

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E
EXPERIMENTAL – CLINEX

EFEITO DO CONSUMO PÓS-NATAL DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* NO
METABOLISMO GLICÍDICO CARDÍACO NA VIDA ADULTA.

FERNANDA DA SILVEIRA OSSO

Rio de Janeiro

2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E
EXPERIMENTAL – CLINEX

EFEITO DO CONSUMO PÓS-NATAL DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* NO
METABOLISMO GLICÍDICO CARDÍACO NA VIDA ADULTA.

FERNANDA DA SILVEIRA OSSO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro para obtenção do grau de Mestre em Fisiopatologia.

Rio de Janeiro

2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Osso, Fernanda da Silveira

Efeito do consumo de ácidos graxos *trans* pós-natal no metabolismo glicídico cardíaco de ratos na vida adulta.

xvii, 54 p.

Orientador: Aníbal Sanchez Moura

Co – orientadora: Maria das Graças Tavares

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Centro Biomédico, Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. ácidos graxos *trans* 2. coração. Impressão metabólica I. Aníbal Sanchez Moura II. Maria das Graças Tavares do Carmo III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro – Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental IV. Título

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E
EXPERIMENTAL – CLINEX

EFEITO DO CONSUMO PÓS-NATAL DE ÁCIDOS GRAXOS *TRANS* NO
METABOLISMO GLICÍDICO CARDÍACO NA VIDA ADULTA.

FERNANDA DA SILVEIRA OSSO

Orientador: Prof. Dr. Aníbal Sanchez Moura
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Tavares do Carmo

Avaliação em 31 de Agosto de 2005 pela banca examinadora:

Prof. Dr^a Célia Lopes da Costa

Prof. Dr Daniel Alexandre Bottino

Prof. Dr^a Susana Ortiz Costa

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Nutrição e do Desenvolvimento do Instituto de Biologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro sob a orientação do Prof. Dr. Aníbal Sanchez Moura com apoio financeiro concedido pelo CNPq, FAPERJ e CAPES.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original."

Albert Einstein

DEDICATÓRIA

À minha família pela confiança e incansável apoio. Amo vocês.

Ao meu noivo, Leonardo Borges Mathias, pelo companheirismo, amor e compreensão em todos os momentos.

Ao meu grande amigo Pedro G.T. de Carvalho pelo grande incentivo, carinho e ajuda.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me concedido saúde e força, e pela presença em todos os momentos da minha vida.

Ao professor Dr. Aníbal Sanchez Moura pela acolhida em seu laboratório, ensinamentos, confiança e orientação. Muito obrigada.

À professora Dr.^a Maria das Graças Tavares do Carmo pelo ensinamento dos primeiros passos na pesquisa científica e pela orientação.

À professora Dr.^a Célia Lopes da Costa pelo grande incentivo, sugestões e revisão deste trabalho.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia da Nutrição e Desenvolvimento: Prof. Cristiano Franco de Sá, Prof.^a Helena Galvão, Prof.^a Renata Pereira, Prof. Eduardo Cherem, Prof. Mário Pereira, Paula Paraguassú, Mariana Renovato, Alessandra Cordeiro, Gisele Maciel, Tatiana Mattos e em especial a minha amiga Annie Moreira, pela amizade e apoio ao longo de toda essa caminhada. Valeu!

Aos Professores Doutores Egberto Gaspar de Moura e Emílio Antônio Fransischetti pelo grande empenho e dedicação ao curso de Pós-graduação CLINEX.

Aos colegas de turma do mestrado, em especial ao meu amigo José Aroldo Lima Filho, pela amizade e colaboração indispensáveis.

As secretárias do CLINEX, Maria Amélia Souza e Eliane Soares pela incansável disposição em atender e ajudar a todos os alunos da pós-graduação.

A todos os meus grandes amigos pela confiança, incentivo e amor. Para vocês, o meu muito obrigada é pouco.

E, finalmente, a todos que direta ou indiretamente colaboraram para realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	Xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	13
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	32
CONCLUSÃO.....	40
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	41

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	Composição básica da ração industrializada específica para ratos NUVILAB® 15
Tabela 2	Composição de micronutrientes da ração industrializada específica para ratos NUVILAB® 16
Tabela 3	Composição de macronutrientes da ração artesanal controle. 17
Tabela 4	Composição de macronutrientes da ração artesanal trans..... 17
Tabela 5	Composição de micronutrientes das rações artesanais controle e trans..... 18

LISTA DE FIGURAS

		página
Figura 1	Representação das configurações cis e trans dos ácidos graxos.....	4
Figura 2	Interferência dos AGT na síntese dos AGPL-I	7
Figura 3	Peso corporal dos machos controle e trans (MC e MT) do 21° ao 60° dia de idade.....	23
Figura 4	Consumo alimentar médio de lactantes controle e trans (LC e LT).....	24
Figura 5	Consumo alimentar do grupo controle e trans (GC e GT) do 21° ao 60° dia de vida.....	25
Figura 6	Insulina plasmática de jejum de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade.....	26
Figura 7	Glicose plasmática de jejum de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade.....	27
Figura 8	Sensibilidade à insulina (HOMA) de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade.....	28
Figura 9	Relação insulina/glicose de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade.....	29
Figura 10	Glicogênio hepático de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade.....	30
Figura 11	Conteúdo de GLUT – 4 cardíaco de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade.....	31
Figura 12	Representação da síntese de glicogênio no hepatócito.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

μ U	-	Microunidades
AGE	-	Ácidos graxos essenciais
AGPI-CL	-	Ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa
AGT	-	Ácidos graxos trans
AKT	-	Tirosina kinase A
ATP	-	Adenosina trifosfato
dl	-	decilitro
DNA	-	Ácido desoxirribonucléico
GLUT	-	Transportador de glicose
GSK3 β	-	Glicogênio sintase kinase
HDL-c	-	Lipoproteína de alta densidade
IL-6	-	Interleucina 6
IRS	-	Substrato de receptor de insulina
Kg	-	Kilograma
LDL-c	-	Lipoproteína de baixa densidade
mg	-	miligrama
ml	-	Mililitro
mM	-	milimolar
mmol	-	milimol
ng	-	nanogramas
nM	-	Nanômetros
PI3K	-	Fosfatidil inositol 3 kinase
Rpm	-	Rotações por minuto
TNF- α	-	Fator de necrose tumoral alfa

RESUMO

O recente processo de industrialização de alimentos introduziu os ácidos graxos *trans* (AGT) entre os nutrientes disponíveis à população. Estudos mostram que os AGT dietéticos são derivados principalmente dos óleos vegetais hidrogenados e podem interferir no metabolismo energético, através da promoção de resistência à insulina. Este estudo avaliou o efeito do consumo de AGT durante a lactação, através do leite materno, na sensibilidade à insulina, metabolismo energético cardíaco e hepático na vida adulta desses lactentes. Ratas *Wistar* lactantes foram divididas, no 1º dia da lactação, em grupo controle (LC recebendo ração com 9% de óleo de soja) e grupo *trans* (LT recebendo ração com 7% de gordura vegetal hidrogenada + 2% de óleo de soja para garantia dos ácidos graxos essenciais). Os grupos foram mantidos com as respectivas rações durante os 21 dias de lactação. A partir do 21º dia, ambos os filhotes do grupo controle (GC) e grupo *trans* (GT) passaram a receber ração comercial até os 60 dias, quando então foram avaliados quanto à sensibilidade à insulina, conteúdo de GLUT-4 cardíaco e conteúdo de glicogênio hepático. Como resultado, encontramos que o consumo de AGT somente no período da lactação, promoveu nestes animais, quando adultos, menor sensibilidade à insulina com um índice HOMA significativamente superior ao GC ($p=0,046$) assim como a relação insulina/glicose ($p=0,016$). Além disso, o GT apresentou conteúdo de glicogênio hepático significativamente inferior ao GC ($p=0,011$) além de uma redução média de 37% do conteúdo cardíaco de GLUT-4.

Com base nesses dados, podemos sugerir que o consumo de AGT no período lactacional gerou uma impressão e programação metabólica nesses animais, que repercutiu na vida adulta em um prejuízo na sensibilidade à insulina, com conseqüente alteração também em mecanismos fisiológicos dependentes do hormônio, como síntese de glicogênio hepático e GLUT-4 cardíaco.

ABSTRACT

The recent process of industrialization of foodstuffs has introduced the trans fatty acids (TFA) among those nutrients available to the population. Studies have shown that the dietary TFA are derived mainly from hydrogenated vegetable oils and may interfere in energy metabolism, owing to the promotion of insulin resistance. This study evaluated the effects of TFA consumption during lactation, through maternal milk, on the sensitivity to insulin, also cardiac and hepatic glucose metabolism in the adult life of these lactants. Wistar lactating female rats were divided into groups, on the first day of lactation, In the control group (CL- were fed on a diet of 9% soya oil) and the Trans group (TL-7% hydrogenated vegetable fat + 2% soya oil to guarantee essential fatty acids) each group receiving diet respectively for a 21 day duration of lactation. From the 21st. day of lactation the offspring from both group began receiving commercial type diet for up to 60 days and then the amount of insulin sensitivity, cardiac GLUT-4 content and hepatic glycogen content were evaluated. As a result, we found that the consumption of TFA only in the lactation period, promoted in these animals as adults, less sensitivity to insulin as a HOMA index significantly superior to the CG ($p=0.046$) as well as the insulin /glucose ratio ($p=0.016$). Besides this, the TG presented a hepatic glycogen content significantly inferior to the CG ($p=0.011$) as well as an average reduction of 37% of cardiac GLUT-4 content. Based on this data, we may suggest that consumption of TFA during the lactation period generated a metabolic imprinting leading to a programming in these animals, which resounded a loss of sensitivity to insulin in

their adult lives plus a consequent alteration in their physiological mechanisms dependant on the hormone, such as the synthesis of hepatic glycogen and cardiac GLUT-4.

INTRODUÇÃO

A maior expectativa de vida da população mundial e seu conseqüente envelhecimento, tem conduzido uma maior atenção às doenças crônicas com início clínico na vida adulta, especialmente as cardiovasculares que representam a principal causa de morbi-mortalidade não somente em países desenvolvidos, mas também naqueles em desenvolvimento.

Nos últimos anos vários trabalhos têm mostrado que mecanismos biológicos no início da vida, principalmente àqueles relacionados à nutrição, podem predispor ao surgimento de doenças crônicas na vida adulta (Barker, 1990; Lucas, 1991; Langley, 1994; Waterland, 1999; Holness, 2000; Rasmussen, 2001). Dentre estas doenças pode-se destacar a hipertensão arterial, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares. O estudo da associação entre nutrição no início da vida e surgimento de doenças crônicas na vida adulta proporcionou a conceituação de impressão (*imprinting*) e programação (*programming*) metabólica. O termo impressão define o impacto de um fenômeno adverso em um momento específico da vida (janela crítica ou *critical window*), que pode gerar irreversivelmente alterações morfológicas, celulares e moleculares, fenômenos que agrupados são chamados de programação (Desai & Hales, 1997).

Apesar dos mecanismos subjacentes a impressão metabólica não estarem ainda elucidados, sabe-se que a fase da vida em que ocorre o insulto, bem como a sua duração, reservam particular importância. Desta forma, estudos experimentais e epidemiológicos apontam a fase pré-natal (gestacional) e pós-natal (imediatamente após o nascimento) como sendo os períodos críticos para a

ocorrência da impressão metabólica (Godfrey & Robinson, 1998; Aalinkeel et al., 2001). Como resultado desta impressão, ocorre uma programação irreversível, que predispõe ao surgimento de doenças crônico-degenerativas na vida adulta. Estudos experimentais revelam ainda que tais programações são memorizadas, podendo inclusive em alguns casos, serem transmitidas hereditariamente (Waterland et al., 2004). Tem sido proposto que os mecanismos fisiopatológicos pelos quais os fatores ambientais provocam modificações epigenéticas, surgem de alterações estáveis da expressão gênica através da metilação do DNA (Waterland et al., 2004).

Um dos primeiros estudos a comprovar a relação entre nutrição no início da vida e surgimento de doenças crônicas na fase adulta foi realizado com indivíduos do sexo masculino, cujas mães sofreram restrição alimentar nos dois primeiros trimestres de gravidez, durante a segunda guerra mundial, no período da fome holandesa (1944 a 1945). Foi observado que aos 19 anos de idade esses indivíduos apresentavam 80% mais obesidade do que àqueles cujas mães não sofreram restrição alimentar no mesmo período (Ravelli et al., 1976). O mesmo resultado também pode ser observado quando a restrição alimentar é estabelecida durante a lactação (Barker, 1995; Misra, 1996; Buchbinder et al., 2002; Newnham et al., 2002; Sichieri et al., 2002; Drake et al., 2004).

