



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

GELE DE CARVALHO ARAÚJO LOPES

**A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS NA
INGESTÃO ALIMENTAR**

TERESINA

2017

GELE DE CARVALHO ARAÚJO LOPES

**A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS NA
INGESTÃO ALIMENTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. FRANCISCO LEONARDO TORRES-LEAL

TERESINA

2017

GELE DE CARVALHO ARAÚJO LOPES

**A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS NA
INGESTÃO ALIMENTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Francisco Leonardo Torres Leal
Universidade Federal do Piauí – UFPI (Orientador)

Prof. Dr. Emídio Marques de Matos Neto
Universidade Federal do Piauí – UFPI

Prof. Dr. Dennys Esper Corrêa Cintra
Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP

Dedico esta dissertação de mestrado
à Deus, pela força e coragem durante toda esta caminhada;
e aos meus pais e meu esposo, que são a minha base e minha força.

AGRADECIMENTOS

À **DEUS**, por sempre estar guiando o meu caminho, e por ter me concedido força e coragem para a concretização desta conquista;

Aos meus pais, Teresinha de Carvalho e José Vêras, pela sua dedicação, apoio e amor incondicional, indispensáveis na minha formação e em toda minha vida;

Ao meu esposo, Márcio Bruno, por toda a força, incentivo e encorajamento durante todo o mestrado, por sempre estar ao meu lado acreditando no meu potencial, e por sua paciência e compreensão nos momentos de ausência;

À minha irmã, Giza de Carvalho, pelo carinho, e por mesmo estando em vários momentos distante sempre se fez presente;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco Leonardo Torres-Leal, pelos conhecimentos compartilhados, dedicação e incentivos durante toda essa trajetória. Com certeza levarei os seus ensinamentos por toda a minha jornada profissional;

Aos amigos Brenda Miranda e João Orlando, pelo companheirismo e dedicação no decorrer desses anos de trabalho, pelas várias noites e fins de semana em laboratório, sem a ajuda de vocês esse trabalho não seria possível;

Aos amigos do grupo de doenças metabólicas exercício e nutrição- DOMEM, em especial a Letícia, Railson, Felipe Geovanni, Maria Siqueira, Léo Rangel, e a todos os outros que contribuíram para a realização desse trabalho;

Aos amigos do laboratório de Farmacologia do trato gastrointestinal da UFPI, em especial ao Prof. Dr. Moisés Tolentino e à Lúcia Santos, pelas suas contribuições ao longo de todo esse trabalho;

À Prof. Da. Marília Seelaender do Laboratório de Metabolismo de Lipídeos da USP, que gentilmente cedeu o laboratório para a realização das análises; e à Joana Darck Carola, por aceitar nos ajudar nas análises de expressão gênica, sendo sua contribuição essencial para esse trabalho;

Ao Dr. Dennys Esper Cintra (Laboratório de Genômica Nutricional, LABGEN – Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP) e à Dra. Milessa da Silva Afonso, pelas suas contribuições nas interpretações dos nossos resultados e pelas suas sugestões, que muito nos ajudaram a compreender os diversos efeitos dos lipídeos;

Ao Prof. Dr. Emídio Marques, pelas suas sugestões e pela ajuda para a realização das nossas análises;

Aos meus amigos da turma de mestrado, pelos momentos vividos e aprendizados. Agradeço sempre a Deus a oportunidade de ter conhecido todos vocês;

À UFPI (Universidade Federal do Piauí) junto ao NPPM (Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais) e ao PPGF (Programa de Pós-graduação em Farmacologia) pelo subsídio à realização deste trabalho, aliado a seu potencial científico e tecnológico;

Ao corpo docente do programa de pós-graduação em Farmacologia – UFPI, pela oportunidade e pelos conhecimentos aprendidos;

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e à FAPEPI (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí) pelo apoio financeiro;

Aos membros da banca, Prof. Dr. Dennys Esper Corrêa Cintra e Prof. Dr. Emídio Marques, por aceitarem o convite para participar da banca examinadora, e por suas contribuições para melhorar este trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

A presença dos lipídeos na dieta promove influências sobre a ingestão energética e a saciedade. Os efeitos dos lipídeos sobre os fatores relacionados ao consumo alimentar, como o esvaziamento gástrico e liberação de hormônios intestinais são dependentes das características químicas dos ácidos graxos (AG). Tendo sido demonstrado em estudos anteriores que dietas contendo ácido oleico e ácido linolênico promovem redução do consumo alimentar. A partir destas evidências buscou-se com o presente trabalho avaliar o efeito de diferentes fontes de AG, sob a regulação do apetite. As fontes de AG testadas foram: azeite de oliva extra virgem (OL) (rico em ácido oleico, C18:1), óleo de linhaça dourada (LI) (rico em ácido α -linolênico, ω -3, C18:3), óleo de soja (SO) (rico em ácido linoleico, ω -6, C18:2), e óleo de palma (PA) (rico em ácido palmítico, C18:0). Após suplementação por gavagem desses óleos avaliou-se os parâmetros relacionados à regulação da ingestão alimentar: consumo alimentar em 24h, trânsito gastrointestinal de 24h a partir da coleta das fezes, perfil de esvaziamento gástrico de líquido através da % de retenção gástrica de cada fonte de AG, tolerância à glicose e avaliação do padrão da expressão de genes hipotalâmicos: NPY, POMC, CART, GLP-1R, CCKR, ObRbR e TRH. Além disso, avaliou-se também o envolvimento do nervo vago na mediação dos efeitos dos óleos sob o consumo alimentar através da realização de cirurgia de vagotomia subdiafragmática. Após 3 dias da realização da cirurgia avaliou-se: consumo alimentar em 24h, trânsito gastrointestinal de 24h e avaliação do padrão de expressão dos genes hipotalâmicos orexigênicos e anorexigênicos. Nossos resultados indicam que o consumo de OL e LI, de forma aguda, reduzem o consumo alimentar através de aumento da taxa de retenção gástrica, e no caso do OL também por meio de redução do trânsito gastrointestinal. Por outro lado, PA e SO não alteraram a ingestão alimentar apesar de promoverem, de forma mais tardia, aumento da taxa de retenção gástrica. Esses efeitos foram acompanhados de uma alteração no padrão de expressão de genes hipotalâmicos orexigênicos e anorexigênicos, com ênfase para o PA na indução de alterações nesses genes, quando comparado ao OL. Posteriormente, verificou-se que a vagotomia não eliminou o efeito do OL na redução do consumo alimentar. Porém, a ausência da resposta autonômica proporcionou redução de consumo alimentar para o PA. Além disso, nossas evidências estão relacionadas ao envolvimento vagal como mecanismo de ação do PA, de maneira dependente, e que o efeito do OL é predominantemente sob o trato gastrointestinal. Nesse trabalho, observamos que diferentes fontes de AG promovem efeitos distintos sobre os fatores relacionados ao consumo alimentar; e que o consumo de OL reduz o consumo alimentar, promovendo retardo do esvaziamento gástrico e alteração do trânsito gastrointestinal, sendo recomendável como adjuvante para tratamento de redução de peso corporal. Por outro lado, embora PA, associado à ausência da resposta autonômica, apresente efeitos de redução do consumo alimentar, não seria recomendado como alternativa para perda de peso, por contribuir para o desenvolvimento de fatores que favorecem o quadro de risco cardiometabólico.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Consumo alimentar. Azeite de oliva. Óleo de palma

ABSTRACT

Dietary lipids influence on energy intake and satiety. The effects of lipids on factors related to food consumption, such as gastric emptying and gut hormone release are dependent on the chemical characteristics of fatty acids (FA). Previous studies have shown that diets containing oleic and linolenic acids cause reduction of food intake. Based on this evidence, the present study aimed to evaluate the effect of different sources of FA on the regulation of appetite. Extra virgin olive oil (OL) (rich in oleic acid, C18:1), linseed oil (LI) (rich in α -linolenic acid, ω -3, C18: 3), soybean oil (SO) (rich in linoleic acid, ω -6, C18:2), and palm oil (PA) (rich in palmitic acid, C18: 0) were used in this study. After an oral lipid overload, of these oils, administered by gavage, we evaluated parameters related to the regulation of food intake: 24-hour food intake, gastrointestinal transit on a 24-hour stool collection, gastric emptying of liquids through % gastric retention of each source of FA, glucose tolerance and evaluation of hypothalamic genes expression pattern: NPY, CART, POMC, GLP-1R, CCKR, ObRbR and TRH. Furthermore, we also evaluated the involvement of the vagus nerve mediating the effect of different oils on food intake, after subdiaphragmatic vagotomy. After three days of surgery, 24-hour food intake, gastrointestinal transit and orexigenic and anorexigenic hypothalamic genes expression were evaluated. Our results indicated that the consumption of OL and LI, acutely, reduce food intake by increasing the rate of gastric retention, and, when it comes to OL, it also reduces gastrointestinal transit. On the other hand, PA and SO did not alter dietary intake although they later promoted an increase in the gastric retention rate. These effects were accompanied by a change in the expression pattern of orexigenic and anorexigenic hypothalamic genes, with emphasis on PA, when compared to OL. Subsequently, it was verified that vagotomy did not influence the reduction of food intake promoted by OL. However, the absence of the autonomic response provided a reduction in food intake in PA group. Furthermore, our results suggest the vagal involvement as a mechanism of action of PA, in a dependent manner, and the effects of OL is predominantly on the gastrointestinal tract. In this work, we observed that different sources of FA promote different effects on factors related to food intake; and the consumption of OL reduces food intake, delaying gastric emptying and influencing gastrointestinal transit, which in turn makes it a possible candidate for weight reduction treatment. On the other hand, although PA consumption, associated to the absence of the autonomic response, reduces food intake, it would not be recommended as an alternative for weight loss, since it contributes to the development of factors related to cardiometabolic risk.

Keywords: Fatty acids. Food intake. Olive oil. Palm oil.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AG – Ácido graxo
- AGCL – Ácidos graxos de cadeia longa
- AGMI – Ácidos graxos monoinsaturados
- AGPI – Ácidos graxos monoinsaturados
- AGRP – Peptídeo relacionado ao agoouti
- AL – Ácido graxo linoleico
- ALA – Ácido graxo α -linolênico
- AP – Área postrema
- ARC – Núcleo arqueado
- BHE – Barreira hematoencefálica
- CART – Transcrito regulado por anfetamina e cocaína
- CCK – Colecistoquinina
- CEE – Células enteroendócrinas
- COX – Enzimas citoplasmáticas ciclo-oxigenases
- CRH – Hormônio liberador de corticotropina
- DCNT – Doenças crônicas não transmissíveis
- DHA- Ácido docosa-hexaenoico
- EG – Esvaziamento gástrico
- EPA – Ácido eicosapentaenoico
- GIP – Peptídeo inibidor gástrico
- GLP1 – Hormônio peptídeo semelhante a glucagon 1
- GPR120 – Receptor acoplado a proteína G 120
- GPR40 – Receptor acoplado a proteína G 40
- LHA – Hipotálamo lateral
- LI – Óleo de linhaça dourada
- LIPOOX – Enzimas lipoxigenase
- MC4R – Receptor de melanocortina 4
- ME – Eminência mediana
- NPY – Neuropeptídeo Y
- NTS – Núcleo do trato solitário
- ObRb – Receptor (forma longa) da do hormônio leptina

OL – Azeite de oliva extra virgem
PA – Óleo de palma
POMC – Pró-opiomelanocortina
PVH – Núcleo paraventricular
PYY – Peptídeo YY
SNC – Sistema nervoso central
SNE – Sistema nervoso entérico
SO – Óleo de soja
TCA - 20% – Ácido tricloroacético a 20%
TGI – Trato gastrointestinal
TRH – Hormônio liberador de tireotropina
TTGip – Tolerância à Glicose Intraperitoneal
VMH – Núcleo ventromedial
 α -MSH – Hormônio melanócito-estimulante alfa

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 – Composição em ácidos graxos dos óleos avaliados (g/100g de óleo).. ... | 52 |
| TABELA 2 – Distribuição dos volumes e tempos de realização da sobrecarga oral aguda com SO | 54 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 – Estrutura química dos principais ácidos graxos presentes em dietas... | 23 |
| FIGURA 2 – Representação das regiões encefálicas envolvidas nos mecanismos centrais de regulação do apetite | 36 |
| FIGURA 3 – Representação esquemática dos fatores periféricos envolvidos da regulação da ingestão alimentar | 40 |
| FIGURA 4 – Representação das divisões anatômicas do estômago..... | 41 |
| FIGURA 5 – Mecanismo de detecção de AGCL em células enteroendócrinas..... | 45 |
| FIGURA 6 – Desenho experimental do Estudo 1 | 54 |
| FIGURA 7 – Desenho experimental do Estudo 2 | 56 |
| FIGURA 8 – Descrição do protocolo para avaliação do consumo alimentar..... | 57 |
| FIGURA 9 – Descrição do protocolo para avaliação trânsito gastrointestinal (fezes).... | 58 |
| FIGURA 10 – Descrição do protocolo de realização do teste de tolerância à glicose intraperitoneal..... | 61 |
| FIGURA 11 – Fluxograma do protocolo para coleta de hipotálamo, em animais com vago íntegro | 62 |
| FIGURA 12 – Desenho experimental do Estudo 3..... | 67 |
| FIGURA 13 – Expressão de RNAm hipotalâmico dos neuropeptídeos AgRP e POMC após gavagem com diferentes volumes de SO em diferentes tempos..... | 69 |
| FIGURA 14 – Consumo alimentar durante os 4 dias | 71 |
| FIGURA 15 – Peso das fezes de 24 h (g/100g) durante os 4 dias..... | 72 |
| FIGURA 16 – Correlação entre consumo e massa fecal..... | 73 |
| FIGURA 17 – Porcentagem de retenção gástrica após 30 e 180 minutos da gavagem com os diferentes óleos | 75 |
| FIGURA 18 – Curva glicêmica do teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGip) ... | 77 |
| FIGURA 19 – Expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART após 30 minutos das gavagens | 79 |
| FIGURA 20 – Expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART após 180 minutos das gavagens | 81 |
| FIGURA 21 – Expressão relativa de RNAm de CCKR e GLP1R após 30 minutos das gavagens..... | 82 |
| FIGURA 22 – Expressão relativa de RNAm de CCKR e GLP1R após 180 minutos das gavagens..... | 83 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 23 – Expressão relativa de RNAm de ObRBR e TRH após 30 minutos das gavagens..... | 84 |
| FIGURA 24 – Expressão relativa de RNAm de ObRbR e TRH após 180 minutos das gavagens..... | 85 |
| FIGURA 25 – Consumo alimentar (g/100g) durante os 4 dias após vagotomia | 87 |
| FIGURA 26 – Relação entre consumo alimentar antes e após a vagotomia nos grupos CON e OL..... | 88 |
| FIGURA 27 – Peso das fezes de 24 h (g/100g) durante os 4 dias após vagotomia | 89 |
| FIGURA 28 – Correlação entre consumo e massa fecal após vagotomia | 90 |
| FIGURA 29 – Expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART após 30 minutos das gavagens, em animais vagotomizados | 92 |
| FIGURA 30 – Expressão relativa de RNAm de CCKR, em animais vagotomizados, após 30 minutos das gavagens..... | 93 |
| FIGURA 31 – Expressão relativa de RNAm de ObRBR e TRH, em animais vagotomizados, após 30 minutos das gavagens..... | 94 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| QUADRO 1 – Descrição dos <i>primers</i> utilizados nas análises de RT-qPCR | 65 |
|--|----|

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 18 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 20 |
| 2.1 | OBESIDADE..... | 20 |
| 2.2 | ÁCIDOS GRAXOS..... | 22 |
| 2.2.1 | Ácidos graxos saturados..... | 24 |
| 2.2.2 | Ácidos graxos monoinsaturados..... | 24 |
| 2.2.3 | Ácidos graxos poli-insaturados..... | 26 |
| 2.3 | FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS..... | 28 |
| 2.3.1 | Azeite de oliva..... | 29 |
| 2.3.2 | Óleo de linhaça..... | 29 |
| 2.3.3 | Óleo de soja..... | 31 |
| 2.3.4 | Óleo de palma..... | 31 |
| 2.4 | MECANISMOS DE REGULAÇÃO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR..... | 32 |
| 2.4.1 | Regulação central da ingestão alimentar..... | 33 |
| 2.4.2 | Regulação periférica da ingestão alimentar..... | 36 |
| 2.5 | TRATO GASTROINTESTINAL..... | 41 |
| 2.5.1 | Anatomia e fisiologia..... | 41 |
| 2.5.2 | Inervação do trato gastrointestinal..... | 42 |
| 2.5.3 | Mecanismo de detecção de nutrientes no TGI..... | 44 |
| 2.5.4 | Esvaziamento gástrico..... | 45 |
| 2.5.5 | Eixo trato gastrointestinal-hipotálamo..... | 46 |
| 2.6 | EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS SOBRE O TGI E O HIPOTÁLAMO..... | 48 |
| 3 | OBJETIVOS..... | 50 |
| 3.1 | Geral..... | 50 |
| 3.2 | Específico..... | 50 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 51 |
| 4.1 | Aspectos éticos..... | 51 |
| 4.2 | Animais..... | 51 |
| 4.3 | Eutanásia dos animais..... | 51 |
| 4.4 | Fontes de ácidos graxos..... | 51 |
| 4.5 | Delineamento experimental..... | 53 |

| | | |
|--------|--|----|
| 4.6 | ESTUDO 1 | 53 |
| 4.7 | ESTUDO 2: Experimento com nervo vago intacto | 56 |
| 4.7.1 | Avaliação do consumo de ração | 57 |
| 4.7.2 | Avaliação do trânsito gastrointestinal a partir da coleta de fezes | 58 |
| 4.7.3 | Estudo do esvaziamento gástrico de líquidos | 59 |
| 4.7.4 | Teste de Tolerância à Glicose Intraperitoneal (TTGip) | 61 |
| 4.7.5 | Avaliação do padrão de expressão gênica hipotalâmica | 62 |
| 4.8 | ESTUDO 3: Experimentos com vagotomia | 66 |
| 4.8.1 | Procedimento para realização da Vagotomia subdiafragmática | 66 |
| 4.8.2 | Estudos realizados após a vagotomia | 66 |
| 4.9 | ANÁLISE DOS DADOS | 67 |
| 5 | RESULTADOS | 68 |
| 5.1 | ESTUDO 1 | 68 |
| 5.1.1 | Efeitos da gavagem de diferentes volumes de SO sobre a expressão de neuropeptídeos AgRP e POMC em diferentes tempos | 68 |
| 5.2 | ESTUDO 2 | 70 |
| 5.2.1 | Consumo alimentar é reduzido após consumo de OL e LI em 24 horas | 70 |
| 5.2.2 | OL reduz o trânsito gastrointestinal em 24 h | 72 |
| 5.2.3 | OL e LI retardam o esvaziamento gástrico de líquidos a curto prazo | 74 |
| 5.2.4 | As diferentes fontes de AG não exercem efeito sobre a homeostase da glicose | 76 |
| 5.2.5 | Efeito de diferentes fontes de AG sobre o padrão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos, orexigênicos e anorexigênicos, após intervalo de 30 minutos | 78 |
| 5.2.6 | Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos após intervalo de 180 minutos | 80 |
| 5.2.7 | Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de RNAm de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK e GLP1, após intervalo de 30 minutos | 82 |
| 5.2.8 | Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK e GLP1, após intervalo de 180 minutos | 83 |
| 5.2.9 | Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de ObRbR e de TRH, após intervalo de 30 minutos | 84 |
| 5.2.10 | Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de ObRBR e de TRH, após intervalo de 180 minutos | 85 |
| 5.3 | ESTUDO 3 | 86 |

| | |
|---|-----|
| 5.3.1 Consumo alimentar, em animais vagotomizados, é reduzido após consumo de OL e PA, em 24 horas..... | 86 |
| 5.3.2 Efeito da gavagem com OL e PA sobre o trânsito gastrointestinal em animais vagotomizados | 89 |
| 5.3.3 Efeito da gavagem com OL e PA sobre a expressão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos. | 91 |
| 5.3.4 Efeito da gavagem com OL e PA sobre a expressão de receptores hipotalâmicos do hormônio gastrointestinal CCK, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos. | 93 |
| 5.3.5 Efeito da gavagem com OL e PA sobre a expressão de receptores hipotalâmicos do hormônios ObRB e sobre a expressão de TRH, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos..... | 94 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 95 |
| 7 CONCLUSÕES..... | 104 |
| 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... | 105 |
| APÊNDICE A- Esquema resumo dos resultados do estudo 2..... | 121 |
| APÊNDICE B – Esquema resumo dos resultados do estudo 3..... | 122 |
| ANEXO A – Carta de aprovação do Comitê de Ética Animal..... | 123 |
| ANEXO B – Dados sobre a qualidade e quantidade de RNA das amostras.. | 124 |

1 INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade continua a ser uma preocupação de saúde pública em todo o mundo (NCD-RISC, 2016). Essa epidemia pode ser atribuída a uma série de fatores. Entre os diversos fatores de causas ambientais (como a redução da prática de atividades físicas e sedentarismo) destaca-se o aumento do consumo alimentar e o consumo de dieta rica em gordura (PEREIRA-LANCHA *et al.*, 2010), sendo necessário a adoção de estratégias que conduzam a uma redução do consumo alimentar. Além das estratégias cirúrgicas e farmacológicas, abordagens nutricionais, que visem exercer seus efeitos nos diversos sistemas relacionados ao comportamento alimentar como o sistema nervoso central (BENOIT *et al.*, 2009; MILANSKI *et al.*, 2009) e o trato gastrointestinal (TGI) (CLEMMENSEN *et al.*, 2016; BRAY, 2015; HORNER, 2011; WU, 2010), vêm sendo avaliadas.

A presença dos lipídeos na dieta influencia a ingestão alimentar e a saciedade, através de alterações nas funções do TGI, incluindo motilidade antropiloro-duodenal e secreção de hormônios intestinais, resultando no retardo do esvaziamento gástrico e na supressão da ingestão alimentar (MALJAARS *et al.*, 2009; CUMMINGS; OVERDUIN, 2007; FELTRIN *et al.*, 2004). Além disso, o consumo desses nutrientes pode influenciar de forma diferenciada a expressão de neurônios do hipotálamo e do tronco encefálico, que são regiões do sistema nervoso central (SNC) que fazem parte do controle central do apetite (homeostático) (BERTHOUD, 2008; WOODS, 2004). Com isso, a teoria do *crosstalk* entre o intestino e os núcleos da fome e saciedade no hipotálamo (SCHWARTZ *et al.*, 2000) a partir da estimulação TGI pelo consumo de lipídeos na dieta tem sido alvo de pesquisas (LASSMAN *et al.*, 2010).

No entanto as características dos lipídeos presentes na dieta, como o comprimento de cadeia acil e o grau de saturação das moléculas de ácidos graxos (AG), são fatores determinantes para os seus efeitos sob os mecanismos fisiológicos e metabólicos (LAWTON *et al.*, 2000; KAVIANI, 2017). Além disso, estudos vêm sendo realizados para caracterizar os efeitos dos AG sob a regulação do balanço energético, envolvendo tanto fatores periféricos (LITTLE *et al.*, 2007, PARK *et al.*, 2013) como mecanismos centrais (SCHWINKENDORF *et al.*, 2011). Porém, é desconhecido os efeitos das diferentes fontes de AG sobre o eixo intestino-cérebro.

Tendo em vista a necessidade de maior compreensão sobre os mecanismos de regulação da ingestão de alimentos, e sobre os efeitos agudos do consumo de diferentes óleos (popularmente utilizados, e ricos em diferentes classes de AG) sobre o consumo alimentar e sobre a função gastrointestinal; hipotetizamos nesse trabalho que diferentes fontes de AG, administrados via intragástrica, promovem efeitos distintos sobre o consumo alimentar, e que seu mecanismo de ação pode estar relacionado ao eixo TGI-hipotálamo via nervo vago.

PÁGINAS SUPRIMIDAS

20 a 49

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar se diferentes fontes de AG influenciam a regulação do apetite.

3.2 Específico

Estudo 1:

- ✓ Avaliar se a sobrecarga com diferentes volumes de SO realizadas em diferentes tempos altera a sinalização hipotalâmica.
- ✓ Definir o volume/tempo que obterá melhores respostas no padrão de genes hipotalâmicos de ratos com vago íntegro após sobrecarga com SO.

Estudo 2:

- ✓ Investigar se a sobrecarga com diferentes fontes de AG altera:
 - o comportamento alimentar;
 - o esvaziamento gástrico de líquidos;
 - o trânsito gastrointestinal;
 - a sinalização hipotalâmica.

Estudo 3:

- ✓ Avaliar se sobrecarga com diferentes fontes de AG influencia:
 - o comportamento alimentar de ratos vagotomizados;
 - o trânsito gastrointestinal de ratos vagotomizados;
 - a sinalização hipotalâmica de ratos vagotomizados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Todos os procedimentos realizados seguiram os princípios éticos de experimentação animal definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação animal (COBEA), e as normas para a prática didático-científica de dissecação animal, obedecendo ao Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). A pesquisa foi aprovada pela comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Piauí, nº 25/15.

4.2 Animais

Foram utilizados *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos, adulto-jovem, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Os animais foram mantidos em sala com temperatura e umidade controlada, e fotoperíodo claro escuro de 12 h (0830 as 2030, período claro), em caixas de polipropileno, forradas com maravalha, com livre acesso a água e ração para roedores (Presence- nutrição animal/ Paulínea-SP).

