá auxiliar na promoção da resistência à insulina (WEISBERG et al., 2003).

Estudos com camundongos obesos mostraram aumento no número de macrófagos no TAB, como consequência do aumento de TNF- $\alpha$ , potente ativador dessas células fagocitárias (XU et al., 2003). Em outro estudo, Skurk et al. (2007) observaram, utilizando adipócitos subcutâneos de humanos, um aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-8, em adipócitos hipertrofiados. Além disso, IL-10, uma citocina anti-inflamatória, teve sua liberação reduzida com o aumento do volume do adipócito. Esses resultados indicam que a

hipertrofia dos adipócitos modifica o padrão de secreção de adipocinas, estabelecendo um quadro pró-inflamatório no tecido adiposo (WEYER, et al., 2000).

Os macrófagos residentes no tecido adiposo normal representam 5% do estroma, porém em obesos esse número pode chegar a 30% (TATEYA; KIM; TAMORI, 2013). Esse aumento está relacionado à superexpressão de MCP-1 que atrai monócitos circulantes para o tecido adiposo onde se diferenciarão em macrófagos, produzindo e secretando mais citocinas pró-inflamatórias no tecido (KANDA et al., 2006, KAMEI et al., 2006).

O aumento na gordura corporal, como ocorre no paciente obeso, está diretamente relacionado com a quantidade de macrófagos encontrados no tecido adiposo (BAYS et al., 2008). Devido à morte dos adipócitos, causada pela hipertrofia acentuada na obesidade, essas células fagocitárias se agregam para formar as estruturas *crown-like* (CLS) que irão digerir os restos do adipócito morto, evitando a citotoxicidade do lipídio remanescente (CINTI et al., 2005; STRISSEL et al., 2007).

CLS são achados histológicos comumente encontrados em tecido adiposo de obesos (MURANO et al., 2008, ALTINTAS et al., 2011, XU et al., 2003, CINTI et al., 2005, SAMPEY et al., 2011, WEISBERG et al., 2003) que evidenciam a inflamação no tecido por apresentarem macrófagos pró-inflamatórios (ANDERSON; GUTIERREZ; HASTY, 2010), mastócitos (ALTINTAS et al., 2011) e linfócitos (KINTSCHER et al., 2008, MCDONNELL et al., 2012) contornando adipócitos mortos. Essas estruturas estão distribuídas de forma diferenciada nos depósitos de gordura abdominal como mostra o estudo de Altintas et al. (2011) que, por meio de experimentos com camundongos C57BL/6 machos, mostraram maior quantidade de CLS na gordura visceral dos animais expostos à dieta obesogênica (*high-fat*), com maior prevalência dessas estruturas no tecido adiposo epididimal.

Uma forma de induzir a obesidade em modelos animais é por meio da administração de dietas hipercalóricas, como a dieta de cafeteria. Essa é uma dieta próxima da humana de elevada palatabilidade e altamente energética que resulta, ao final de 12 semanas, em aumento de 30 a 40% do peso corporal e aumento de gordura visceral decorrente da hiperfagia voluntária (DE PAULA; DE

SILVA; HALL, 2004). A dieta de cafeteria é associada à epidemia atual de obesidade na sociedade ocidental e vem sendo muito utilizado em estudos com modelo animal por induzir padrões alimentares pouco saudáveis como os observados em humanos (CASTRO et al., 2014, SAMPEY et al., 2011). Higa et al. (2014) mostraram hipertrofia dos adipócitos e aumento do peso da gordura retroperitoneal e periepididimal em camundongos C57BL/6 machos alimentados com dieta de cafeteria durante 12 semanas. Também foi observado maior ingestão alimentar e redução da sensibilidade à insulina nos animais expostos a essa dieta.

Já se sabe que componentes bioativos provenientes da dieta podem exercer efeitos metabólicos no corpo por meio da supressão de vias e de citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo, como é o caso de compostos provenientes de frutas e vegetais que contém grande quantidade de nutrientes e poucas calorias, prevenindo doenças crônicas (ROSA et al., 2012; FANTUZZI, 2008). Um exemplo são os frutos do tipo noz que possuem elevadas concentrações de gorduras, mas onde estão presentes ácidos graxos que apresentam um potencial efeito cardioprotetor (MAGUIRE et al., 2009).

A macadâmia é um desses frutos, o qual apresenta 75% de óleo natural composto principalmente por gorduras monoinsaturadas (80-84%), além de 9% de proteínas, 9,3% de carboidratos e 2% de fibras (RICK, 1991). Na composição do óleo estão presentes em maior abundância o ácido oleico (54-68 %) e o ácido palmitoleico (16-23%) além de outros ácidos graxos em quantidades menores (AKHTAR et al., 2006). A adição de macadâmia na dieta humana vem apresentando resultados promissores em dislipidemias e obesidade. Estudos demonstraram que a ingestão desse fruto diminui os níveis de colesterol e triglicérides séricos, além de reduzir o risco de desenvolver doenças cardiovasculares (GRIEL et al., 2008) e normalizar níveis de colesterol HDL e LDL (GARG; BLAKE; WILLS, 2003).

Estudos recentes mostram que ácidos graxos monoinsaturados reduzem a adiposidade e promovem a sensibilidade à insulina em obesos (DUE et al., 2008; PANIAGUA et al., 2007) e que reduzem a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 (GARCIA-ESCOBAR et al., 2010) e IL-1  $\beta$  (FINUCANE et al., 2015). Outros estudos observaram que dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados diminuiriam a

expressão de lipoproteína lipase e aumentaram a fosforilação do HSL, mostrando atuação desses ácidos graxos no aumento da lipólise e diminuição do estoque de lipídios no tecido adiposo (LIAO et al., 2010; GARCIA-ESCOBAR et al., 2008; SORIGUER et al., 2003).

O ácido oleico (ômega-9), um ácido graxo monoinsaturado, vem sendo muito estudado por apresentar resultados promissores do ponto de vista metabólico. Estudos mostraram que a administração desse ácido na dieta resultou em redução do colesterol total, do colesterol LDL (JONES et al., 2014, MATTSON; GRUNDY, 1985) e da pressão arterial (TERÉS et al., 2008).

Outro ácido, também monoinsaturado, que vem ganhando destaque em estudos sobre obesidade é o ácido palmitoleico (ômega-7) devido a efeitos metabólicos observados em diversos órgãos: no fígado e no músculo, o ácido aumentou a sensibilidade à insulina (CAO et al., 2008) e no tecido adiposo aumentou a lipólise e reduziu a lipogênese nos adipócitos (BOLSONI-LOPES et al., 2013).

Os dados e os estudos sobre obesidade e dietas moduladoras do metabolismo presentes na literatura mostram a importância de se estudar esse assunto para um maior entendimento do complexo transtorno metabólico que é a obesidade e que afeta milhões de pessoas pelo mundo. Estudos com modelos animais de obesidade e suplementação com ácido palmitoleico ou mesmo o óleo de macadâmia já foram realizados, porém faltam dados sobre seus efeitos na modulação do metabolismo. Além disso, muitos destes estudos foram realizados com células isoladas e/ou com a substância purificada, o que dificulta o entendimento global dos efeitos no corpo e a transposição dessa substância para a dieta dos pacientes. O presente estudo pretende verificar o efeito protetor do óleo de macadâmia sobre parâmetros específicos já conhecidos da obesidade em um modelo (dieta de cafeteria) que tenta mimetizar a dieta ocidental.

## 2. JUSTIFICATIVA

Devido às proporções epidêmicas da obesidade na população mundial e aos problemas que tal doença causa na saúde e no bem-estar das pessoas afetadas, faz-se necessária a busca por formas de modular os efeitos da obesidade, de preferência de fácil assimilação na dieta dos pacientes, que atenuem as alterações metabólicas da doença responsáveis pela morbidade e que diminuam os riscos de desenvolver outras doenças relacionadas com a obesidade. Uma forma de induzir essas modulações é através da suplementação alimentar com componentes que possuam potencial efeito metabólico no corpo. A macadâmia é um desses alimentos, por isso a sua relevância em estudos sobre obesidade e a importância em se desenvolverem pesquisas mais aprofundadas sobre suas implicações em modelos animais e em humanos.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Objetivo geral

Avaliar as modulações morfológicas da ingestão da dieta de cafeteria e da suplementação com óleo de macadâmia.

### 3.2. Objetivos específicos

Avaliar as modulações da ingestão de dieta de cafeteria e da suplementação com óleo de macadâmia sobre parâmetros morfológicos analisando:

- ✓ Consumo alimentar e energético;
- ✓ Massa corporal;
- ✓ Massa da gordura epididimal e retroperitoneal;
- ✓ Índice de adiposidade;
- ✓ Área dos adipócitos de tecido adiposo epididimal;
- ✓ Presença de estruturas *crown-like* no tecido adiposo epididimal.



## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Desenho do estudo

O estudo (**Figura 1**) visou investigar o papel da dieta de cafeteria no tecido adiposo e o potencial efeito protetor do óleo de macadâmia na obesidade. Para isso, foram utilizados 40 camundongos C57BL/6 (machos), a partir dos 30 dias de idade, provenientes do Laboratório de Neurobiologia da Dor e da Inflamação (LANDI), pertencente ao Centro de Ciências Biológicas (CCB), no Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS), localizado no Campus Trindade, Florianópolis, SC. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, contendo cinco animais por gaiola, e em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) em ciclo de iluminação claro-escuro (12 horas), com livre acesso à comida (ração comercial, Puro Trato<sup>®</sup>) e água. Todos os protocolos e procedimentos experimentais relativos ao projeto foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSC - CEUA Nº 5855301015.

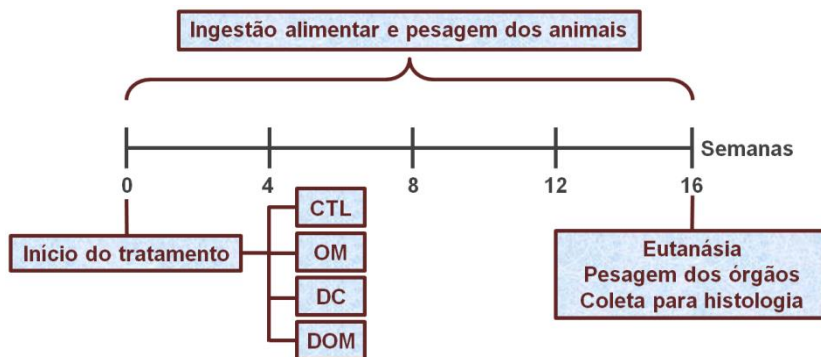
Inicialmente, os animais foram mantidos no biotério por nove dias para ambientação e, em seguida, realizou-se uma divisão aleatória desses animais em quatro grupos experimentais contendo 10 camundongos machos por grupo. Os grupos são: grupo controle (CTL) alimentado com dieta padrão de roedores, grupo (OM) tratado com dieta padrão e suplementado com óleo de macadâmia (1g/kg/dia), grupo (DC) alimentado com dieta de cafeteria e grupo (DOM) tratado com dieta de cafeteria e suplementado com óleo de macadâmia (1g/kg/dia). Após a divisão dos grupos, as dietas foram administradas por um período de 16 semanas, sendo que se aplicou diariamente a suplementação via oral utilizando pipeta. A dose dos óleos por dia está de acordo com trabalho prévio realizado pelo LIDoC (BARBOSA et al., 2016) com outro tipo de óleo e de experimentos piloto realizados com o próprio óleo de macadâmia. O óleo de macadâmia utilizado foi da marca Pazze (**Tabela 1**), disponível em: [www.emporiorosaonline.com.br](http://www.emporiorosaonline.com.br) e foi avaliado por cromatografia líquida de alta performance para avaliar sua composição de ácidos graxos.

**Tabela 1:** Composição do óleo de macadâmia (Pazze) fornecido aos animais do estudo.

Ácido graxo	Proporção (%) no óleo
Alfa-linolênico	0.6
Mirístico	1.08
Palmitoleico	22.14
Linoleico	7.32
Palmítico	7.68
Oleico	56.98
Esteárico	4.19

A ingestão de óleo de macadâmia ocorreu concomitante com a exposição dos animais à dieta de cafeteria, a partir dos 30 dias de idade, por parte dos animais num período de 16 semanas. Ao final do período de tratamento, os animais foram eutanasiados e os órgãos de interesse foram coletados para pesagem e para a produção de lâminas histológicas.

**Figura 1:** Linha do tempo representativa do estudo desde o início do tratamento dos animais (t=0) até a eutanásia dos mesmos (t=16). Siglas: CTL, controle; DC; dieta de cafeteria; OM, óleo de macadâmia (1g/kg/dia); DOM, dieta de cafeteria + óleo de macadâmia (1g/kg/dia).



## 4.2. Dietas e ingestão alimentar

A dieta de cafeteria (**Tabela 2**) foi administrada por um período de 16 semanas e preparada com chocolate ao leite (10g), amendoim

(10g), biscoito salgado tipo cracker (5g), açúcar (5g) e ração para roedores (15g), de acordo com o modelo de oferta de dieta de cafeteria proposto por Higa et al. (2014), com o objetivo de induzir alterações metabólicas e morfológicas nos animais estudados.

A ingestão alimentar e a massa corporal dos animais foram registradas semanalmente. A ingestão alimentar foi acompanhada pela mensuração da ração remanescente descontada do total daquela depositada na semana anterior, sendo que a diferença representou a quantidade ingerida por gaiola. A quantidade média da ração ingerida por animal foi obtida através da soma da massa corporal de todos os animais por gaiola, dividido pela massa de cada animal da gaiola, multiplicado pela quantidade de ração que foi ingerida pelos animais da gaiola durante a semana, dividido por sete, resultando no consumo por dia por animal.

**Tabela 2:** Composição das diferentes dietas que foram administradas aos animais do estudo.

	<b>Dieta padrão</b>	<b>Dieta de cafeteria</b>
<b>Kcal/g</b>	4,24	5,09
<b>Carboidratos (%)</b>	68	62
<b>Proteínas (%)</b>	27	17
<b>Gorduras totais (%)</b>	05	21

### **4.3. Eutanásia dos animais**

A partir das 7h da manhã do dia da eutanásia, a restrição alimentar de 6h foi imposta aos animais. Essa restrição se fez necessária para a obtenção de dados de glicemia de jejum que foram utilizados em trabalhos que estão em desenvolvimento no LIDoC e não afeta os resultados do presente estudo. Após a restrição alimentar, os animais foram eutanasiados por decapitação com tesoura sem a utilização de anestésico.

### **4.4. Pesagem dos órgãos**

As gorduras epididimal e retroperitoneal foram cuidadosamente removidas e pesadas em balança eletrônica analítica digital (TECNAL, SP, Brasil), imediatamente após a eutanásia dos animais. Os dados de

massa relativa das gorduras foram obtidos através do cálculo da massa absoluta de gordura dividida pela massa corporal do animal. O índice de adiposidade foi obtido dividindo a massa corporal pela soma das gorduras epididimal e retroperitoneal e multiplicando o resultado por cem.

#### **4.5. Histologia**

As amostras de gordura epididimal foram fixadas em paraformaldeído (4%) durante 48h em cassetes de plástico. Após esse período, as amostras seguiram para desidratação com graduações de álcool e clarificação em banhos de xilol para posterior inclusão em parafina (60°C). Cortes de 5µm do tecido adiposo epididimal de cada grupo experimental foram obtidos em microtomia utilizando o Micrótomo Rotativo Leica® RM2255 e aderidos em lâminas de vidro. Para a coloração com hematoxilina e eosina, os tecidos passaram anteriormente por procedimentos de desparafinização em xilol e, em seguida, de reidratação com graduações de álcool.

#### **4.6. Morfometria**

As imagens foram capturadas com o Digitalizador de Lâminas Automatizado Axio Scan® para análise de campos contendo 100 adipócitos por lâmina, seguindo padronização de Desarzens e Faresse (2016). Para a obtenção da área média dos adipócitos foi utilizado o software ZEN lite® 2012.

#### **4.7. Contagem de estruturas *crown-like***

A contagem das estruturas *crown-like* foi realizada analisando todo o corte do tecido adiposo epididimal de cada animal estudado utilizando o Microscópio Óptico Olympus® CX21. Foram consideradas estruturas *crown-like* aquelas onde células inflamatórias envolviam pelo menos metade da superfície do adipócito. Imagens das estruturas foram capturadas utilizando o Microscópio Invertido Olympus® IX83 com câmera digital colorida Olympus® DP73 de 17 megapixel e o programa de captura de imagens CellSens® Dimension 1.12. A normalização dos dados da contagem de CLS está de acordo com Altintas et al. (2011).

#### 4.8. Análise estatística dos dados

Os dados foram organizados e registrados em planilhas no programa Microsoft Office Excel 2010®. A análise estatística foi realizada no programa estatístico Graphpad Prism® versão 5.01 (Graphpad Inc.; La Jolla, USA). As variáveis qualitativas foram descritas e apresentadas em média e desvio padrão da média (DPM).

Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo que se o resultado foi  $<0.05$ , rejeitou-se a normalidade dos dados. Neste caso, os dados passaram por testes não-paramétricos. As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando ANOVA de duas vias para dados paramétricos. Para dados não-paramétricos, os valores foram primeiramente transformados em logaritmos naturais (ln) para que se tornassem paramétricos e, assim, seguiu-se a análise de ANOVA duas vias. O pós teste utilizado foi o de Bonferroni.