A influência da nutrição no desenvolvimento de doença crônica na idade adulta também foi comprovado em estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro. Neste estudo, a baixa estatura (importante indicador de desnutrição pregressa) se relacionou positivamente com a incidência de hipertensão arterial na vida adulta e tal relação mostrou-se gênero-dependente, sendo mais evidente em homens

(Sichieri et al., 2000). Estes mesmos autores, em outro estudo, ao relacionarem desnutrição no início da vida com obesidade na fase adulta, observaram uma maior incidência em mulheres (Sichieri e cols., 2000b). Estes trabalhos levantam a importante questão de que homens e mulheres respondem de forma distinta aos mesmos insultos metabólicos.

Modelos experimentais também têm comprovado a hipótese de programação metabólica, onde animais desnutridos no período gestacional ou lactacional tornam-se obesos, hipertensos e apresentam alteração da sensibilidade à insulina.(Langley & Jackson, 1994; Woodall e col., 1996; Moura e col., 2002; Moura e col., 1996; Berney e col., 1997; Caldeira Filho & Moura, 2000; Waterland, 1999.)

Desta forma, muitas são as evidências tanto em estudos epidemiológicos quanto experimentais, de que a nutrição em um período crítico da vida pode influenciar no surgimento de processos patológicos na fase adulta.

Dentre as várias hipóteses tem sido proposto a importância do ambiente hormonal intraútero no fenômeno da impressão metabólica. É consensual na literatura científica o papel do excesso da insulina e especialmente dos glicocorticóides na impressão metabólica e surgimento de doenças crônicas, principalmente as cardiovasculares, na vida adulta.(Fowden AL & Forhead AJ, 2004; Bertram CE, Hanson MA, 2002; Seckl JR et al., 2000; Dodic M. et al., 2003)

Neste contexto, as doenças cardiovasculares ganham destaque entre as doenças crônicas, especialmente as derivadas do consumo de lipídios. Tal fenômeno decorre, em parte, do fato de os lipídios poderem ser submetidos a numerosas manipulações tecnológicas com o propósito de melhorar suas

características físico – químicas, sua aparência, suas propriedades organolépticas e sua estabilidade (Valenzuela & Nieto, 1994). Por exemplo, um dos procedimentos tecnológicos mais utilizados é a hidrogenação catalítica, que permite obter formas mais sólidas e semi-sólidas dos óleos vegetais, facilitando seu manejo e principalmente sua estabilidade a oxidação, sendo amplamente utilizada na obtenção de margarinas para consumo doméstico e industrial (Hansen,1994).

Com o processo de hidrogenação há a formação de ácidos graxos *trans* (AGT) que são ácidos graxos insaturados com ao menos uma dupla ligação na configuração *trans*, ou seja, os dois átomos de hidrogênio dos carbonos adjacentes apontam para direções opostas, ao contrário do que ocorre na configuração *cis* onde os átomos de hidrogênio apontam para a mesma direção (figura 1).

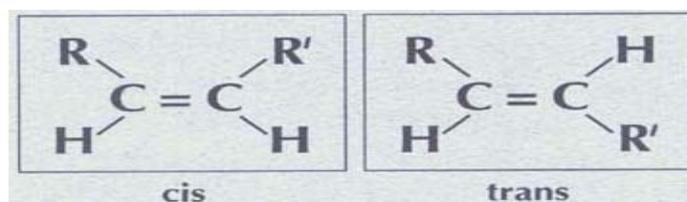


Figura 1: Representação das configurações *cis* e *trans* dos ácidos graxos.

O ângulo da dupla ligação dos AGT é menor do que na configuração *cis* além de a cadeia acil ser mais linear, o que origina uma molécula mais rígida, com maior ponto de fusão e estabilidade termodinâmica (Larqué et al., 2001)

Os AGT tem sido motivo de preocupação no meio científico devido à elevação, nas últimas décadas, do consumo de margarinas em substituição à

manteiga e do crescente aumento da utilização da gordura vegetal hidrogenada na indústria alimentícia. Além disso, as gorduras hidrogenadas e margarinas nacionais apresentam um conteúdo de AGT superior àquele encontrado em similares estrangeiros (Chiara et al., 2003). A estimativa do consumo médio de AGT, baseado em questionário alimentar é de 6-8% da dieta nos EUA, aproximadamente 4-6% na Grã – Bretanha, 2-4% na Alemanha, e 1,7% na Espanha (Craig – Schmidt, 1998; Allison et al., 1999; Larqué et al., 2001).

Esses ácidos graxos estão presentes naturalmente em gorduras originadas de animais ruminantes, como resultado do processo de biohidrogenação de alguns tipos de rações na flora microbiana do rúmen (Aro et al., 1997) e em produtos alimentícios industrializados, que sofrem processo de hidrogenação parcial ou total de óleos vegetais ou marinhos (Okonek et al., 1996). Em produtos alimentícios manufaturados, são encontrados em margarinas duras e algumas cremosas, creme vegetal, gordura vegetal hidrogenada, biscoitos, sorvetes, alguns pães, batatas fritas ,fast food, pastelarias, bolos, massas, entre outros. Sabe-se que a gordura de animais ruminantes contribui apenas com 2-8% da ingestão, enquanto que a gordura hidrogenada contribui com 80 – 90%(Larqué et al., 2001)

No Brasil ainda não existem dados a respeito do consumo de AGT, no entanto sabe-se que a manufatura de produtos que os contém tem sido crescente desde a década de 90 (Monteiro et al.,2000), levando conseqüentemente a um maior consumo por parte da população.

Chiara e col (2003), em estudo realizado com alimentos habitualmente consumidos pela população brasileira, observaram que o relato da composição de alguns produtos no rótulo, não coincidia com os teores encontrados nas análises,

destacando-se em muitas amostras teores elevados de AGT, especialmente o ácido elaídico. Os resultados do estudo evidenciam que os produtos com gordura hidrogenada devem sofrer regulamentação mais cautelosa quanto aos teores de AGT.

A absorção e transporte dos AGT são similares a outros ácidos graxos dietéticos, sendo incorporados aos ésteres de colesterol, triacilgliceróis e frações fosfolipídicas de proteínas. O produto final de seu catabolismo é, assim como nos ácidos graxos *cis*, dióxido de carbono e água (Vidgren et al., 1998).

Os AGT não são excluídos da atividade metabólica dos tecidos corporais (Carlson et al., 1997), sendo incorporados no cérebro, fígado, tecido adiposo, baço e também plasma e leite. As quantidades incorporadas geralmente refletem o conteúdo destes ácidos graxos na dieta (Larqué et al., 2001). A incorporação dos AGT aos fosfolipídeos das membranas celulares produz diminuição da sua fluidez (Wenzel & Kloepell, 1980) e alteração da atividade das proteínas de membrana, especialmente enzimas e proteínas transportadoras dentro e fora da célula (Koletzko, 1992).

Vários são os trabalhos que apontam a relação dos AGT com a resistência à insulina (Ludwig et al., 2003; Bray et al., 2002; Lovejoy et al., 2002; Simopoulos, 1994; Mann, 1994). O mecanismo envolvido seria não somente por diminuir a fluidez de membrana e, conseqüentemente, alterar a atividade do receptor de insulina, mas também por inibir a formação dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPI-CL), que estão positivamente correlacionados com a sensibilidade à insulina (Simopoulos, 1994). Esta inibição ocorre devido aos AGT competirem com os ácidos graxos essenciais (linoleico e linolênico) na ligação

com as Δ -dessaturases e elongases, enzimas responsáveis pela dessaturação e alongação dos ácidos graxos essenciais e conseqüente formação dos AGPI-CL (Ostlund-Lindqvist et al., 1985).

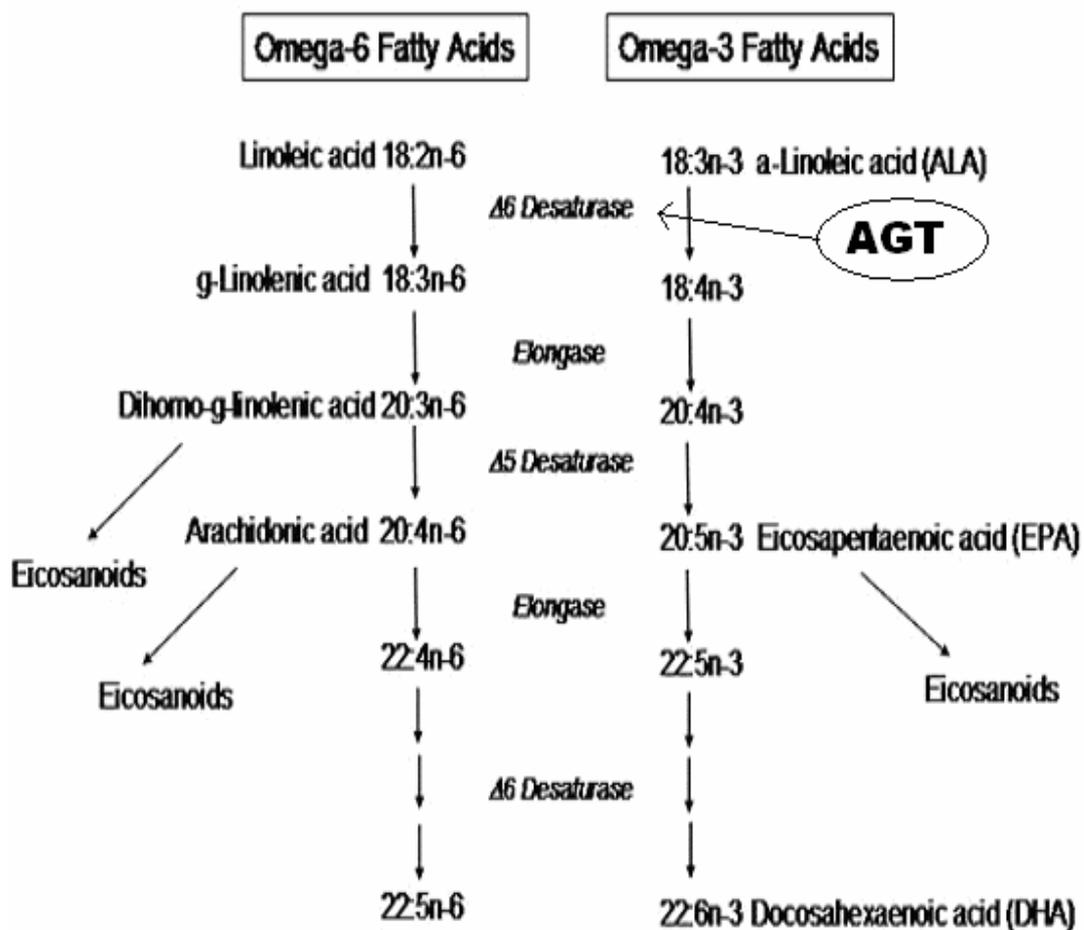


Figura 2: Interferência dos AGT na síntese dos AGPI-I.

Ibrahim et al. (2005) ao comparar os efeitos dos ácidos graxos saturados com os AGT na sensibilidade à insulina e fluidez de membrana celular, observaram que somente os AGT foram capazes de reduzir a fluidez de membrana e que é maior a resistência à insulina por eles provocada. Além disso, foi observado que os AGT são capazes de potencializar a secreção aguda de insulina (Lovejoy, 1999).

Com relação aos efeitos dos AGT sobre o perfil lipoprotéico, é consensual na literatura científica que o seu consumo eleva as concentrações séricas de LDL – c e reduz as de HDL-c (Lichtenstein et al., 1999; Ascherio & Willett, 1997), induzindo portanto a um perfil lipídico mais prejudicial do que a própria gordura saturada, que também tem a capacidade de elevar o LDL – col, no entanto não reduz de forma importante os níveis de HDL – col. Este efeito dos AGT nas lipoproteínas plasmáticas resulta em um significativo aumento na relação LDL-col/HDL-col, aproximadamente duas vezes maior quando comparado aos ácidos graxos saturados, o que é considerado por alguns autores como o prognóstico mais importante para doenças cardiovasculares (Ascherio & Willett, 1997).

Além da alteração do perfil lipídico, mais recentemente tem se observado que o consumo de AGT está relacionado com disfunção endotelial e aumento das concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios como Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e proteína-C-reativa (Mensink et al., 2005; Lopez-Garcia et al., 2005; Han et al., 2002; Taubes, 2002; Libby, 2002; Libby et al., 2002), o que demonstra que a forte relação entre AGT e doenças cardiovasculares pode ser explicada não somente pela alteração do perfil lipídico,

mas também pela indução de uma situação inflamatória que favorece a aterosclerose.