4.3 Eutanásia dos animais

Após cada experimento os animais foram eutanasiados através de sobredose do coquetel xilasina/cetamina (cetamina, 200 mg/kg e xilasina 20 mg/kg), administrado através de injeção via intraperitoneal.

4.4 Fontes de ácidos graxos

As fontes de AG utilizadas em nossos experimentos *in vivo* foram: azeite de oliva extra virgem (OL), óleo de linhaça dourada (LI), óleo de soja (SO) e óleo de palma (PA), cedidos gentilmente pelos Docentes Dr. Dennys Esper Cintra (Laboratório de Genômica Nutricional, LABGEN – Faculdade de Ciências Aplicadas, FCA – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP) e Dr^a. Ana Maria Pita Lottenberg (Laboratório de Lípidos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, HC-FMUSP). Estes compostos foram

mantidos em embalagens escuras, etiquetadas e fechadas para evitar sua oxidação, até o momento da suplementação por gavagem. Amostras de cada óleo foram analisadas para determinação da composição em AG por cromatografia líquida de gás (CGC-6850 Series Gas Chromatography System; Agilent Technologies). A composição de AG dos óleos está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 Composição em ácidos graxos dos óleos avaliados (g/100g de óleo).

| Ácidos Graxos | Nome | OL | LI | SO | PA |
|----------------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| C12:0 | Láurico | 0,04 | 0,04 | 0,03 | 0,07 |
| C14:0 | Mirístico | 0,07 | 0,09 | 0,09 | 0,08 |
| C15:0 | Pentadecanóico | 0,08 | 0,04 | 0,03 | - |
| C16:0 | Palmítico | 5,65 | 6,20 | 10,85 | 40,47 |
| C16:1 | Palmitoléico | 0,81 | 0,10 | 0,11 | - |
| C17:0 | Margárico | 0,10 | 0,07 | 0,08 | - |
| C17:1 | Heptadecenóico | 0,08 | 0,06 | 0,06 | - |
| C18:0 | Esteárico | 2,19 | 4,93 | 3,39 | 5,02 |
| C18:1 Trans | Elaídico | - | - | - | 0,07 |
| C18:1 | Oléico | 82,51 | 19,80 | 24,82 | 40,38 |
| C18:2 Trans | Linoelaídico | 0,09 | 0,08 | 0,28 | 0,12 |
| C18:2 | Linoléico | 6,39 | 15,28 | 52,72 | 10,16 |
| C18:3 Trans | - | 0,00 | 0,23 | 0,75 | - |
| C18:3 | Linolênico | 0,79 | 52,5 | 5,69 | 1,26 |
| C20:0 | Araquídico | 0,53 | 0,16 | 0,32 | 1,06 |
| C20:1 | Eicosenoico | 0,34 | 0,12 | 0,21 | 0,34 |
| C22:0 | Docosanóico | 0,19 | 0,16 | 0,40 | 0,68 |
| C24:0 | Tetracosanóico | 0,14 | 0,14 | 0,17 | - |
| Total SAT | | 8,99 | 11,83 | 15,36 | 47,38 |
| Total MONO | | 83,74 | 20,08 | 25,2 | 40,79 |
| Total POLI | | 7,27 | 68,09 | 59,44 | 11,54 |

4.5 Delineamento experimental

O estudo foi realizado em três etapas:

- Estudo 1 para determinação do volume e do tempo;
- Estudo 2, no qual os animais apresentavam nervo vago intacto, e;
- Estudo 3, onde os animais foram vagotomizados.

Esses estudos são apresentados detalhadamente a seguir.

4.6 ESTUDO 1

O estudo 1 foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da sobrecarga oral aguda de diferentes volumes do SO (haja vista o maior consumo deste óleo pela população) sobre o padrão de expressão dos genes hipotalâmicos POMC e AgRP em diferentes tempos. A partir desse estudo obteve-se a padronização do melhor volume e do melhor tempo para estimulação da expressão gênica hipotalâmica, os quais foram utilizados para os estudos seguintes com as quatro fontes de AG a serem testadas.

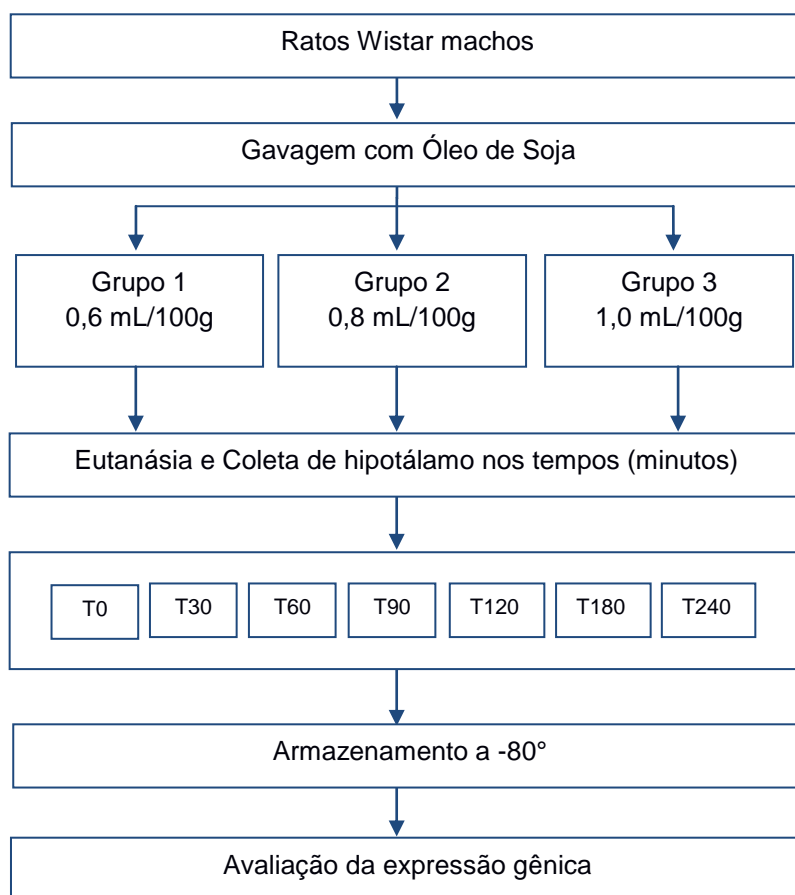
Foram utilizados animais com vago íntegro, os quais foram distribuídos em três grupos. Os volumes testados foram 0,6 mL/100g (Grupo 1); 0,8 mL/100g (Grupo2) e 1,0 mL/100g (Grupo3) de SO nos tempos 0, 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos (TABELA 2).

No dia do experimento, os animais foram mantidos em jejum por 8 horas (início do jejum às 0600), com livre acesso à água. Após a administração intragástrica por gavagem com os diferentes volumes de SO, os animais foram eutanasiados nos tempos determinados e os hipotálamos foram imediatamente retirados e acondicionados em micro tubos do tipo *ependorf*, e conservados em freezer a -80 °C para posterior análise. Em seguida os hipotálamos foram analisados através de reação de cadeia de polimerase (PCR) em tempo real para determinar o padrão de expressão dos genes POMC e AgRP (FIGURA 6).

Tabela 2: Distribuição dos volumes e tempos da realização da sobrecarga oral aguda com SO.

| Volumes do SO (mL/100g) | Tempo de coleta do Hipotálamo após sobrecarga com SO, em minutos | | | | | | |
|----------------------------|--|----|----|----|-----|-----|-----|
| | 0 | 30 | 60 | 90 | 120 | 180 | 240 |
| 0,6 mL/100g | Avaliação da expressão de RNAm de neuropeptídeos hipotalâmicos: POMC e AgRP | | | | | | |
| 0,8 mL/100g | | | | | | | |
| 1,0 mL/100g | | | | | | | |

Figura 6: Desenho experimental do Estudo 1.



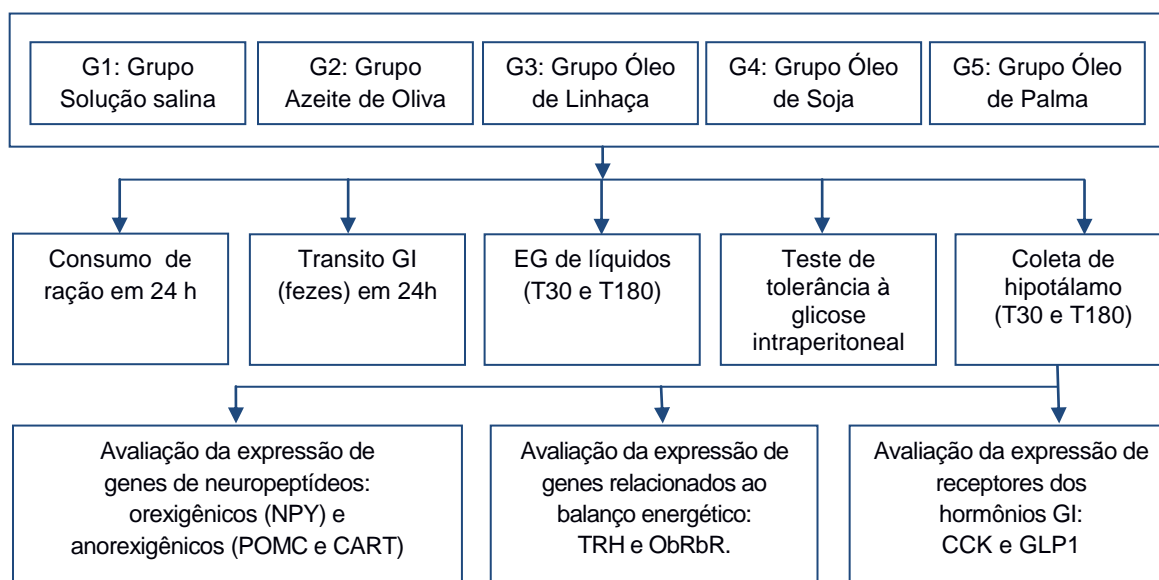
Com base em nosso estudo 1, em nossa expertise e na literatura o volume e os tempos que apresentaram melhor perfil na expressão gênica após sobrecarga por gavagem com SO foram 0,8 mL/100g nos tempos de 30 e 180 minutos, respectivamente. Esse volume foi utilizado nos estudos seguintes, com as quatro fontes de AG estudadas, e a sua padronização teve como objetivo reduzir possíveis alterações da maior ou menor distensão gástrica sobre os parâmetros avaliados.

4.7 ESTUDO 2: Experimento com nervo vago intacto

Nesse estudo os animais foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos e receberam sobrecarga aguda por gavagem com solução salina (CON), OL, LI, SO e PA. Após as gavagens das diferentes fontes de AG avaliou-se os parâmetros: consumo alimentar durante 24h, trânsito gastrointestinal a partir da coleta das fezes (24 h) e tolerância à glicose. Analisou-se também, após os tempos de 30 e 180 minutos o perfil de esvaziamento gástrico de líquidos, através da % de retenção gástrica de cada fonte de AG (FIGURA 7).

Além disso, após os tempos de 30 e 180 minutos das respectivas gavagens, os animais foram eutanasiados e em seguida realizada a coleta imediata do hipotálamo para análise do padrão de expressão dos genes hipotalâmicos: NPY, POMC, CART, GLP-1R, CCKR, ObRbR e TRH.

Figura 7. Desenho experimental do Estudo 2

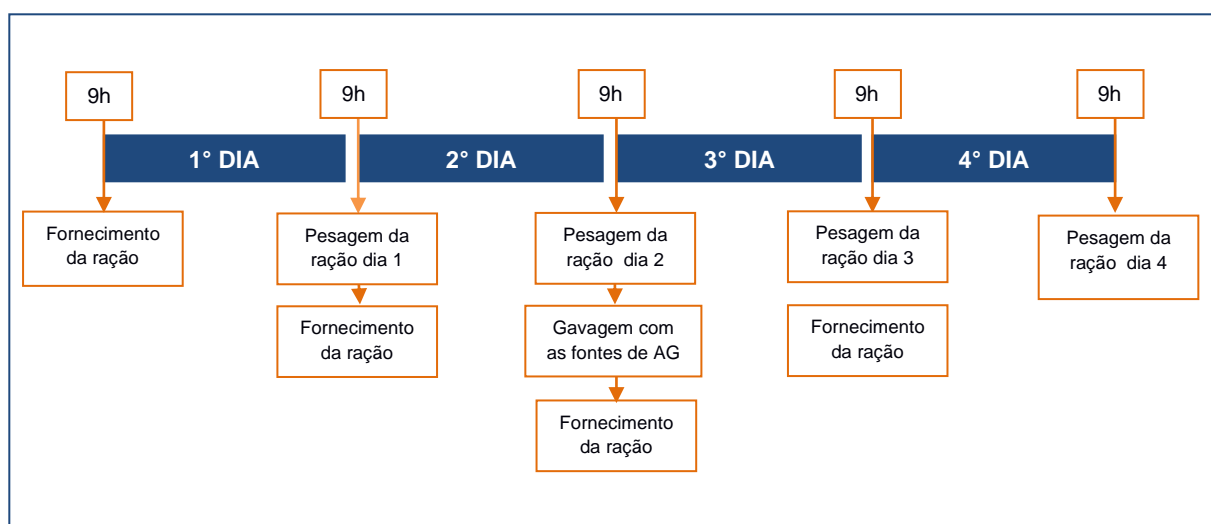


4.7.1 Avaliação do consumo de ração

O consumo de ração por um período de 24 h foi avaliado durante quatro dias consecutivos, sendo os animais mantidos em caixas individuais. Nos dois primeiros dias os animais não receberam os tratamentos com os AG ou solução salina (avaliação do *background*), e foi realizada com o objetivo de verificar o comportamento alimentar fisiológico dos animais. O consumo de ração após a sobrecarga das diferentes fontes de AG foi avaliado no terceiro dia, 24 h após gavagem. No quarto dia os animais não receberam os tratamentos.

Assim, a ração, previamente pesada e o peso corporal anotado, foi fornecida no mesmo horário durante os quatro dias. No terceiro dia foi realizada a sobrecarga por gavagem com os quatro óleos ou solução salina às 0900. No quarto dia os animais não receberam a tratamento. O consumo de ração foi determinado durante os quatro dias de experimento, essas medidas foram determinadas com base na diferença entre a quantidade de ração oferecida e a sobra a cada período de 24h e foram realizadas em balança semi-analítica (marca: Edutec, modelo: JK-EB-3200G) (FIGURA 8).

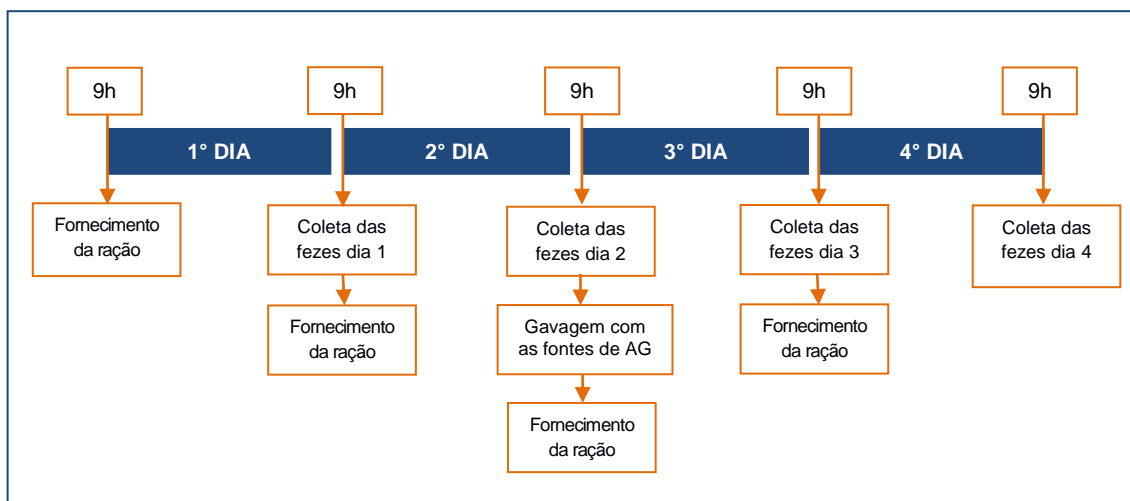
Figura 8 - Descrição do protocolo para avaliação do consumo alimentar



4.7.2 Avaliação do trânsito gastrointestinal a partir da coleta de fezes

O trânsito intestinal dos animais foi avaliado durante 4 dias consecutivos, a partir da coleta e pesagem das fezes 24 horas após o fornecimento da ração, nos 5 grupos testados. Os animais foram mantidos em caixas individuais, e a ração (previamente pesada e anotada) foi fornecida no mesmo horário durante os 4 dias de experimentos. Nos dois primeiros dias os animais não receberam os tratamentos com os AG ou solução salina, sendo realizada com o objetivo de verificar o trânsito gastrointestinal fisiológico dos animais. No terceiro dia os animais receberam a sobrecarga das diferentes fontes de AG ou solução salina e em seguida receberam a ração. No quarto dia os animais não receberam os tratamentos. Após 24 horas do fornecimento das rações foi realizada a coleta das fezes, as quais foram mantidas em estufa por 6 horas e em seguida pesadas em balança semi-analítica (marca: Edutec, modelo: JK-EB-3200G) (Figura 9).

Figura 9 - Descrição do protocolo para avaliação trânsito gastrointestinal (fezes)



4.7.3 Estudo do esvaziamento gástrico de líquidos

O esvaziamento gástrico de líquidos foi realizado através de uma modificação da técnica de diluição de corante descrita por Reynell e Spray (1956). Os animais foram mantidos em jejum por 16 horas, com livre acesso à água. Após o período do jejum os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos e submetidos à sobrecarga por gavagem com solução salina e as quatro fontes de AG. Após 30 ou 180 minutos da realização da gavagem das diferentes fontes de AG, os animais receberam uma nova gavagem de 1,5 mL de solução glicosada a 5% de vermelho fenol (0,75 mg/mL). Em seguida, após intervalo de 10 minutos, foi realizada a eutanásia dos animais através da administração por via intraperitoneal (IP) da sobredose do coquetel de xilasina/cetamina.

Após a eutanásia foi realizada laparotomia mediana seguida de pinçagem obstrutiva no piloro e na cárdia. Em seguida o conjunto estômago e o intestino delgado foi retirado, distendido sobre uma mesa e dividido em quatro porções consecutivas: o estômago, o segmento proximal (40%), o medial (30%) e o distal (30%) do intestino delgado.

A seguir, o estômago e cada segmento intestinal foram colocados em uma proveta graduada, à qual foi adicionado 100 mL de NaOH a 0,1 N, para assim realizar a medição do volume do órgão. Após a medição do volume, os segmentos e a solução (100 mL de NaOH a 0,1 N) foram transferidos para um béquer de 500 mL e fragmentados e homogenizados.

Posteriormente, 10 mL do sobrenadante da suspensão foi centrifugado por 10 minutos a 2800 rpm. Após a centrifugação foi coletado 5 mL do sobrenadante, o qual foi adicionado a tubos de ensaio contendo 0,5 mL de solução de ácido tricloroacético a 20% (TCA - 20%) para a precipitação de proteínas, em seguida homogenizado em vortex e centrifugado por 20 minutos a 2800 rpm. Uma amostra de 3 mL do novo sobrenadante foi adicionada a tubos de ensaio contendo 4 mL de NaOH 0,5 N. Deste, foram retirados 240 µl e colocados em placas de 96 poços para determinação da absorbância das amostras pelo método colorimétrico, com o auxílio de um leitor de ELISA (Spectronic 20 Genesis), sob comprimento de onda 560 nm e utilizando o filtro 2. Dessa forma determinou-se a massa (m) de vermelho fenol existente em cada segmento ($m = c \times \text{volume}$). Em seguida a retenção de vermelho

fenol em cada segmento e a taxa de esvaziamento gástrico (EG) foram calculadas pelas seguintes equações:

$$\text{Retenção Segmento X} = (\text{volume da víscera} + 100) \times \text{Absorbância da víscera.}$$

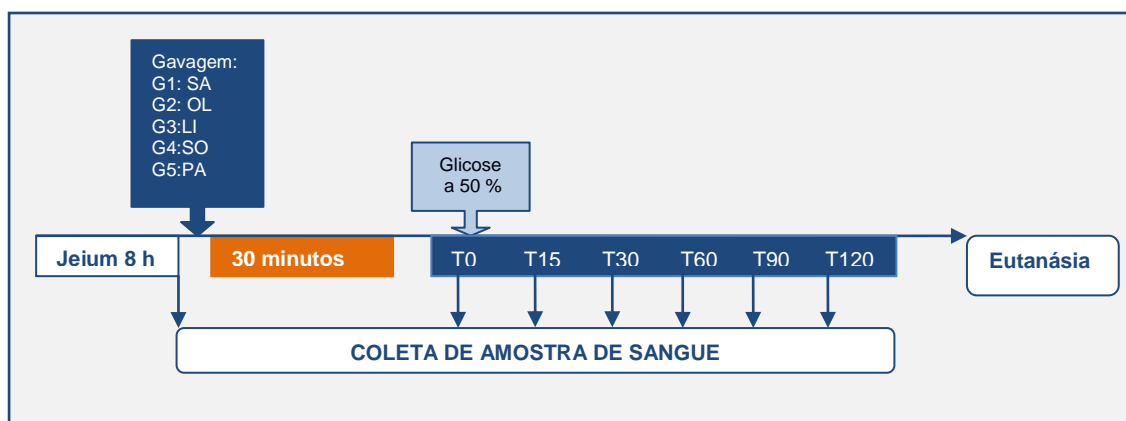
$$\text{Retenção Fracional do Segmento X} = \frac{\text{Retenção Segmento (X)} \times 100}{\text{Retenção Estômago} + \text{Retenção Intestino}}$$

$$\text{Taxa de EG (\%)} = 100 - \text{Retenção Fracional Estômago}$$

4.7.4 Teste de Tolerância à Glicose Intraperitoneal (TTGip)

O teste de tolerância à glicose intraperitoneal foi realizado com o objetivo de avaliar se os tratamentos com os AG poderiam alterar a homeostase glicêmica dos animais. Para a realização do protocolo, conforme descrito na figura 10, os ratos foram mantidos em jejum de 8 horas, e em seguida foram submetidos ao TTGip. Imediatamente após a coleta de sangue da veia caudal para mensuração da glicemia *baseline 1*, foi realizada a gavagem com as diferentes fontes de AG ou solução salina. Após 30 minutos da realização da gavagem foi realizada nova coleta de sangue para mensuração da glicemia no T0 (*baseline 2*) e em seguida administrada uma solução de glicose a 50% (200 mg/100g de peso corporal) por via intraperitoneal. Após a administração da glicose foram colhidas amostras de sangue da veia caudal nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos, para a avaliação da glicemia, a qual foi determinada por meio de fitas reativas e glicosímetro (Accu-chek Active, Roche). Para a determinação da curva glicêmica utilizou-se as médias das medidas de glicemia.

Figura 10- Descrição do protocolo de realização do teste de tolerância à glicose intraperitoneal

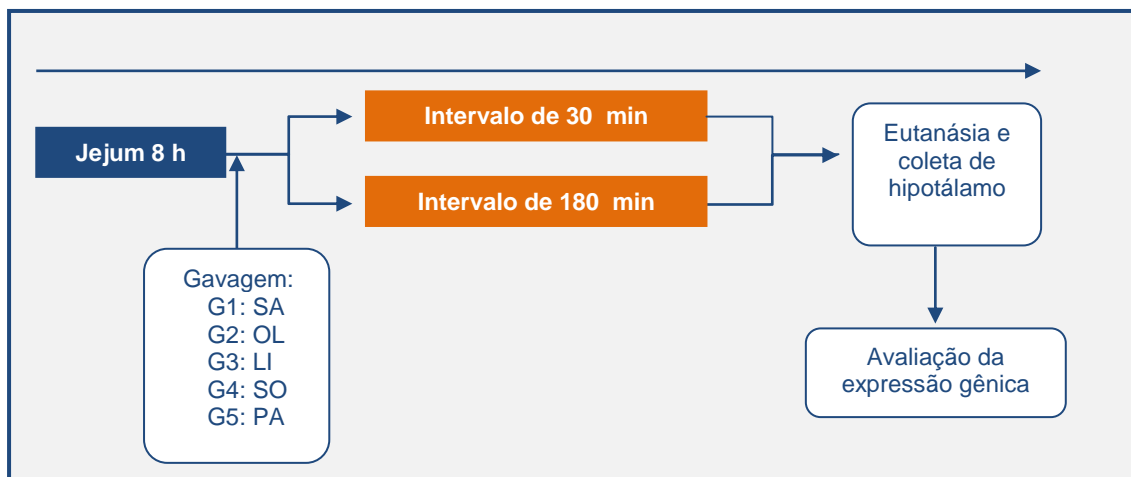


4.7.5 Avaliação do padrão de expressão gênica hipotalâmica

4.7.5.1 Procedimento para coleta do Hipotálamo

Inicialmente os animais foram mantidos em jejum por 8 horas, com livre acesso à água. Após as respectivas gavagens, os animais de cada grupo foram eutanasiados nos tempos 30 minutos e 180 minutos. Posteriormente, o hipotálamo foi rapidamente coletado para análise do perfil de expressão dos genes hipotalâmicos. Após a coleta, o hipotálamo foi mantido em micro tubo do tipo *ependorf* em freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, para posterior análise por reação em cadeia de polimerase em tempo real (PCR) (FIGURA 11).