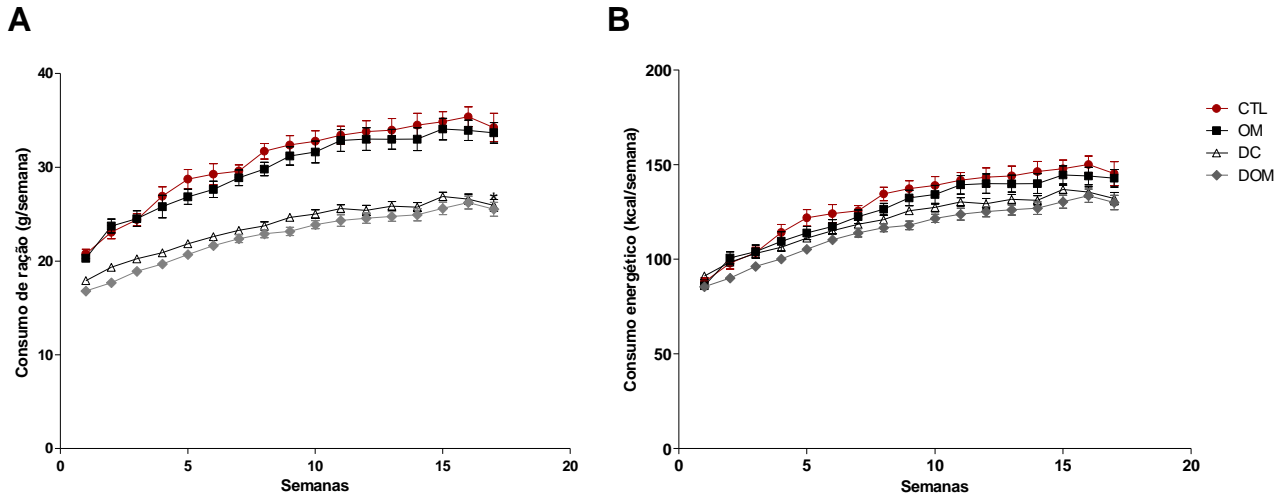
Nas análises de correlação, foi utilizado o teste de Pearson para dados paramétricos e o de Spearman para dados não-paramétricos. A intensidade da correlação foi estabelecida analisando o coeficiente de correlação (r): se  $r < 0.3$ , a correlação foi considerada fraca; se  $0.3 < r < 0.7$ , moderada; e se  $r > 0.7$ , alta. Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ( $P < 0.05$ ).

### 5. RESULTADOS

Primeiramente foi avaliado o consumo alimentar, a massa corporal e a massa da gordura branca dos camundongos C57BL/6 machos tratados com quatro dietas diferentes (**Tabela 3**).

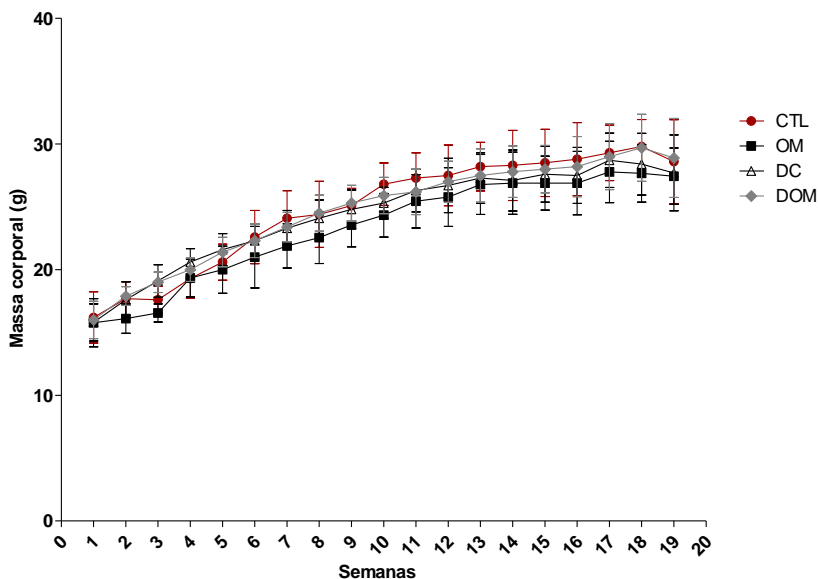
O consumo de ração final (g) (**Figura 2A**) nos grupos CTL e OM foi aproximadamente 25% maior do que nos grupos DC e DOM ( $P < 0.05$ ). Já o consumo energético (kcal) ao final das 16 semanas de tratamento (**Figura 2B**) foi em torno de 10% maior nos grupos alimentados com dietas hipercalóricas (5.09 kcal/g) em relação aos grupos alimentados com dieta padrão (4.24 kcal/g), porém tal diferença não atingiu valores significativos ( $P > 0.05$ ).

**Figura 2:** Parâmetros de consumo das dietas adotadas. (A) Média do consumo de ração em gramas por semana. (B) Média do consumo energético em kcal por semana. (n=9, CTL e OM; n=10, DC e DOM). Siglas: CTL, controle; DC, dieta de cafeteria; OM, óleo de macadâmia (1g/kg/dia); DOM, dieta de cafeteria + óleo de macadâmia (1g/kg/dia). \*= $P < 0.05$  quando comparado com o grupo CTL.



Na massa corporal (g) dos animais também não foram observadas diferenças significativas ( $P>0.05$ ) entre os quatro grupos experimentais (**Figura 3**), sendo que todos os grupos estudados apresentaram valores iniciais médios próximos de 16g e valores finais médios próximos de 28g, resultando em ganho de massa total de aproximadamente 75% ao final do período de tratamento.

**Figura 3:** Massa corporal (g) durante as 16 semanas de tratamento. (n=9, CTL e OM; n=10, DC e DOM). Siglas: CTL, controle; DC, dieta de cafeteria; OM, óleo de macadâmia (1g/kg/dia); DOM, dieta de cafeteria + óleo de macadâmia (1g/kg/dia).



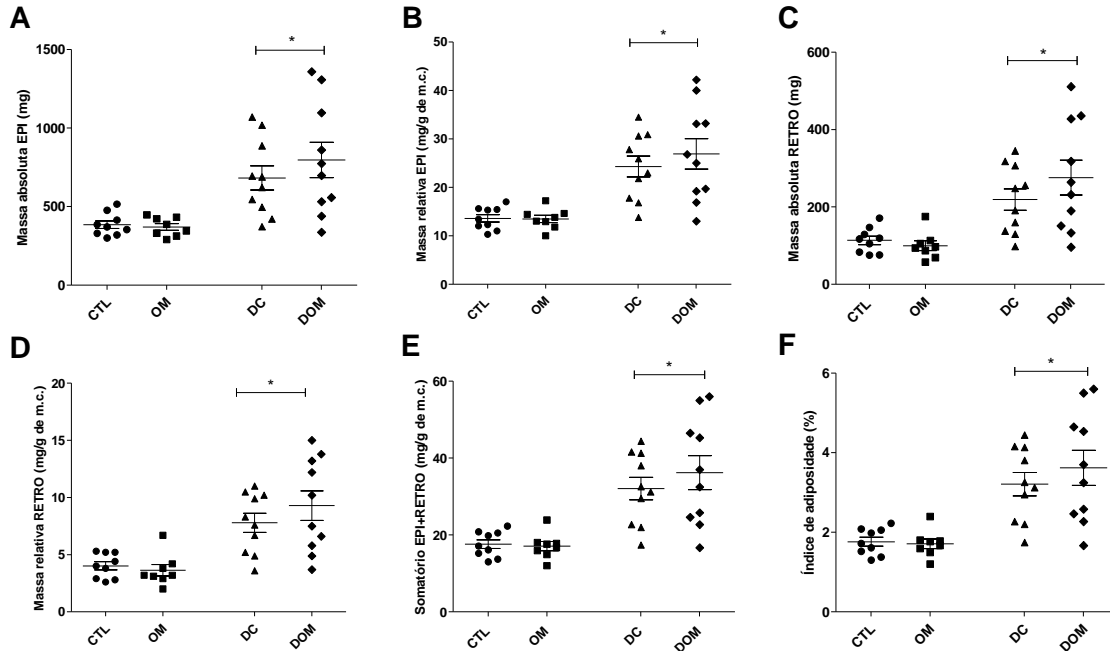
Para determinar se as dietas causaram efeitos na adiposidade dos animais, as massas absolutas e relativas da gordura epididimal e retroperitoneal foram analisadas. Todos os resultados relativos à gordura branca mostraram aumento significativo ( $P<0.05$ ) de massa desses órgãos nos grupos DC e DOM quando comparados aos demais grupos. A massa absoluta (mg) (**Figura 4A**) e relativa (mg/g de m.c.) (**Figura 4B**) de gordura epididimal do grupo DC foi cerca de 1.8 vezes maior do que o controle, enquanto que o grupo DOM dobrou a massa em relação ao controle. O mesmo padrão foi observado na massa absoluta (**Figura 4C**) e relativa (**Figura 4D**) da gordura retroperitoneal, sendo que a

mudança de tamanho do órgão foi ainda mais evidente nos grupos DC e DOM. Nesse órgão, o grupo DC apresentou o dobro da massa e o grupo DOM teve aumento de 2.7 vezes na massa absoluta e de 2.3 vezes na massa relativa, ambos comparados ao controle.