Lemaitre et al (2002) observaram que um aumento do conteúdo de isômeros *trans* do ácido linoléico em membranas de eritrócitos (excelente marcador da ingestão alimentar), foi associado a uma elevação do risco de ataque cardíaco primário.

Em suma, numerosos estudos demonstram que o maior consumo de AGT leva a um aumento do risco de doenças cardiovasculares (Aro et al., 1997; Louheranta et al., 1999; Oomen et al., 2001; Clifton et al., 2004; Dyerberg et al., 2004; Mensink & Katan, 1990, 1992; Zock et al., 1995; Katan et al., 1995) e por este motivo, recentemente os AGT foram incluídos entre os fatores dietéticos de risco para doenças cardiovasculares (Institute of Medicine, 2002; Danish Nutrition Council, 2003).

Com relação à saúde materno-infantil, diversos estudos vêm sugerindo que os AGT consumidos pela mãe durante a gestação passam para o feto através da placenta e são incorporados nos tecidos fetais, mostrando clara exposição fetal à nutrição materna (Moore & Dhopeswarkar, 1980; Carlson et al., 1997; Larqué et al., 2001).

Em estudo realizado com crianças a termo, Koletzko & Muller (1990) detectaram níveis similares de AGT no sangue do cordão umbilical e no plasma materno. Houwelingen & Hornstra (1994) encontraram direta correlação entre AGT no plasma materno e tecidos fetais após aborto natural.

Outra forma não menos importante de transferência mãe – filho dos AGT é através do leite materno. O conteúdo destes é variável no leite, refletindo a

ingestão dietética materna (Aitchison et al., 1977; Larque et al., 2000; Kummerow et al., 2004). Em geral, os AGT compreendem 2-5% do total de ácidos graxos do leite materno (Larqué et al., 2001), porém podem ocorrer variações de acordo com diferentes hábitos dietéticos, variando de 7,2% no Canadá (Chen et al., 1995) a 1,9% na França (Chardigny et al., 1995). No Brasil não há estudos que estimem o conteúdo médio de AGT no leite materno.

Estes AGT ingeridos através do leite, assim como ocorre na transferência placentária, são também absorvidos e incorporados em vários tecidos e órgãos em diferentes concentrações. O tecido adiposo apresenta as maiores concentrações (Pettersen & Opstvedt, 1992) enquanto que o cérebro apresenta as menores (Cook, 1981; Pettersen et al., 1992), o que reflete um claro mecanismo protetor, que limita a incorporação desses ácidos graxos no sistema nervoso central. Nas primeiras semanas de lactação, os níveis de AGT nos tecidos do neonato elevam-se rapidamente, e ao final desta, atingem níveis similares aos encontrados no leite materno (Pettersen & Opstvedt, 1989).

Tendo em vista que os AGT são de fato transferidos para o leite materno, e que um de seus efeitos metabólicos é a promoção de resistência insulínica, acredita-se que estes possam interferir no metabolismo energético cardíaco.

Sabe-se que em condições fisiológicas, o miocárdio de animais neonatos tem uma alta capacidade de utilização de glicose, enquanto que o de animais adultos utiliza ácidos graxos como fonte energética primária. Aproximadamente 48% do ATP produzido no miocárdio do coelho neonato é derivado da glicólise, frente a somente 20% no miocárdio adulto (Lopaschuk et al., 1991).

O transporte de glicose através da membrana plasmática é o passo inicial para utilização deste substrato pelo miocárdio e o número de transportadores de glicose (GLUT) presentes no sarcolema, determina a sua taxa de captação pela célula (Friehs et al., 2003).

No miocárdio são expressos GLUT-1 e GLUT-4 (Friehs et al., 2003; King & Opie, 1998; Stanley et al., 1997; Sun et al., 1994; Young et al., 1997). O primeiro é insensível à insulina no coração e é considerado responsável pela captação basal de glicose em condição de jejum simples, onde as concentrações séricas de insulina estão baixas. Já o GLUT-4 é sensível à ação da insulina e amplamente distribuído em vesículas intracelulares em condições de aporte adequado de oxigênio (Ramasamy et al., 2001; Charron & Katz, 1998; Nguyen et al., 1997; Sun et al., 1994; Young et al., 1997).

Tem sido observado que GLUT-1 e GLUT-4 possuem diferente capacidade de transporte e afinidade pela glicose e que o GLUT-4 é o principal responsável pela captação de glicose no miocárdio maduro (Friehs et al., 2003). Estas observações sugerem que ambos desempenham diferentes papéis em condições fisiológicas e não fisiológicas (Mueckler, 1990).

Diversos trabalhos vêm demonstrando que em situações de isquemia, ocorre uma translocação substancial de GLUT-4 para a membrana plasmática do cardiomiócito, o que resulta em um incremento na capacidade de captação de glicose (Sun et al., 1994; Friehs et al., 2003; Charron & Katz, 1998; Nguyen et al., 1997). Este incremento é fundamental, uma vez que durante a isquemia a habilidade do miocárdio em gerar energia através da oxidação dos ácidos graxos torna-se gravemente comprometida, sendo o metabolismo anaeróbio de glicose,

neste momento, o mais importante método de geração de ATP (King & Opie, 1998; Neely & Morgan, 1974; Opie et al., 1975; Vanoverschelde et al., 1994; Depre et al., 1999).

Recentes ensaios clínicos sugerem que medidas terapêuticas associadas à revascularização, como a administração de solução contendo glicose, insulina e potássio, que promovem aumento do metabolismo de glicose no miocárdio isquemiado, reduziu significativamente a mortalidade em pacientes vítimas de infarto agudo do miocárdio(Fath-Ordoubadi & Beatt, 1997; Diaz et al., 1998; Apstein,1998). Estes estudos suportam a idéia de que intervenções metabólicas possam ser um importante adjunto na proteção do miocárdio isquemiado (Friehs et al., 2003).

Considerando o fenômeno da impressão e programação metabólica, onde insultos sofridos em períodos críticos no início da vida (gestação e lactação) levam a alterações metabólicas permanentes, interessa-nos investigar neste momento, se ao submeter os animais ao consumo de AGT através do leite materno, ocorreria a alteração do GLUT-4 cardíaco na vida adulta, uma vez que os AGT promovem resistência à insulina. O nosso grupo de pesquisadores julga a investigação pertinente tendo em vista os vários trabalhos que apontam o papel protetor do GLUT-4 no miocárdio durante situações de isquemia. Cabe ressaltar que muitos são os trabalhos que contemplam a restrição alimentar no início da vida como insulto metabólico, não havendo estudos que avaliem a qualidade lipídica da dieta materna, sem alteração do seu estado nutricional, no fenômeno da impressão e programação metabólicas, sendo portanto o presente trabalho pioneiro neste tipo de associação

OBJETIVOS**Objetivo geral**

Estudar a repercussão do consumo de ácidos graxos *trans* durante a lactação no metabolismo glicídico cardíaco de ratos machos na vida adulta.

Objetivos específicos

Avaliar em ratos machos adultos (60 dias) submetidos ao consumo de AGT durante a lactação:

- A sensibilidade à insulina
- O conteúdo de glicogênio hepático
- O conteúdo de GLUT-4 cardíaco

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo animal

Foram utilizadas ratas *Wistar* com 3 meses de idade do Biotério do Laboratório de Fisiologia da Nutrição e do Desenvolvimento/ IBRAG – UERJ, mantidas a uma temperatura média de 23°C, com umidade relativa de 40 a 60% e ciclo de luminosidade 12h claro e 12h escuro. O cruzamento foi realizado com ratos de aproximadamente 4 meses de idade obtidos do mesmo laboratório. Após fecundação, as fêmeas foram colocadas em gaiolas individuais e continuaram a receber ração industrializada específica para ratos e água *ad libitum* durante toda a gestação.

Com o nascimento dos filhotes, as ratas lactantes foram divididas em grupo controle (LC) e grupo trans (LT) e foram mantidos 6 animais por mãe para melhor *performance* lactotrófica (Moura et al., 1986). Ambos os grupos receberam ração artesanal para ratos de acordo com a AIN-93 (*American Institute of Nutrition Rodents Diets*) durante toda lactação, diferindo apenas na fonte lipídica. As rações artesanais foram confeccionadas no Laboratório de Bioquímica Nutricional (LBN) do Instituto de Nutrição da UFRJ. Após o 21º dia de lactação, período correspondente ao desmame, os filhotes foram separados das mães e cada ninhada mantida em gaiolas comunitárias. Os grupos de filhotes controle e trans (MC e MT) passaram a receber ração industrializada específica para ratos até o momento das análises que foram realizadas com os machos aos 60 dias de idade, de acordo com o protocolo estabelecido para este estudo.

Dietas

Foi utilizada para as gestantes, ração industrializada específica para ratos (tabelas 1 e 2). No período da lactação foi utilizada ração artesanal confeccionada no LBN – UFRJ contendo 9% de óleo de soja para LC e 7% de Gordura vegetal parcialmente hidrogenada + 2% de óleo de soja para garantia dos ácidos graxos essenciais para LT. As rações artesanais são isocalóricas, isoproteicas, isoglicídicas e isolipídicas (tabelas 3 e 4). O conteúdo de vitaminas e minerais foi baseado nas recomendações da AIN-93 (tabela 5).

Ração específica para ratos - NUVILAB[®]	
Umidade (máxima)	12,5%
Proteína bruta (mínimo)	22,0%
Carboidrato (mínimo)	72,6%
Lipídios (mínimo)	5,4%
Calorias/g de ração	4,21 Kcal
Material mineral (máximo)	10,0%
Matéria fibrosa (Maximo)	8,0%
Cálcio (Maximo)	1,4%
Fósforo (mínimo)	0,8%

Tabela 1: Composição básica da ração industrializada específica para ratos NUVILAB[®].

Ração específica para ratos - NUVILAB®

suplementação por Kg não mais do que:

vitaminas	Vitamina A: 12.000 UI, vitamina D ₃ : 1800 UI, Vitamina E: 30mg, vitamina K3: 3mg, vitamina B1: 5mg, Vitamina B ₆ : 7mg, vitamina B ₁₂ : 20mg, ácido fólico: 1mg, biotina:0,5mg, colina: 600mg, niacina: 60 mg e ac. Pantotênico: 20mg.
Microelementos minerais	Ferro: 50mg, zinco: 60mg, cobre: 10mg, iodo: 2mg, manganês: 60mg, selênio: 0,05mg e cobalto: 1,5mg
aminoácidos	DL- metionina: 300mg e tirosina: 100mg

Tabela 2: Composição de micronutrientes da ração industrializada específica para ratos NUVILAB

Ração artesanal controle (LBN – UFRJ)

Proteína (caseína)	21%
Carboidratos (amido de milho)	70%
Lipídeos (óleo de soja)	9%
Calorias/g de ração	3,01 Kcal

Tabela 3: Composição de macronutrientes da ração artesanal controle

Ração artesanal trans (LBN – UFRJ)

Proteína (caseína)	21%
Carboidratos (amido de milho)	70%
Lipídeos-gordura vegetal hidrogenada	7%
Óleo de soja	2%
Calorias/g de ração	3,01 Kcal

Tabela 4: Composição de macronutrientes da ração artesanal trans

Ração artesanal controle e trans(LBN – UFRJ)

suplementação por Kg não mais do que:

Mistura de vitaminas

Vitamina A: 5.500 UI, vitamina D₃:
2.200 UI, Vitamina E: 40mg, vitamina
K1: 10mg, vitamina B1: 15mg,
Vitamina B2: 15mg, Vitamina B₆:
10mg, vitamina B₁₂ : 20mg, ácido
fólico: 2mg, biotina: 2,5mg,
nicotinamida: 50mg, ac. Pantotênico:
20mg.

Mistura de minerais

Ferro: 32mg, zinco: 5.8mg, cobre:
2.9mg, manganês: 4.9mg, cálcio:
4207mg, potássio: 2765mg, sódio:
1226mg e magnésio:606mg

Tabela 5: Composição de micronutrientes das rações artesanais controle e trans.

Análise da glicose plasmática

Foi coletado 1ml de sangue com seringa previamente heparinizada e centrifugados a 3000 rpm por 15 minutos a 4°C. Posteriormente o plasma foi separado dos elementos figurados do sangue e mantido em freezer a -20°C até o momento das análises. A dosagem plasmática de glicose foi realizada pelo método enzimático glicose – oxidase, utilizando-se um kit comercial (Gold Analisa Diagnóstica – Minas Gerais) e a leitura realizada em espectrofotômetro (Beijing Purkinje General Instrument – TU 1800) com comprimento de onda 510nm.