Figura 11 - Fluxograma do protocolo para coleta de hipotálamo, em animais com vago íntegro



4.7.5.2 Extração de RNA do tecido hipotalâmico

Os hipotálamos foram macerados e ressuspensos em 1 ml de Trizol e armazenados em tubos do tipo *ependorf* em -80° C. Para a extração de RNA, foi utilizado o *kit Isolation Qiagen RNeasy Mini* (Qiagen, Toronto, CAN). A presença das bandas correspondentes aos RNA ribossomais 18S e 28S, bem como a quantificação do RNA total, foram determinadas em *Bioanalyzer 2100* (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) – integridade e quantificação do RNA, em um leitor de microplaca (Biotek®, Synergy H1, USA) – quantificação do RNA, e gel de agarose – integridade do RNA. O RNA foi convertido à cDNA por reação de transcrição reversa com *Kit High Capacity cDNA Reverse Transcription* (*applied Biosystems, Forest City, CA*), a partir de uma concentração média de 250 ng de RNA total. A reação foi realizada em termociclador PTC-100 (MJ Research Inc, Watertown, Massachusetts, EUA), de acordo com o protocolo do fornecedor (60 min a 37 °C, 5 min a 95 °C, seguido de incubação a 4 °C).

4.7.5.3 Quantificação do conteúdo de mRNA

Os cDNAs das amostras foram submetidos à reação de polimerase em cadeia quantitativa por tempo real (RT-qPCR), utilizando o sistema de amplificação *TaqMan Two Step RT-PCR* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Os normalizadores para os ensaios com hipotálamo foram escolhidos após teste de três genes endógenos (2M, HPRT1 e RPL32), dos quais o mais estável foi a HPRT-1 (Actb Mm 00607939_s1). As amostras foram avaliadas em duplicata com SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) em Termociclador QuantStudio™ 12k Flex real-time. A reação em cadeia da polimerase ocorreu primeiro para um pool de cDNA das amostras em várias concentrações de primers, a fim determinar a diluição ideal das amostras (diluição testadas, 5x, 10x, 20x, 40x, 80x e 160x) e a concentração ideal dos primers (concentrações testadas, 200nM, 400nM e 800nM). A diluição da amostra e concentração do primer ideais foram determinadas seguindo o protocolo proposto por Nascimento, 2010, e consistiu na escolha da concentração do primer que provocou o aumento de um ciclo de amplificação (Ct) a cada diluição da amostra. Os valores de expressão gênica foram calculados pela fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$,

no qual $\Delta Ct = Ct \text{ gene alvo} - Ct \text{ do controle endógeno}$, considerando-se a eficiência do ensaio (90 a 110%) (Livak e Schmitgen, 2011). As sequências dos *primers* utilizados estão descritas no quadro 1.

Quadro 1: Descrição dos *primers* utilizados nas análises de PCR tempo-real.

| Genes | Sense | Antisense | Número de acesso |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Orexigênico | | | |
| NPY | TGTGTTTGGGCATTCTGG | GCTGGATCTCTTGCCATATC | NM_012614.2 |
| Anorexigênicos | | | |
| POMC | ATAGACGTGTGGAGCTGGTGC | GCAAGCCAGCAGGTTGCT | NM_139326.2 |
| CART | CGCTGTGTTGCAGATTGAAGC | AGCGTCACACATGGGGACTT | NM_017110.1 |
| CCKR | AGAGCTAAGTGGGACTTCACTG | GCCATCTCCAATTCTCTGGT | NM_013165.2 |
| GLP1R | ACAGGTCTCTTCTGCAACCG | ATGCCCTTGGAGCACACTAC | NM_012728.1 |
| ObRbR | CAGTACCCAGAGCCAAAGT | GGCTTCACAACAAGCATGG | NM_012596.1 |
| TRH | CGACCCTGGATTCGGGAGTAT | CTGGAGTCTGCGAAGTGGAGA | NM_013046.3 |

4.8 ESTUDO 3: Experimentos com vagotomia

Para avaliar o envolvimento da inervação parassimpática na comunicação entre o TGI e o hipotálamo, mediando os efeitos das diferentes fontes de AG, foi realizada vagotomia subdiafragmática dos animais. Em seguida esses animais foram submetidos ao protocolo de coleta do hipotálamo para avaliação do padrão de expressão de genes hipotalâmicos, além de avaliação do consumo alimentar e trânsito gastrointestinal, após a sobrecarga oral com as fontes de AG: OL e PA.

A escolha desses óleos deveu-se ao fato do OL apresentar maiores efeitos sobre a função gástrica, favorecendo a redução do consumo alimentar, e esses efeitos do OL sobre o consumo e a função gástrica foram antagonicos aos observados em PA. Além disso, o PA exerceu maiores influências sobre a expressão dos neuropeptídeos anorexigênicos e orexigênicos.

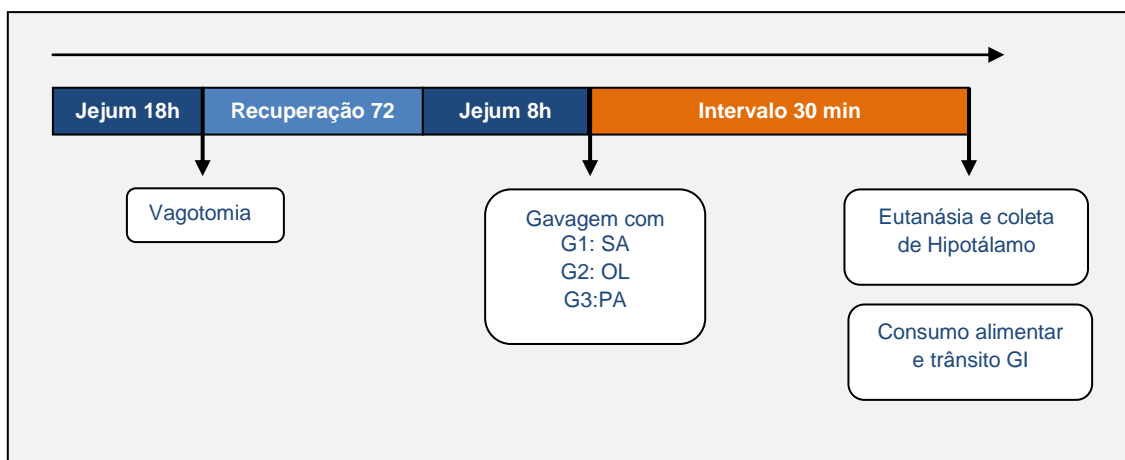
4.8.1 Procedimento para realização da vagotomia subdiafragmática

Os animais foram mantidos em jejum por 18 h, com livre acesso a água. Após anestesia com coquetel cetamina/ xilasina (90 mg/kg e 10mg/kg), os ratos foram submetidos à laparotomia mediana e exposição do esôfago abdominal seguida de vagotomia troncular sub-diafragmática, a qual foi realizada através de serotomia do esôfago a 1,0-1,5 cm acima da cárdia e aplicação de álcool à 70% segundo a técnica de Hansen & Krueger (1997). Em seguida os animais foram mantidos em gaiolas individuais com livre acesso a água e a ração. Após o procedimento da vagotomia os animais foram mantidos em período de recuperação por 72 h.

4.8.2 Estudos realizados após a vagotomia

Após a recuperação, os animais foram submetidos a protocolos independentes, como a retirada do hipotálamo (30 minutos após a sobrecarga com as fontes de AG OL e PA), conforme descrito no tópico 4.5.2.1; bem como consumo de ração em 24 h e trânsito gastrointestinal (24 h) a partir da avaliação do volume fecal, descrito no tópico 4.5.2.4 e 4.5.2.5, respectivamente (FIGURA 12).

Figura 12- Desenho experimental do Estudo 3



4.9 ANÁLISE DOS DADOS

A análise estatística foi realizada no software GraphPad Prism versão 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Para verificação da normalidade dos dados foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados da pesquisa foram avaliados através do teste ANOVA *one-way*, seguidos do pós-teste de Tukey. Para as análises de correlação foi utilizado correlação de Pearson (r). Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

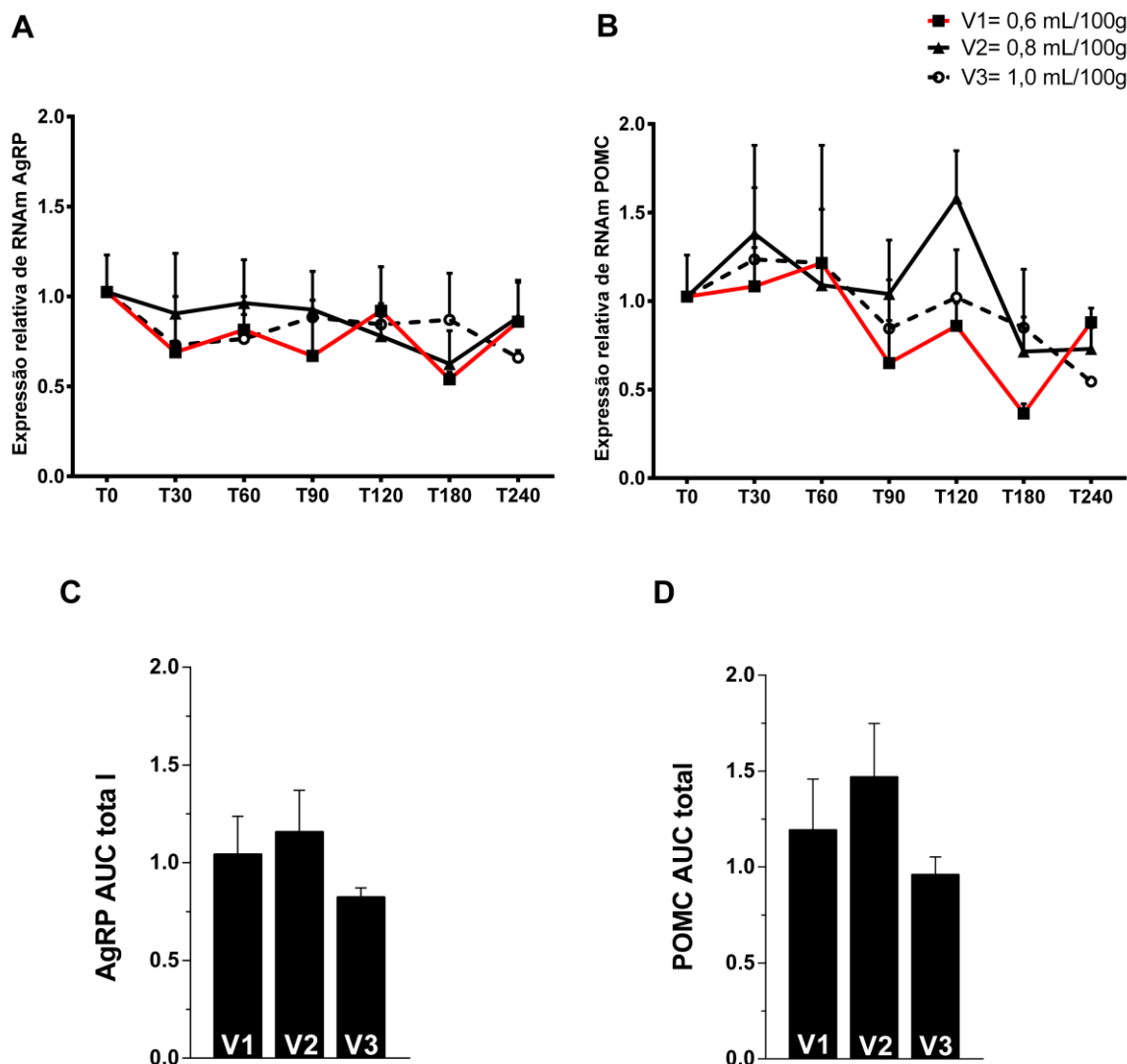
5 RESULTADOS

5.1 ESTUDO 1

5.1.1 Efeitos da gavagem de diferentes volumes de SO sobre a expressão de neuropeptídeos AgRP e POMC em diferentes tempos

No nosso estudo observou-se que não houve diferença significativa no padrão de expressão de RNAm hipotalâmicos de AgRP e POMC para os diferentes volumes de SO estudados (0,6 mL/100g; 0,8 mL/100g e 1 mL/100g), ao longo dos diferentes tempos avaliados (0, 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos). Ao observar o gráfico da área total sob a curva (AUC) observa-se que, embora não tenha sido significativo, o volume de 0,8 mL/100g apresentou expressão média de RNAm de POMC 20% maior que a média observada em 0,6 mL/100g, e 33,34% maior que a observada em 1,0 mL/100g. O mesmo sendo observado para a expressão média de RNAm de AgRP, onde a média de expressão no volume de 0,8 mL/100g foi 16,6% maior que a observada em 0,6 mL/100g, e 22,34% maior que a observada em 1,0 mL/100g (Figura 13). Com isso o volume de 0,8 mL/100g de SO foi utilizada nos estudos seguintes.

Figura 13 - Expressão de RNAm hipotalâmico dos neuropeptídeos AgRP e POMC após gavagem com diferentes volumes de SO em diferentes tempos



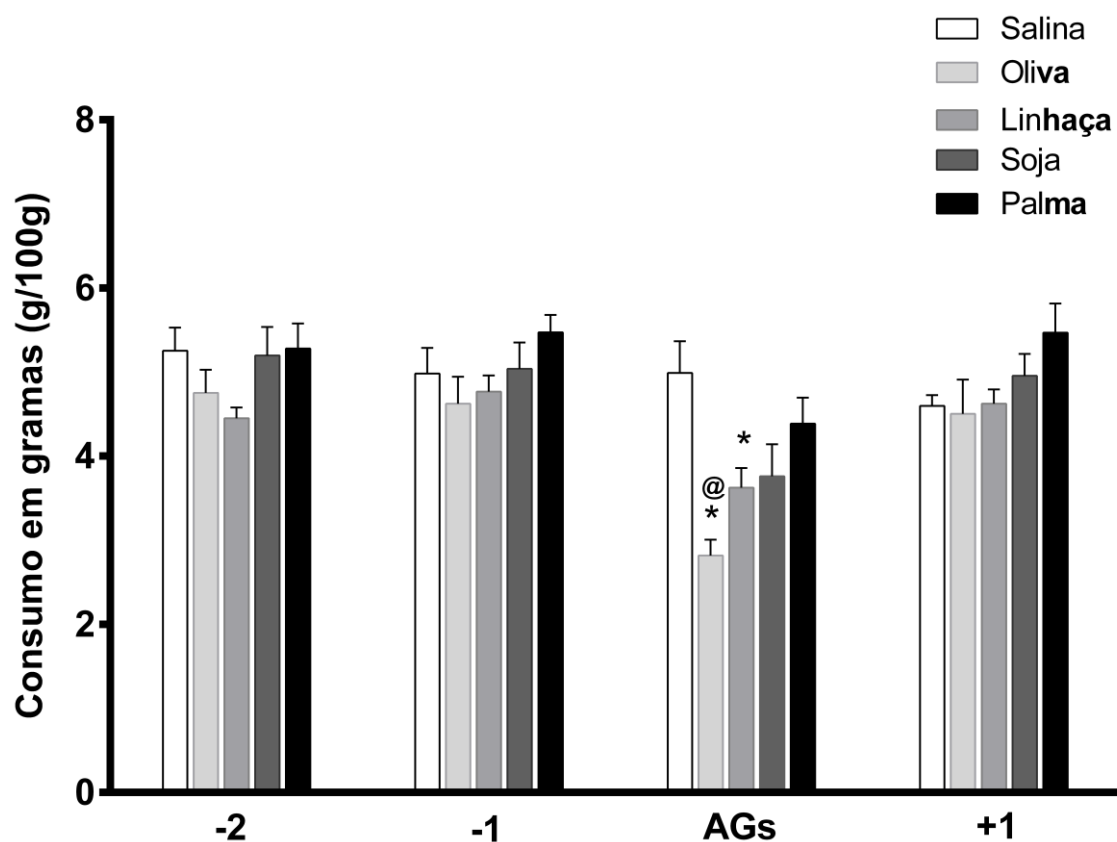
Legenda: (A e C) AgRP: Peptídeo relacionado ao agoouti. (B e D) POMC: Pró-ópio-melanocortina. T0: animais controles que não foram submetidos a gavagem. T30 a T240: animais submetidos a gavagem com óleo de soja com os volumes de 0,6 mL/100g (V1); 0,8 mL/100g (V2) e 1,0 mL/100g (V3). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos como média \pm EPM (n=4 animais por grupo).

5.2 ESTUDO 2

5.2.1 Consumo alimentar é reduzido após consumo de OL e LI em 24 horas

A figura 14 apresenta o consumo alimentar relativo (g/100g) de 24h durante quatro dias consecutivos, sendo os dias -2 e -1 os dois dias que antecedem o tratamento com as diferentes fontes de AG, nos quais não foi observada alteração significativa no consumo alimentar entre os grupos. No terceiro dia foi realizada a gavagem com as diferentes fontes de AG ou solução salina (grupo controle); após 24 h dos tratamentos observou-se redução do consumo alimentar nos grupos tratados com OL e LI em relação ao grupo controle, e no grupo OL em relação ao grupo PA. No quarto dia de estudo (+1), em que os animais não receberam os tratamentos, não foi observada redução significativa do consumo alimentar, voltando a condição inicial (-2 e -1).

Figura 14 - Consumo alimentar durante os 4 dias

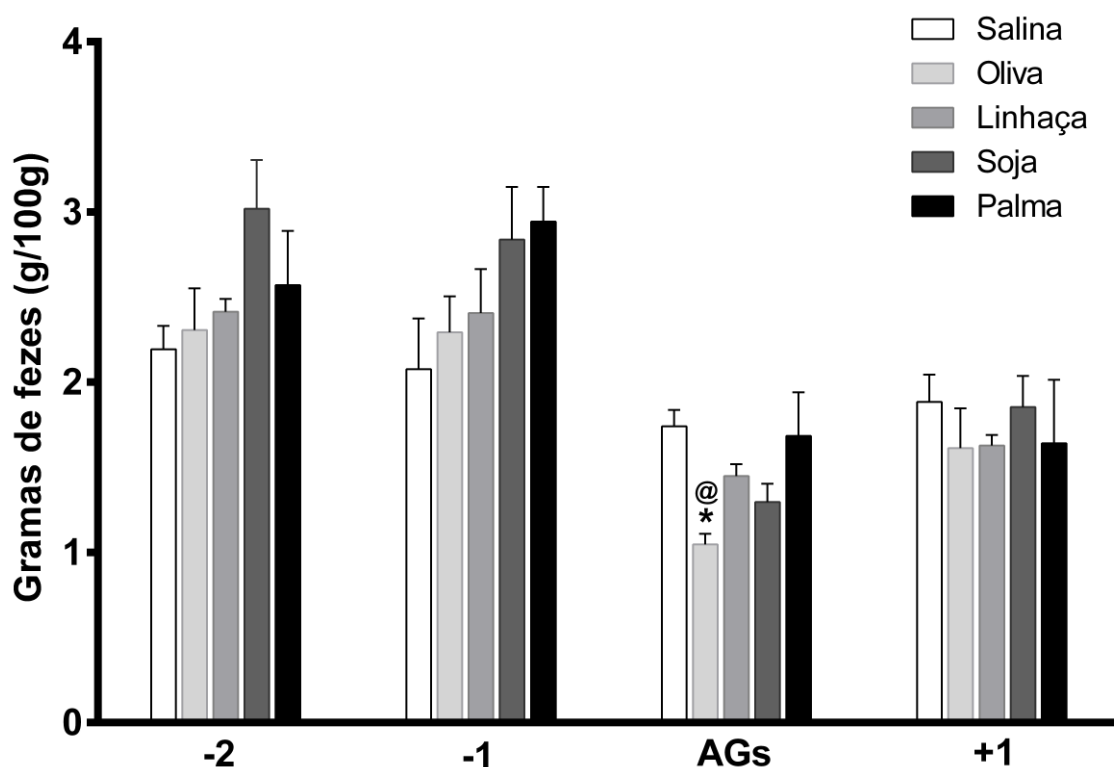


Legenda: Avaliação do consumo alimentar durante 4 dias. -2 e -1= dias que antecedem o tratamento com os ácidos graxos, AGs= dia em que os animais receberam os tratamentos com os ácidos graxos; +1= dia após os tratamentos. * Estatisticamente diferente do grupo CON $p < 0,001$ e LI $p < 0,05$; @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com $n = 5-8$ animais por grupo.

5.2.2 OL reduz o transito gastrointestinal em 24 h

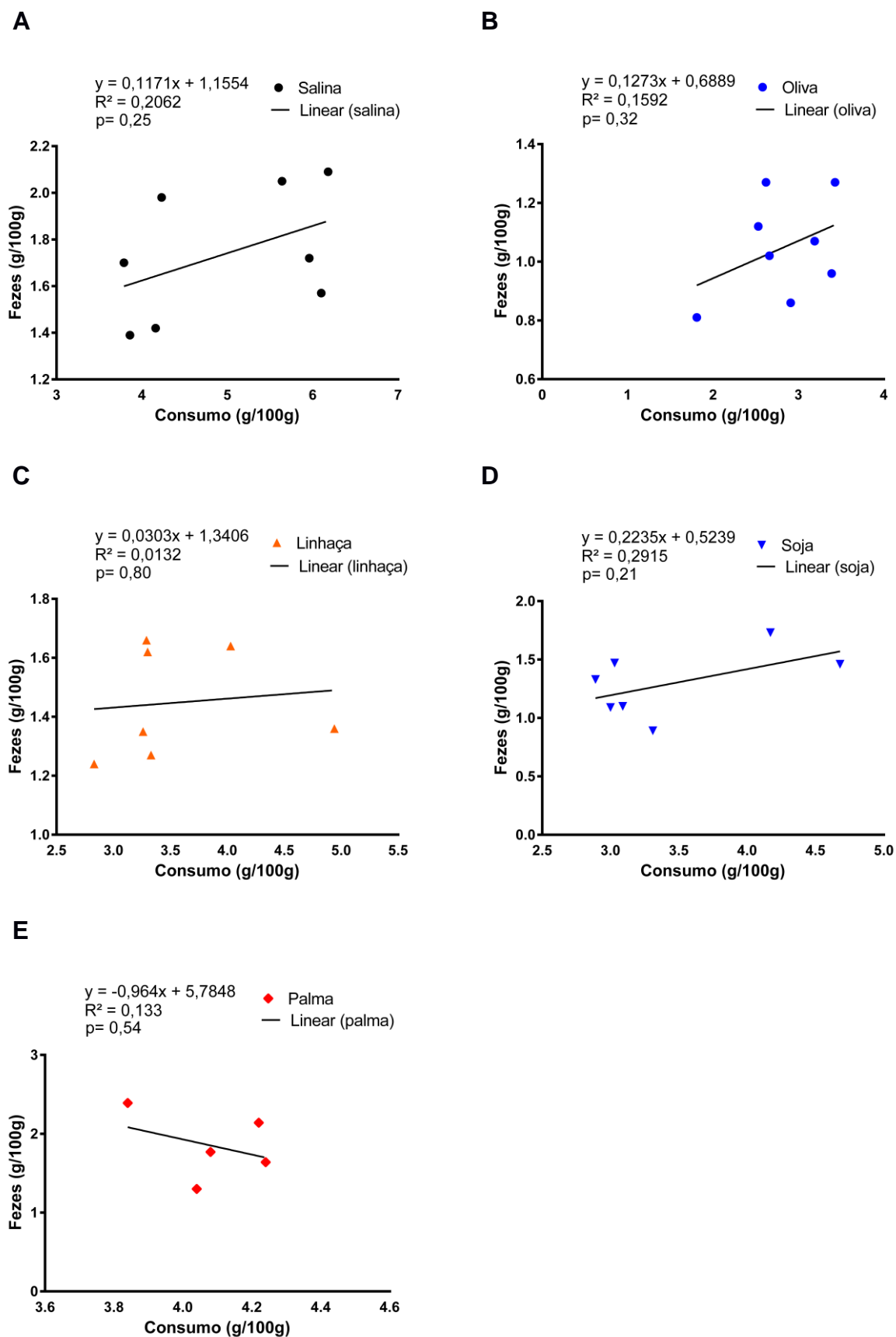
O transito intestinal dos animais foi avaliado a partir da coleta e pesagem das fezes 24 horas após o fornecimento da ração. A figura 15 apresenta a média da massa fecal relativa ao longo de 24h (g/100g) durante quatro dias consecutivos. No terceiro dia foi realizada a gavagem com as fontes de AG, e após 24 h dos tratamentos observou-se redução significativa na massa fecal relativa dos animais do grupo tratado com OL em relação ao grupo controle e ao grupo PA. Na figura 16 é apresentada a correlação entre o consumo e a massa fecal para os óleos, não tendo sido observada correlação.

Figura 15 - Peso das fezes de 24 h (g/100g) durante os 4 dias



Legenda: (A) Média da massa fecal de 24 h durante 4 dias. -2 e -1= dias que antecedem o tratamento com os ácidos graxos, AGs= dia em que os animais receberam os tratamentos com os ácidos graxos; +1= dia após os tratamentos. * Estatisticamente diferente do grupo CON ($p < 0,05$); @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com $n = 5-8$ animais por grupo.