A avaliação da massa total de gordura branca coletada ao final das 16 semanas de tratamento foi obtida através do somatório das massas das gorduras epididimal e retroperitoneal (**Figura 4E**). Esse somatório mostrou que a massa de gordura branca (mg/g de m.c.) estava aumentada em mais de 80% no grupo DC e mais que dobrou no grupo DOM, ambos em relação ao controle ( $P < 0.05$ ). Como consequência do maior acúmulo de gordura, o índice de adiposidade corporal (**Figura 4F**) mostrou valores de aumento semelhantes ao resultado do somatório das gorduras no grupo DC e no DOM quando comparados ao controle.



**Figura 4:** Parâmetros de massa da gordura epididimal e retroperitoneal e de adiposidade. Massa absoluta (mg) (A) e relativa (mg/g de m.c.) (B) da gordura epididimal. Massa absoluta (mg) (C) e relativa (mg/g de m.c.) (D) da gordura retroperitoneal. Somatório da gordura epididimal e retroperitoneal (mg/g de m.c.) (E). Índice de adiposidade corporal (%) (F) dos animais. (n=8, OM; n=10, CTL; n=9, DC e DOM). Siglas: CTL, controle; DC, dieta de cafeteria; OM, óleo de macadâmia (1g/kg/dia); DOM, dieta de cafeteria + óleo de macadâmia (1g/kg/dia). \*= $P < 0.05$  quando comparado com o grupo CTL; EPI, epididimal; RETRO, retroperitoneal.



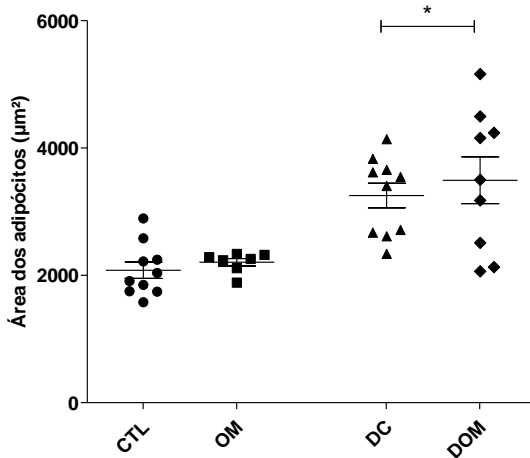
**Tabela 3:** Massa corporal e massa de tecidos adiposos em camundongos C57BL/6 expostos a dieta de cafeteria e suplementação com óleo de macadâmia.

	<b>CTL</b>	<b>OM</b>	<b>DC</b>	<b>DOM</b>
<b>Massa corpórea inicial (g)</b>	16.2 ± 2.0	15.8 ± 1.9	15.8 ± 1.5	16.0 ± 1.5
<b>Massa corpórea final (g)</b>	28.6 ± 3.3	27.4 ± 2.2	27.7 ± 3.0	28.9 ± 3.1
<b>Consumo de ração final (g)</b>	34.2 ± 4.5	33.7 ± 3.3	25.9 ± 2.0	25.5 ± 2.3
<b>Consumo energético final (kcal)</b>	145.2 ± 19.0	142.8 ± 13.9	132.0 ± 10.2	129.9 ± 11.9
<b>Massa absoluta de gordura epididimal (mg)</b>	384.5 ± 77.4	370.6 ± 59.5	681.8 ± 242	796.3 ± 357.2
<b>Massa relativa de gordura epididimal (mg/g de m.c.)</b>	13.6 ± 2.3	13.5 ± 2.1	24.3 ± 6.8	26.9 ± 9.9
<b>Massa absoluta de gordura retroperitoneal (mg)</b>	113.6 ± 32.8	99.6 ± 35.5	219.1 ± 87.6	275.9 ± 142.8
<b>Massa relativa de gordura retroperitoneal (mg/g de m.c.)</b>	4.0 ± 1.1	3.6 ± 1.4	7.8 ± 2.6	9.3 ± 4.1
<b>Somatório das gorduras brancas (mg/g de m.c.)</b>	17.6 ± 3.4	17.1 ± 3.4	32.1 ± 9.3	36.2 ± 14.0
<b>Índice de adiposidade (%)</b>	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.3	3.2 ± 0.9	3.6 ± 1.4

Valores estão apresentados como média ± DPM. m.c. = massa corporal. \*= $P < 0.05$  quando comparado com o grupo CTL.

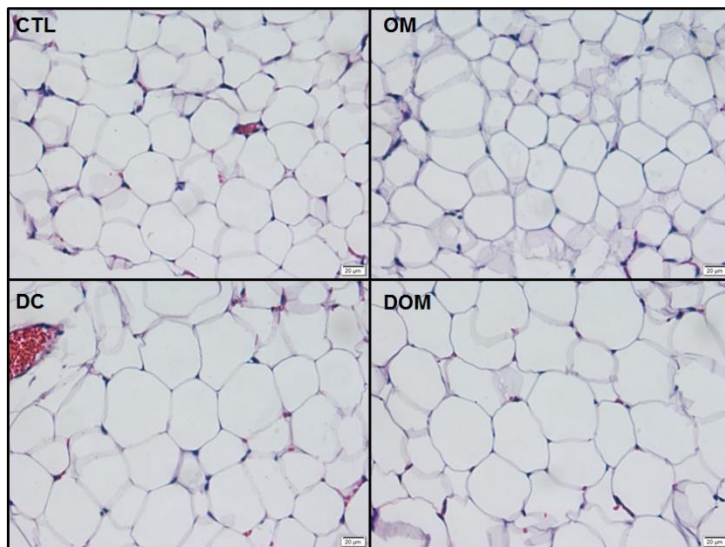
Em todos os resultados avaliados acima, nenhum parâmetro analisado obteve diferenças significativas ( $P > 0.05$ ) entre os grupos CTL e OM, sendo que os valores obtidos nesses grupos foram muito próximos. Também não houve diferenças significativas entre os grupos DC e DOM, mesmo o último apresentando, em grande parte dos resultados, valores maiores do que o grupo DC.

**Figura 5:** Área dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ) do tecido adiposo epididimal. (n=10, CTL e DC; n=8, OM; n=9, DOM). Siglas: CTL, controle; DC; dieta de cafeteria; OM, óleo de macadâmia (1g/kg/dia); DOM, dieta de cafeteria + óleo de macadâmia (1g/kg/dia). \*= $P < 0.05$  quando comparado com o grupo CTL.



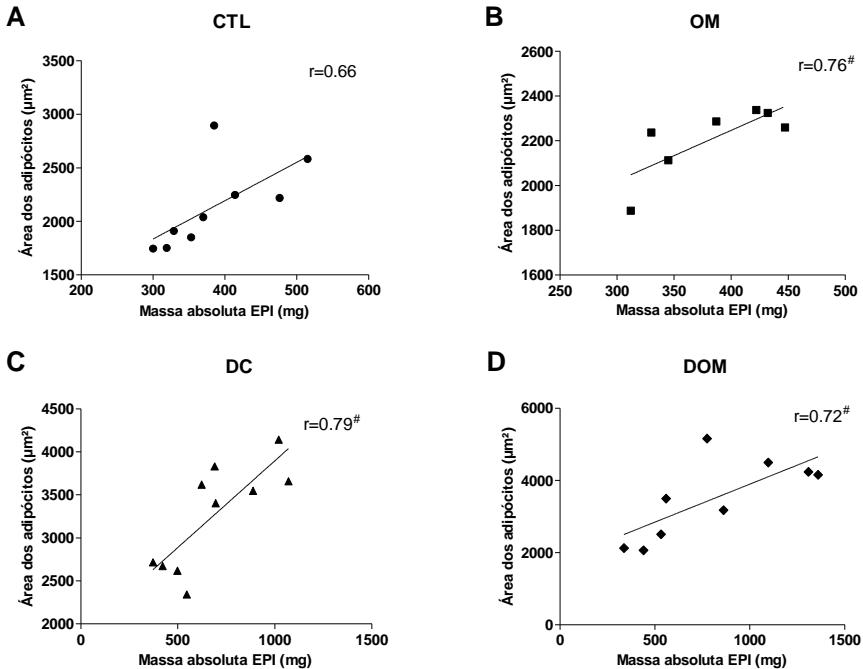
Em seguida foram avaliados os parâmetros histológicos obtidos pela morfometria e pela microscopia. Na análise morfométrica do tecido adiposo epididimal (**Figura 5**), foram encontrados resultados ( $P < 0.05$ ) indicativos de hipertrofia devido ao aumento significativo da área dos adipócitos nos grupos tratados com dieta hipercalórica, com e sem suplementação com óleo de macadâmia, que pode ser visualizado nas imagens dos cortes histológicos (**Figura 6**). Os adipócitos do grupo DC apresentaram área em torno de 56% maior do que o grupo controle, enquanto que no grupo DOM esse aumento foi de aproximadamente 68%.