Análise da Insulina plasmática

A insulina plasmática foi analisada em duplicata pelo método de radioimunoensaio (Desbuquois & Aurbach, 1971). Foi utilizada insulina monoiodada (^{125}I – *Amersham Biotech*) diluída em tampão fosfato 0,01M, 5% de albumina (SIGMA) com pH 7.4 e anticorpo anti-insulina (*Amersham Biotech*) na diluição de 1:200.000. Para curva padrão foi utilizado insulina fria (Biobrás) nas concentrações 0,019ng/ml; 0,038ng/ml; 0,076ng/ml; 0,152 ng/ml; 0,304ng/ml; 0,608ng/ml; 1.216 ng/ml; 2.432 ng/ml; 4.864 ng/ml. A taxa de insulina plasmática foi expressa em ng/ml e a leitura das amostras realizada em contador *Gama* (Packard).

Análise da sensibilidade a insulina

O indicador da sensibilidade à insulina foi obtido através da relação I/G e da fórmula de avaliação do modelo homeostático (HOMA), em que a sensibilidade à insulina é determinada pela glicemia de jejum (mmol) multiplicada pela insulinemia de jejum ($\mu\text{U/ml}$) dividido pela constante 22,5 (Emoto et al., 1999)

Análise do glicogênio hepático

Foram coletados 150mg de tecido hepático, colocados em tubo de ensaio e acrescentado 1 ml de KOH 30%. Posteriormente os tubos foram aquecidos em banho maria fervente por 1h para hidrólise do tecido. Ao retirar do banho maria, foram acrescentados Na_2SO_4 saturado e álcool absoluto e novamente os tubos foram aquecidos a 70°C por 15 minutos. Em seguida os tubos foram centrifugados (Centrífuga Sanyo) a 2000 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante contendo lipídeos saponificados e aminoácidos foi desprezado e o precipitado suspenso com 1ml de água a 70°C e álcool absoluto. Em seguida foi novamente levado ao banho Maria a 70°C por 15 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi novamente desprezado e o precipitado suspenso com 2,25ml de água destilada a 70°C . O conteúdo do tubo de ensaio foi então transferido para um balão volumétrico e o tubo lavado várias vezes com água destilada até completar o volume de 5 ml no balão. Foi retirada uma alíquota de 1ml desta solução e resfriada em gelo. Em seguida foi adicionado o reagente de cor antrona 50%(diluída em H_2SO_4). Os tubos foram então homogeneizados e lidos em

espectrofotometro com comprimento de onda de 600nm. Para curva padrão foram utilizadas soluções de glicose a 100; 50; 25; 12,5 e 6,25 mg/dl.

Análise do GLUT- 4 cardíaco

O tecido cardíaco foi lavado em Krebs-Heinselet gelado (NaCl 118mM, KCl 4,7 mM, MgSO₄ 1,2 mM, CaCl₂ 1,75 mM, NaHCO₃ 25 mM, EDTA 0,5 mM) com pH de 7,4 e picotado com auxílio de bisturi. Em seguida o material foi homogeneizado em solução de lise também gelada (50 mM HEPES, 1 mM MgCl₂, 10 mM EDTA, 1% Triton X-100 suplementada com inibidores de proteases: 1mM de fluoreto de metilsulfonil (PMSF), 1μM de aprotinina, 1 μM de leupeptina) por trituração manual com pilão até tornar-se líquido. Posteriormente foi submetido 3 vezes a ultra-som (Virtis – Virsonic 60) durante 15 segundos por 10 segundos de descanso em gelo. Foi feita uma centrifugação a 9000rpm por 15min a 4°C para separação dos *debris* e em seguida ultra-centrifugação (ultracentrífuga Hitachi – Himac CP70G) a 40000g por 1 hora e 30 minutos para obtenção do conteúdo de GLUT 4 no precipitado.

Após ultra-centrifugação, foi coletado o precipitado e sua concentração de proteínas totais foi quantificada pelo método de Bradford em placa de ELISA (Jamef) utilizando a albumina bovina (SIGMA) nos padrões 0,5, 1, 2 e 4 mg/ml. Em seguida, foi realizada a desnaturação das proteínas por fervura das amostras durante 5 minutos em tampão próprio.

As amostras desnaturadas foram aplicadas sobre um gel a 12% de poliacrilamida (30% acrilamida, 1.6% bis-acrilamida, 10% APS, 5 μ l Temed diluídos em tampão Tris 1,5mM, 10% de SDS) em cuba de eletroforese (Hoefer) para separação protéica, e a seguir, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose (Hybond – P *Amersham Biotech*) por eletrotransferência.

A detecção protéica específica foi realizada após incubação da membrana de nitrocelulose por 30 minutos de albumina bovina 1% (fração 5 - seg. Cohn – INLAB) em tampão Tris/NaCl/Tween pH 7,4. Em seguida, a membrana de nitrocelulose, foi incubada com anticorpo primário para GLUT-4 (Santa Cruz Biotech) na diluição 1:1000 durante período mínimo de 12 horas. Para imunodeteccção foi incubada por mais 1 hora com anticorpo secundário antiIgG biotinilado (Santa Cruz Biotech - diluição 1:1000), seguida de estreptavidina (diluição 1:1000) por mais 1 hora. A revelação final foi realizada pela ação de Diaminobenzidina 0,1% (DAB) em tampão Tris pH 7,4 (Thorens et al., 1988) mais peróxido de hidrogênio. As bandas foram analisadas segundo sua densidade, utilizando-se o software Image J.

Tratamento Estatístico

Os dados são expressos como média e erro padrão da média. As análises estatística foram realizadas através do teste *t de Student* bicaudal, não pareado utilizando-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). (Dixon & Massey, 1969).

RESULTADOS**Peso corporal dos animais do 21º ao 60 dia de vida**

O peso corporal dos animais não se mostrou significativamente diferente entre o MC e MT nos dias estudados.

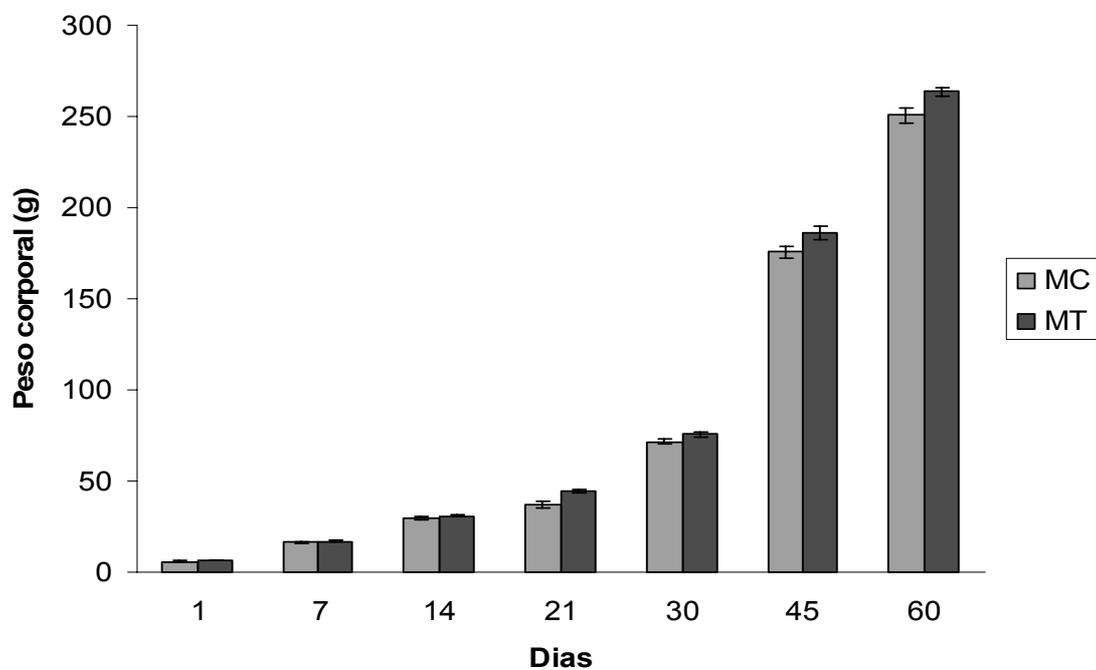


Figura 3: Peso corporal de grupo controle e trans (MC e MT) do 21º ao 60º dia de idade. Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n = 6).

Consumo alimentar médio materno durante a lactação

O consumo alimentar materno durante o período da lactação não se mostrou significativamente diferente entre os grupos. ($p > 0,05$)

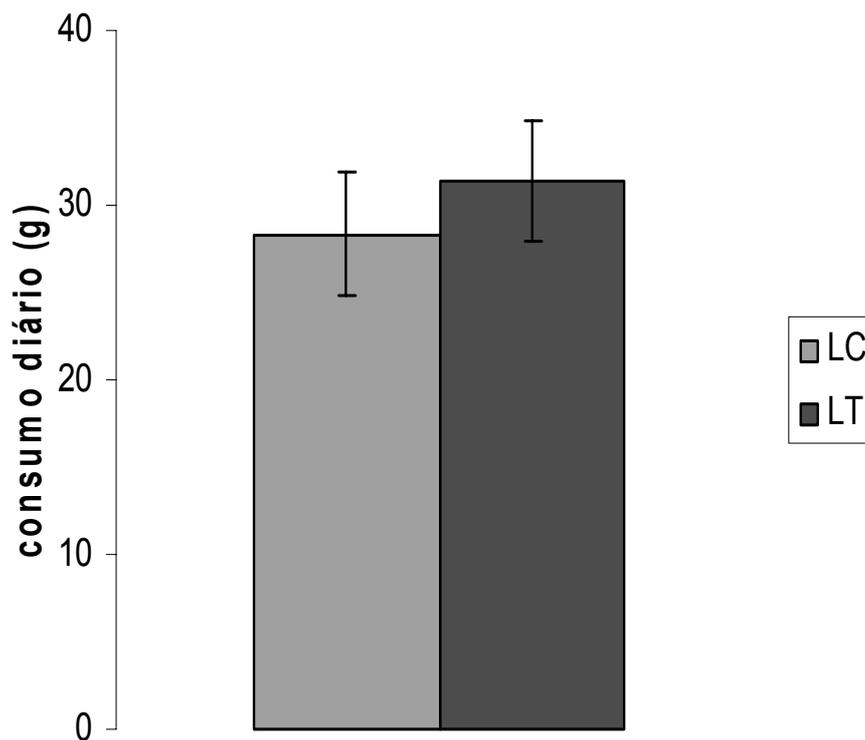


Figura 4: consumo alimentar de lactantes controle e trans (LC e LT). Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n = 4).

Consumo alimentar dos animais dos 21 aos 60 dias

O consumo alimentar dos animais não se mostrou significativamente diferente entre o GC e GT nos dias estudados.

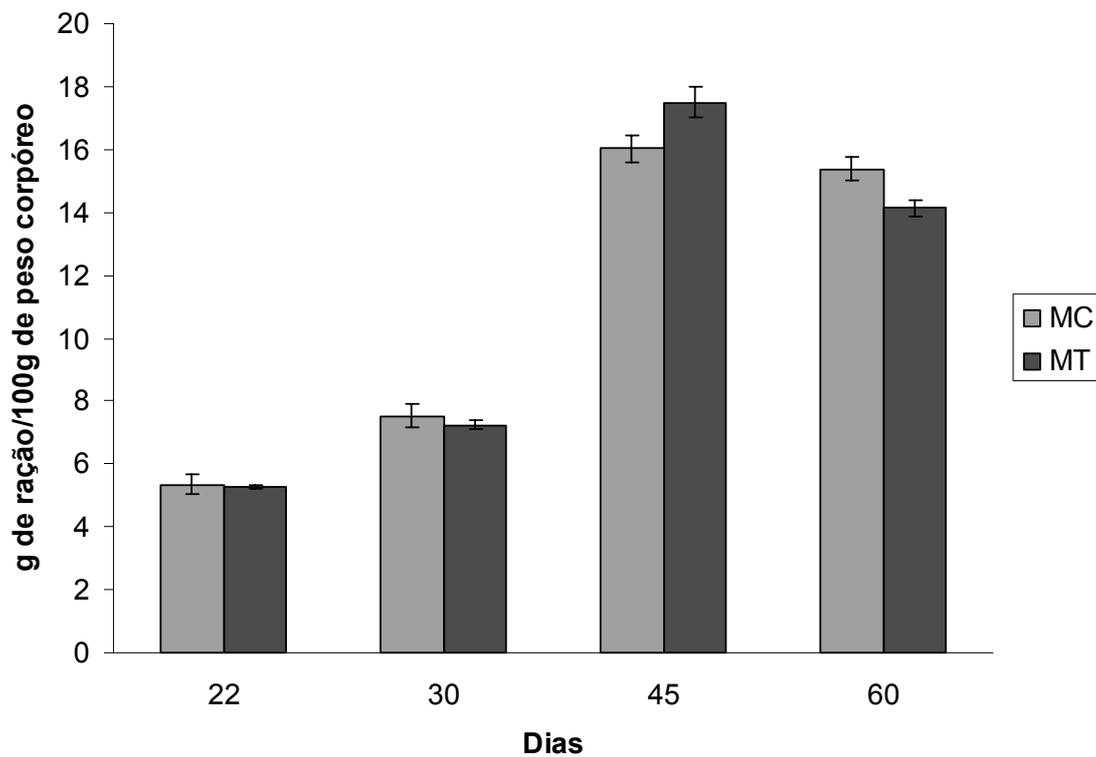


Figura 5: Consumo alimentar do grupo controle e trans (MC e MT) do 21º ao 60º dia de vida. Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=6).