Figura 16 - Correlação entre consumo e massa fecal

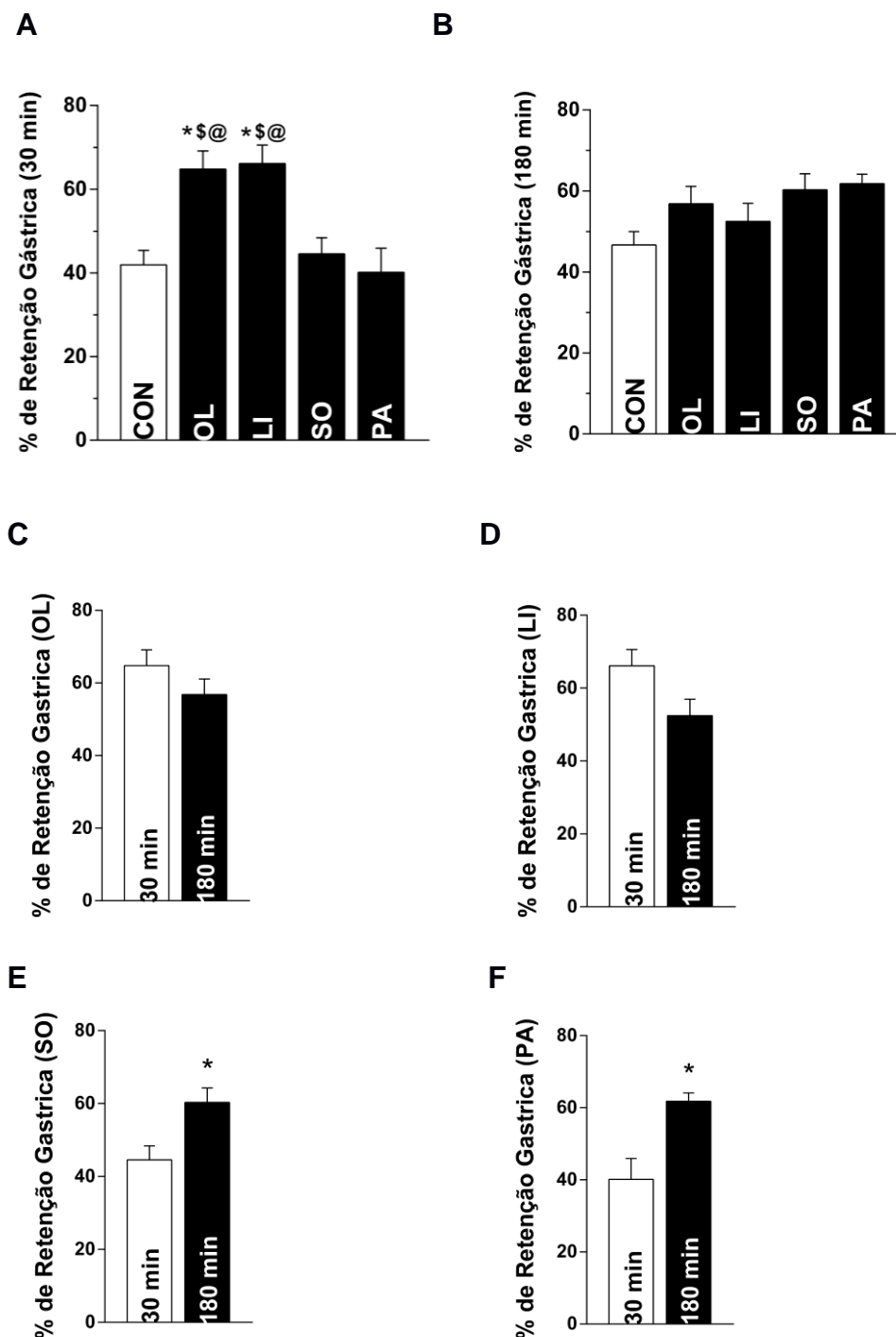


Legenda: Correlação de Pearson entre consumo e massa fecal para os óleos.

5.2.3 OL e LI retardam o esvaziamento gástrico de líquidos a curto prazo

Na figura 17 são apresentados os valores de retenção gástrica de líquidos em ratos após 30 e 180 minutos dos tratamentos com as diferentes fontes de AG ou solução salina. Observamos que após 30 minutos das gavagens (Figura 17A), os animais tratados com OL e LI tiveram uma maior porcentagem de retenção gástrica, a qual foi significativa quando comparados aos tratamentos com solução salina, SO e PA. Na figura 17 B são mostrados os valores de retenção gástrica após 180 minutos das gavagens, onde não observamos diferença significativa entre os grupos. No entanto, observou-se que após o tempo de 180 min os óleos SO e PA apresentaram aumento da % de retenção gástrica quando comparada à observada no tempo de 30 minutos (Figura 17 E e F).

Figura 17- Porcentagem de retenção gástrica após 30 e 180 minutos da gavagem com os diferentes óleos

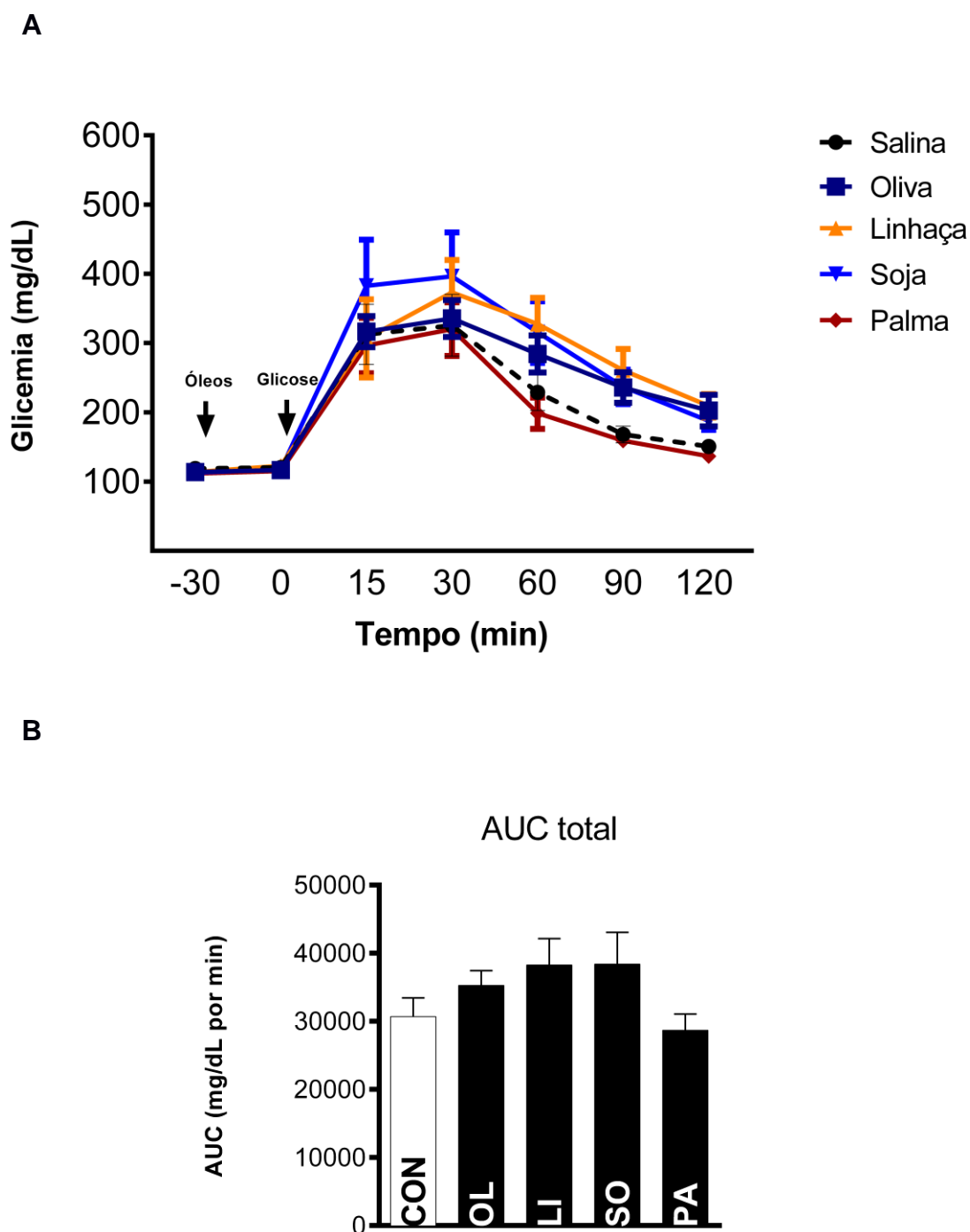


Legenda: (A) % de retenção gástrica 30 minutos após suplementação por gavagem; (B) % de retenção gástrica 180 minutos após gavagem; CON = grupo controle (salina); OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma. * Estatisticamente diferente do grupo CON (OL $p < 0,05$, LI $p < 0,01$); @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,01$), \$ Estatisticamente diferente do grupo SO (OL $p < 0,05$, LI $p < 0,01$). (C), (D), (E), (F) Comparação entre a % de retenção gástrica observada após 180 minutos da suplementação por gavagem com a observada após 30 minutos, nos grupos OL, LI, SO e PA, respectivamente. * Estatisticamente diferente do grupo 30 minutos. Anova two-way, teste de Tukey's e test t de Student foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com $n = 8-11$ animais por grupo.

5.2.4 As diferentes fontes de AG não exercem efeito sobre a homeostase da glicose

Na figura 18 está representada a curva glicêmica nos grupos tratados com as diferentes fontes de AG. Observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos, indicando que a sobrecarga com os diferentes AG não exerceu influências sobre a tolerância à glicose.

Figura 18 . Curva glicêmica do teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGip)

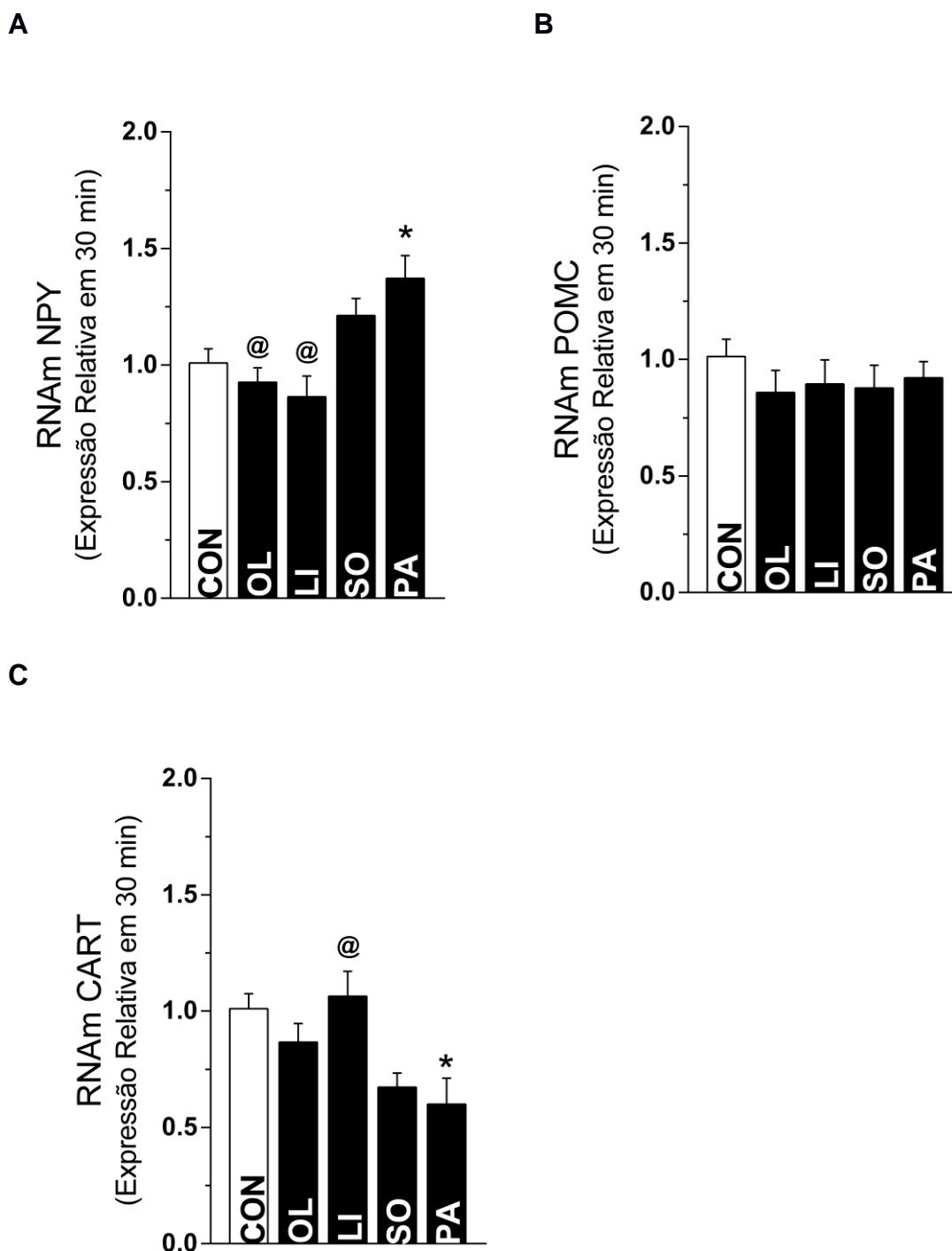


Legenda: (A) Curva glicêmica (B) Área total sob a curva (AUC total); (B) CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma. Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com n= 5 animais por grupo .

5.2.5 Efeito de diferentes fontes de AG sobre o padrão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos, orexigênicos e anorexigênicos, após intervalo de 30 minutos

Na figura 19 observa-se a expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART, 30 minutos após a realização das gavagem com as fontes de AG. Observa-se que a expressão de RNAm de NPY nos grupos OL e LI foi significativamente menor quando comparado com o grupo PA, e a expressão no grupo PA foi significativamente maior que a observada no grupo controle. A expressão relativa de RNAm de POMC não apresentou diferença significativa entre os grupos. Quanto à expressão de RNAm de CART, o grupo LI apresentou uma expressão maior que a observada no grupo PA, e no grupo PA essa expressão foi menor que a observada no grupo controle.

Figura 19 - Expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART após 30 minutos das gavagem

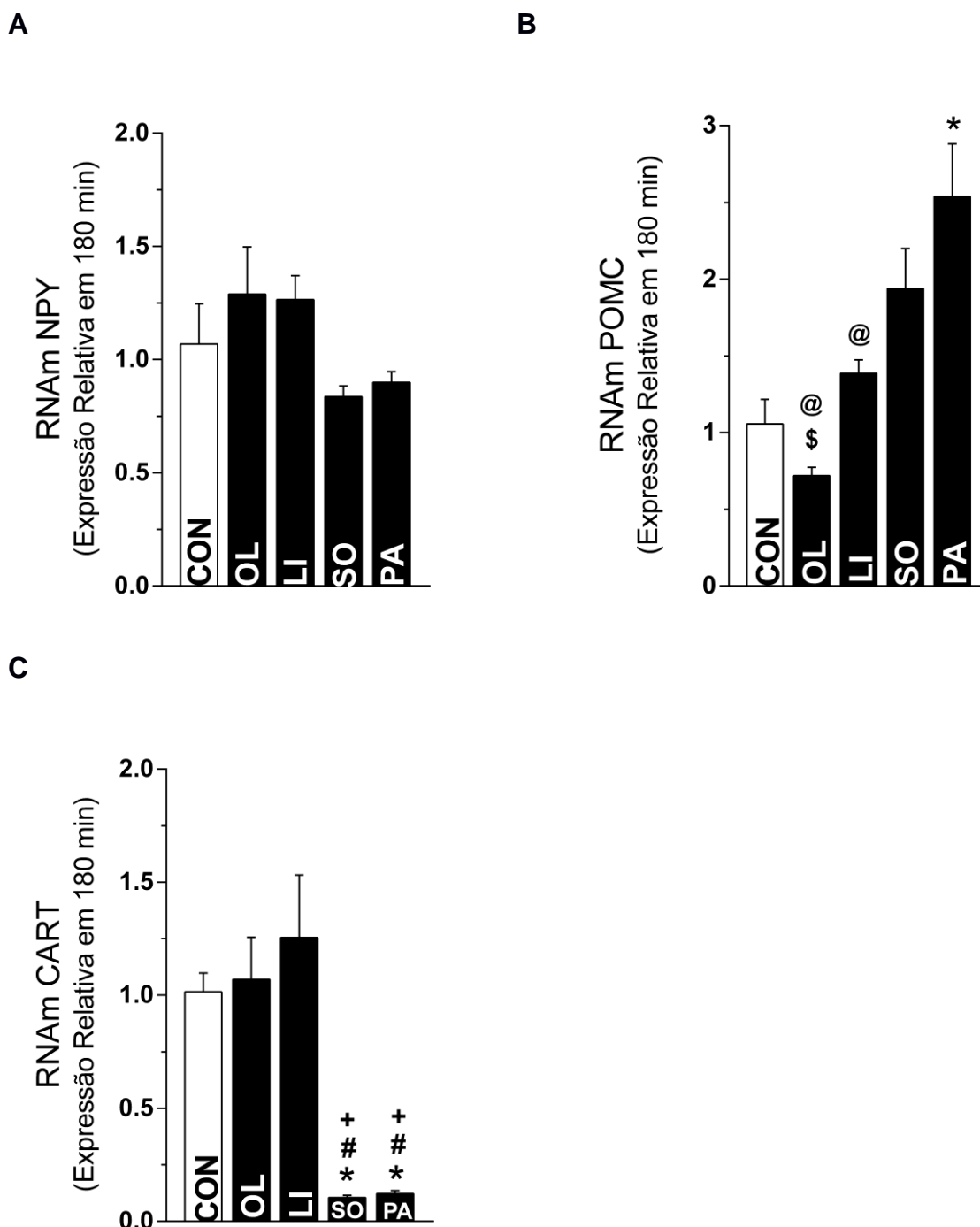


Legenda: (A) NPY: Neuropeptídeo Y; (B) POMC: Pró-ópio-melanocortina; (C) CART: Transcrito regulado pela anfetamina e cocaína. CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma. * Estatisticamente diferente do grupo CON ($p < 0,05$); @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM ($n = 6$ animais por grupo).

5.2.6 Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos após intervalo de 180 minutos

Na figura 20 está representada a expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART 180 minutos após a realização das gavagem com as fontes de AG. Observa-se que não houve alteração significativa na expressão de RNAm de NPY entre os grupos de tratamento. No entanto a expressão relativa de POMC nos grupos OL e LI foi significativamente menor que no grupo tratado com PA. Além disso, o grupo tratado com OL também apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo tratado com SO. Em relação ao grupo PA, o mesmo apresentou expressão significativamente maior que a observada no grupo controle. Quanto à expressão de RNAm de CART, é importante destacar que os grupos SO e PA reduziram expressivamente este gene quando comparado aos outros grupos (CON, OL e LI).

Figura 20 - Expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART após 180 minutos das gavagens.

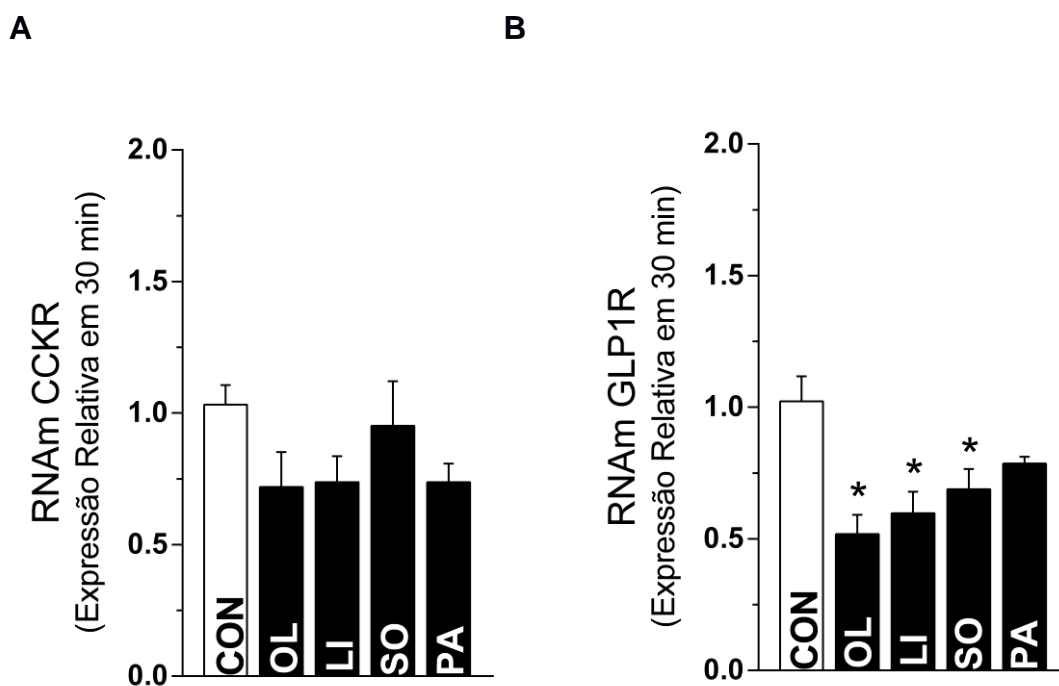


Legenda: (A) NPY: Neuropeptídeo Y; (B) POMC: Pró-ópio-melanocortina; (C) CART: Transcrito regulado pela anfetamina e cocaína. CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA= óleo de palma. * Estatisticamente diferente do grupo CON ($p < 0,05$) @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,05$); # Estatisticamente diferente do grupo OL ($p < 0,05$); + Estatisticamente diferente do grupo LI ($p < 0,05$); \$ Estatisticamente diferente do grupo SO ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM ($n = 6$ animais por grupo).

5.2.7 Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de RNAm de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK e GLP1, após intervalo de 30 minutos

Na figura 21 observa-se a expressão relativa de RNAm de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK e GLP1, após intervalo de 30 minutos das gavagens. Quanto à expressão de RNAm de GLP1R observou-se que nos grupos OL, LI e SO houve uma redução significativa quando comparado ao grupo controle. Estes mesmos efeitos não foram observados em relação ao CCKR.

Figura 21 - Expressão relativa de RNAm de CCKR e GLP1R hipotalâmicos após 30 minutos das gavagens.

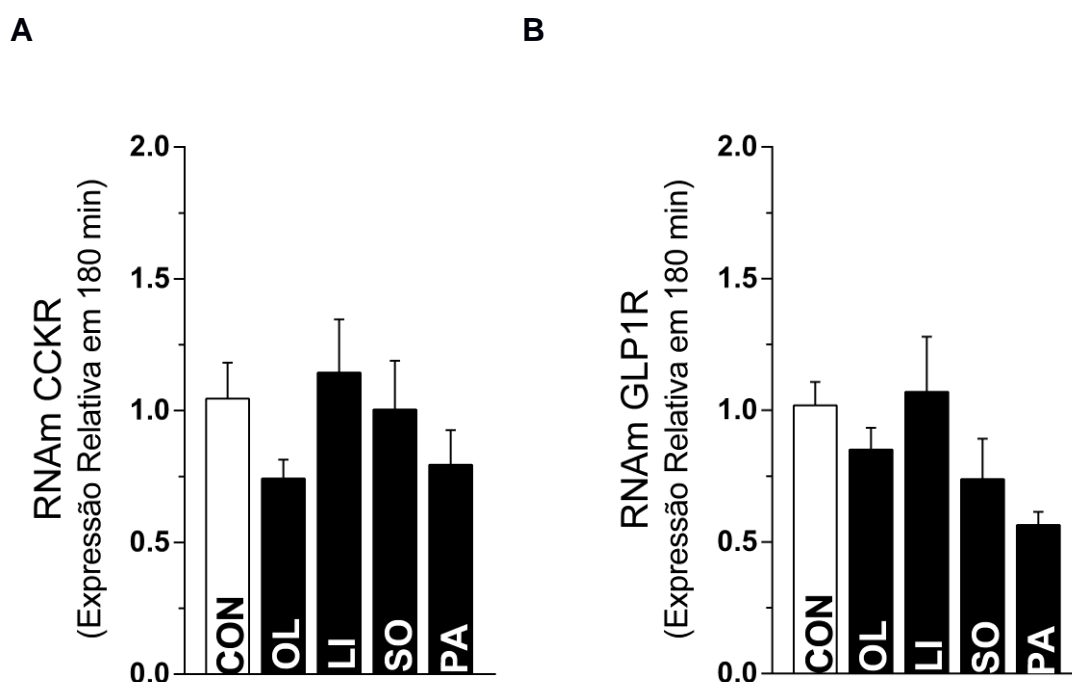


Legenda: (A)CCKR: Receptor do hormônio CCK; (B) GLP1R: receptor do peptídeo semelhante ao glucagon. CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma. * Estatisticamente diferente do grupo CON ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM ($n = 6$ animais por grupo).

5.2.8 Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK e GLP1, após intervalo de 180 minutos

A expressão relativa de RNAm de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK e GLP1, após intervalo de 180 minutos das gavagens, é apresentada na figura 22. Pode-se observar que não houve diferença significativa na expressão de CCKR e GLP1R entre os grupos testados.