**Figura 6:** Imagem representativa do tecido adiposo epididimal dos quatro grupos experimentais estudados. Coloração H&E. Siglas: CTL (controle), DC (dieta de cafeteria), DOM (dieta de cafeteria + óleo de macadâmia 1g/kg/dia), OM (óleo de macadâmia 1g/kg/dia). Escala: 20  $\mu$ m.



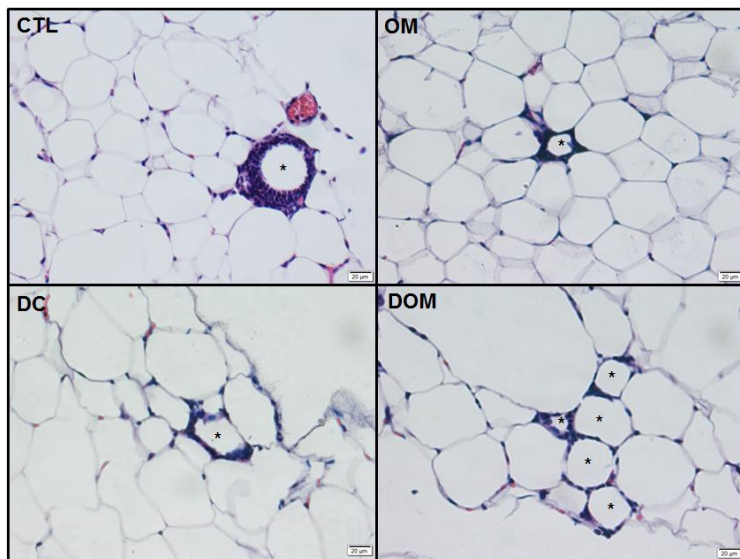
Para determinar se o aumento de massa da gordura branca estava relacionado à hipertrofia ou à hiperplasia do tecido adiposo, foi realizada análise estatística de correlação entre área dos adipócitos e massa absoluta de gordura epididimal (**Figura 7**). Essa correlação foi significativa ( $P < 0.05$ ) e forte ( $r > 0.7$ ) nos grupos OM, DC e DOM, enquanto que no grupo CTL, mesmo não atingindo valor de significância ( $P = 0.05$ ), a correlação foi moderada ( $r = 0.66$ ). O resultado obtido mostra que a área dos adipócitos aumenta juntamente com a massa da gordura epididimal e sugere maior participação da hipertrofia no aumento da massa do tecido adiposo. Isso é corroborado comparando o percentual de aumento desses dois parâmetros: no grupo DC, o aumento de massa de gordura (77%) foi semelhante ao aumento do tamanho dos adipócitos (56%); e no grupo DOM, foi maior a diferença entre os percentuais, porém, ainda sim, a maior parte do aumento da massa de gordura (107%) pode ser associada à hipertrofia (68%).

**Figura 7:** Correlação entre área dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ) e massa absoluta (mg) de gordura epididimal nos quatro grupos estudados: CTL (A); OM (B); DC (C); DOM (D). (n=7, OM; n=9, CTL e DOM; n=10, DC). Siglas: CTL (controle), DC (dieta de cafeteria), DOM (dieta de cafeteria + óleo de macadâmia 1g/kg/dia), OM (óleo de macadâmia 1g/kg/dia).  $r$ =coeficiente de correlação.  $\#$ = $P<0.05$ .



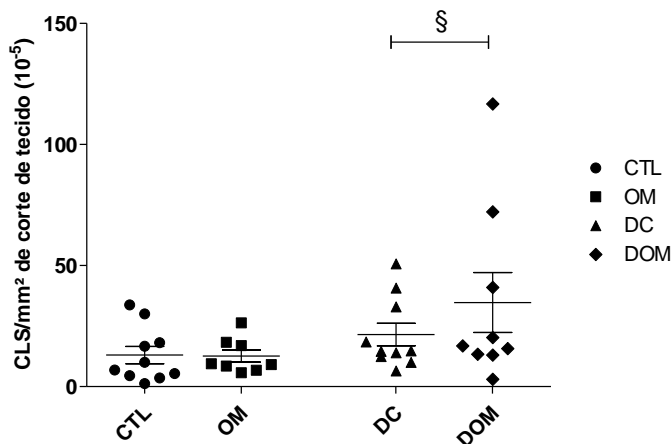
Durante análise microscópica do tecido adiposo epididimal, foram observados, em todos os quatro grupos experimentais, acúmulos de células inflamatórias ao redor de adipócitos, caracterizando estruturas *crown-like* (CLS) (**Figura 8**). Observou-se que o efeito da dieta de cafeteria foi significativo ( $P<0.05$ ) no teste de ANOVA duas vias, porém, a diferença não foi expressiva o suficiente para que fosse detectada no pós-teste, o qual afirmou não haver diferenças significativas entre os grupos. Nota-se que os grupos DC e DOM apresentaram maior quantidade média de CLS/ $\text{mm}^2$  de corte de tecido em relação aos demais grupos, indicando aumento da inflamação local (**Figura 9**).

**Figura 8:** Imagem representativa das CLS presentes no tecido adiposo epididimal dos quatro grupos experimentais estudados. Asteriscos (\*) indicam CLS. Coloração H&E. Siglas: CTL (controle), DC (dieta de cafeteria), DOM (dieta de cafeteria + óleo de macadâmia 1g/kg/dia), OM (óleo de macadâmia 1g/kg/dia). Escala: 20 µm.



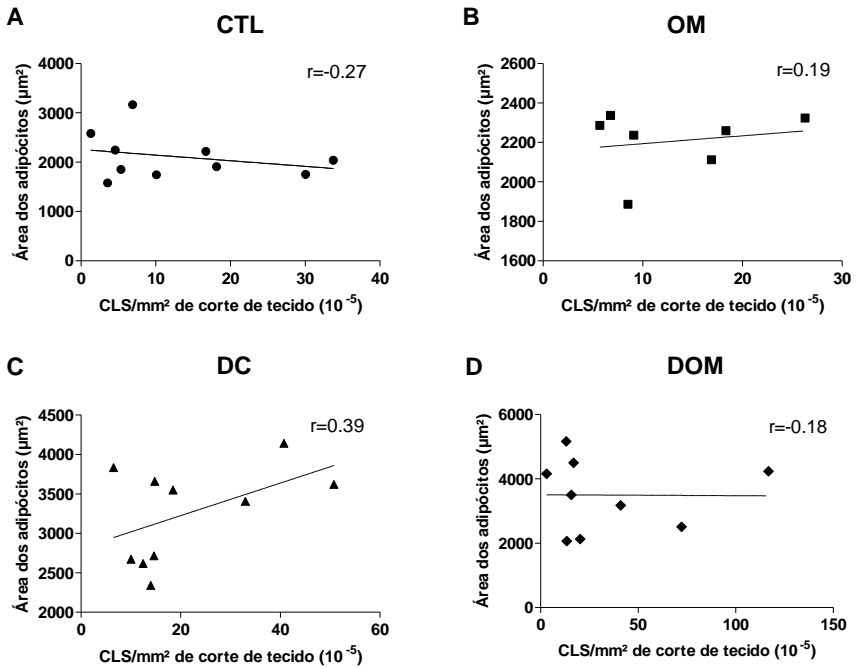
Para avaliar a relação entre hipertrofia e inflamação no tecido adiposo, foi realizada outra análise estatística de correlação, dessa vez analisando área dos adipócitos e quantidade de CLS/mm<sup>2</sup> de corte de tecido adiposo epididimal (**Figura 10**). Porém, não foram observadas diferenças significativas ( $P>0.05$ ) em nenhum dos grupos estudados, mesmo os grupos DC e DOM apresentando tanto adipócitos maiores quanto maior número de CLS. Todos os grupos obtiveram valores correspondentes à correlação fraca ( $r<0.3$ ), exceto o grupo DC, que mostrou correlação moderada ( $r=0.39$ ).

**Figura 9:** Quantidade de CLS na gordura epididimal com dados normalizados por mm<sup>2</sup> de corte de tecido. (n=10, CTL e DC; n=8, OM; n=9, DOM). Siglas: CTL, controle; DC, dieta de cafeteria; OM, óleo de macadâmia (1g/kg/dia); DOM, dieta de cafeteria + óleo de macadâmia (1g/kg/dia). §=fator dieta P<0.05.



Em nenhum parâmetro histológico avaliado, os grupos CTL e OM alcançaram diferenças significativas entre si, novamente apresentando resultados muito semelhantes. O mesmo também ocorreu entre os grupos DC e DOM, ainda que os valores alcançados pelo grupo DOM tenham sido maiores.