Insulinemia de jejum

A insulina plasmática de jejum mostrou-se significativamente superior no grupo trans ($19,65 \pm 3,5$ ng/dl) quando comparado ao grupo controle ($10,38 \pm 0,6$ ng/dl) ($p < 0,05$).

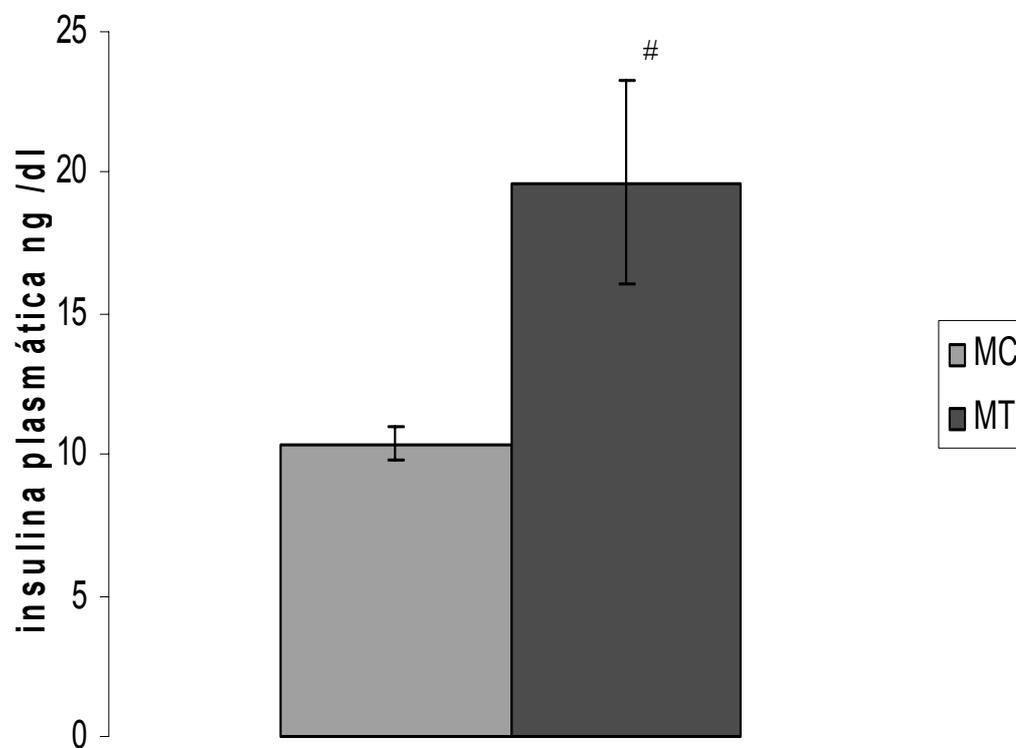


Figura 6: Insulina plasmática de jejum de machos controle e machos trans (MC e MT) aos 60 dias de idade. Valores expressos em média \pm erro padrão da média ($n= 8$). # $p < 0,05$ MC vs MT.

Glicemia de jejum

A glicose plasmática de jejum no grupo trans apresentou valor maior ($153,96 \pm 7,24$ mg/dl) do que o observado no grupo controle ($138,68 \pm 5,31$ mg/dl), porém esta diferença não se mostrou estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

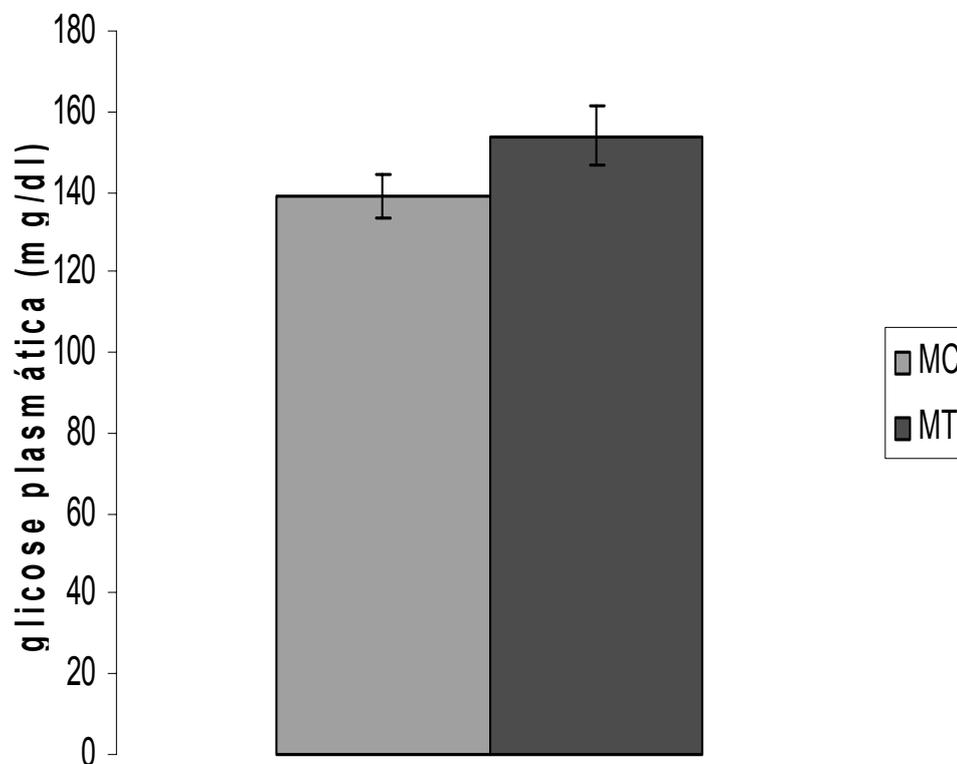


Figura 7: Glicose plasmática de jejum de machos controle e machos trans (MC e MT) aos 60 dias de idade. Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n= 8).

Sensibilidade à insulina (índice HOMA)

O grupo trans apresentou valores de HOMA significativamente ($p= 0,046$) maiores ($7,56 \pm 1,47$) do que o grupo controle ($3,71 \pm 0,25$), o que mostra um prejuízo na sensibilidade à insulina do grupo trans.

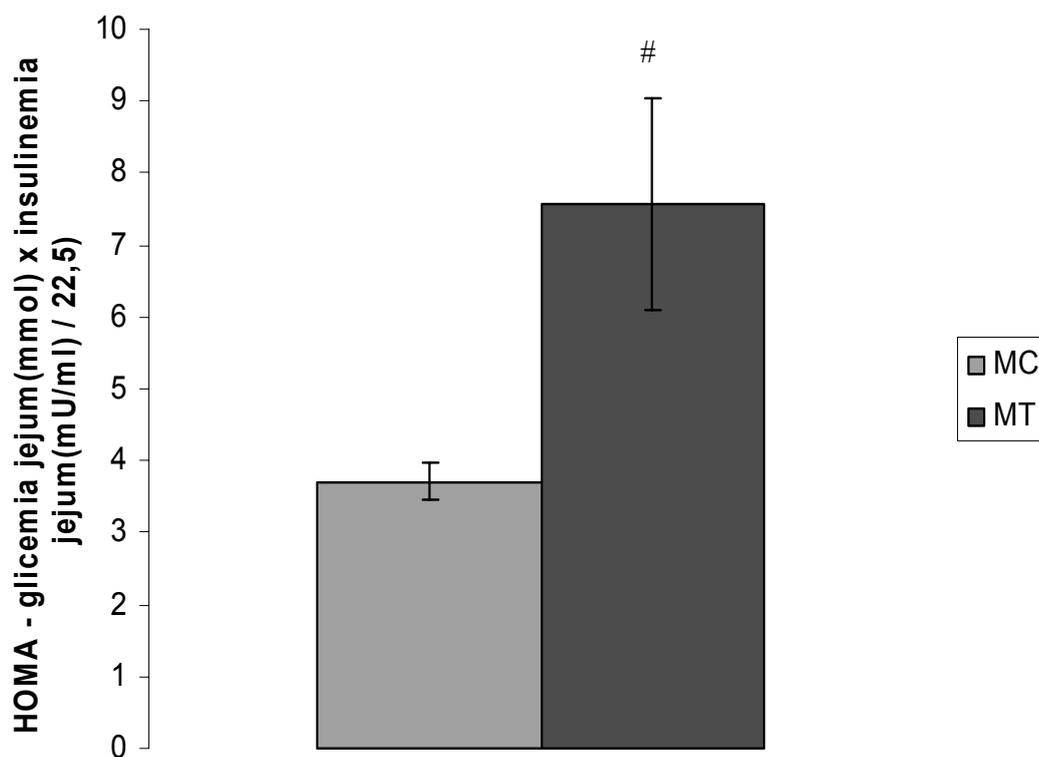


Figura 8: Sensibilidade à insulina de machos controle e machos trans (MC e MT) aos 60 dias de idade. Valores expressos em média \pm erro padrão da média ($n=8$).

$p < 0,05$ MC vs MT.

Relação Insulina/glicose plasmática

O grupo trans apresentou valores de relação insulina/glicose significativamente superiores ao grupo controle com ($p < 0,05$).

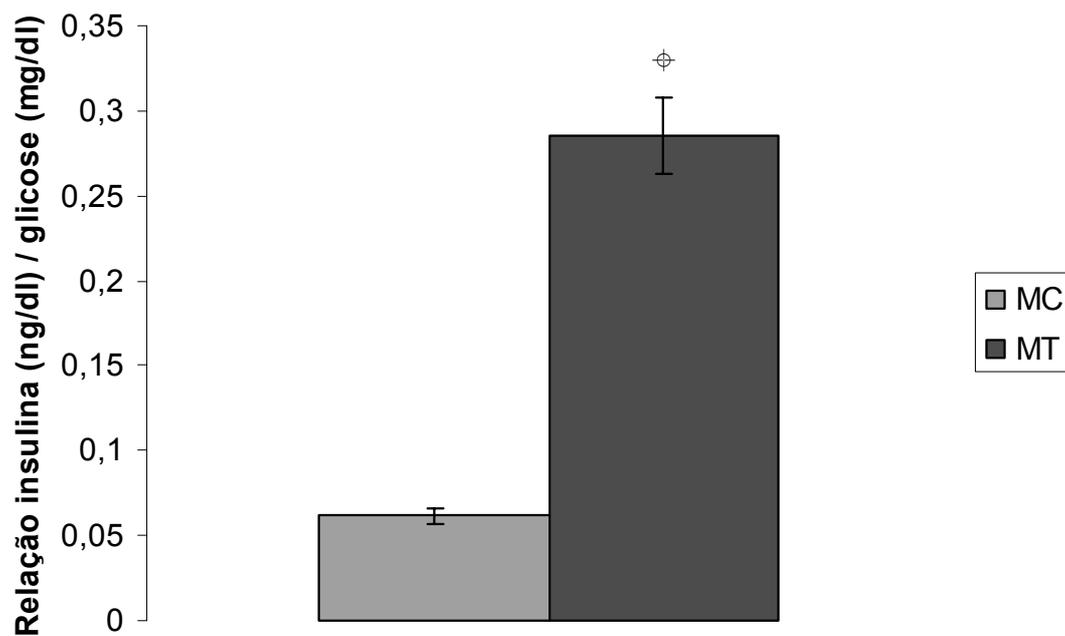


Figura 9: relação insulina/glicose de machos controle e machos trans (MC e MT) aos 60 dias de idade. Valores expressos em média \pm erro padrão da média (n=8).