Figura 22 - Expressão relativa de RNAm de CCKR e GLP1R hipotalâmicos após 180 minutos das gavagens.

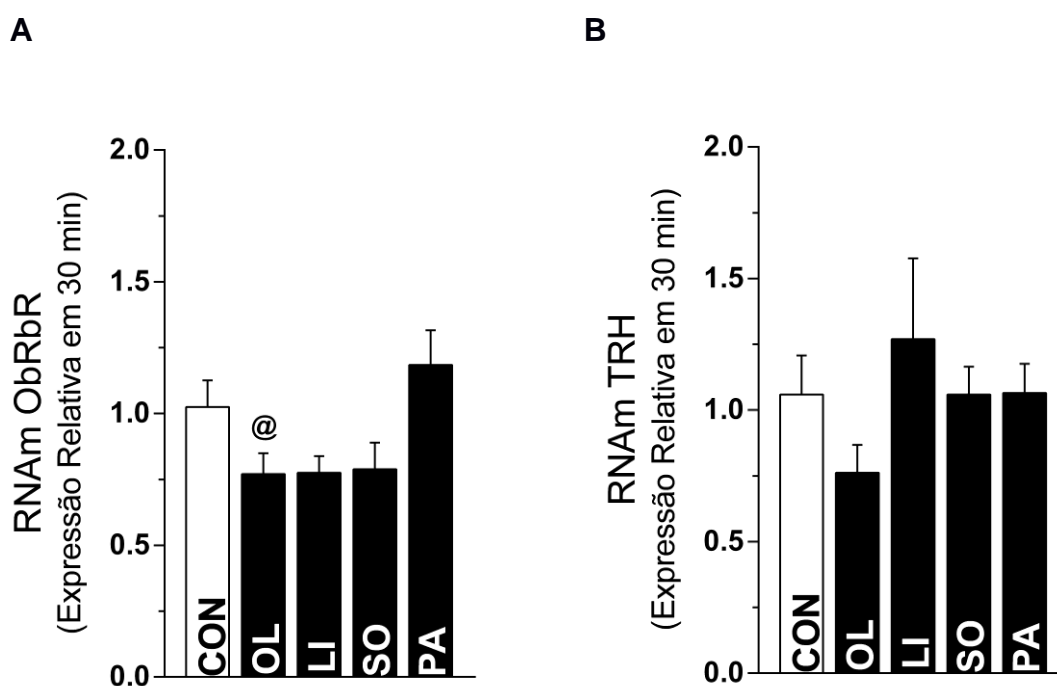


Legenda: (A)CCKR: Receptor do hormônio CCK; (B) GLP1R: receptor do peptídeo semelhante ao glucagon; CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma. Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM (n= 6 animais por grupo).

5.2.9 Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de ObRbR e de TRH, após intervalo de 30 minutos.

A figura 23 apresenta a expressão relativa de RNAm de receptores hipotalâmicos do hormônio ObRb e do hormônio TRH após intervalo de 30 minutos das gavagens com as diferentes fontes de AG. Quanto à expressão de ObRbR, observa-se que no grupo OL foi significativamente menor que a observada no grupo PA. Não tendo sido observada diferença na expressão de TRH entre os grupos.

Figura 23 - Expressão relativa de RNAm de ObRBR e TRH após 30 minutos das gavagens.

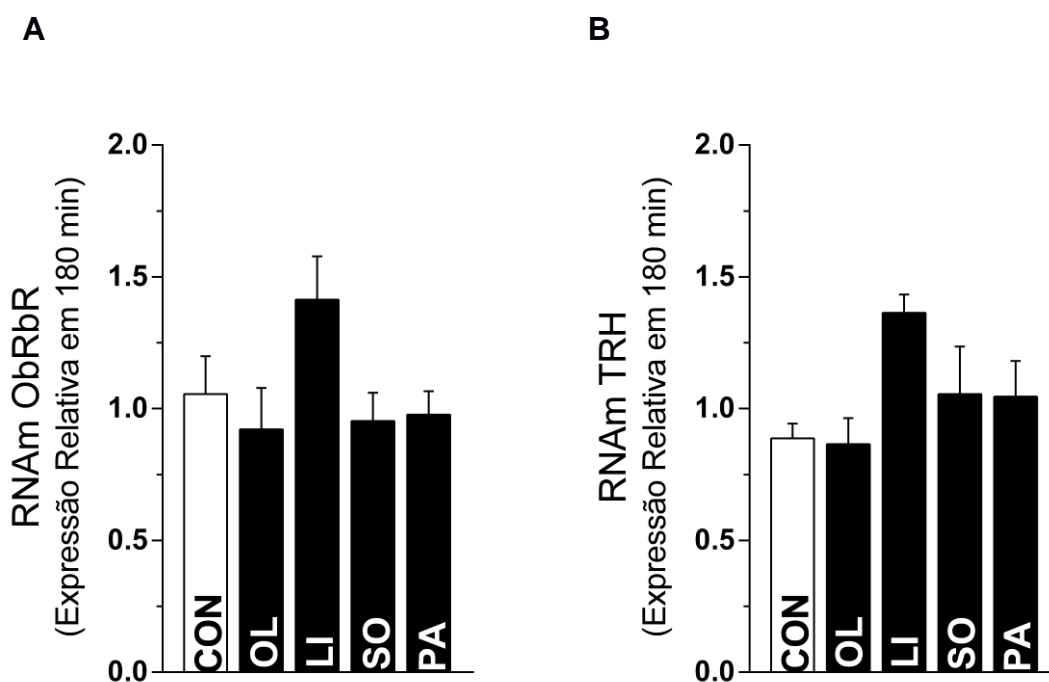


Legenda: (A) ObRbR: Receptor de leptina forma longa; (B) TRH: receptor do hormônio tireotrófico. CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM ($n = 6$ animais por grupo).

5.2.10 Efeito de diferentes fontes de AG sobre a expressão de ObRbR e de TRH, após intervalo de 180 minutos.

Na figura 24 está representada a expressão relativa de RNAm de receptores hipotalâmicos do hormônio ObRb e do hormônio TRH após intervalo de 180 minutos das gavagens. Pode-se observar que não houve alteração na expressão de ambos os genes entre os grupos estudados.

Figura 24 - Expressão relativa de RNAm de ObRbR e TRH após 180 minutos das gavagens.



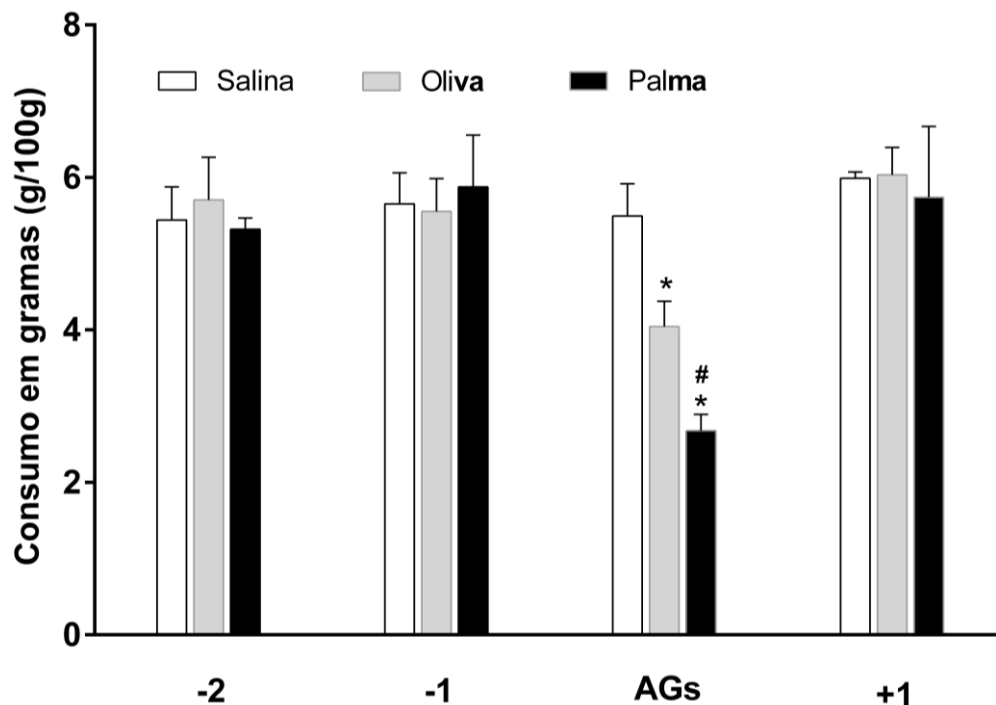
Legenda: (A) ObRbR: Receptor de leptina forma longa; (B) TRH: receptor do hormônio tireotrópico. CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; LI = óleo de linhaça; SO = óleo de soja; PA = óleo de palma. Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM (n= 6 animais por grupo).

5.3 ESTUDO 3

5.3.1 Consumo alimentar, em animais vagotomizados, é reduzido após consumo de OL e PA, em 24 horas

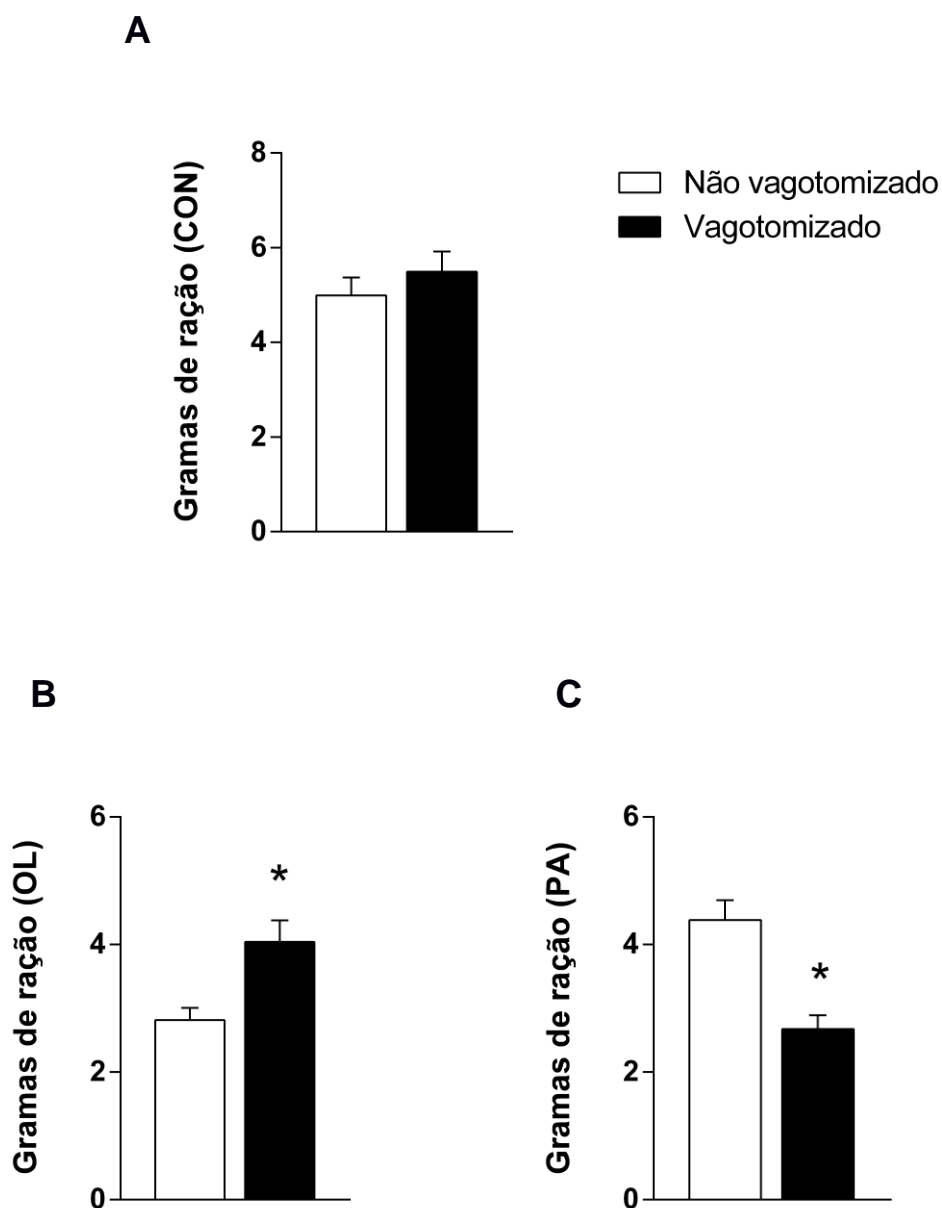
A figura 25 apresenta o consumo alimentar relativo (g/100g) de 24h durante quatro dias consecutivos. No terceiro dia os animais foram submetidos aos seus respectivos tratamentos; e após 24 h observou-se redução significativa do consumo alimentar nos grupos tratados com OL e PA em relação ao grupo controle, bem como, entre PA e OL. Na figura 26 observa-se uma comparação entre a média total de consumo antes e após a vagotomia nos grupos CON, OL e PA; para os grupos CON não houve diferença entre as médias de consumo. No entanto para os grupos OL, a média de consumo após a vagotomia foi significativamente maior que a observada antes da realização da vagotomia. Por outro lado, no grupo PA observa-se uma redução expressiva do consumo alimentar após a realização da vagotomia.

Figura 25 - Consumo alimentar (g/100g) durante os 4 dias após vagotomia



Legenda: Avaliação do consumo alimentar durante 4 dias. -2 e -1= dias que antecedem o tratamento com os ácidos graxos, AGs= dia em que os animais receberam os tratamentos com os ácidos graxos; +1= dia após os tratamentos. * Estatisticamente diferente do grupo controle ($p < 0,05$); @ Estatisticamente diferente do grupo PA ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com $n = 5-8$ animais por grupo.

Figura 26 - Relação entre consumo alimentar antes e após a vagotomia nos grupos CON, OL e PA

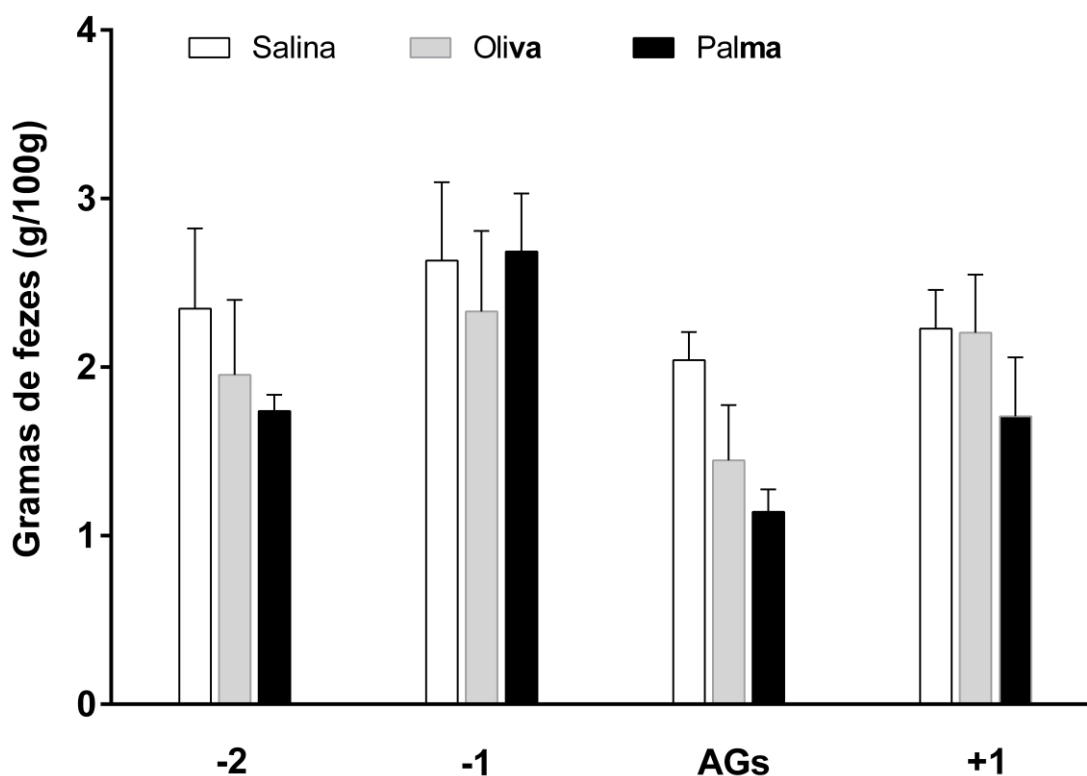


Legenda: (A) Comparação entre as médias totais de consumo de ração antes e após a vagotomia para o grupo controle; (B) e (C) Comparação entre as médias totais de consumo de ração antes e após a vagotomia para o grupo oliva e palma, respectivamente. CON=Controle; OL= Oliva; PA= Palma. * Estatisticamente diferente do grupo controle ($p < 0,05$). Teste t de Student foi utilizado para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com $n = 5-8$ animais por grupo.

5.3.2 Efeito da gavagem com OL e PA sobre o trânsito gastrointestinal em animais vagotomizados

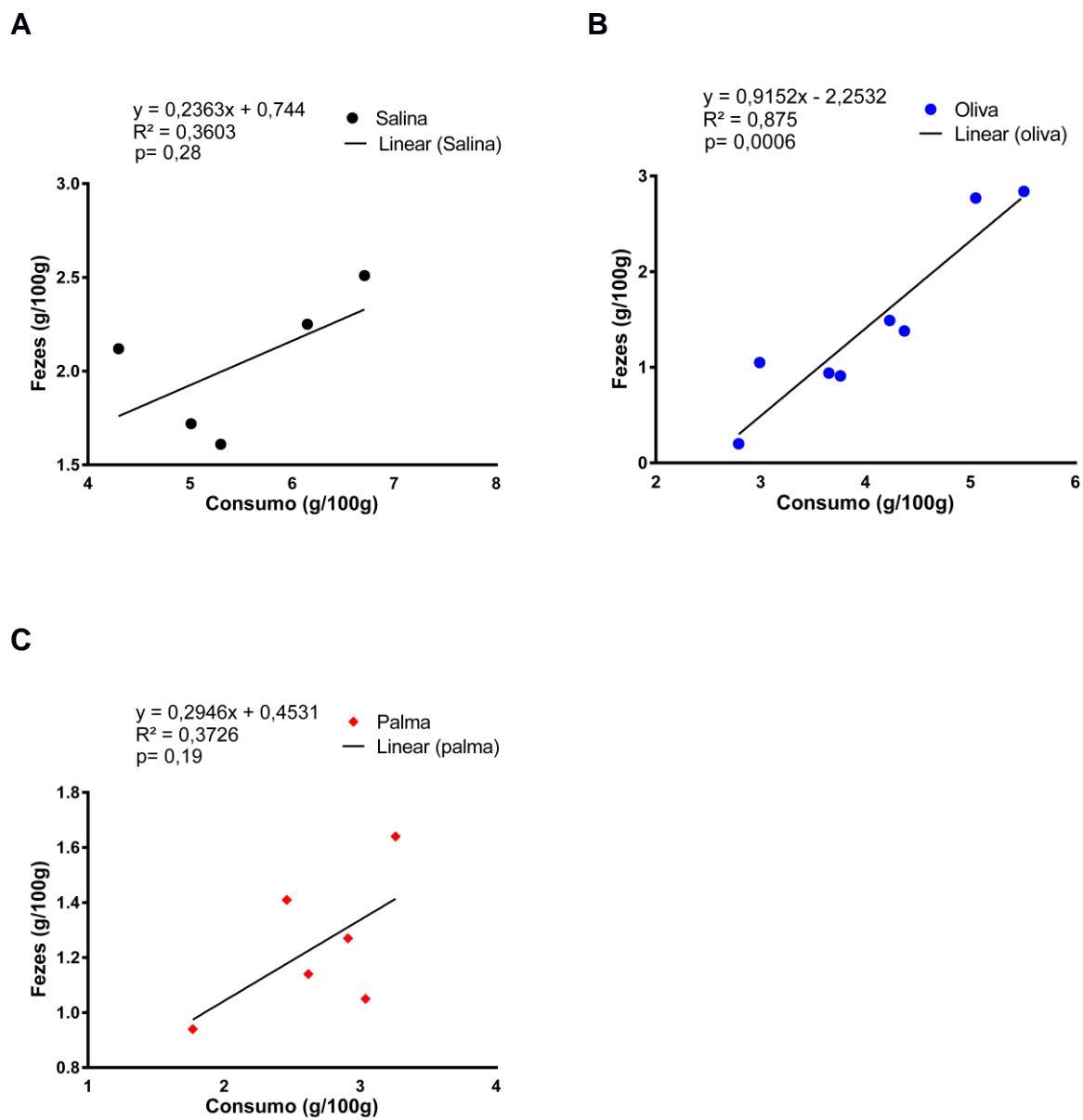
A figura 27 apresenta a massa fecal relativa ao longo de 24h (g/100g) durante quatro dias consecutivos, onde apenas no terceiro dia foi realizada a gavagem com OL, PA ou solução salina (CONT). Pode-se observar que não houve diferença significativa entre os grupos quanto à massa fecal relativa nos diferentes dias. Na figura 28 é apresentada a correlação entre consumo e massa fecal para os óleos, onde foi observada correlação forte e positiva para OL.

Figura 27- Peso das fezes de 24 h (g/100g) durante os 4 dias após vagotomia



Legenda: Média da massa fecal de 24 h durante 4 dias. -2 e -1= dias que antecedem o tratamento com os ácidos graxos, AGs= dia em que os animais receberam os tratamentos com os ácidos graxos; +1= dia após os tratamentos. Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM, com n= 5-8 animais por grupo.

Figura 28 - Correlação entre consumo e massa fecal após vagotomia

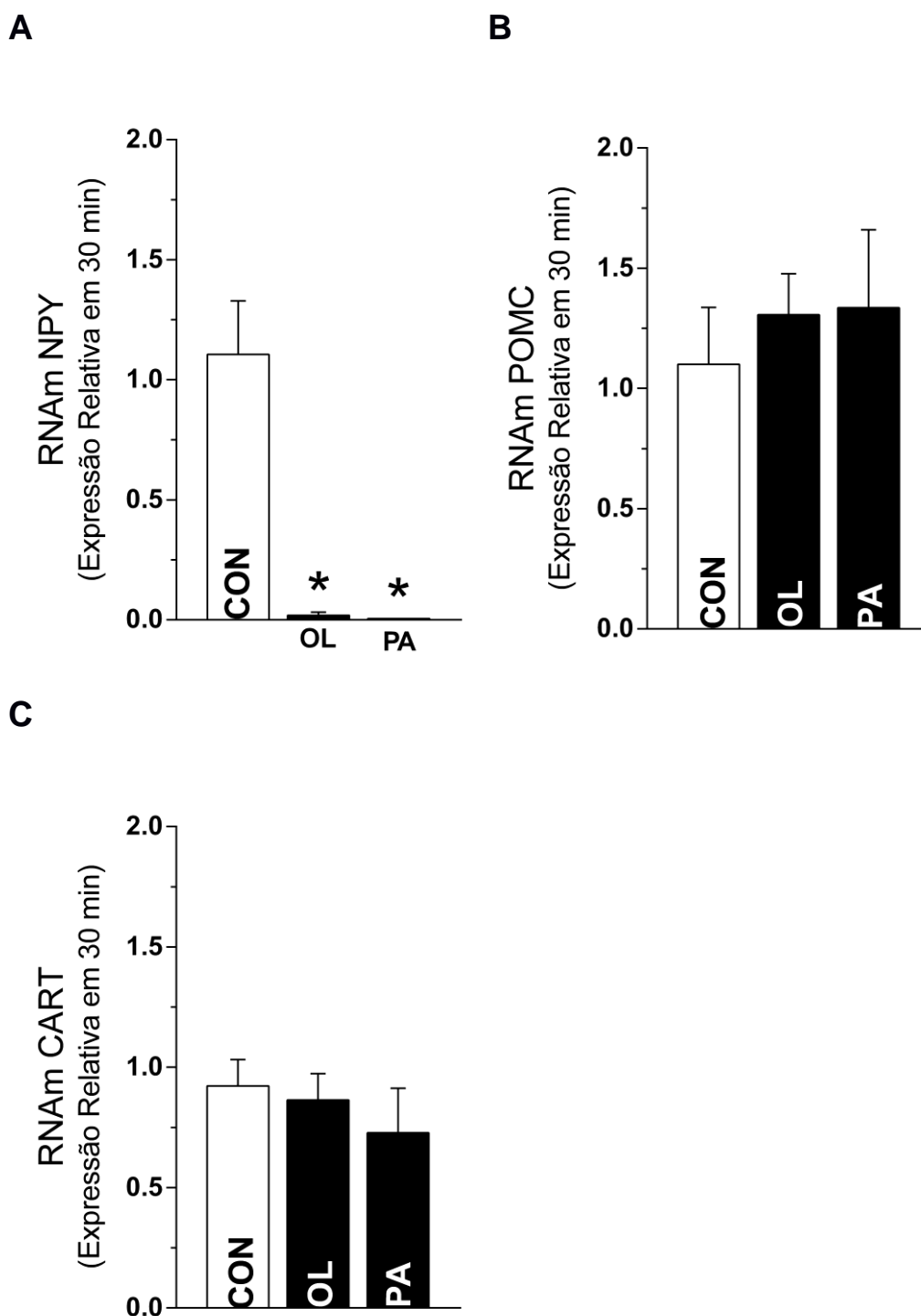


Legenda: Correlação de Pearson entre consumo e massa fecal para os óleos: oliva, linhaça e soja.