**Figura 10:** Correlação entre área dos adipócitos ( $\mu\text{m}^2$ ) e quantidade de CLS/ $\text{mm}^2$  de corte de gordura epididimal nos quatro grupos estudados: CTL (A); OM (B); DC (C); DOM (D). (n=10, CTL e DC; n=7, OM; n=9, CTL e DOM). Siglas: CTL (controle), DC (dieta de cafeteria), DOM (dieta de cafeteria + óleo de macadâmia 1g/kg/dia), OM (óleo de macadâmia 1g/kg/dia). r=coeficiente de correlação.



## 6. DISCUSSÃO

Modelos animais de obesidade induzida por dieta são muito utilizados para estudar as alterações metabólicas e morfológicas causadas pela obesidade e, assim, obter uma melhor compreensão acerca desta doença epidêmica que afeta milhões de pessoas no mundo, bem como buscar formas de reverter seus efeitos ou proteger o corpo contra tais alterações.



O trabalho apresentado foi uma análise histológica e morfológica abrangente entre o modelo tradicional de dieta para murinos, um modelo de dieta humana muito utilizado nos estudos sobre obesidade (dieta de cafeteria) e a suplementação com óleo de macadâmia por seu potencial efeito protetor contra essa doença.

O presente estudo revelou que os animais tratados com dieta de cafeteria desenvolveram alterações morfológicas características da obesidade, porém não apresentaram hiperfagia nem aumento expressivo de massa corporal, o contrário do que é relatado em outros estudos (SAMPEY et al., 2011; MARTIRE et al., 2013; SOUTH et al., 2014). O resultado do consumo de ração foi interessante, pois era esperado que a ingestão alimentar dos animais tratados com dieta de cafeteria seria maior em relação à dieta padrão devido à palatabilidade dos componentes da dieta humana que normalmente altera os mecanismos homeostáticos de balanço energético através da ativação do sistema de recompensa (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005), o que não ocorreu.

Condizente com o resultado obtido de massa corporal foram os resultados dos estudos de Higa et al. (2014) e Castro et al. (2014), os quais também não observaram ganho significativo de massa, mesmo os animais consumindo maior quantidade de ração e mais calorias, respectivamente. A análise dos resultados aqui apresentados e dos estudos citados mostram que, para o modelo animal adotado (camundongos C57BL/6), a quantidade de gordura na composição da dieta de cafeteria pode ter sido insuficiente para causar aumento significativo de massa corporal nos animais. Essa hipótese se baseia, principalmente, nos resultados do estudo de Strissel et al. (2007), onde a dieta *high-fat*, com 60% das calorias provenientes de gordura, produziram efeitos expressivos na massa corporal e na inflamação do tecido adiposo em camundongos C57BL/6.

No entanto, mesmo não apresentando ganho de massa significativo, os animais alimentados com dieta hipercalórica desenvolveram alterações em relação à gordura branca. Nesses animais, tanto a gordura epididimal, como a retroperitoneal apresentaram aumento de massa expressivo, assim como mostram Higa et al. (2014) e Castro et al. (2014). Porém, no modelo experimental utilizado, tal ganho de massa

não pode ser explicado pela hiperfagia ou pelo maior consumo energético, como ocorre, respectivamente, nos estudos mencionados.

A macadâmia vem sendo estudada por seus potenciais efeitos homeostáticos no corpo, principalmente por diminuir níveis de colesterol e triglicerídeos séricos, assim, atuando na proteção do sistema cardiovascular (GRIEL et al., 2008, GARG; BLAKE; WILLS, 2003). Além disso, os ácidos graxos monoinsaturados, que estão presentes na macadâmia, como o ácido palmitoleico e o ácido oleico, mostraram redução da adiposidade e da inflamação no tecido adiposo (DUE et al., 2008; PANIAGUA et al., 2007, GARCIA-ESCOBAR et al., 2010, FINUCANE et al., 2015).

No entanto, poucos são os trabalhos que avaliam a administração do óleo de macadâmia e seus efeitos no tecido adiposo. Um deles, de Lima et al. (2014), também não observou alterações nos parâmetros de massa corporal, massa de gordura epididimal e retroperitoneal e de adiposidade nos camundongos suplementados com o óleo. Esses resultados semelhantes ocorreram mesmo com o tempo de tratamento e a dose de óleo por semana no presente estudo serem maiores do que o de Lima et al. (2014). Isso sugere que a dose de óleo de macadâmia (1g/kg/dia) adotada na suplementação pode não ter sido suficiente para causar efeitos protetores na homeostase corporal em relação aos parâmetros morfológicos analisados.

Já a análise histológica revelou que os animais alimentados com dieta de cafeteria apresentaram alterações no tecido adiposo epididimal consistentes com o quadro morfológico e metabólico de obesidade: hipertrofia dos adipócitos e inflamação. Essas duas alterações são comumente relacionadas entre si já que o aumento do tamanho dos adipócitos está associado a distúrbios na homeostase celular, o que pode levar à inflamação crônica e entre outras alterações metabólicas (GRAY; VIDAL-PUIG, 2007).

O aumento do tamanho dos adipócitos (hipertrofia) é uma alteração morfológica comumente associada à obesidade (MURANO et al., 2008; FINUCANE et al., 2015; LIMA et al., 2014). Essa alteração foi observada nos resultados de morfometria do presente trabalho, sendo que os grupos de dieta hipercalórica apresentaram maior área dos adipócitos no tecido

adiposo epididimal comparado com os grupos de dieta padrão. A área dos adipócitos foi positivamente correlacionada com a massa de gordura epididimal nas análises estatísticas do presente estudo, sugerindo que a hipertrofia foi o principal mecanismo para o aumento de massa de tecido adiposo, e não o aumento do número de adipócitos (hiperplasia). Essa análise é corroborada quando comparamos o percentual de aumento da massa de gordura epididimal com o da área dos adipócitos.

A inflamação crônica de baixo grau é um distúrbio característico da obesidade que pode ser identificada através da presença de estruturas *crown-like* (CLS) no tecido adiposo. As CLS representam acúmulos organizados de células inflamatórias, principalmente de macrófagos, ao redor de adipócitos mortos (CINTI et al., 2005). Essas estruturas foram observadas nas análises microscópicas do presente estudo, assim como em diversos outros trabalhos sobre obesidade (FINUCANE et al., 2015; SAMPEY et al., 2011; WEISBERG et al., 2003; XU et al., 2003; CINTI et al., 2005; ALTINTAS et al., 2011; MURANO et al., 2008; NISHIMURA et al., 2007; APOVIAN et al., 2017; STRISSEL et al., 2007).

Os macrófagos são comumente encontrados no tecido adiposo normal, porém em menor quantidade do que em indivíduos obesos. Esse aumento da presença de macrófagos no tecido, resultando nas CLS, ocorre por causa da hipertrofia dos adipócitos os quais estocam quantidades excessivas de lipídios como consequência de uma dieta com alto teor de gordura (no caso, dieta de cafeteria), levando à morte das células. A função dessas células fagocitárias no tecido adiposo é digerir os restos do adipócito morto para evitar a citotoxicidade do lipídio remanescente em outros órgãos como fígado, rim e pâncreas (CINTI et al., 2005, STRISSEL et al., 2007, ARNER et al., 2010, LOLMÈDE et al., 2011, PASSOS et al., 2016).

Juntamente com a hipertrofia dos adipócitos ocorre também o aumento da produção de citocinas inflamatórias que atraem células inflamatórias para o local, causando uma inflamação crônica. A infiltração de macrófagos e linfócitos no tecido adiposo de obesos é bem conhecida e estudada e é correlacionada positivamente, em certos estudos, à área dos adipócitos (MURANO et al., 2008; WEISBERG et al., 2003; CINTI et al., 2005), sugerindo que o tamanho do adipócito é o fator que desencadeia a infiltração de células inflamatórias para o tecido (WEISBERG et al., 2003).

Estudos mostram que dietas hipercalóricas produzem efeitos inflamatórios com a presença mais pronunciada de CLS e de células inflamatórias no tecido adiposo (SAMPEY et al., 2011, ALTINTAS et al., 2011). No presente estudo, foi observado efeito significativo da dieta de cafeteria na quantidade de CLS no tecido adiposo, mesmo o pós teste não detectando diferenças significativas entre os grupos. Esse resultado mostra que a dieta de cafeteria aumentou a inflamação local, porém esse aumento não foi expressivo o suficiente para gerar diferença significativa entre os grupos no pós-teste do modelo experimental adotado. Uma explicação para tal resultado é que, como não houve hiperfagia nos animais tratados com dieta de cafeteria e o consumo energético foi o mesmo entre todos os grupos, os efeitos da dieta podem não ter sido suficientes para causar uma inflamação mais pronunciada no tecido adiposo. Outra explicação seria em relação à composição da dieta que pode não ter apresentado quantidade de gordura suficiente para induzir elevação expressiva de inflamação.

Os resultados apresentados mostram que o óleo de macadâmia não foi eficiente em desencadear efeitos na regulação do metabolismo no tecido adiposo do modelo experimental adotado. Sendo assim pode-se supor que: (1) a dose do óleo foi inadequada; (2) o tempo de suplementação foi insuficiente; (3) as análises relativas à inflamação foram escassas; (4) ou a administração do óleo não causa alterações significativas na morfologia do tecido adiposo e na normalização da inflamação local. Enns et al. (2014) reforçam essas hipóteses ao concluírem em seu estudo que a administração de óleos vegetais ricos em ácidos graxos monoinsaturados na dieta apresentaram efeitos mínimos em alterar a funcionalidade do tecido adiposo e a inflamação.

Uma análise adicional interessante de ser realizada para um entendimento mais aprofundado da inflamação no tecido adiposo é a análise imunohistoquímica de infiltração de macrófagos utilizando anticorpo F4/80 como alguns estudos já realizaram (KINTSCHER et al., 2008, KANDA et al., 2006, SAMPEY et al., 2011).

Como a quantidade de estudos sobre a suplementação com óleo de macadâmia em animais obesos é muito baixa, a determinação da(s) causa(s) da não-funcionalidade do óleo no tecido adiposo no modelo utilizado se torna difícil. Dessa forma, para uma melhor compreensão

sobre os efeitos do óleo de macadâmia, se faz necessário mais estudos que adotem doses diferenciadas do óleo, além de tempos de administração diferentes e análises mais aprofundadas de inflamação local, visando descobrir se o óleo produz efeitos no tecido adiposo e qual a intensidade desses efeitos, caso possua.

## **7. CONCLUSÃO**

Analisando todos os resultados obtidos nesse estudo, podemos concluir que, no modelo apresentado, o óleo de macadâmia na dose testada não foi eficaz em proteger os animais contra as alterações morfológicas da obesidade. No entanto, o modelo dieta de cafeteria foi eficaz em criar um quadro obesogênico com sinais de inflamação no tecido adiposo dos animais estudados.

## **8. RECONHECIMENTOS**

Agradeço à Amanda Marreiro Barbosa e Thayz Rodrigues Chagas pela assistência imprescindível durante a pesquisa e na confecção desse trabalho. Agradeço também à Vanessa Silva da Silva pela ajuda indispensável no escaneamento das lâminas e na captura das imagens e ao Gilberto Domingos Marloch pelo ótimo trabalho auxiliando nos procedimentos histológicos.

## **9. REFERÊNCIAS**

- AHIMA, R. S.; FLIER, J. S. **Adipose tissue as an endocrine organ.** Trends in Endocrinology and Metabolism, v. 11, n. 8, p. 327-332, 2000.
- AKHTAR, N. **Evaluation of basic properties of macadamia nut oil.** Gomol University Journal of Research, v. 22, p. 21-27, 2006.

ALTINTAS, M. M. et al. **Mast cells, macrophages, and crown-like structures distinguish subcutaneous from visceral fat in mice.**

Journal of Lipid Research, v. 52, p. 480-488, 2011.

ANDERSON, E. K.; GUTIERREZ, D. A.; HASTY, A. H. **Adipose Tissue Recruitment of Leukocytes.**

Current Opinion in Lipidology, v. 21, n. 3, p. 172–177, 2010.

APOVIAN, C. M. et al. **Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects.**

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, v. 28, n. 9, p. 1654-1659, 2008.

ARNER, E. et al. **Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology.**

Diabetes, v. 59, p. 105-109, 2010.

BARBOSA, A. M. et al. **Fish oil supplementation attenuates changes in plasma lipids caused by dexamethasone treatment in rats.**

Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, v., 41, n. 4, p. 382-390, 2016.

BAYS, H. et al. **Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity.**

Expert Review of Cardiovascular Therapy, v. 6, n. 3, p. 343-368, 2008.

BAYS, H.; BALLANTYNE, C. **Adiposopathy: why do adiposity and obesity cause metabolic disease?**

Future Lipidology, v. 1, n. 4, p. 389-420, 2006.

BAYS, H.; MANDARINO, L.; DEFRONZO, R. A. **Role of the adipocyte, free fatty acids, and ectopic fat in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutic approach.**

Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 89, n. 2, p. 463-478, 2004.

BERGMAN, R. N. et al. **Why visceral fat is bad: mechanisms of the metabolic syndrome.**

Obesity, v. 14, p. 16S-19S, 2006.

BJÖRNTORP, P. **Metabolic implications of body fat distribution.** *Diabetes Care*, v. 14, p. 1132-1143, 1991.

BJÖRNTORP, P. **Regional obesity.** *Obesity*, p. 579-586, 1992

BOLSONI-LOPES, A. et al. **Palmitoleic acid (n-7) increases white adipocyte lipolysis and lipase content in a PPAR $\alpha$ -dependent manner.** *American Journal of Physiology – Endocrinology & Metabolism*, v. 305, n. 9, p. E1093-1102, 2013.

BRAY, G. A. **Medical consequences of obesity.** *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 89, n. 6, p. 2583–2589, 2004.

CAO, H. et al. **Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism.** *Cell*, v. 134, p. 933–944, 2008.

CASTRO, H. et al. **Cafeteria diet overfeeding in young male rats impairs the adaptive response to fed/fasted conditions and increases adiposity independent of body weight.** *International Journal of Obesity*, v. 39, p. 430-437, 2015.

CHANDRAN, M. et al. **Adiponectin: more than just another fat cell hormone?** *Diabetes Care*, v. 26, p. 2442-2450, 2003.

CINTI, S. et al. **Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans.** *Journal of Lipid Research*, v. 46, p. 2347-2355, 2005.

COTTAM, D. R. et al. **The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss.** *Obesity Surgery*, v. 14, p. 589-600, 2004.

DE PAULA, R.B.; DA SILVA, A.A.; HALL, J.E. **Aldosterone antagonism attenuates obesity-induced hypertension and glomerular hyperfiltration.** *Hypertension*, v. 43, p. 41-47, 2004.

DESARZENS, S.; FARESSE, N. **Adipocyte Glucocorticoid Receptor has a minor contribution 1 in adipose tissue growth.** *Journal of Endocrinology*, v. 230, n. 1, p. 1-11, 2016.

DUE, A. et al. **Comparison of 3 ad libitum diets for weight-loss maintenance, risk of cardiovascular disease, and diabetes: a 6-mo randomized, controlled trial.** *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 88, p. 1232–1241, 2008.

ENNS, J.E. **Diets high in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids decrease fatty acid synthase protein levels in adipose tissue but do not alter other markers of adipose function and inflammation in diet-induced obese rats.** *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 90, n. 2-3, p. 77-84, 2014.

ERLANSON-ALBERTSON, C. **How Palatable Food Disrupts Appetite Regulation.** *Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology*, v. 97, p. 61-73, 2005.

FANTUZZI, G. **Adiponectin and inflammation: consensus and controversy.** *Journal of Allergy in Clinical Immunology*, v. 121, p. 326–330, 2008.

FANTUZZI, G. **Adipose tissue, adipokines, and inflammation.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 115, n. 5, p. 911-919, 2005.

FINUCANE, O. M. et al. **Monounsaturated fatty acid-enriched high-fat diets impede adipose NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 $\beta$  secretion and insulin resistance despite obesity.** *Diabetes*, v. 64, n. 6, p. 2116-28, 2015.

GARCIA-ESCOBAR, E. et al. **Nutritional regulation of interleukin-6 release from adipocytes.** *International Journal of Obesity (London)*, v. 34, p. 1328–1332, 2010.

GARCIA-ESCOBAR, E. et al. **Dietary oleic acid and adipocyte lipolytic activity in culture.** *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 19, p. 727–731, 2008.



GARG, M. L.; BLAKE, R. J.; WILLS, R. B. **Macadamia nut composition lowers plasma total and LDL cholesterol levels in hypercholesterolemic men.** *Journal of Nutrition*, v. 133, p. 1060–1063, 2003.

GIORGINO, F.; LAVIOLA, L.; ERIKSSON, J. W. **Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies.** *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 183, p. 13 – 30, 2005.

GRAY, S. L.; VIDAL-PUIG, A. J. **Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis.** *Nutrition Reviews*, v. 65, p. S7-S12, 2007.

GRIEL, A. E. et al. **A Macadamia Nut-Rich Diet Reduces Total and LDL-Cholesterol in Mildly Hypercholesterolemic Men and Women.** *The Journal of Nutrition and Disease*, v. 138, n. 4, p. 761-767, 2008.

HALBERG, N.; WERNSTEDT-ASTERHOLM, I.; SCHERER, P. E. **The adipocyte as an endocrine cell.** *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, v. 37, p. 753-768, 2008.

HARMS, M.; SEALE, P. **Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential.** *Nature Medicine*, v. 19, n. 10, 2013.

HERMSDORFF, H. H.; MONTEIRO, J. B. **Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema?** *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 48, n. 6, 2004.

HIGA, T. S. et al. **Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice.** *International Journal of Physiology and Pathophysiology of Pharmacology*, v. 6, p. 47-54, 2013.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. **Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance.** *Science*, v. 259, n. 5091, p. 87-91, 1993.

HUBE, F. et al. **Expression pattern of tumour necrosis factor receptors in subcutaneous and omental human adipose tissue: role of obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus.** European Journal of Clinical Investigation, v. 29, n. 8, p. 672-678, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA:  
**Pesquisa de Orçamentos Familiares (2008-2009): antropometria e estado nutricional de crianças e adolescentes e adultos no Brasil.**

Disponível

em:<<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/000000108.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2016.

JAMES, W.P.T. **WHO recognition of the global obesity epidemic.** International Journal of Obesity, v.32, p. S120–S126, 2008.

JENSEN, M. D. **Adipose tissue as an endocrine organ: implications of its distribution on free fatty acid metabolism.** European Heart Journal Supplements, v. 8, p. B13–B19, 2006.

JOHNSON, J. A. et al. **Impaired insulin action in subcutaneous adipocytes from women with visceral obesity.** American Journal of Physiology – Endocrinology & Metabolism, v. 280, n. 1, p. E40-49, 2001.

JONES, P. J. et al. **DHA-enriched high-oleic acid canola oil improves lipid profile and lowers predicted cardiovascular disease risk in the canola oil multicenter randomized controlled trial.** American Journal of Clinical Nutrition, v. 100, p. 88–97, 2014.

KAMEI, N. et al. **Overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 in adipose tissues causes macrophage recruitment and insulin resistance.** Journal of Biological Chemistry, v. 281, n. 36, 26602-26614, 2006.

KANDA, H. et al. **MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity.** Journal of Clinical Investigation, v. 116, n. 6, p. 1494-1505, 2006.

KELLEY, D. E. et al. **Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance.** American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism, v. 278, n. 5, p. E941-948, 2000.

KINTSCHER, U. et al. **T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance.** Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, v. 28, p. 1304–1310, 2008.

KISSEBAH, A. H. **Central obesity: measurement and metabolic effects.** Diabetes Reviews, v. 5, p. 8-20, 1997.

KISSEBAH, A. H.; KRAKOWER, G. R. **Regional adiposity and morbidity.** Physiology Reviews, v. 74, p. 761-811, 1994.

LAU, D. C. W. et al. **Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis.** The American Journal of Physiology—Heart and Circulatory Physiology, v. 288, n. 5, p. H2031–H2041, 2005.

LEVY, R. B. et al. **Distribuição regional e socioeconômica da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil em 2008- 2009.** Revista de Saúde Pública, v. 46, n. 1, p. 6-15, 2012.

LIAO, F.H. et al. **Differential effects of high MUFA with high or low P/S ratio (polyunsaturated to saturated fatty acids) on improving hepatic lipolytic enzymes and mediating PPARGamma related with lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase of white adipose tissue in diet-induced obese hamster.** International Journal of Obesity (London), v. 34, p. 1608–1617, 2010.

LIMA, E. A. et al. **Macadamia oil supplementation attenuates inflammation and adipocyte hypertrophy in obese mice.** Mediators of Inflammation, 2014.

LOLMÈDE, K. et al. **Immune cells in adipose tissue: key players in metabolic disorders.** Diabetes Metabolism, v. 37, p. 283-290, 2011.

MAGUIRE, L. S. et al. **Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the**

**macadamia nut.** International Journal of Food Sciences and Nutrition, v. 5, p. 171-178, 2004.

MARINO, K. et al. **Obesity and cardiovascular disease: from pathophysiology to risk stratification.** International Journal of Cardiology, v. 138, p. 3–8, 2010.

MARTIRE, S. I. **Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity.** PLoS One, v. 8, n. 4, 2013.

MATTSON F. H.; GRUNDY, S. M. **Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man.** Journal of Lipid Research, v. 26, 1985.

MCDONNELL, M. E. et al. **B Lymphocytes in Human Subcutaneous Adipose Crown-Like Structures.** Obesity (Silver Spring), v. 20, n. 7, p. 1372–1378, 2012.

MCTERNAN, P. G. et al. **Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue.** Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 87, n. 5, p. 2407, 2002.

MOKDAD, A. H.; FORD, E. S.; BOWMAN, B. A. **Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors.** The Journal of the American Medical Association, v. 289, n. 1, p. 76-79, 2003.

MONTAGUE, C. T. et al. **Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes.** Diabetes, v. 47, n. 9, p. 1384-1391, 1998.

MURANO, I. et al. **Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice.** Journal of Lipid Research, v. 49, p. 1562 – 1568, 2008.

NISHIMURA, S. et al. **Adipogenesis in obesity requires close interplay between differentiating adipocytes, stromal cells, and blood vessels.** Diabetes, v. 56, n. 6, p. 1517-1526, 2007.

PANIAGUA, J.A. et al. **Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects.** *Diabetes Care*, v. 30, p. 1717–1723, 2007.

PASSOS, M. E. et al. **Differential effects of palmitoleic acid on human lymphocyte proliferation and function.** *Lipids in Health and Disease*, v. 15, p. 217, 2016.

PINHEIRO, A. R.; FREITAS, S. F.; CORSO, A. C. **Uma abordagem epidemiológica da obesidade.** *Revista de Nutrição*, v. 17, n. 4, p. 523-533, 2004

POPKIN, B.M.; GORDON-LARSEN, P. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *International Journal of Obesity Related Metabolic Disorders*, v. 28, n. 3, p. S2-S9, 2004.

QUEIROZ, J. C. et al. **Controle da adipogênese por ácidos graxos.** *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 53, n. 5, 2009.

RICKS, D. R. **Functional natural oils.** *Cosmetics & Toiletries*, v. 106, n. 2, p. 77-82, 1991.

ROCHA, D. M. et al. **Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response.** *Atherosclerosis*, v. 244, p. 211-215, 2016.

ROSA, F.T. et al. **Bioactive compounds with effects on inflammation markers in humans.** *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, v. 63, p. 749–765, 2012.

ROTHWELL, N.J.; STOCK, M.J. **A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis.** *Nature*, v. 281, p. 31–35, 1979.

SAMPEY, B. P. et al. **Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet.** *Obesity*, v. 19, p. 1109-1117, 2011.

SETHI, J.K.; HOTAMISLIGIL, G.S. **The role of TNF alpha in adipocyte metabolism.** Seminars in Cell and Developmental Biology, v. 10, p. 19-29, 1999.

SKURK, T. et al. **Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion.** Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 92, n. 3, p. 1023-1033, 2007.

SORIGUER, F. et al. **Monounsaturated n-9 fatty acids and adipocyte lipolysis in rats.** British Journal of Nutrition, v. 90, p. 1015–1022, 2003.

SOUTH, T. et al. **Rats eat a cafeteria-style diet to excess but eat smaller amounts and less frequently when tested with chow.** PLoS One, v. 9, n. 4, 2014.

STRISSEL K. et al. **Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications.** Diabetes, v. 56, p. 2910–2918, 2007.

SWIERCZYNSKI, J.; SLEDZINSKI, T. **The role of adipokines and gastrointestinal tract hormones in obesity.** Principles of Metabolic Surgery, p. 53-79, 2012.

TATEYA, S.; KIM, F.; TAMORI, Y. **Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance.** Frontiers in Endocrinology (Lausanne), v. 4, p. 93, 2013.

TERÉS, S. et al. **Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil.** Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, v. 105, n. 37, p. 13811-13816, 2008.

VIGITEL BRASIL 2014: **vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014.

WAJCHENBERG, B. L. **Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome.** Endocrinology Reviews, v. 21, p. 697 – 738, 2000.

WANDERLEY, E. N.; FERREIRA, V. A. **Obesidade: uma perspectiva plural.** *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 15, n.1, 2010.

WARNE, J.P. **Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass.** *Journal of Endocrinology*, v. 177, p. 351-355, 2003.

WEISBERG, S. P. et al. **Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue.** *Journal of Clinical Investigation*, v. 112, p. 1796-1808, 2003.

WEYER, C. et al. **Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance.** *Diabetologia*, v. 43, p. 1498–1506, 2000.

WINKLER, G. et al. **Expression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF-alpha, soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level.** *European Journal of Clinical Investigation*, v. 149, n. 2, p. 129-135, 2003.

World Health Organization. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases.** Geneva; 2003. [WHO - Technical Report Series, 916].

WOZNIAK, S. E. **Adipose Tissue: The New Endocrine Organ? A Review Article.** *Digestive Diseases and Sciences*, v. 54, n. 9, p. 1847–1856, 2009.

XU, H. et al. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance.** *Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n. 12, p. 1821-1830, 2003.

YETUKURI, L. et al. **Bioinformatics strategies for lipidomics analysis: characterization of obesity related hepatic steatosis.** *BMC Systems Biology*, v. 1, p. 12, 2007.

ZEYDA, M.; STULNIG, T.M. **Obesity, inflammation, and insulin resistance—a mini-review.** *Gerontology*, v. 55, p. 379–386, 2009.

**ZHANG, H. H. Tumor necrosis factor-alpha stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP.** *Diabetes*, v. 51, n. 10, p. 2929-2935, 2002.