⊕ $p < 0,05$ MC vs MT.

Glicogênio hepático

Os valores de glicogênio hepático do grupo trans foram significativamente ($p= 0,011$) inferiores ($29,34 \pm 1,35$ mg/dl) aos encontrados no grupo controle ($89,02 \pm 19,93$ mg/dl).

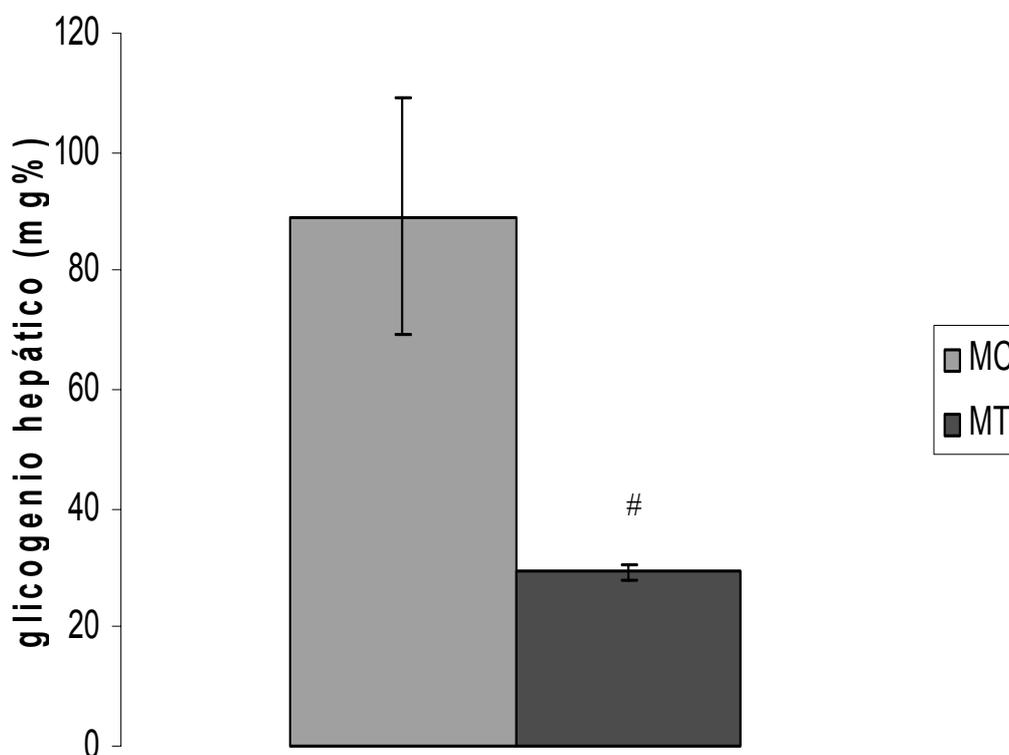


Figura 10: Glicogênio hepático de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade. Valores expressos em média \pm erro padrão da média ($n = 10$). # $p < 0,05$ MC vs MT.

Análise do GLUT – 4 cardíaco

Foi observada uma redução média de 37,47% no conteúdo de GLUT-4 cardíaco do grupo trans quando comparado ao grupo controle.

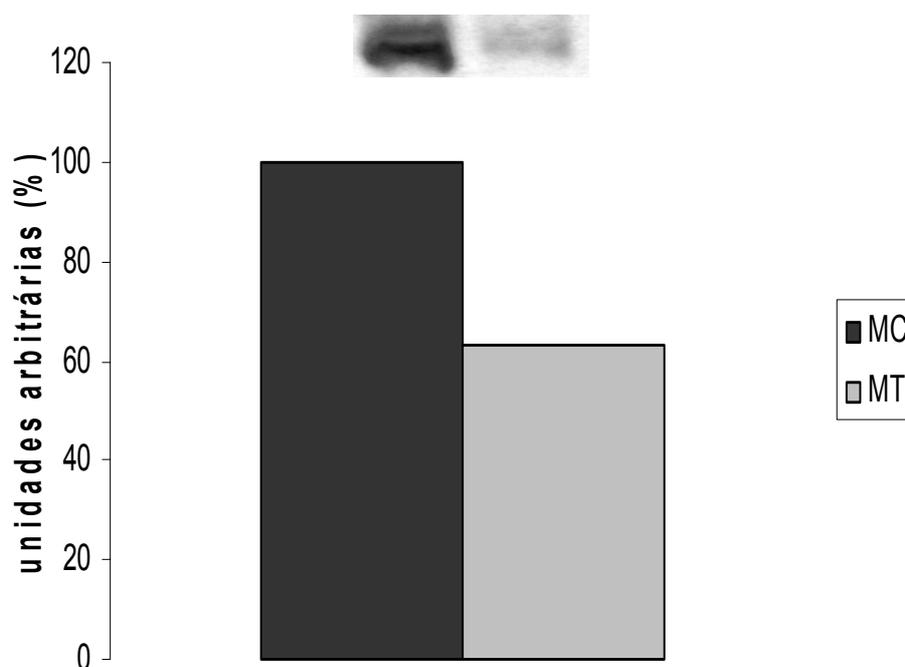


Figura 11: Conteúdo de GLUT-4 cardíaco de machos controle e trans (MC e MT) aos 60 dias de idade (n=5).

DISCUSSÃO

Vem sendo amplamente estudado por diversos cientistas o fenômeno da impressão e programação metabólicas, já descritos anteriormente. Muitos são os trabalhos que apontam especialmente a questão do estado nutricional inadequado no início da vida, seja por desnutrição ou obesidade, levando à doenças crônicas na vida adulta. No entanto, poucos são os estudos encontrados na literatura que relacionam a ingestão de um determinado tipo de nutriente, no caso os AGT, com a impressão metabólica, sendo o nosso trabalho pioneiro neste tipo de associação.

Apesar de os mecanismos envolvidos na impressão e conseqüente programação metabólicas ainda não estarem totalmente esclarecidos, já se sabe que é necessário a ocorrência do evento ou insulto, que em nosso estudo foi a ingestão de AGT, em um período específico da vida. Vários autores apontam de forma consensual que este período trata-se da fase fetal e neonatal (janela crítica), por ser um momento de intensa plasticidade orgânica onde o organismo estaria mais susceptível a sofrer alterações irreversíveis em sua homeostase (Lucas, 1994; Waterland et al., 1999; Moura et al., 2004). Por este motivo, optamos por estudar o período da lactação em nosso trabalho que se mostrou altamente potente na capacidade de gerar uma impressão metabólica, com repercussões no metabolismo energético do animal na vida adulta, em especial no metabolismo cardíaco que apresenta prejuízo no transporte de glicose.

O nosso estudo vai de encontro ao crescente interesse desenvolvido principalmente na última década, no qual tem-se demonstrado a associação entre as diferentes patologias associadas a disfunções na fisiologia e metabolismo dos lipídios. Por exemplo, atenção especial tem sido dada às concentrações de ácidos graxos poliinsaturados essenciais (AGE) n-3 (ácido Linolênico) e n-6 (ácido linoleico) no leite materno, devido à sua primordial importância no crescimento e desenvolvimento durante o início da vida (Chen et al., 1997; Koletzko et al., 2001; Innis et al., 2002). Sabe-se que estes ácidos graxos são considerados essenciais pela inabilidade das células animais em introduzir dupla ligação antes do carbono 9, fazendo-se necessário portanto, o consumo diário deles através da dieta. Quando os AGE estão presentes na dieta, tecidos animais, em especial o tecido hepático, são capazes de sintetizar, a partir deles, ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPI-CL) que dentre outras funções estão fortemente relacionados à sensibilidade à insulina (Clandinin et al, 1993; Fickova et al, 1998; Delarue et al, 2004)

Sabendo da importância dos AGPI-CL, nossa atenção tem sido devotada aos ácidos graxos *trans* (AGT), que presentes em quantidades cada vez maiores na dieta, interferem na biossíntese dos AGPI-CL levando à redução de suas concentrações tanto séricas quanto no leite materno, gerando conseqüentemente, um menor consumo destes pelos lactentes. Nesta direção, Assumpção et al (2004) demonstraram, por exemplo, que o consumo materno de uma dieta contendo 7% de gordura vegetal hidrogenada, rica em AGT, levou a um significativo aumento da incorporação de AGT na glândula mamária de ratas lactantes, com conseqüente aumento da concentração destes, bem como

significativa redução da concentração de ácidos graxos essenciais no leite. Estes dados evidenciam o efeito prejudicial dos AGT no metabolismo lipídico da glândula mamária de ratas lactantes. Também em estudos com animais, foi observado que os AGT são incorporados no leite materno de forma dose-dependente, sendo acumulados em grandes quantidades quando em altas concentrações na dieta (Larqu e et al., 2000; Kummerow et al., 2004).

Semelhante ao encontrado em estudos experimentais, Anderson et al. (2005) em estudo com mulheres lactantes observou que o cont eudo de AGT encontrado no plasma e no leite, espelhava o que fora consumido pela dieta. O mesmo foi visto por Chardigny et al. (1995) em amostra de leite de mulheres francesas, onde os AGT consumidos foram absorvidos no trato gastrointestinal e incorporados ao leite. Ainda em humanos, Innis & King (1999) observaram em um estudo com 100 mulheres canadenses que o percentual de AGT no leite foi praticamente paralelo ($p < 0,001$) ao encontrado nos triglicerídeos e fosfolipídeos plasmáticos dos lactentes.

Desta forma, apesar de o presente trabalho não ter avaliado as concentra es de AGT no leite, baseamo-nos em literatura bastante vasta e concordante, para afirmar a existência de correspondência entre a ingestão de AGT materna e a presença destes no leite, o que nos assegura sua ingestão pela prole. Por esse motivo, consideramos que os efeitos metabólicos prospectivos observados, decorrem de impressão metabólica devido ao consumo aumentado de AGT durante a lacta o.

Muitos são os trabalhos que relacionam a ingestão de AGT com deficiência de AGPI-CL como o ácido araquid nico e docosahexanóico (Barrera-Relland et

al., 1996), levando a repercussões prejudiciais no crescimento e desenvolvimento adequados no início da vida. No entanto, sabe-se que um outro efeito não menos importante do consumo de AGT, seria a promoção de modificação no metabolismo energético.

Um exemplo claro desta modificação é a resistência à insulina, como já previamente citado, que compreende o maior fator de risco para doenças cardiovasculares (Egan et al., 2001; Ibrahim et al., 2005) estando comumente associada à anormalidades metabólicas como Diabetes Mellitus tipo 2, obesidade e hipertensão arterial (Hauner, 2002; Reaven, 1988).

Sabe-se que outros lipídeos dietéticos, além dos AGT, desempenham um importante papel na sensibilidade à insulina, possivelmente devido à alterações na composição dos ácidos graxos dos lipídeos estruturais na musculatura esquelética e tecido adiposo (Storlien et al., 2000). Desta forma, os ácidos graxos saturados são indutores de resistência insulínica, assim como os AGT, ao passo que os ácidos graxos poliinsaturados a previnem (Storlien et al., 1991; van Amelsvoort et al., 1986). Storlien et al (1987) observaram que a adição de ácido α -Linolênico à dietas ricas em gordura saturada, resultou em níveis de resistência insulínica similares ao grupo que recebeu ração comercial. Estes mesmos autores observaram ainda que houve uma forte relação diretamente proporcional, entre o metabolismo de glicose estimulado por insulina e o percentual de AGPI-CL da família n-3 na fração fosfolipídica do quadríceps (músculo esquelético), evidenciando claramente o efeito dos AGPI-CL no aumento da sensibilidade à insulina.

Em nosso estudo, o grupo trans (MT) apresentou valores de insulina plasmáticos, relação insulina/glicose e índice HOMA significativamente superiores ao grupo controle (MC) aos 60 dias de idade, demonstrando que esses animais, ao consumirem AGT somente no período da lactação, apresentam resistência à insulina na vida adulta. Uma possível explicação para tal achado é que, em decorrência da impressão metabólica induzida pelos AGT nesses animais, há uma redução da sensibilidade à insulina com conseqüente prejuízo no metabolismo glicídico. Ibrahim et al (2005) ao compararem dieta contendo gordura saturada com dieta contendo trans, observaram que somente esta última foi capaz de reduzir a fluidez de membrana plasmática de adipócitos, além de reduzir de forma mais intensa o efeito antilipolítico da insulina e o transporte de glicose mediado por insulina quando comparado à gordura saturada. Este mecanismo de alteração de fluidez de membrana plasmática, causada pelos AGT, levando a um prejuízo da ação do receptor de insulina, tem sido o mais descrito na literatura (Ludwig et al., 2003; Bray et al., 2002; Lovejoy et al., 2002; Simopoulos, 1994; Mann, 1994).