5.3.3 Efeito da gavagem com OL e PA sobre a expressão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos.

Na figura 29 está apresentada a expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART, em animais vagotomizados, 30 minutos após a realização das gavagem com OL, PA ou solução salina. Observa-se que a expressão de RNAm de NPY nos grupos OL e PA foi significativamente reduzida quando comparado com o grupo controle. Não tendo sido observada diferença na expressão de genes dos neuropeptídeos POMC e CART entre os grupos.

Figura 29 - Expressão relativa de RNAm de NPY, POMC e CART após 30 minutos das gavagens, em animais vagotomizados.

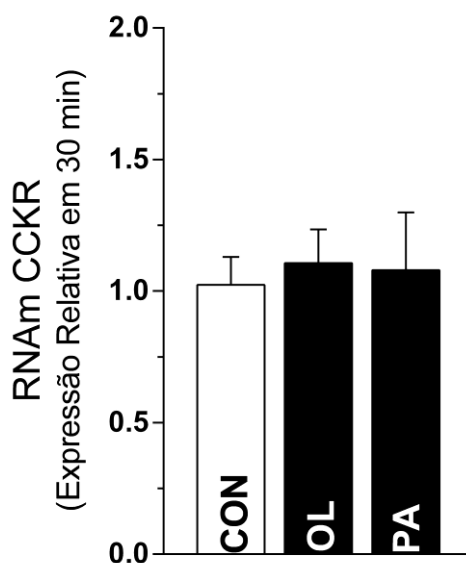


Legenda: (A) NPY: Neuropeptídeo Y; (B) POMC: Pró-ópio-melanocortina; (C) CART: Transcrito regulado pela anfetamina e cocaína. CON = grupo controle; OL = azeite de oliva; PA = óleo de palma * Estatisticamente diferente do grupo CON ($p < 0,05$). Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM ($n = 5-7$ animais por grupo).

5.3.4 Efeito da gavagem com OL e PA sobre a expressão de receptores hipotalâmicos do hormônio gastrointestinal CCK, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos.

Na figura 30 é apresentada a expressão relativa de RNAm de receptores hipotalâmicos dos hormônios gastrointestinais CCK, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos das gavagens. Observa-se que não houve diferença significativa na expressão de CCKR entre os grupos.

Figura 30 - Expressão relativa de RNAm de CCKR, em animais vagotomizados, após 30 minutos das gavagens.

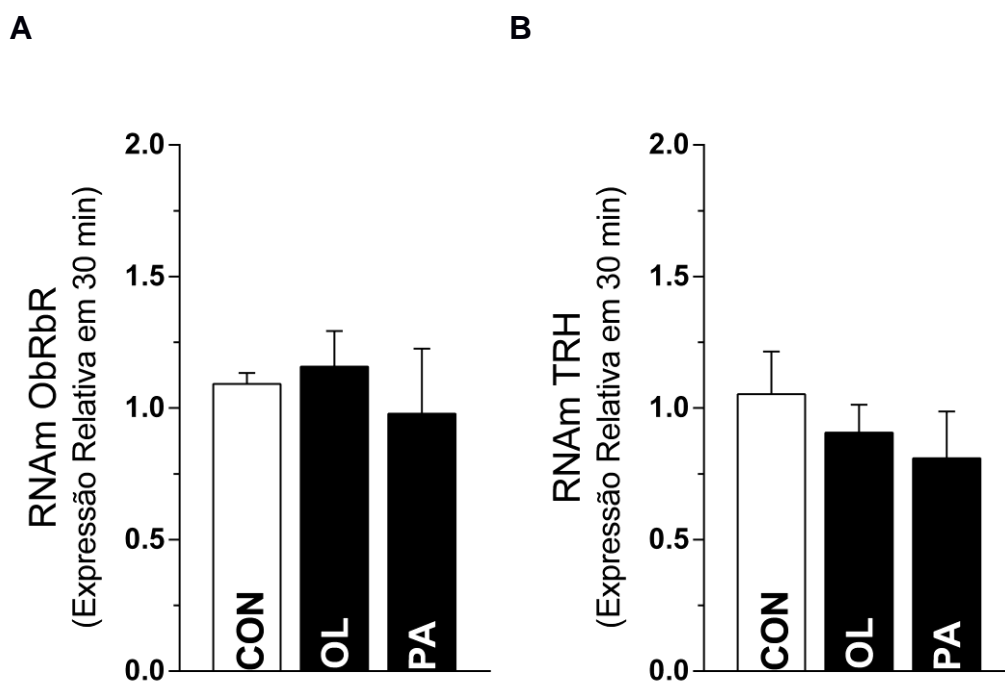


Legenda: CCKR: Receptor do hormônio CCK; CON= grupo controle; OL = azeite de oliva; PA = óleo de palma. Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média ± EPM (n= 5-7 animais por grupo).

5.3.5 Efeito da gavagem com OL e PA sobre a expressão de receptores hipotalâmicos do hormônio ObRb e sobre a expressão de TRH, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos.

A figura 31 apresenta-se a expressão relativa de RNAm de receptores hipotalâmicos do hormônio ObRb e do hormônio TRH, em animais vagotomizados, após intervalo de 30 minutos das gavagens com OL, PA e solução salina. Pode-se observar que não houve diferença significativa na expressão desses genes entre os grupos avaliados.

Figura 31 - Expressão relativa de RNAm de ObRbR e TRH, em animais vagotomizados, após 30 minutos das gavagens.



Legenda: (A) ObRbR: Receptor de leptina forma longa; (B) TRH: receptor do hormônio tireotrófico. CON: grupo controle; OL = azeite de oliva; PA = óleo de palma. Anova two-way e teste de Tukey's foram utilizados para a avaliação. Os valores são expressos com média \pm EPM (n= 5-7 animais por grupo).

PÁGINAS SUPRIMIDAS

95 a 103

7 CONCLUSÕES

A partir do nosso estudo concluímos que:

- ❖ A sobrecarga com OL e LI reduz o consumo alimentar.
- ❖ OL e LI aumentam a taxa de retenção gástrica, a curto prazo, favorecendo a redução do consumo alimentar. Porém apenas o OL reduz o trânsito do trato gastrointestinal.
- ❖ As diferentes fontes de ácidos graxos apresentam padrões distintos na expressão gênica hipotalâmica, onde podemos resaltar a participação do PA, por exercer maiores influências sobre os neuropeptídeos anorexigênicos e orexigênicos.
- ❖ Em animais vagotomizados o OL e PA reduzem o consumo alimentar. Essa resposta é paradoxal em relação ao consumo alimentar, haja vista que os efeitos do PA só é possível na ausência do nervo vago.
- ❖ O consumo agudo de OL pode vir a ser recomendado como adjuvante em programas de perda de peso, por contribuir para a redução do consumo alimentar; sendo assim uma possível estratégia para o tratamento da obesidade, e redução dos riscos associados a essa patologia. No entanto, são necessários estudos futuros para avaliar o efeito do consumo crônico desse óleo.
- ❖ O consumo de PA, embora tenha promovido uma redução do consumo alimentar após vagotomia, não seria recomendado como alternativa para perda de peso por contribuir para o desenvolvimento de fatores que favorecem o quadro de risco cardiometabólico.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABESO/SBEM Atualização das diretrizes para o tratamento farmacológico da obesidade e do sobrepeso. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica. **ABESO 76** Edição Especial, p. 4-18, Out 2010.

AFONSO M.S., LAVRADOR M.S.F, LOTTENBERG A.M.P. Ácidos graxos monoinsaturados. In: Cominetti C, Rogero M M, Horst M. A. **Genômica nutricional**. 1. ed. São Paulo: Manole, 2017.

AHLMAN, H.; NILSSON. The gut as the largest endocrine organ in the body. **Ann Oncol**, v. 12 Suppl 2, p. S63-8, 2001.

AHMAD, A. L. et al. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. **Renew Sust Energ Rev**, v.15, n. 1, p. 584-593, Jan 2011.

APONTE, Y.; ATASOY, D.; STERNSON, S. M. AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. **Nat Neurosci**, v. 14, n. 3, p. 351-5, Mar 2011.

ATASOY, D. et al. Deconstruction of a neural circuit for hunger. **Nature**, v. 488, n. 7410, p. 172-7, Aug 2012.

AYORINDE, F. O.; GARVIN, K.; SAEED, K. Determination of the fatty acid composition of saponified vegetable oils using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 14, n. 7, p. 608-15, 2000.

BADOLATO ESG, CARVALHO JB, TAVARES M. Determinação do ácido eicosapentaenoico (EPA) em óleo de sardinha brasileira e em suplementos alimentares à base de óleo de sardinha. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 51, n. 1-2, p. 75-81. 1991.

BARRERA, J. G. et al. GLP-1 and energy balance: an integrated model of short-term and long-term control. **Nat Rev Endocrinol**, v. 7, n. 9, p. 507-16, Jun 2011.

BEAR M, CONNORS B, PARADISO M. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 2. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2002.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 1134 p.

BENNETT, A. J. et al. Modulation of hepatic apolipoprotein B, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and low-density lipoprotein receptor mRNA and plasma lipoprotein concentrations by defined dietary fats. Comparison of trimyristin, tripalmitin, tristearin and triolein. **Biochem J**, v. 311 (Pt 1), p. 167-73, Oct 1995.

BENOIT, S. C. et al. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents. **J Clin Invest**, v. 119, n. 9, p. 2577-89, Sep 2009.

BERTHOUD, H. R. Vagal and hormonal gut-brain communication: from satiation to satisfaction. **Neurogastroenterol Motil**, v. 20 Suppl 1, p. 64-72, May 2008.

BERTHOUD, H. R.; MORRISON, C. The brain, appetite, and obesity. **Annu Rev Psychol**, v. 59, p. 55-92, 2008.

BES-RASTROLLO, M. et al. Olive oil consumption and weight change: the SUN prospective cohort study. **Lipids**, v. 41, n. 3, p. 249-56, Mar 2006.

BEWICK, G. A. et al. Hypothalamic cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) and agouti-related protein (AgRP) neurons coexpress the NOP1 receptor and nociceptin alters CART and AgRP release. **Endocrinology**, v. 146, n. 8, p. 3526-34, Aug 2005.

BEYSEN, C. et al. Interaction between specific fatty acids, GLP-1 and insulin secretion in humans. **Diabetologia**, v. 45, n. 11, p. 1533-41, Nov 2002.

BORGSTROM, B. et al. Studies of intestinal digestion and absorption in the human. **J Clin Invest**, v. 36, n. 10, p. 1521-36, Oct 1957.

BOSKOU, D. **Olive Oil: Chemistry and Technology – AOCS**, 2. ed. Illinois: AOCS Press, 2006

BOYD, K. A. et al. High-fat diet effects on gut motility, hormone, and appetite responses to duodenal lipid in healthy men. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 284, n. 2, p. G188-96, Feb 2003.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. VIGITEL BRASIL 2015 Saúde Suplementar : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília, 2017. Acessado em http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/marco/07/vigitel_saude_suplementar_2015.pdf

BRAY, G. A. Obesity in adults: drug therapy. UpToDate, 2015. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/obesity-in-adults-drug-therapy>.

BRISCOE, C. P. et al. The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids. **J Biol Chem**, v. 278, n. 13, p. 11303-11, Mar 2003.

BROOKES, S. J. et al. Extrinsic primary afferent signalling in the gut. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 10, n. 5, p. 286-96, May 2013.

BROUGHTON, K. S.; WADE, J. W. Total fat and (n-3):(n-6) fat ratios influence eicosanoid production in mice. **J Nutr**, v. 132, n. 1, p. 88-94, Jan 2002.

BROWN, N. J.; RUMSEY, R. D.; READ, N. W. Gastrointestinal adaptation to enhanced small intestinal lipid exposure. **Gut**, v. 35, n. 10, p. 1409-12, Oct 1994.

CALDER, P. C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. **Nutrients**, v. 2, n. 3, p. 355-74, Mar 2010.

CALDER, P. C.; GRIMBLE, R. F. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. **Eur J Clin Nutr**, v. 56 Suppl 3, p. S14-9, Aug 2002.

CANNON WB & LIEB CW. The receptive relaxation of the stomach. **American Journal of Physiology**. v. 29. p. 267e273, Dez 1911.

CASASCHI, A. et al. Increased diacylglycerol acyltransferase activity is associated with triglyceride accumulation in tissues of diet-induced insulin-resistant hyperlipidemic hamsters. **Metabolism**, v. 54, n. 3, p. 403-9, Mar 2005.

CHENG, L. et al. Palmitic acid induces central leptin resistance and impairs hepatic glucose and lipid metabolism in male mice. **J Nutr Biochem**, v. 26, n. 5, p. 541-8, May 2015.

CHOW, C. K. **Fatty acids in food and their health implications**. 3. ed., New York: CRC Press, 2007.

CICERALE, S.; LUCAS, L.; KEAST, R. Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. **Int J Mol Sci**, v. 11, n. 2, p. 458-79, Feb 2010.

CINTRA D.E., YAMADA M., ROGERO M.M. Ácidos graxos poliinsaturados. In: COMINETTI C, ROGERO M M, HORST M. A. **Genômica nutricional**. 1. ed. São Paulo: Manole, 2017.

CINTRA, D. E. et al. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e30571, 2012.

CLEMMENSEN, C. et al. Current and Emerging Treatment Options in Diabetes Care. **Handb Exp Pharmacol**, v. 233, p. 437-59, 2016.

COLQUITT, J. et al. Surgery for morbid obesity. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 4, p. CD003641, Oct 2005.

CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N Engl J Med**, v. 334, n. 5, p. 292-5, Feb 1996.

CORDEIRA, J. W. et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates hedonic feeding by acting on the mesolimbic dopamine system. **J Neurosci**, v. 30, n. 7, p. 2533-41, Feb 2010.

COSTA, N. M. B; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: Componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.

COTTRELL, R. C. Introduction: nutritional aspects of palm oil. **Am J Clin Nutr**, v. 53, n. 4 Suppl, p. 989S-1009S, Apr 1991.

COVAS, M. I. Bioactive effects of olive oil phenolic compounds in humans: reduction of heart disease factors and oxidative damage. **Inflammopharmacology**, v. 16, n. 5, p. 216-8, Oct 2008.

COVAS, M. I. Olive oil and the cardiovascular system. **Pharmacol Res**, v. 55, n. 3, p. 175-86, Mar 2007.

COVASA, M.; RITTER, R. C. Adaptation to high-fat diet reduces inhibition of gastric emptying by CCK and intestinal oleate. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 278, n. 1, p. R166-70, Jan 2000.

COWLEY, M. A. et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. **Nature**, v. 411, n. 6836, p. 480-4, May 2001.

CUMMINGS, D. E.; OVERDUIN, J. Gastrointestinal regulation of food intake. **J Clin Invest**, v. 117, n. 1, p. 13-23, Jan 2007.

D'AGOSTINO et al. Appetite controlled by a cholecystokinin nucleus of the solitary tract to hypothalamus neurocircuit. **ELife**. v. 5, p. e12225, 2016.

DAUN JK. et al. Structure, composition, and variety development of flaxseed In: Thompson LU, Cunnane SC. (Eds.). **Flaxseed in Human Nutrition**. 2. ed. Champaign: AOCS Press; 2003. p. 1-40.

DE LARTIGUE, G. Role of the vagus nerve in the development and treatment of diet-induced obesity. **J Physiol**, v. 594, n. 20, p. 5791-5815, Oct 2016.

De LUCA ,C. ,KOWALSKI, T.J., ZHANG, Y., ELMQUIST, J.K., LEE, C., KILIMANN, M. W., et al. Complete rescue of obesity, diabetes, and infertility in db/db mice by neuron-specific LEPR-B transgenes. **J. Clin.Invest**. v.115, n.12, p. 3484–3493, 2005.

DE SOUZA, C. T. et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. **Endocrinology**, v. 146, n. 10, p. 4192-9, Oct 2005.

DEPOORTERE, I. Taste receptors of the gut: emerging roles in health and disease. **Gut**, v. 63, n. 1, p. 179-90, Jan 2014.

DERR, J. et al. The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: II. The plasma total and low-density lipoprotein cholesterol response of individual fatty acids. **Metabolism**, v. 42, n.1, p. 130–134, Jan 1993.

EDEM, D. O. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: a review. **Plant Foods Hum Nutr**, v. 57, n. 3-4, p. 319-41, 2002.

EDFALK, S.; STENEBERG, P.; EDLUND, H. Gpr40 is expressed in enteroendocrine cells and mediates free fatty acid stimulation of incretin secretion. **Diabetes**, v. 57, n. 9, p. 2280-7, Sep 2008.

EL-ASSAAD, W. et al. Saturated fatty acids synergize with elevated glucose to cause pancreatic beta-cell death. **Endocrinology**, v. 144, n. 9, p. 4154-63, Sep 2003.

EMKEN, E. A.; ADLOF, R. O.; GULLEY, R. M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochim Biophys Acta**, v. 1213, n. 3, p. 277-88, Aug 1994.

ERBAY, E. et al. Reducing endoplasmic reticulum stress through a macrophage lipid chaperone alleviates atherosclerosis. **Nat Med**, v. 15, n. 12, p. 1383-91, Dec 2009.

ESTRUCH, R. et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. **N Engl J Med**, v. 368, n. 14, p. 1279-90, Apr 2013.

FALKÉN, Y. et al. Changes in glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity at day three, two months, and one year after surgery: role of gut peptides. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7, p. 2227-35, Jul 2011.

FARIA, A. M., MANCINI, M.C., MELO, M.E., CERCATO, C., HALPERN, Progressos recentes e novas perspectivas em farmacoterapia da obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.54, n.6, p.516-529, 2010.

FEINLE, C. et al. Effects of fat digestion on appetite, APD motility, and gut hormones in response to duodenal fat infusion in humans. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 284, n. 5, p. G798-807, May 2003.

FEINLE, C.; D'AMATO, M.; READ, N. W. Cholecystokinin-A receptors modulate gastric sensory and motor responses to gastric distension and duodenal lipid. **Gastroenterology**, v. 110, n. 5, p. 1379-85, May 1996.

FEINLE-BISSET, C. et al. Fat digestion is required for suppression of ghrelin and stimulation of peptide YY and pancreatic polypeptide secretion by intraduodenal lipid. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 289, n. 6, p. E948-53, Dec 2005.

FELTRIN, K. L. et al. Comparative effects of intraduodenal infusions of lauric and oleic acids on antropyloroduodenal motility, plasma cholecystokinin and peptide YY, appetite, and energy intake in healthy men. **Am J Clin Nutr**, v. 87, n. 5, p. 1181-7, May 2008.

FELTRIN, K. L. Effect of fatty acid chain length on suppression of ghrelin and stimulation of PYY, GLP-2 and PP secretion in healthy men. **Peptides**, v. 27, n. 7, p. 1638-43, Jul 2006.

FELTRIN, K. L. et al. Effects of intraduodenal fatty acids on appetite, antropyloroduodenal motility, and plasma CCK and GLP-1 in humans vary with their chain length. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 287, n. 3, p. R524-33, Sep 2004.

FLINT, A. et al. The effect of physiological levels of glucagon-like peptide-1 on appetite, gastric emptying, energy and substrate metabolism in obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, n. 6, p. 781-92, Jun 2001.

FLOCK, G. et al. Incretin receptors for glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide are essential for the sustained metabolic actions of vildagliptin in mice. **Diabetes**, v. 56, n. 12, p. 3006-13, Dec 2007.

FRASER, R. J. et al. Hyperglycaemia slows gastric emptying in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 33, n. 11, p. 675-80, Nov 1990.

FURNESS, J. B. et al. The gut as a sensory organ. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 10, n. 12, p. 729-40, Sep 2013.

GIGON, F.; JEUNE, R. LE. Huile d'olive, *Olea europaea* L. **Phytothérapie**, v. 8, n.2, p. 129-135, 2010.

GIL, A. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. **Biomed Pharmacother**, v. 56, n. 8, p. 388-96, Oct 2002.

GÓMEZ CANDELA, C.; BERMEJO LÓPEZ, L. M.; LORIA KOHEN, V. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health: nutritional recommendations. **Nutr Hosp**, v. 26, n. 2, p. 323-9, 2011 Mar-Apr 2011.

GRAHAM, M. et al. Overexpression of Agtr leads to obesity in transgenic mice. **Nat Genet**, v. 17, n. 3, p. 273-4, Nov 1997.

GRILL, H. J.; HAYES, M. R. Hindbrain neurons as an essential hub in the neuroanatomically distributed control of energy balance. **Cell Metab**, v. 16, n. 3, p. 296-309, Sep 2012.

GRUNDY, D. et al. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. **Gastroenterology**, v. 130, n. 5, p. 1391-411, Apr 2006.

GRUNDY, D. Signalling the state of the digestive tract. **Auton Neurosci**, v. 125, n. 1-2, p. 76-80, Apr 2006.

GRUNDY, S. M.; VEGA, G. L. Plasma cholesterol responsiveness to saturated fatty acids. **Am J Clin Nutr**, v. 47, n. 5, p. 822-4, May 1988.

GUIMARÃES, R. C. A., MACEDO, M. L. R., MUNHOZ, C. L., FILIU, W., VIANA, L. H., NOZAKI, V. T., & HIANE, P. A. Sesame and flaxseed oil: nutritional quality and effects on serum lipids and glucose in rats. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 209-217, 2013.

HANSEN, M. K.; KRUEGER, J. M. Subdiaphragmatic vagotomy blocks the sleep- and fever-promoting effects of interleukin-1beta. **Am J Physiol**, v. 273, n. 4 Pt 2, p. R1246-53, Oct 1997.

HARROLD, J. A. et al. CNS regulation of appetite. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 1, p. 3-17, Jul 2012.

HEDDLE, R. et al. Antropyloroduodenal motor responses to intraduodenal lipid infusion in healthy volunteers. **Am J Physiol**, v. 254, n. 5 Pt 1, p. G671-9, May 1988a.

HEDDLE, R. et al. Topography and measurement of pyloric pressure waves and tone in humans. **Am J Physiol**, v. 255, n. 4 Pt 1, p. G490-7, Oct 1988b.

HEGYI, K. et al. Leptin-induced signal transduction pathways. **Cell Biol Int**, v. 28, n. 3, p. 159-69, 2004.

HELLSTRÖM, P. M.; GRYBÄCK, P.; JACOBSSON, H. The physiology of gastric emptying. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, v. 20, n. 3, p. 397-407, Sep 2006.

HILL, J. W.; FAULKNER, L. D. The Role of the Melanocortin System in Metabolic Disease: New Developments and Advances. **Neuroendocrinology**, v. 104, n. 4, p. 330-346, 2017.

HOLZER, P. et al. The gut as a neurological organ. **Wien Klin Wochenschr**, v. 113, n. 17-18, p. 647-60, Sep 2001.

HOLZER, P.; REICHMANN, F.; FARZI, A. Neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide in the gut-brain axis. **Neuropeptides**, v. 46, n. 6, p. 261-74, Dec 2012.

HORNER, K. M. et al. The effects of weight loss strategies on gastric emptying and appetite control. **Obes Rev**, v. 12, n. 11, p. 935-51, Nov 2011.

HUNT, J. N.; KNOX, M. T. A relation between the chain length of fatty acids and the slowing of gastric emptying. **J Physiol**, v. 194, n. 2, p. 327-36, Feb 1968.

IAKOUBOV, R. et al. Essential role for protein kinase C ζ in oleic acid-induced glucagon-like peptide-1 secretion in vivo in the rat. **Endocrinology**, v. 152, n. 4, p. 1244-52, Apr 2011.

ILNYTSKA, O.; ARGYROPOULOS, G. The role of the Agouti-Related Protein in energy balance regulation. **Cell Mol Life Sci**, v. 65, n. 17, p. 2721-31, Sep 2008.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington: National Academy Press, 2005. p.422-541.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF OBESITY. Adult overweight and obesity in the European Union (EU27). London: IASO; 2012. Disponível em: <http://www.iaso.org/resources/world-map-obesity/> (Acessado em novembro de 2013).

ITOH, Y. et al. Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. **Nature**, v. 422, n. 6928, p. 173-6, Mar 2003.

JANSSEN, P. et al. Review article: the role of gastric motility in the control of food intake. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 33, n. 8, p. 880-94, Apr 2011.

JO, Y. H. et al. Oleic acid directly regulates POMC neuron excitability in the hypothalamus. **J Neurophysiol**, v. 101, n. 5, p. 2305-16, May 2009.

JOSKI, S.K., GEBHART, G.T. Visceral pain. *Curr. Rev Pain*. v. 4, n.6, p. 499-506. 2000.

KAVIANI, S.; COOPER, J. A. Appetite responses to high-fat meals or diets of varying fatty acid composition: a comprehensive review. **Eur J Clin Nutr**, Jan 2017.

KONTUREK, S. J. et al. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. **J Physiol Pharmacol**, v. 55, n. 1 Pt 2, p. 137-54, Mar 2004.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 635-43, Apr 2000.

KOSTIC, M. D. et al. The kinetics and thermodynamics of hempseed oil extraction by n-hexane. **Ind. Crop. Prod**, v. 52, p. 679-686, Jan 2014.