Outro resultado encontrado em nosso estudo que também alerta para um prejuízo na ação da insulina, foi uma redução significativa do conteúdo de glicogênio hepático no MT. Sabe-se que no período pós prandial, o fígado remove a glicose da circulação e a estoca na forma de glicogênio ou a metaboliza através da glicólise. O GLUT-2 media a difusão da glicose através da membrana plasmática dos hepatócitos por um mecanismo de difusão facilitada, onde é mantido um equilíbrio do conteúdo de glicose intra e extracelular. Desta forma, o fígado promove o *clearance* de grandes quantidades de glicose plasmáticas quando esta se encontra em níveis elevados (Pilkis & Granner, 1992).

A elevação da glicemia, leva também a um aumento da síntese e secreção de insulina pelas células β -pancreáticas. A insulina então se liga a seus receptores nas células alvo e desencadeia uma cascata de sinalização que irá, dentre outras ações, estimular a glicogênio sintase e conseqüentemente estimular a síntese do glicogênio (figura 11). Desta forma, fica clara a importância da ligação da insulina ao seu receptor no hepatócito, para que haja a adequada síntese de glicogênio.

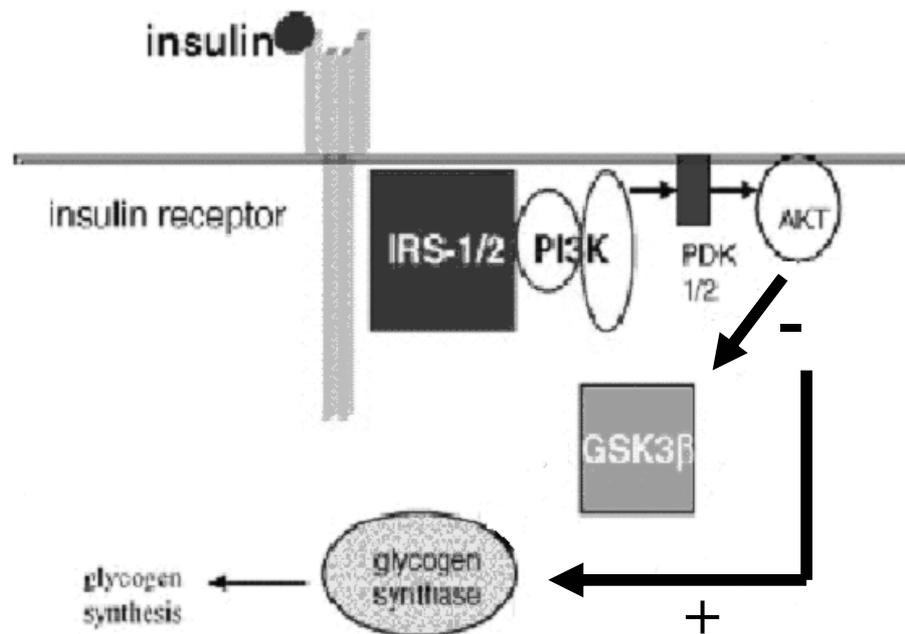


Figura 12: representação da síntese de glicogênio no hepatócito. A ligação da insulina com seu receptor ativa seus substratos IRS-1/2 que ativa a PI3K que por sua vez ativa a AKT. A AKT ativada inibe a GSK3 β , estimulando a glicogênio sintase.

Krssac et al (2004) observaram em seu estudo com indivíduos portadores de Diabetes Mellitus tipo 2, que estes apresentavam uma menor taxa de síntese de glicogênio hepático pós prandial e um menor conteúdo de glicogênio hepático de jejum, quando comparados a indivíduos controle não diabéticos.

Sabe-se que também indivíduos portadores de Diabetes Mellitus tipo 1 mal controlados, ou seja, com insulino terapia inadequada, apresentam redução da síntese e acúmulo de glicogênio hepático (Hwang et al., 1995) que consegue ser melhorada com administração aguda de insulina (Bischof et al., 2001). Portanto, acreditamos que nossos resultados são o reflexo da resistência insulínica apresentada por esses animais (MT), levando ao prejuízo na síntese do glicogênio hepático, já que não foi observada diferença significativa na glicemia do GC e GT.

No que diz respeito especificamente ao miocárdio, nossos resultados demonstraram uma redução média de 37% do conteúdo de GLUT-4, expressando aumento da resistência insulínica no coração. Este resultado reveste-se de particular importância, tendo em vista que o transporte de glicose através da membrana plasmática é o passo inicial para seu metabolismo no miocárdio, e o número de transportadores de glicose (GLUT) presentes no sarcolema é que irá determinar a taxa de captação de glicose pela célula (Friehs et al., 2003). Dois GLUT são expressos nos cardiomiócitos, o GLUT-1 (não dependente de insulina) e o GLUT-4 (dependente de insulina). No coração do neonato, há uma maior expressão de GLUT-1 comparado ao GLUT-4, porém esta relação se inverte no coração adulto, sendo o GLUT-4 o principal responsável pela captação de glicose nessa fase da vida (Friehs et al., 2003).

O coração adulto utiliza primordialmente lipídeos em condições fisiológicas normais, no entanto tem sido bastante descrito na literatura a importância da capacidade de utilização de glicose pelo miocárdio em condições de estresse metabólico, como por exemplo situações de isquemia.

Vanoverschelde et al (1994) observaram em corações de coelhos adultos que o aumento da glicólise por diversos mecanismos durante a isquemia reduziu o dano isquêmico ao miocárdio e melhorou a recuperação da função contrátil após reperfusão. Para demonstrar a particular importância do GLUT-4 na realização de glicólise pelo miocárdio adulto em isquemia, Tian & Abel (2001) utilizaram em seu estudo, corações de ratos com deficiência seletiva de GLUT-4 cardíaco e submeteram-nos a isquemia. Foi observado que durante a isquemia, estes corações exibiram redução da utilização de glicose e desenvolveram profunda e irreversível disfunção sistólica e diastólica associado a uma acelerada depleção de ATP, demonstrando claramente que o GLUT-4 é um importante mediador do aumento da glicólise durante a isquemia e representa um mecanismo protetor contra lesões isquêmicas (Tian & Abel, 2001). Diversos outros autores também têm encontrado resultados nesse sentido (Friehs et al., 2003; Ramasamy et al. 2001),

Desta forma, de acordo com nossos resultados e com a literatura científica, nosso grupo julga particularmente importante que o consumo de AGT seja desencorajado, especialmente para população materno-infantil, e que novos estudos sejam realizados na tentativa de prevenir os possíveis efeitos deletérios à saúde por eles provocados.

CONCLUSÕES

- ⌘ Não houve diferença no consumo alimentar materno entre GC e GT, bem como no peso e consumo dos animais do 21º ao 60º dia de vida.

- ⌘ O consumo de AGT somente no período da lactação gerou uma impressão metabólica nos animais que apresentaram na vida adulta resistência à insulina, redução do conteúdo de glicogênio hepático, redução do conteúdo de GLUT-4 cardíaco.

- ⌘ Não houve diferença na glicemia do GT quando comparado ao GC aos 60 dias de idade.

REFERÊNCIAS

Aalinkeel R, Srinivasan M, Song F, Patel MS. Programming into adulthood of islet adaptations induced by early nutritional intervention in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(3):640-8

Aitchison JM, Dunkley WL, Canolty NL, Smith LM. Influence of diet on trans fatty acids in human milk. *Am J Clin Nutr.* 1977;30(12):2006-15.

Allison, D.B., Egan, S.K., Barraj, L.M., Caughman, C., Infante, M., Heimbach, J.T. Estimated intakes of trans fatty and other fatty acids in the US population. *J Am Diet Assoc.* 1999; 99(2): 166 – 74.

Anderson NK, Beerman KA, McGuire MA, Dasgupta N, Griinari JM, Williams J, McGuire MK. Dietary fat type influences total milk fat content in lean women. *J Nutr.* 2005;135(3):416-21.

Apstein CS. Glucose-insulin-potassium for acute myocardial infarction: remarkable results from a new prospective, randomized trial. *Circulation.* 1998;24;98(21):2223-6.

Aro A, Jauhiainen M, Partanen R, Salminen I, Mutanen M. Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65(5):1419-26.

Ascherio A, Willett WC. Health effects of trans fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(4 Suppl):1006-1010.

Assumpcao RP, dos Santos FD, de Mattos Machado Andrade P, Barreto GF, das Gracas Tavares do Carmo M. Effect of variation of trans-fatty acid in lactating rats' diet on lipoprotein lipase activity in mammary gland, liver, and adipose tissue. *Nutrition*. 2004;20(9):806-11.

Barker DJ, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life, *BMJ*. 1990 4;301(6746):259-62.

Barker DJ. Intrauterine programming of adult disease. *Mol Med Today*. 1995;1(9):418-23.

Barrera-Relland D, Block JM. Acidos grasos trans em aceites hidrogenados: implicaciones tecnicas y nutricionales. *Grasas Aceites* 1996;44(4-5):28

Bertram CE, Hanson MA. Prenatal programming of postnatal endocrine responses by glucocorticoids. *Reproduction*. 2002;124(4):459-67.

Bischof MG, Krssak M, Krebs M, Bernroider E, Stingl H, Waldhausl W, Roden M. Effects of short-term improvement of insulin treatment and glycemia on hepatic glycogen metabolism in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2001;50(2):392-8.

Bray GA, Lovejoy JC, Smith SR, DeLany JP, Lefevre M, Hwang D, Ryan DH, York DA. The influence of different fats and fatty acids on obesity, insulin resistance and inflammation. *J Nutr*. 2002;132(9):2488-91.

Carlson SE, Clandinin MT, Cook HW, Emken EA, Filer LJ Jr. trans Fatty acids: infant and fetal development. *Am J Clin Nutr*. 1997;66(3):715-36.

Carlson SE, Clandinin MT, Cook HW, Emken EA, Filer LJ Jr. trans Fatty acids: infant and fetal development. *Am J Clin Nutr*. 1997;66(3):715-36.

Chardigny JM, Wolff RL, Mager E, Sebedio JL, Martine L, Juaneda P. Trans mono- and polyunsaturated fatty acids in human milk. *Eur J Clin Nutr.* 1995;49(7):523-31

Charron MJ and Katz EB. Metabolic and therapeutic lessons from genetic manipulation of GLUT4. *Mol Cell Biochem.* 1998;182: 143–152.

Chen ZY, Ratnayake WM, Fortier L, Ross R, Cunnane SC. Similar distribution of trans fatty acid isomers in partially hydrogenated vegetable oils and adipose tissue of Canadians. *Can J Physiol Pharmacol.* 1995;73(6):718-23.

Chiara, V.I, Sichieri, R., Carvalho, T.S.F., trans fatty acids of some foods consumed in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Nutr Campinas,* 2003;16(2): 227-223.

Clandinin MT, Cheema S, Field CJ, Baracos VE. Dietary lipids influence insulin action. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 ;14;683:151-63.

Clifton PM, Keogh JB, Noakes M. Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. *J Nutr.* 2004;134(7):1848

Cook HW. The influence of trans-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain. *Lipids.* 1981;16(12):920-6.

Craigh – Schmidt MC., Worldwide consumption of *trans* fatty acids. In: Sebedio JL, Christie WW, editors. *Trans fatty acids in human nutrition.* Dundee, Scotland: The Oily Press, 1998;p.59 – 113.

Danish Nutrition Council, 2003. The influence of trans fatty acids on health (fourth edition). Stender, S., Dyerberg, J. ed. Available from: www.ernaeringsraadet.dk. Cited: 12 nov. 2004

Delarue J, LeFoll C, Corporeau C, Lucas D. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: a nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity? *Reprod Nutr Dev.* 2004 ;44(3):289-99

Depre C, Vanoverschelde JL, Taegtmeyer H. Glucose for the heart. *Circulation.* 1999;99(4):578-88.

Desai M, Hales CN. Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1997;72(2):329-48

Diaz R, Paolasso EA, Piegas LS, Tajer CD, Moreno MG, Corvalan R, Isea JE, Romero G. Metabolic modulation of acute myocardial infarction. The ECLA (Estudios Cardiológicos Latinoamérica) Collaborative Group. *Circulation.* 1998; 24;98(21):2227-34

Dodic M, Moritz K, Wintour EM. Prenatal exposure to glucocorticoids and adult disease. *Arch Physiol Biochem.* 2003;111(1):61-9.

Dyerberg J, Eskesen DC, Andersen PW, Astrup A, Buemann B, Christensen JH, Clausen P, Rasmussen BF, Schmidt EB, Tholstrup T, Toft E, Toubro S, Stender S. Effects of trans- and n-3 unsaturated fatty acids on cardiovascular risk markers in healthy males. An 8 weeks dietary intervention study. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58(7):1062-70.

Egan BM, Greene EL, Goodfriend TL. Insulin resistance and cardiovascular disease. *Am J Hypertens* 2001;14:116- 25.

Fath-Ordoubadi F and Beatt KJ. Glucose-insulin-potassium therapy for treatment of acute myocardial infarction: an overview of randomized placebo-controlled trials. *Circulation.* 1997; 96: 1152–1156.

Fickova M, Hubert P, Cremel G, Leray C. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids rapidly modify fatty acid composition and insulin effects in rat adipocytes. *J Nutr.* 1998 ;128(3):512-9.

Fowden AL, Forhead AJ., Endocrine mechanisms of intrauterine programming *Reproduction.* 2004;127(5):515-26.

Friehs I, Cao-Danh H, Stamm C, Cowan DB, McGowan FX, del Nido PJ. Postnatal increase in insulin-sensitive glucose transporter expression is associated with improved recovery of postischemic myocardial function. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;126(1):263-71.

Godfrey K, Robinson S. Maternal nutrition, placental growth and fetal programming. *Proc Nutr Soc.* 1998;57(1):105-11

Han SN, Leka LS, Lichtenstein AH, Ausman LM, Schaefer EJ, Meydani SN. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 2002;43(3):445-52.

Hansen JC, Pedersen HS, Mulvad G. Fatty acids and antioxidants in the Inuit diet. Their role in ischemic heart disease (IHD) and possible interactions with other dietary factors. A review *Arctic Med Res.* 1994;53(1):4-17.

Hauner H. Insulin resistance and the metabolic syndrome—a challenge of the new millennium. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:25-9.

Holness MJ, Langdown ML, Sugden MC, Early-life programming of susceptibility to dysregulation of glucose metabolism and the development of Type 2 diabetes mellitus. *Biochem J.* 2000;1;349 Pt 3:657-65

Houwelingen AC, Hornstra G. Trans fatty acids in early human development. *World Rev Nutr Diet* 1994;75:175-8.

Hwang JH, Perseghin G, Rothman DL, Cline GW, Magnusson I, Petersen KF, Shulman GI: Impaired net hepatic glycogen synthesis in insulin-dependent diabetic subjects during mixed meal ingestion: a ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *J Clin Invest* 1995;95:783–787.

Ibrahim A, Natrajan S, Ghafoorunissa R. Dietary trans-fatty acids alter adipocyte plasma membrane fatty acid composition and insulin sensitivity in rats. *Metabolism*. 2005;54(2):240-6

Innis SM, King DJ. Trans Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-cis n-6 and n-3 fatty acids and determine trans, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(3):383-90.

Institute of Medicine. Letter report on dietary reference intakes for trans fatty acids. Washington, DC: National Academy of Science Press. 2002

Katan, M.B., Zock, P.L., Mensink, R.P., 1995. Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. *Annual Review of Nutrition* 1995;15, 473–493.

King LM and Opie LH. Glucose and glycogen utilization in myocardial ischemia. Changes in metabolism and consequences for the myocyte. *Mol Cell Biochem*. 1998; 180: 3–26.

Koletzko B, Muller J. Cis- and trans-isomeric fatty acids in plasma lipids of newborn infants and their mothers. *Biol Neonate*. 1990;57(3-4):172-8

Koletzko B. Trans fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man. *Acta Paediatr*. 1992;81(4):302-6

Kummerow FA, Zhou Q, Mahfouz MM, Smiricky MR, Grieshop CM, Schaeffer DJ. Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial cells. *Life Sci.* 2004;16;74(22):2707-23.

Kummerow FA, Zhou Q, Mahfouz MM, Smiricky MR, Grieshop CM, Schaeffer DJ. Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial cells. *Life Sci.* 2004;16;74(22):2707-23.

Langley SC, Jackson AA. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets *Clin Sci (Lond)*. 1994;86(2):217-22.

Larque E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk. *J Nutr.* 2000;130(4):847-51

Larque E, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids in early life: a review. *Early Hum Dev.* 2001;65 Suppl:31-41.

Lemaitre, R.N., King, I.B., Raghunathan, T.E., Pearce, R.M., Weinmann, S., Knopp, R.H., Copass, M.K., Cobb, L.A., Siscovick, D.S. Cell Membrane Trans-fatty Acids and the Risk of Primary Cardiac Arrest. *Circulation.* 2002;105, 697–701.

Libby, P. Atherosclerosis: the new view. *Scientific American.* 2002; 286, 47–55.

Libby, P., Rid, K., Maseri, P.M., 2002. Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation.* 2002;105, 1135–1143.

Lichtenstein AH, Ausman LM, Jalbert SM, Schaefer EJ. Effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels. *N Engl J Med.* 1999; 24;340(25):1933-40

Lopaschuk GD, Spafford MA, Marsh DR. Glycolysis is predominant source of myocardial ATP production immediately after birth. *Am J Physiol.* 1991;261:1698-705.

Lopez-Garcia E, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr.* 2005;135(3):562-6

Louheranta AM, Turpeinen AK, Vidgren HM, Schwab US, Uusitupa MI. A high-trans fatty acid diet and insulin sensitivity in young healthy women. *Metabolism.* 1999;48(7):870-5.

Lovejoy JC, Smith SR, Champagne CM, Most MM, Lefevre M, DeLany JP, Denkins YM, Rood JC, Veldhuis J, Bray GA. Effects of diets enriched in saturated (palmitic), monounsaturated (oleic), or trans (elaidic) fatty acids on insulin sensitivity and substrate oxidation in healthy adults. *Diabetes Care.* 2002;25(8):1283-8.

Lovejoy JC. Dietary fatty acids and insulin resistance. *Curr Atheroscler Rep.* 1999;1(3):215-20

Lucas A, Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp.* 1991;156:38-50.

Ludwig DS. Diet and development of the insulin resistance syndrome. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2003;12 Suppl:4

Mann GV. Metabolic consequences of dietary trans fatty acids. *Lancet.* 1994 21;343(8908):1268-71.

Mensink RP. Metabolic and health effects of isomeric fatty acids. *Curr Opin Lipidol.* 2005;16(1):27-30

Mensink, R.P., Katan, M.B. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *New England Journal of Medicine.* 1990;323, 439–445.

Mensink, R.P., Katan, M.B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. a meta-analysis of 27 trials. *Arteriosclerosis.Thrombosis and Vascular Biology.* 1992;12, 911–919.

Monteiro, C.A., Mondini, L., Costa, R.B.L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988 – 1996). *Saúde Pública,* 2000; 34(3):251-258.

Moore CE, Dhopeswarkar GA. Placental transport of trans fatty acids in the rat. *Lipids.* 1980;15(12):1023-8.

Mueckler M. Family of glucose-transporter genes. Implications for glucose homeostasis and diabetes. *Diabetes.* 1990;39(1):6-11.

Neely JR and Morgan HE. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. *Annu Rev Physiol.* 1974;36: 413–459..

Nguyen N, Brosius FC, and Schwaiger M. Effects of wortmannin on insulin- and ischemia-induced stimulation of GLUT4 translocation and FDG uptake in perfused hearts. *Cardiovasc Res.* 1997; 35: 283–293.

Okonek DV, Berben PH, Martelli G. Precious metal catalysis for fats and oils applications. In: *Anais do Seminário da Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras,*

1996. Gorduras modificadas com baixos teores de ácidos graxos trans: aspectos nutricionais e tecnológicos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 1996; p.39-46.

Oomen CM, Ocke MC, Feskens EJ, van Erp-Baart MA, Kok FJ, Kromhout D. Association between trans fatty acid intake and 10-year risk of coronary heart disease in the Zutphen Elderly Study: a prospective population-based study. *Lancet*. 2001;357(9258):746-51

Opie LH, Bruyneel K, and Owen P. Effects of glucose, insulin and potassium infusion on tissue metabolic changes within the first hour of myocardial infarction in the baboon. *Circulation*. 1975;52: 49–57.

Ostlund-Lindqvist AM, Albanus L, Croon LB. Effect of dietary trans fatty acids on microsomal enzymes and membranes. *Lipids*. 1985;20(9):620-4

Petterson J, Opstvedt J. trans fatty acids. 5. Fatty acid composition of lipids of the brain and other organs in suckling piglets. *Lipids*. 1992;27(10):761-9.

Petterson J, Opstvedt J. Trans fatty acids. 3. Fatty acid composition of the brain and other organs in the newborn piglet. *Lipids*. 1989 Jul;24(7):616-24.

Pilkis, S. J., & Granner, D. K. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annual Review of Physiology*, 1992;54, 885–909.

Ramasamy R, Hwang YC, Whang J, Bergmann SR. Protection of ischemic hearts by high glucose is mediated, in part, by GLUT-4. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281(1):290-7.

Rasmussen KM. The "fetal origins" hypothesis: challenges and opportunities for maternal and child nutrition. *Annu Rev Nutr*. 2001;21:73-95

Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med.* 1976;295(7):349-53.

Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.

Seckl JR, Cleasby M, Nyirenda MJ. Glucocorticoids, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase, and fetal programming. *Kidney Int.* 2000;57(4):1412-7.

Sichieri R, Siqueira KS, Moura AS. Obesity and abdominal fatness associated with undernutrition early in life in a survey in Rio de Janeiro. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24(5):614-8.

Sichieri R, Siqueira KS, Pereira RA, Ascherio A. Short stature and hypertension in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Public Health Nutr.* 2000;3(1):77-82.

Sichieri R. Dietary patterns and their associations with obesity in the Brazilian city of Rio de Janeiro. *Obes Res.* 2002;10(1):42-8.

Simopoulos AP. Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and trans fatty acids? *Free Radic Biol Med.* 1994;17(4):367-72

Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, and McCormack JG. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovasc Res.* 1997;33: 243–257,

Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, et al. Diet composition and insulin action in animal models. *Br J Nutr* 2000;83:85-90.

Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, et al. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. *Diabetes.* 1991;40:280 -9.

Storlien LH, Kraegen EW, Chisholm DJ, Ford GL, Bruce DG, Pascoe WS. Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science*. 1987;237:885–8.

Sun D, Nguyen N, DeGrado TR, Schwaiger M, and Brosius FC. Ischemia induces translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT-4 to the plasma membrane of cardiac myocytes. *Circulation*. 1994;89: 793–798.

Taubes, G., 2002. Cardiovascular disease. Does Inflammation cut to the heart of the matter? *Science*. 2002;296, 242–245.

Tian R, Abel ED. Responses of GLUT4-deficient hearts to ischemia underscore the importance of glycolysis. *Circulation*. 2001;103(24):2961-6.

Valenzuela A, Nieto S. Technological innovation applicable to marine oils rich in n-3 fatty acids to allow their nutritional and pharmacological use: a challenge for the present decade. *Arch Latinoam Nutr*. 1994;44(4):223-31.

van Amelsvoort JMM, van der Beek A, Stam JJ. Effects of the type of dietary fatty acid on the insulin receptor function in rat epididymal fat cells. *Ann Nutr Metab*. 1986;30:273–80.

Vanoverschelde JLJ, Janier MF, Bakke JE, Marshall DR, and Bergmann SR. Rate of glycolysis during ischemia determine extent of ischemic injury and functional recovery after reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1994;267:1785-1794.

Vidgren HM, Louheranta AM, Agren JJ, Schwab US, Uusitupa MI. Divergent incorporation of dietary trans fatty acids in different serum lipid fractions. *Lipids*. 1998;33(10):955-62.

Waterland RA, Garza C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(2):179-97.

Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition.* 2004;20(1):63-8

Wenzel DG, Kloepell JD. Incorporation of saturated and *cis* and *trans* unsaturated long-chain fatty acids in rat miocytes and increased susceptibility to arrhythmias. *Toxicology.* 1980;18: 27-36

Young LH, Renfu Y, Russell R, Hu X, Caplan M, Ren J, Shulman GI, and Sinusas AJ. Low-flow ischemia leads to translocation of canine heart GLUT-4 and GLUT-1 transporters to the sarcolemma in vivo. *Circulation* 1997;95: 415–422.

Zock, P.L., Katan, M.B., Mensink, R.P., 1995. Dietary trans fatty acids and lipoprotein cholesterol. *American Journal of Clinical Nutrition.* 1995;61, 617.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)