KOZIMOR, A.; CHANG, H.; COOPER, J. A. Effects of dietary fatty acid composition from a high fat meal on satiety. **Appetite**, v. 69, p. 39-45, Oct 2013.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Dietary stearic acid and risk of cardiovascular disease: intake, sources, digestion, and absorption. **Lipids**, v. 40, n. 12, p. 1193-200, Dec 2005.

LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. et al. Interaction of olive oil phenol antioxidant components with low-density lipoprotein. **Biol Res**, v. 37, n. 2, p. 247-52, 2004.

LANE, K. et al. Bioavailability and potential uses of vegetarian sources of omega-3 fatty acids: a review of the literature. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 54, n. 5, p. 572-9, 2014.

LANGHANS W., Kuns U., Scharrer E. hepatic vagotomy increases consumption of a novel-tasting diet presented immediately after surgery. **Physiology & Behavior**, v. 46, n. 4, p. 671-678, Oct 1989.

LANGLET, F. Tanycytes: a gateway to the metabolic hypothalamus. **J Neuroendocrinol**, v. 26, n. 11, p. 753-60, Nov 2014.

LARSEN, P. J. et al. Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. **Neuroscience**, v. 77, n. 1, p. 257-70, Mar 1997.

LASSMAN DJ, et al. Defining the role of cholecystokinin in the lipid-induced human brain activation matrix. **Gastroenterology**, v.138, n. 4, p. 1514–1524, Apr 2010.

LAWTON, C. L. et al. The degree of saturation of fatty acids influences post-ingestive satiety. **Br J Nutr**, v. 83, n. 5, p. 473-82, May 2000.

LEE, H. P. et al. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. **Lancet**, v. 337, n. 8751, p. 1197-200, May 1991.

LEE, K. W.; LIP, G. Y. The role of omega-3 fatty acids in the secondary prevention of cardiovascular disease. **QJM**, v. 96, n. 7, p. 465-80, Jul 2003.

LEVY-COSTA, R. B. et al. Household food availability in Brazil: distribution and trends (1974-2003). **Revista de Saúde Pública**. v.39, n.4, p. 530-540, 2006.

LIDDLE, R. A. et al. Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. **J Clin Invest**, v. 75, n. 4, p. 1144-52, Apr 1985.

LIEVERSE, R. J. et al. Satiety effects of a physiological dose of cholecystokinin in humans. **Gut**, v. 36, n. 2, p. 176-9, Feb 1995.

LIN, J. et al. Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1 β coactivation of SREBP. **Cell**, v. 120, n. 2, p. 261-73, Jan 2005.

LITTLE, T. J. et al. Free fatty acids have more potent effects on gastric emptying, gut hormones and appetite than triacylglycerides. **Gastroenterology**, v. 133, n. 4, p. 1124-1131, Oct 2007.

LITTLE, T. J.; FEINLE-BISSET, C. Oral and gastrointestinal sensing of dietary fat and appetite regulation in humans: modification by diet and obesity. **Front Neurosci**, v. 4, p. 178, 2010.

LYONS, W. E. et al. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic

abnormalities. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 26, p. 15239-44, Dec 1999.

MADAWALA, S.R.P.; KOCHHAR, S.P.; DUTTA, P. C. Lipid components and oxidative status of selected specialty oils. **Grasas y aceites**, v. 63, n. 2, p. 143-151, 2012.

MADSBAD, S. The role of glucagon-like peptide-1 impairment in obesity and potential therapeutic implications. **Diabetes Obes Metab**, v. 16, n. 1, p. 9-21, Jan 2014.

MADSEN, L. et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. **Lipids**, v. 34, n. 9, p. 951-63, Sep 1999.

MAEJIMA, Y. et al. Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia through a leptin-independent melanocortin pathway. **Cell Metab**, v. 10, n. 5, p. 355-65, Nov 2009.

MAINS, R. E.; BLOOMQUIST, B. T.; EIPPER, B. A. Manipulation of neuropeptide biosynthesis through the expression of antisense RNA for peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase. **Mol Endocrinol**, v. 5, n. 2, p. 187-93, Feb 1991.

MALHI, H. et al. Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. **J Biol Chem**, v. 281, n. 17, p. 12093-101, Apr 2006.

MALJAARS, J. et al. Effect of fat saturation on satiety, hormone release, and food intake. **Am J Clin Nutr**, v. 89, n. 4, p. 1019-24, Apr 2009.

MARATHE, C. S. et al. Relationships between gastric emptying, postprandial glycemia, and incretin hormones. **Diabetes Care**, v. 36, n. 5, p. 1396-405, May 2013.

MARTIN AC. et. al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6, importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**. v.19, n. 6, p.761-770, 2006.

MCKENNEY, J. M.; SICA, D. Prescription omega-3 fatty acids for the treatment of hypertriglyceridemia. **Am J Health Syst Pharm**, v. 64, n. 6, p. 595-605, Mar 2007.

MCLAUGHLIN, J. et al. Fatty acid chain length determines cholecystokinin secretion and effect on human gastric motility. **Gastroenterology**, v. 116, n. 1, p. 46-53, Jan 1999.

MEEK, T. H. et al. BDNF action in the brain attenuates diabetic hyperglycemia via insulin-independent inhibition of hepatic glucose production. **Diabetes**, v. 62, n. 5, p. 1512-8, May 2013.

MENSINK, R. P. et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **Am J Clin Nutr**, v. 77, n. 5, p. 1146-55, May 2003.

MILANSKI, M. et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. **J Neurosci**, v. 29, n. 2, p. 359-70, Jan 2009.

MILLER, W. C. et al. Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women. **Am J Clin Nutr**, v. 52, n. 3, p. 426-30, Sep 1990.

MIYAUCHI, S. et al. New frontiers in gut nutrient sensor research: free fatty acid sensing in the gastrointestinal tract. **J Pharmacol Sci**, v. 112, n. 1, p. 19-24, 2010.

MORAES, J. C. et al. High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons. **PLoS One**, v. 4, n. 4, p. e5045, Apr 2009.

MORAN, T. H. Gut peptide signaling in the controls of food intake. **Obesity** (Silver Spring), v. 14 Suppl 5, p. 250S-253S, Aug 2006.

MORAN, T. H.; DAILEY, M. J. Minireview: Gut peptides: targets for antiobesity drug development? **Endocrinology**, v. 150, n. 6, p. 2526-30, Jun 2009.

MORRIS DH, Vaisey-Genser M. Flaxseed. **Enc Food Sci Nutr**. v. 10, n. 2, p. 2525-3, 2003.

MORRIS DH. **Flax- A Health and Nutrition Primer**. 4. ed. Winnipeg: Flax Council of Canada; 2007.

MORTON, G. J. et al. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, v. 443, n. 7109, p. 289-95, Sep 2006.

MURPHY, K. G.; DHILLO, W. S.; BLOOM, S. R. Gut peptides in the regulation of food intake and energy homeostasis. **Endocr Rev**, v. 27, n. 7, p. 719-27, Dec 2006.

MURRAY, C. J.; LOPEZ, A. D. Measuring the global burden of disease. **N Engl J Med**, v. 369, n. 5, p. 448-57, Aug 2013.

MYERS, M. G. et al. The geometry of leptin action in the brain: more complicated than a simple ARC. **Cell Metab**, v. 9, n. 2, p. 117-23, Feb 2009.

NASCIMENTO, S. Tecnologia de PCR e RT-PCR em tempo real e suas aplicações na área médica. **RBM**, v.67, p. 7-19, Nov 2010.

NAUCK M. et al. Efficacy and safety comparison of liraglutide, glimepiride, and placebo, all in combination with metformin, in type 2 diabetes. **Diabetes Care**; v. 32, n.1, p. 84 - 90, 2009.

NCD-RISC, N. R. F. C. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. **Lancet**, v. 387, n. 10026, p. 1377-1396, Apr 2016.

NICOLOSI, R. J. et al. Effect of dietary fat saturation and cholesterol on LDL composition and metabolism. In vivo studies of receptor and nonreceptor-mediated catabolism of LDL in cebus monkeys. **Arteriosclerosis**, v. 10, n. 1, p. 119-28, 1990 Jan-Feb 1990.

NOLAN, C. J. et al. Beta cell compensation for insulin resistance in Zucker fatty rats: increased lipolysis and fatty acid signalling. **Diabetologia**, v. 49, n. 9, p. 2120-30, Sep 2006.

NOVELLO, D.; POLLONIO, M. A. R. Caracterização físico-química e microbiológica da linhaça dourada e marrom (*Linum usitatissimum* L.). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.2, p. 291-300, 2012.

OBICI, S. et al. Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. **Diabetes**, v. 51, n. 2, p. 271-5, Feb 2002.

O'DONOVAN, D. et al. Lipase inhibition attenuates the acute inhibitory effects of oral fat on food intake in healthy subjects. **Br J Nutr**, v. 90, n. 5, p. 849-52, Nov 2003.

OGDEN, C. L. et al. The epidemiology of obesity. **Gastroenterology**, v. 132, n. 6, p. 2087-102, May 2007.

OH, Y. T. et al. Circulating free fatty acids inhibit food intake in oleate-specific manner in rats. **Physiology & Behavior**, v. 167, n. 1, p. 194-201, Dec 2016.

OLIVEIRA, C.G. **Absorção de macronutrientes e de energia em indivíduos saudáveis após o consumo de linhaça e derivados**. 2006. [Dissertação de Mestrado em Ciências da Nutrição]. Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição. Viçosa, 2006.

OLIVEIRA, V. et al. Diets Containing α -Linolenic (ω 3) or Oleic (ω 9) Fatty Acids Rescues Obese Mice From Insulin Resistance. **Endocrinology**, v. 156, n. 11, p. 4033-46, Nov 2015.

OLLMANN, M. M. et al. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. **Science**, v. 278, n. 5335, p. 135-8, Oct 1997.

OOMAH B. D. Flaxseed as a functional food source. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.81, n.9, p.889-894, 2001.

OOMAH BD, DER TJ, GODFREY DV. Thermal characteristics of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) proteins. **Food Chem**. v. 98, n. 4, p. 733-41, 2006

OPARA, E. C. et al. Effect of fatty acids on insulin release: role of chain length and degree of unsaturation. **Am J Physiol**, v. 266, n. 4 Pt 1, p. E635-9, Apr 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: WHO; 2011.

OVEISI, F. et al. Oleoylethanolamide inhibits food intake in free-feeding rats after oral administration. **Pharmacol Res**, v. 49, n. 5, p. 461-6, May 2004.

PARK, J. H. et al. Fatty diets retarded the propulsive function of and attenuated motility in the gastrointestinal tract of rats. **Nutr Res**, v. 33, n. 3, p. 228-34, Mar 2013.

PARKER, H. E. et al. Nutrient-dependent secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide from primary murine K cells. **Diabetologia**, v. 52, n. 2, p. 289-298, Feb 2009.

PEREIRA, C.; LI, D.; SINCLAIR, A. J. The alpha-linolenic acid content of green vegetables commonly available in Australia. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 71, n. 4, p. 223-8, Jul 2001.

PEREIRA-LANCHA, L. O. et al. Body fat regulation: is it a result of a simple energy balance or a high fat intake? **J Am Coll Nutr**, v. 29, n. 4, p. 343-51, Aug 2010.

PÉREZ-JIMÉNEZ, F. et al. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. **Mol Nutr Food Res**, v. 51, n. 10, p. 1199-208, Oct 2007.

PILICHIEWICZ, A. et al. Effect of lipase inhibition on gastric emptying of, and the glycemic and incretin responses to, an oil/aqueous drink in type 2 diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 8, p. 3829-34, Aug 2003.

PILICHIEWICZ, A. N. et al. Effects of load, and duration, of duodenal lipid on antropyloroduodenal motility, plasma CCK and PYY, and energy intake in healthy men. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 290, n. 3, p. R668-77, Mar 2006.

POITOUT, V. et al. Regulation of the insulin gene by glucose and fatty acids. **J Nutr**, v. 136, n. 4, p. 873-6, Apr 2006.

PORTOVEDO, M. et al. Saturated fatty acids modulate autophagy's proteins in the hypothalamus. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0119850, Mar 2015.

POWLEY, T. L.; PHILLIPS, R. J. Gastric satiation is volumetric, intestinal satiation is nutritive. **Physiol Behav**, v. 82, n. 1, p. 69-74, Aug 2004.

PRITCHARD, L. E.; TURNBULL, A. V.; WHITE, A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signalling and obesity. **J Endocrinol**, v. 172, n. 3, p. 411-21, Mar 2002.

QUIGLEY, E. M. et al. Ambulatory intestinal manometry: a consensus report on its clinical role. **Dig Dis Sci**, v. 42, n. 12, p. 2395-400, Dec 1997.

RABEN, A. et al. Diurnal metabolic profiles after 14 d of an ad libitum high-starch, high-sucrose, or high-fat diet in normal-weight never-obese and postobese women. **Am J Clin Nutr**, v. 73, n. 2, p. 177-89, Feb 2001.

RADULESCU, A.; GANNON, M. C.; NUTTALL, F. Q. The effect on glucagon, glucagon-like peptide-1, total and acyl-ghrelin of dietary fats ingested with and without potato. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 7, p. 3385-91, Jul 2010.

RAMCHARITAR, A. et al. Consumer acceptability with Muffind flaxseed (*linum usitatissimum*). **Journal of food Science**, v.70, n.7, p. s504–s507, Set 2005.

RAPOSO LF. Efeitos dos ácidos graxos n-3 e n-6 na expressão de genes do metabolismo d lipídeos e risco de aterosclerose. **Revista de Nutrição**. v.23, n.5 , p.871-879, 2010.

REHFELD, J. F. et al. On the tissue-specific processing of procholecystokinin in the brain and gut--a short review. **J Physiol Pharmacol**, v. 54 Suppl 4, p. 73-9, Dec 2003.

REYNELL, P. C.; SPRAY, G. H. The simultaneous measurement of absorption and transit in the gastro-intestinal tract of the rat. **J Physiol**, v. 131, n. 2, p. 452-62, Feb 1956.

RICCAEDI G., GIACCO R., RIVELLESE A. A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Clin Nutr**, v. 23, n. 4, p.447-56, Aug 2004.

RICHARD, J. E. et al. Activation of the GLP-1 receptors in the nucleus of the solitary tract reduces food reward behavior and targets the mesolimbic system. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0119034, 2015.

ROBERTSON, M. D. et al. Acute ingestion of a meal rich in n-3 polyunsaturated fatty acids results in rapid gastric emptying in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 76, n. 1, p. 232-8, Jul 2002.

RODUIT, R. et al. A role for the malonyl-CoA/long-chain acyl-CoA pathway of lipid signaling in the regulation of insulin secretion in response to both fuel and nonfuel stimuli. **Diabetes**, v. 53, n. 4, p. 1007-19, Apr 2004.

ROMERO, F. et al. Comparable early changes in gastrointestinal hormones after sleeve gastrectomy and Roux-En-Y gastric bypass surgery for morbidly obese type 2 diabetic subjects. **Surg Endosc**, v. 26, n. 8, p. 2231-9, Aug 2012.

RUSSO, A. et al. Insulin-induced hypoglycemia accelerates gastric emptying of solids and liquids in long-standing type 1 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 8, p. 4489-95, Aug 2005.

SÁINZ, N. et al. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin. **Metabolism**, v. 64, n. 1, p. 35-46, Jan 2015.

SAKURAI, T. et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. **Cell**, v. 92, n. 5, p. 1 page following 696, Mar 1998.

SAM, A. H. et al. The role of the gut/brain axis in modulating food intake. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 1, p. 46-56, Jul 2012.

SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. The fate and intermediary metabolism of stearic acid. **Lipids**, v. 40, n. 12, p. 1187-91, Dec 2005.

SÁNCHEZ-LASHERAS, C.; KÖNNER, A. C.; BRÜNING, J. C. Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. **Front Neuroendocrinol**, v. 31, n. 1, p. 4-15, Jan 2010.

SANTANA, L. F. et al. Coconut oil increases HDL-c and decreases triglycerides in wistar rats. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 38, n. 2, p. 185-190, Jul 2016.

SARRIS, A.; Food and Agriculture Organization of the United Nations. Medium-Term Prospects for Agricultural Commodities: Projections to the Year 2010.

SCHWARTZ, G. J. et al. The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety. **Cell Metab**, v. 8, n. 4, p. 281-8, Oct 2008.

SCHWARTZ, G. J. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. **Nutrition**, v. 16, n. 10, p. 866-73, Oct 2000.

SCHWARTZ, M. W. et al. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 661-71, Apr 2000.

SCHWARTZ, M. W. et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. **Diabetes**, v. 45, n. 4, p. 531-5, Apr 1996.

SCHWINKENDORF, D. R. et al. Effects of central administration of distinct fatty acids on hypothalamic neuropeptide expression and energy metabolism. **Int J Obes (Lond)**, v. 35, n. 3, p. 336-44, Mar 2011.

SEN, C. K.; RINK, C.; KHANNA, S. Palm oil-derived natural vitamin E alpha-tocotrienol in brain health and disease. **J Am Coll Nutr**, v. 29, n. 3 Suppl, p. 314S-323S, Jun 2010.

SERRA-MAJEM, L. et al. Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rhetoric. **Eur J Clin Nutr**, v. 57 Suppl 1, p. S2-7, Sep 2003.

SERVILI, M. et al. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. **Inflammopharmacology**, v. 17, n. 2, p. 76-84, Apr 2009.

SHIMADA, M. et al. Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. **Nature**, v. 396, n. 6712, p. 670-4, Dec 1998.

SIMOPOULOS AP. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. **Asia Pacific J Clin Nutr**. v. 11, n. 6, p. S163-73, 2002.

SIMOPOULOS AP. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Rev Inter**. v. 20, n. 1, p. 77-90, 2004

SIMPSON, K.A; MARTIN, N.M; BLOOM, S.R. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.53, n.2, p.120-128, 2009.

SMITH, G.P. **Satiation: from gut to brain**. 1. ed. New York: Oxford University Press, 1998. 291 pp.

SOHN, J. W. Network of hypothalamic neurons that control appetite. **BMB Rep**, v. 48, n. 4, p. 229-33, Apr 2015.

SOYBEL, D. I. Anatomy and physiology of the stomach. **Surg Clin North Am**, v. 85, n. 5, p. 875-94, v, Oct 2005.

SRINIVASAN, S. et al. Constitutive activity of the melanocortin-4 receptor is maintained by its N-terminal domain and plays a role in energy homeostasis in humans. **J Clin Invest**, v. 114, n. 8, p. 1158-64, Oct 2004.

STEIN, D. T. et al. Essentiality of circulating fatty acids for glucose-stimulated insulin secretion in the fasted rat. **J Clin Invest**, v. 97, n. 12, p. 2728-35, Jun 1996.

STURM, K. et al. Energy intake and appetite are related to antral area in healthy young and older subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 80, n. 3, p. 656-67, Sep 2004.

SUBROTO, E. et al. Mechanical extraction of oil from *Jatropha curcas* L. kernel: Effect of processing parameters. **Ind. Crop. Prod**, v.63, p. 303-310, Jan 2015.

SUGANAMI, T. et al. Role of the Toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 27, n. 1, p. 84-91, Jan 2007.

SUNDRAM, K.; SAMBANTHAMURTHI, R.; TAN, Y. A. Palm fruit chemistry and nutrition. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 12, n. 3, p. 355-62, 2003.

SUZUKI, K.. SIMPSON, K.A; MINNION, J.S; SHILLITO, J.C.; BLOOM, S.R. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. **Endocrine Journal**, v.57, n.5, p.359-372, 2010.

THOMSEN, C. et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fats on postprandial lipemia and glucagon-like peptide 1 responses in patients with type 2 diabetes. **Am J Clin Nutr**, v. 77, n. 3, p. 605-11, Mar 2003.

TRUCOM C. **A importância da linhaça na saúde**. 1. ed. São Paulo: Alaúde; 2006. p.152.

TURATTI, J. M. A importância dos ovos numa dieta saudável. **Óleos e Grãos**, v. 9, n. 59, p. 22-24, 2001.

UENO H, NAKAZATO M. Mechanistic relationship between the vagal afferent pathway, central nervous system and peripheral organs in appetite regulation. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 7, n. 6, p. 812-818, Nov 2016.

VAHL, T. P. et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors expressed on nerve terminals in the portal vein mediate the effects of endogenous GLP-1 on glucose tolerance in rats. **Endocrinology**, v. 148, n. 10, p. 4965-73, Oct 2007.

VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 18, n. 2, p. 158-68, Feb 2008.

VALDEARCOS, M.; XU, A. W.; KOLIWAD, S. K. Hypothalamic inflammation in the control of metabolic function. **Annu Rev Physiol**, v. 77, p. 131-60, 2015.

VEGA-LÓPEZ, S. et al. Palm and partially hydrogenated soybean oils adversely alter lipoprotein profiles compared with soybean and canola oils in moderately hyperlipidemic subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 84, n. 1, p. 54-62, Jul 2006.

VELLOSO, L. A.; ARAÚJO, E. P.; DE SOUZA, C. T. Diet-induced inflammation of the hypothalamus in obesity. **Neuroimmunomodulation**, v. 15, n. 3, p. 189-93, 2008.

VERDICH, C. et al. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 9, p. 4382-9, Sep 2001.

WANG, D.; WEI, Y.; PAGLIASSOTTI, M. J. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. **Endocrinology**, v. 147, n. 2, p. 943-51, Feb 2006.

WATERSON, M. J.; HORVATH, T. L. Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. **Cell Metab**, v. 22, n. 6, p. 962-70, Dec 2015.

WEISBRODT NW. Gastric Emptying. In: Johnson LR. **Gastrointestinal Physiology**. 1. ed. St Louis: Mosby, 1997, 33-42.

WILLIAMS, E. K. et al. Sensory Neurons that Detect Stretch and Nutrients in the Digestive System. **Cell**, v. 166, n. 1, p. 209-21, Jun 2016.

WILLIAMS, K. W.; ELMQUIST, J. K. From neuroanatomy to behavior: central integration of peripheral signals regulating feeding behavior. **Nat Neurosci**, v. 15, n. 10, p. 1350-5, Oct 2012.

WITTIG, B. M.; ZEITZ, M. The gut as an organ of immunology. **Int J Colorectal Dis**, v. 18, n. 3, p. 181-7, May 2003.

WOOD, J. D.; ALPERS, D. H.; ANDREWS, P. L. Fundamentals of neurogastroenterology. **Gut**, v. 45 Suppl 2, p. II6-II16, Sep 1999.

WOODS, A. G. et al. Deafferentation-induced increases in hippocampal insulin-like growth factor-1 messenger RNA expression are severely attenuated in middle aged and aged rats. **Neuroscience**, v. 83, n. 3, p. 663-8, Apr 1998.

WOODS, S. C. Gastrointestinal satiety signals I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 286, n. 1, p. G7-13, Jan 2004.

WREN, A. M.; BLOOM, S. R. Gut hormones and appetite control. **Gastroenterology**, v. 132, n. 6, p. 2116-30, May 2007.

WU, T. et al. Dietary effects on incretin hormone secretion. **Vitam Horm**, v. 84, p. 81-110, 2010.

WYNNE, K. et al. Appetite control. **J Endocrinol**, v. 184, n. 2, p. 291-318, Feb 2005.

XU, X.; ZHU, H.; CHEN, J. D. Pyloric electrical stimulation reduces food intake by inhibiting gastric motility in dogs. **Gastroenterology**, v. 128, n. 1, p. 43-50, Jan 2005.

ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425-32, Dec 1994.

ZHOU, A.; BLOOMQUIST, B. T.; MAINS, R. E. The prohormone convertases PC1 and PC2 mediate distinct endoproteolytic cleavages in a strict temporal order during proopiomelanocortin biosynthetic processing. **J Biol Chem**, v. 268, n. 3, p. 1763-9, Jan 1993.

APENDICE A- Esquema resumo dos resultados do estudo 2

| | | OL | LI | SO | PA |
|----------------|---------|----|----|----|----|
| Consumo 24h | | ↓ | ↓ | — | — |
| Transito GI | | ↓ | — | — | — |
| EG de liquidos | | ↓ | ↓ | — | — |
| Glicemia | | — | — | — | — |
| NPY | 30 min | — | — | — | ↑ |
| NPY | 180 min | — | — | — | — |
| POMC | 30 min | — | — | — | — |
| POMC | 180 min | — | — | ↑ | ↑ |
| CART | 30 min | — | — | — | ↓ |
| CART | 180 min | — | — | ↓ | ↓ |
| CCKR | 30 min | — | — | — | — |
| CCKR | 180 min | — | — | — | — |
| GLP1R | 30 min | ↓ | ↓ | ↓ | — |
| GLP1R | 180 min | — | — | — | — |
| ObRbR | 30 min | ↓ | — | — | — |
| ObRbR | 180 min | — | — | — | — |
| TRH | 30 min | — | — | — | — |
| TRH | 180 min | — | — | — | — |

Legenda: ↑ = aumento; ↓ = redução; — = não houve diferença significativa.

APENDICE B - Esquema resumo dos resultados do estudo 3

| | | OL | PA |
|-------------|--------|-----------|-----------|
| Consumo 24h | | ↓ | ↓ |
| Transito GI | | — | — |
| NPY | 30 min | ↓ | ↓ |
| POMC | 30 min | — | — |
| CART | 30 min | — | — |
| CCKR | 30 min | — | — |
| ObRbR | 30 min | — | — |
| TRH | 30 min | — | — |

Legenda: ↑ = aumento; ↓ = redução; — = não houve diferença significativa.

ANEXO A- Carta de aprovação do Comitê de Ética Animal



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br




CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “**Efeitos de diferentes fontes de ácidos graxos sobre o crosstalk entre os tecidos do TGI, nervo vago e hipotálamo**”, protocolo nº **025/15**, sob a responsabilidade de **FRANCISCO LEONARDO TORRES LEAL**- que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de Pesquisa Científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data 19/06/2015.

| | |
|---------------------|---|
| Vigência do Projeto | Julho/ 2015 à Dezembro/ 2016 |
| Espécie/ linhagem | Rato heterogênico/ albina |
| Nº de Animais | 1740 |
| Peso/ Idade | 200 g a 220g/ 70 dias |
| Sexo | Machos |
| Origem | Biotério do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da UFPI. |

Teresina, 19 de Junho de 2015.

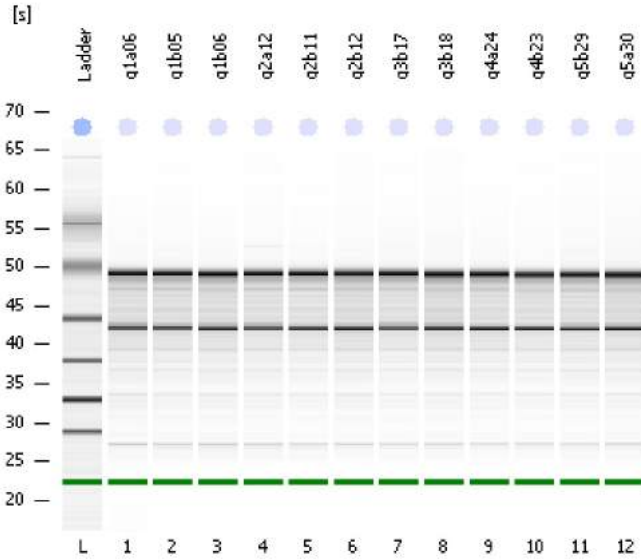

Profª Ivete L. de Mendonça
 Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
 Coordenadora

**ANEXO B – Dados sobre a qualidade e quantidade de RNA
das amostras**

Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: D:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE54704516_2016-05-19_19-30-46.xad

Created: 5/19/2016 7:30:46 PM
 Modified: 5/19/2016 7:54:39 PM

Electrophoresis File Run Summary



Instrument Information:

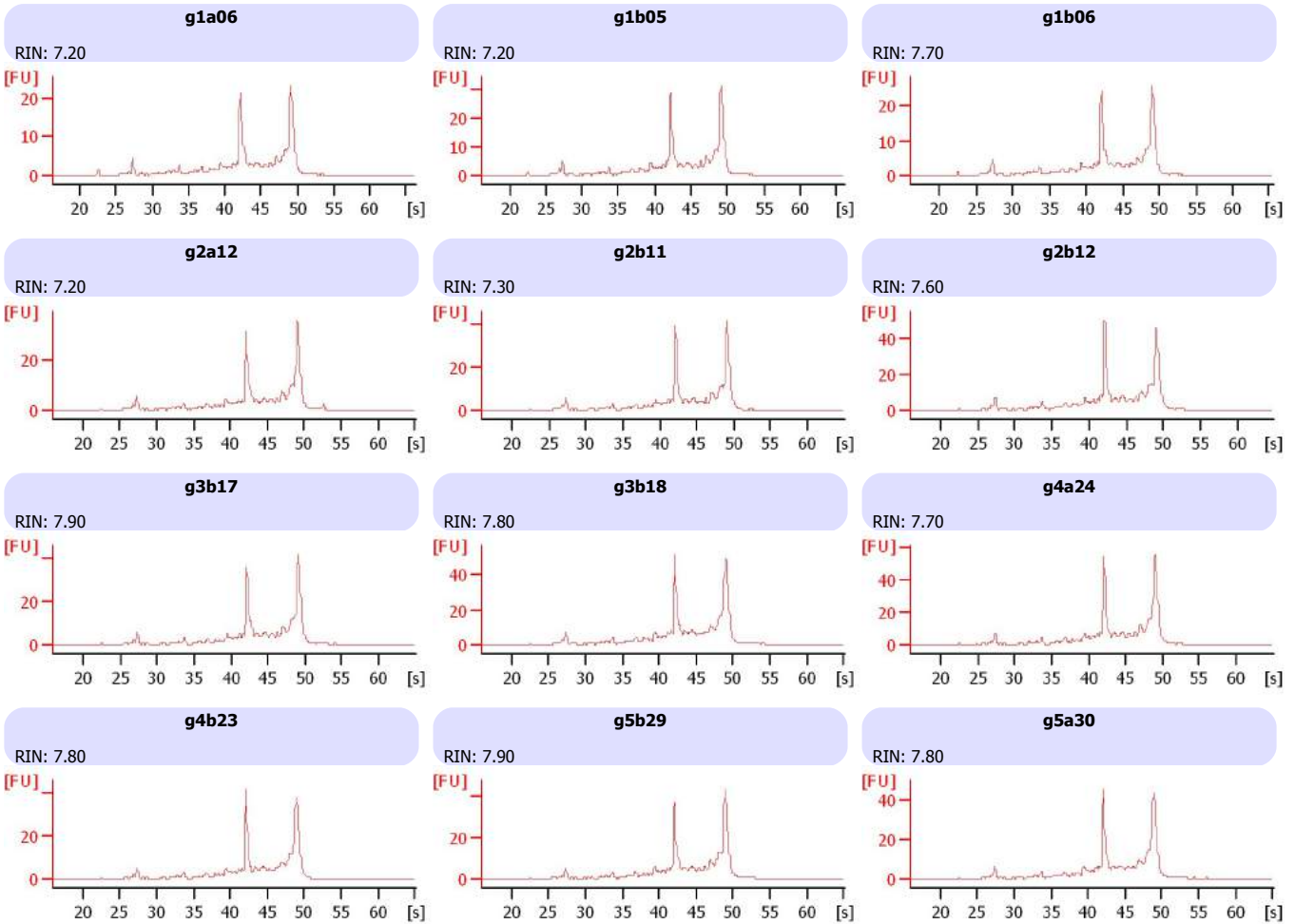
Instrument Name: Pat Mol LIM22 Firmware: C.01.069
 Serial#: DE54704516 Type: G2938C

Assay Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
 Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Version: 2.6
 Assay Comments: Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
 © Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.

Chip Information:

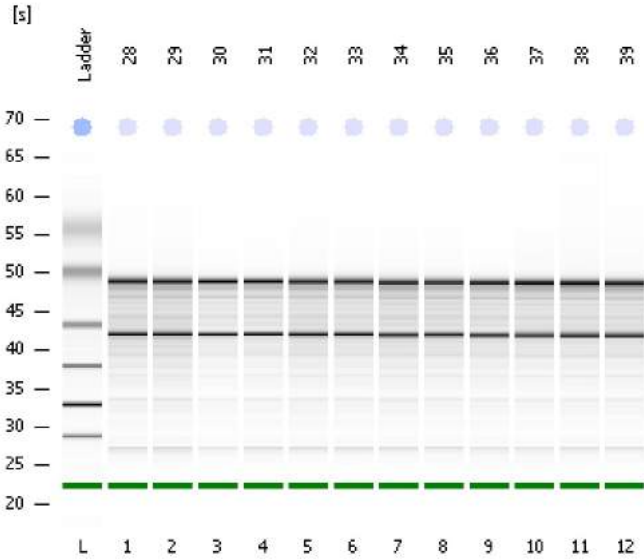
Chip Lot #:
 Reagent Kit Lot #:
 Chip Comments:



Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: D:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE54704516_2016-05-20_02-40-19.xad

Created: 5/20/2016 2:40:18 AM
 Modified: 5/20/2016 3:03:33 AM

Electrophoresis File Run Summary



Instrument Information:

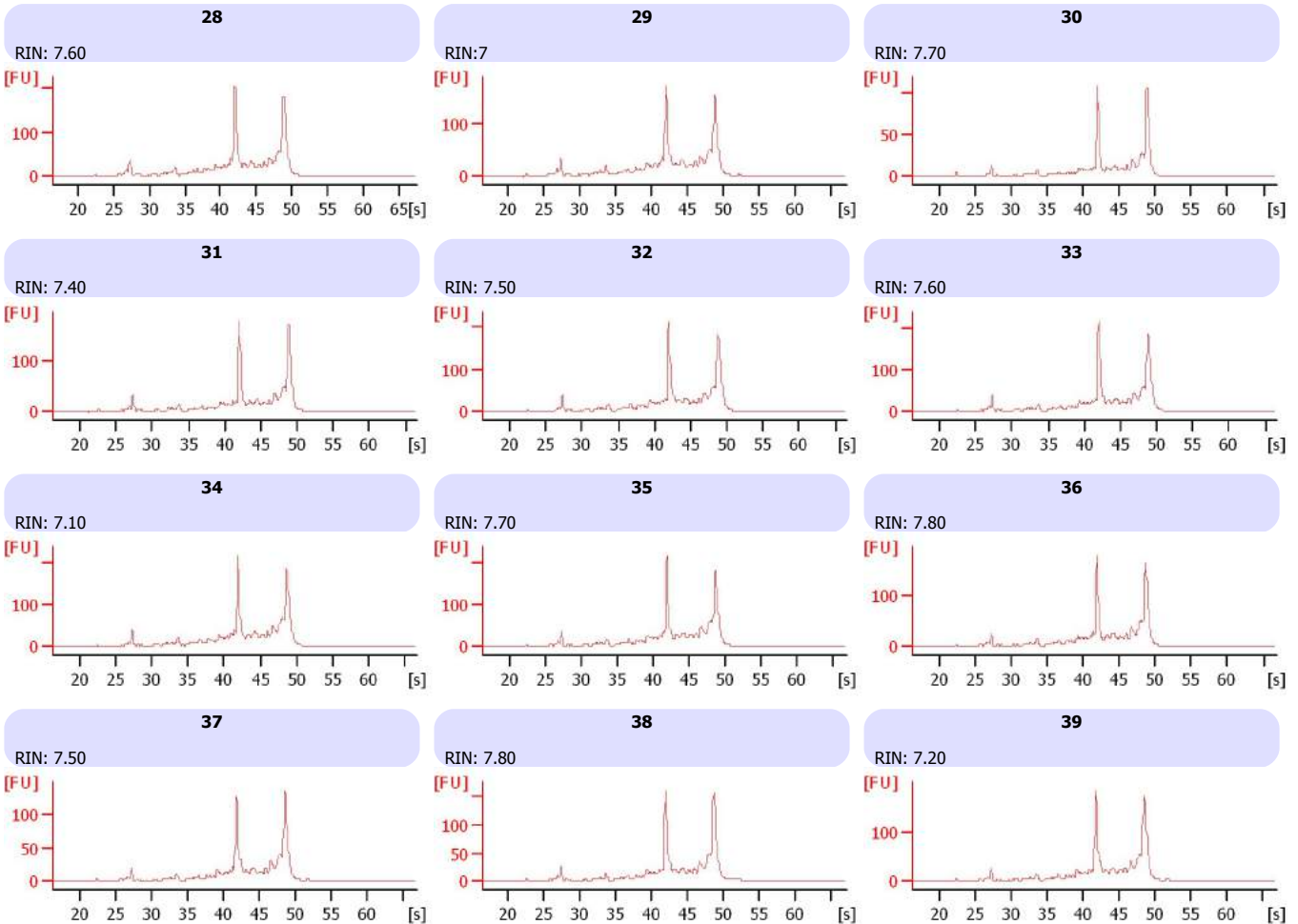
Instrument Name: Pat Mol LIM22 Firmware: C.01.069
 Serial#: DE54704516 Type: G2938C

Assay Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
 Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Version: 2.6
 Assay Comments: Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
 © Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.

Chip Information:

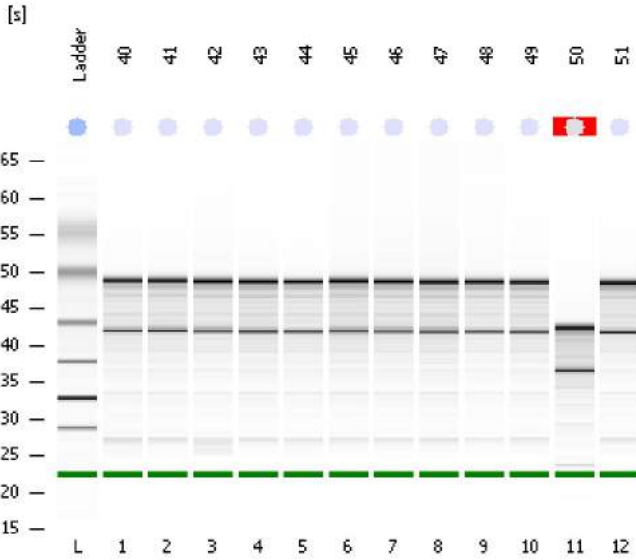
Chip Lot #:
 Reagent Kit Lot #:
 Chip Comments:



Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: D:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE54704516_2016-05-20_03-07-12.xad

Created: 5/20/2016 3:07:11 AM
 Modified: 5/20/2016 3:30:26 AM

Electrophoresis File Run Summary



Instrument Information:

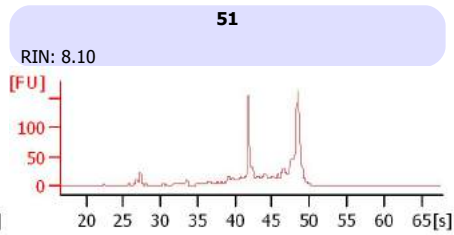
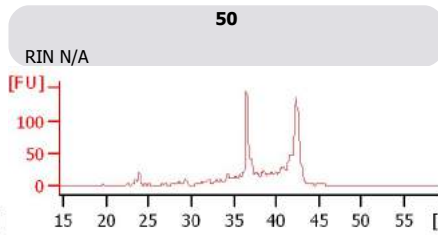
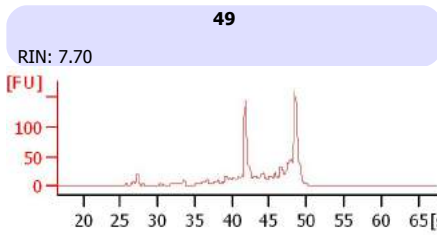
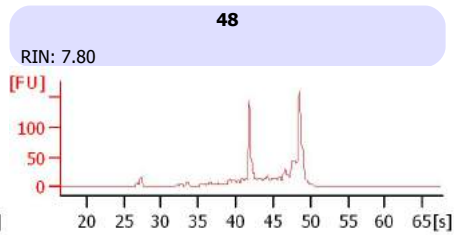
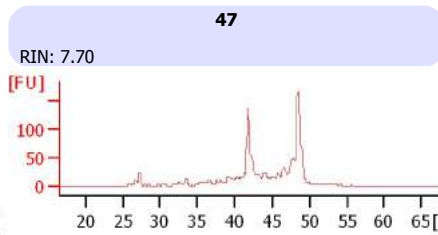
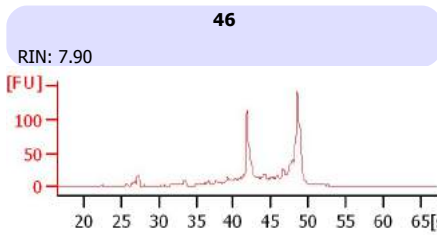
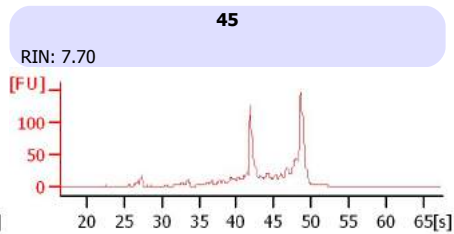
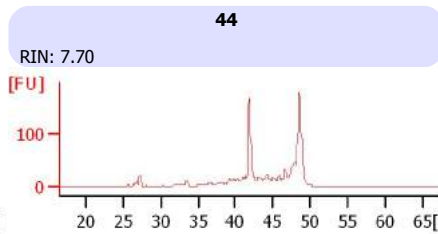
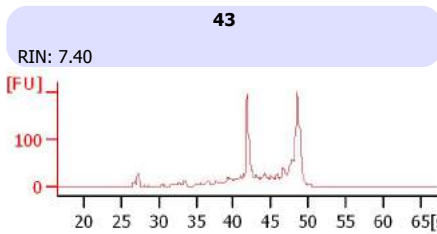
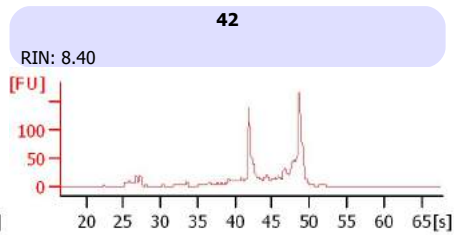
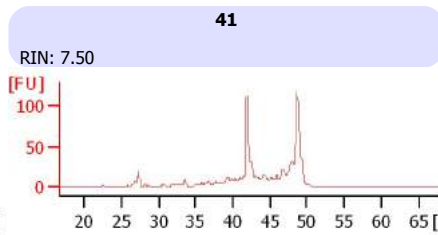
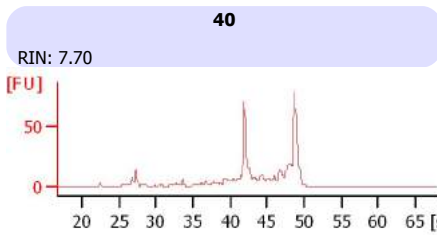
Instrument Name: Pat Mol LIM22 Firmware: C.01.069
 Serial#: DE54704516 Type: G2938C

Assay Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
 Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Version: 2.6
 Assay Comments: Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
 © Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.

Chip Information:

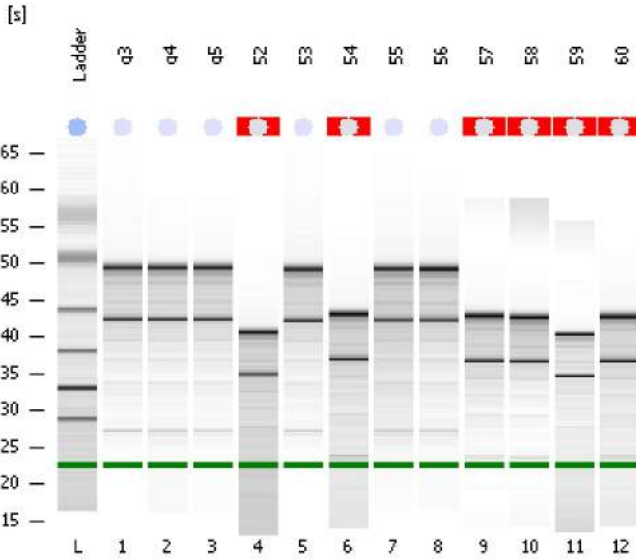
Chip Lot #:
 Reagent Kit Lot #:
 Chip Comments:



Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: D:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE54704516_2016-05-20_13-13-56.xad

Created: 5/20/2016 1:13:55 PM
 Modified: 5/20/2016 1:37:12 PM

Electrophoresis File Run Summary



Instrument Information:

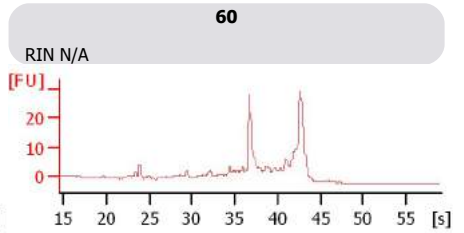
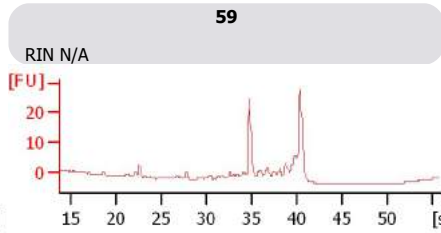
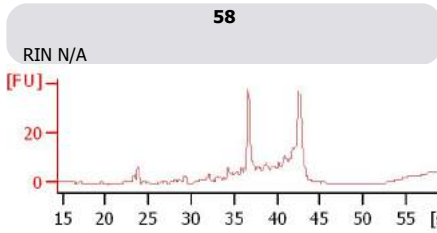
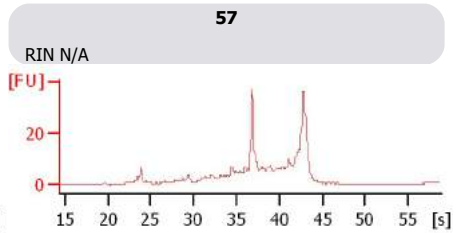
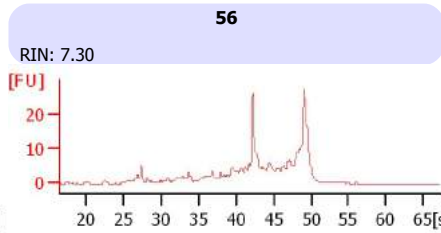
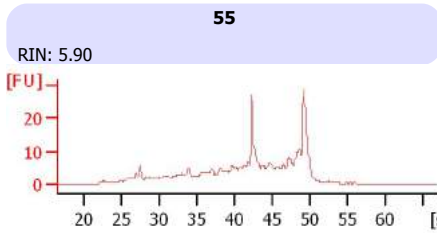
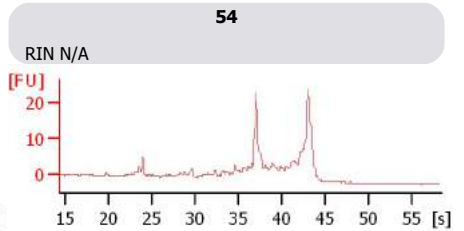
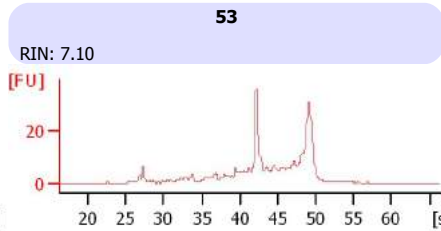
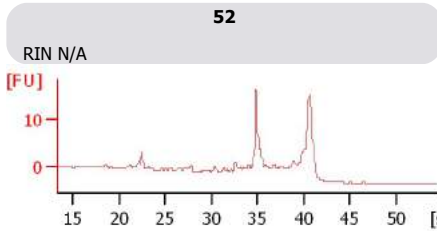
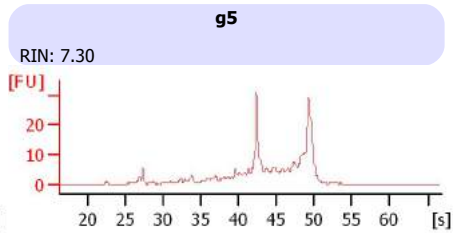
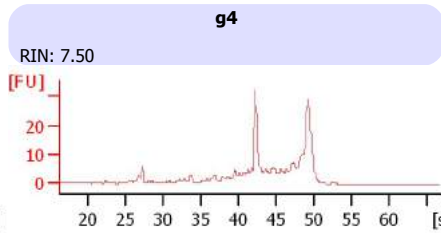
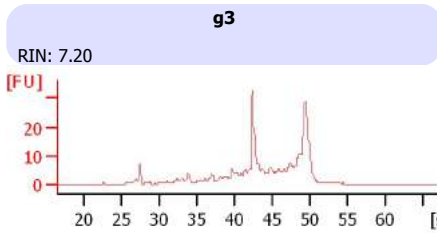
Instrument Name: Pat Mol LIM22 Firmware: C.01.069
 Serial#: DE54704516 Type: G2938C

Assay Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
 Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Version: 2.6
 Assay Comments: Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
 © Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.

Chip Information:

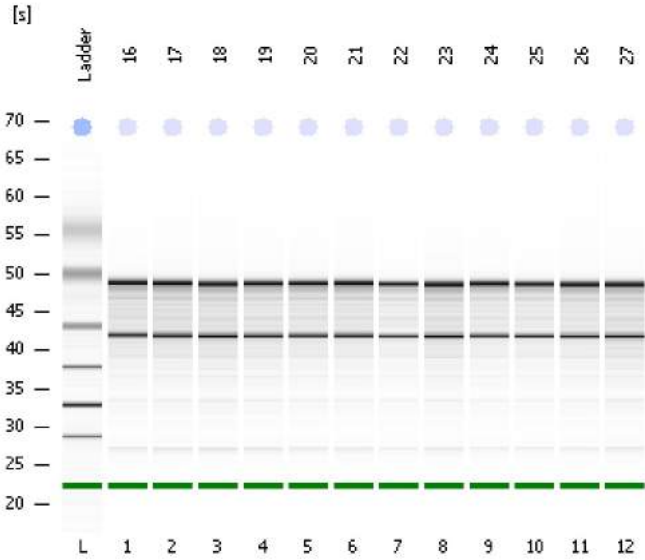
Chip Lot #:
 Reagent Kit Lot #:
 Chip Comments:



Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Data Path: D:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE54704516_2016-05-20_13-50-09.xad

Created: 5/20/2016 1:50:09 PM
 Modified: 5/20/2016 2:14:06 PM

Electrophoresis File Run Summary



Instrument Information:

Instrument Name: Pat Mol LIM22 Firmware: C.01.069
 Serial#: DE54704516 Type: G2938C

Assay Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
 Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano
 Version: 2.6
 Assay Comments: Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
 © Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.

Chip Information:

Chip Lot #:
 Reagent Kit Lot #:
 Chip Comments:

