



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Janaína Carvalho Guimarães

**Triglicerídeo de cadeia média reforça o dano hepático causado pela
ingestão de frutose em camundongos**

Rio de Janeiro

2019

Janaína Carvalho Guimarães

**Triglicerídeo de cadeia média reforça o dano hepático causado pela ingestão de frutose
em camundongos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-
Graduação em Biologia Humana e Experimental, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof^a Dra. Márcia Barbosa Águila Mandarin de Lacerda

Coorientadora: Prof.^a Dra. Thereza Cristina Lonzetti Bargut

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

G963 Guimarães, Janaína Carvalho.
Triglicerídeo de cadeia média reforça o dano hepático causado pela ingestão de frutose em camundongos / Janaína Carvalho Guimarães. – 2019.
63 f.

Orientadora: Márcia Barbosa Águila Mandarin de Lacerda
Coorientadora: Thereza Cristina Lonzetti Bargut

Mestrado (Dissertação) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Esteatose hepática- Teses. 2. Triglicerídeos- Teses. 3. Frutose– Teses.
4. Dietas induzidas pela nutrição. I. Lacerda, Márcia Barbosa Águila Mandarin de. II. Bargut, Thereza Cristina Lonzetti. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Humana e Experimental. IV. Título.

CDU 615:613.2

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB/7 - 6382

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Janaína Carvalho Guimarães

**Triglicerídeo de cadeia média reforça o dano hepático causado pela ingestão de frutose
em camundongos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-
Graduação em Biologia Humana e Experimental, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2019.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Márcia Barbosa Águila Mandarin de Lacerda (Orientadora)

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Thereza Cristina Lonzetti Bargut (Coorientadora)

Instituto de Saúde de Nova Friburgo

Prof.^a Dra. Leila Sicupira Carneiro de Souza Leão

Escola de Nutrição

Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarin-de-Lacerda

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Às pessoas que me deram a vida: minha Mãe e meu Pai.

.AGRADECIMENTOS

À Deus.

A minha avó Adélia, que acordava de madrugada por muitos anos para levar minha mãe até a carroça de leite. Única condução até a escola onde ela iniciou a carreira de Professora.

A minha mãe que sempre acreditou no meu potencial e me incentivou quando eu mesma não tinha maturidade para fazê-lo. E acima de tudo me amou de todas as formas e me fez acreditar no mundo. Hoje estou aqui por você também. Saudade todos os dias.

A minha avó Odêmia, que mostrou ao meu pai que o amor é a base do desenvolvimento do caráter humano, e que a partir dele se obtém o respeito maior.

Ao meu pai, a pessoa mais bondosa desse mundo. Que mesmo sem entender o motivo de se fazer mestrado sempre me respeitou e me apoiou nessa e em qualquer decisão da minha vida.

Ao meu irmão, sempre muito carinhoso e acolhedor, além de ser o irmão mais lindo desse universo. Em todos os sentidos.

A minha dinda por ter me aceitado como afilhada quando muito jovem mesmo com medo da responsabilidade. Hoje a responsabilidade é minha. E fico muito feliz de tê-la. Sem você não teria suportado tantos tombos. EU TE AMO.

Ao meu dindo que me deu o mais valioso dos presentes: Amor.

Aos meus amigos Claudia, Carmelita, Paulinho, Mila, Thay, Douglas, Jeanine, Bruna, Cecília, Fabi, Pri, Celina e Tamires que estiveram comigo nos momentos mais difíceis e me ajudaram a me levantar e seguir em frente.

A todos meus colegas de mestrado/laboratório. Todos vocês me ensinaram e fazem parte dessa conquista.

A todos os professores que passaram na minha vida, em especial aos do mestrado. Que me ajudaram a construir o conhecimento, alimentaram minha curiosidade e me fizeram entender que esse caminho é difícil/lindo.

Aos meus alunos de Iniciação Científica Wagner, Fernanda e Camili esse trabalho também é de vocês. Muito obrigada por toda ajuda.

A minha Orientadora Márcia Águila que me acolheu sem nenhuma referência e acreditou no meu trabalho. Eu te admiro muito. A senhora tem um lugar especial no meu coração, na minha vida e na minha profissão.

A minha Coorientadora/amiga Thereza Bargut. Sou extremamente grata a você por todo conhecimento passado a mim. Pelas conversas, esquemas e repetições. Pelas mensagens de final de semana só para saber se eu estava bem. Por todas as falas: “Isso é um processo de aprendizagem Jana”. Você é um exemplo para mim. De pessoa e pesquisadora. Quero muito organizar minhas ideias no papel igual a você. O caminho é longo, mas eu dou conta.

Minha maior vingança será educar a todos

Malala Yousafzai

RESUMO

GUIMARÃES, Janaína Carvalho. *Triglicerídeo de cadeia média reforça o dano hepático causado pela ingestão de frutose em camundongos*. 2019. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

O uso de xarope de milho rico em frutose, é utilizado como adoçante pela indústria alimentícia pelo seu alto poder adoçante e baixo custo. Estudos apontam que o uso inadequado de frutose está relacionado com efeitos adversos no metabolismo, principalmente no metabolismo hepático entre outros. O triglicerídeo de cadeia média (TCM) é um lipídio com rápido potencial energético sendo rapidamente oxidado no fígado. Contudo, a literatura se mostra controversa em relação ao efeito do TCM no metabolismo hepático. Como alguns estudos demonstraram seu efeito protetor, o objetivo do estudo foi investigar os efeitos dos TCM sobre as anormalidades hepáticas provocadas pela dieta rica em frutose em camundongos. Foram utilizados camundongos C57bl/6 machos com 3 meses de idade divididos em quatro grupos por 12 semanas: controle (C), controle com TCM (C-TCM), frutose (F) e frutose com TCM (F-TCM). Foi monitorado a ingestão de alimentos e água, massa corporal, pressão arterial, tolerância à glicose, bioquímica do plasma e do fígado, e expressão proteica e gênica relacionada aos mecanismos de lipogênese e beta-oxidação. Não houve alterações na massa corporal, ingestão de alimentos e tolerância à glicose entre os grupos. O grupo F apresentou maior consumo de água e da pressão arterial, associado a esteatose hepática e lipogênese de novo, beta-oxidação, biogênese mitocondrial e inflamação no fígado. Surpreendentemente, o grupo C-TCM apresentou esteatose hepática e inflamação no fígado, e o grupo F-TCM também mostrou exacerbações de anormalidades induzidas pela frutose, mostrando marcada esteatose hepática, lipogênese de novo e inflamação hepática. Os grupos com TCM também apresentaram aumento da beta-oxidação e da biogênese mitocondrial. Em conclusão, o TCM mostrou efeitos hepáticos prejudiciais com ou sem a sobrecarga de frutose e deve ser usado com cautela, especialmente na presença de alterações hepáticas.

Palavras-chave: Triglicerídeo de cadeia média. Frutose. Esteatose hepática.

ABSTRACT

GUIMARÃES, Janaína Carvalho. *Medium-chain triglyceride reinforce the hepatic damage caused by fructose intake in mice*. 2019. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

High fructose corn syrup is used as food by the food industry due to its high sweetness and low cost. Studies indicate that the inadequate use of fructose is related to adverse metabolism, especially in hepatic metabolism, among others. The medium chain triglyceride (MCT) is a lipid with a potent energetic being rapidly oxidized in the liver. However, the literature is controversial regarding the effect of MCT on hepatic metabolism. As some studies have demonstrated its protective effect, the aim of the study was to investigate the effects of MCT oil on the high fructose diet-provoked hepatic abnormalities in mice. We used 3-mo-old C57bl/6 male mice divided into four groups for 12 weeks: control (C), control with MCT (C-MCT), fructose (F), and fructose with MCT (F-MCT). We investigated food and water intake, body mass, blood pressure, glucose tolerance, plasma and liver biochemistry, hepatic protein and gene expression. There were no changes in body mass, food intake and glucose tolerance among the groups. The F group presented increased water intake and blood pressure associated with hepatic steatosis and elevated *de novo* lipogenesis, beta-oxidation, mitochondrial biogenesis and inflammation in the liver. Surprisingly, the C group also showed hepatic steatosis and inflammation in the liver, and the F group had exacerbations of fructose-induced abnormalities, showing marked hepatic steatosis, *de novo* lipogenesis and hepatic inflammation. The MCT oil groups also presented increased beta-oxidation and mitochondrial biogenesis. In conclusion, MCT oil showed detrimental hepatic effects and should be used with caution with or without fructose overload, especially in the presence of hepatic alterations.

Keywords: Medium-chain triglycerides. Fructose. Steatosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Absorção e metabolismo da frutose	21
Figura 2 –	Evolução da doença hepática gordurosa não alcoólica	23
Figura 3 –	Absorção do triglicerídeo de cadeia média e triglicerídeo de cadeia longa.....	25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Acúmulo de lipídios hepáticos e colesterol hepático	40
Gráfico 2 –	Marcadores de lipogênese no Fígado.....	41
Gráfico 3 –	Marcadores de β -oxidação no fígado.....	42
Gráfico 4 –	Marcadores de biogênese mitocondrial.....	43
Gráfico 5 –	Marcadores inflamatórios no fígado.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Composição das dietas experimentais.....	33
Tabela 2 –	Primers.....	36
Tabela 3 –	Biometria, análises plasmáticas e massa hepática.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACO	Acil-CoA
ADP	Difosfato de adenosina (do inglês, <i>adenosine diphosphate</i>)
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
AGCL	Ácido graxo de cadeia longa
AGCM	Ácido graxo de cadeia média
AGL	Ácido graxo livre
AMP	Adenosina monofosfato (do inglês, <i>adenosine monophosphate</i>).
ANOVA	Análise de variância
ASC	Área sobre a curva
ATP	Trifosfato de adenosina (do inglês, <i>Adenosine triphosphate</i>)
C	Grupo controle
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar (do inglês, <i>complementary deoxyribonucleic acid</i>)
ChREBP	Proteína de ligação ao elemento de resposta aos carboidratos (do inglês, <i>carbohydrate responsive element-binding protein</i>)
CPT-1	Carnitina-palmitoil-transferase-1 (do inglês, <i>carnitine palmitoyltransferase-1</i>)
C-TCM	Grupo Controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DP	Desvio padrão
EROS	Espécies reativas de oxigênio
F	Grupo frutose
FAS	Ácido graxo sintase (do inglês, <i>fatty acid sintase</i>)
F-TCM	Grupo frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média
F1F	Frutose-1-fosfato
F6F	Frutose-6-fosfato
GLUT	Receptores de transporte de glicose (do inglês, <i>glucose transporter</i>)
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade (do inglês, <i>high density lipoprotein</i>)
IL6	Interleucina 6
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (do inglês, <i>low density lipoprotein</i>)

MCAD	Acil-CoA desidrogenase de cadeia média (do inglês, <i>medium-chain acyl-CoA</i>)
MCFA	Ácido graxo de cadeia média (<i>do inglês, medium chain fatty acids</i>)
NAFLD	Doença hepática gordurosa não alcoólica (do inglês, <i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>)
NRF-1	Fator nuclear respiratório-1 (do inglês, <i>nuclear respiratory factor-1</i>)
PF2A	Proteína fosfatase 2A
PGC1 α	Proliferador ativador peroxissomal do receptor gamma coativador 1 α (do inglês, <i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1α</i>)
PPAR	Receptor ativador de proliferação peroxissomal (do inglês, <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>)
qRT-PCR	Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa em tempo real (do inglês, <i>real time polymerase chain reaction</i>)
RI	Resistência à insulina
RNA	Ácido ribonucleico (do inglês, <i>ribonucleic acid</i>)
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro (do inglês, <i>Messenger ribonucleic acid</i>)
SREPB-1c	Proteína de ligação ao elemento regulador do esteroide (do inglês, <i>sterol regulatory element-binding protein</i>)
TCL	Triglicerídeo de cadeia longa
TCM	Triglicerídeo de cadeia média
TG	Triglicerídeo
TNF α	Fator de necrose tumoral α (do inglês, <i>tumor necrosis factorα</i>)
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
UCP-3	Proteína descopladora mitocondrial-3 (do inglês, <i>uncoupling protein-3</i>)
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade (do inglês, <i>very low density lipoprotein</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
β H ₂ O	Beta
mL	Mililitro
cm	Centímetro
cm ³	Centímetros cúbicos
rpm	Rotações por minute
α	Alfa
°C	Graus Celsius
h	Hora
-	Menos
+	Mais
Kg	Kilograma
G	Gramma
Min	Minuto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Frutose	19
2.2	Doença hepática alcoólica não gordurosa	22
2.3	Triglicerídeos de cadeia média	25
3	OBJETIVOS	31
3.1	Geral	31
3.2	Específicos	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	Protocolo experimental	32
4.2	Consumo alimentar, ingestão hídrica e massa corporal	33
4.3	Pressão arterial	34
4.4	Teste oral de tolerância a glicose	34
4.5	Eutanásia	34
4.6	Análises plasmáticas	34
4.7	Análises hepáticas	35
4.7.1	<u>Bioquímica</u>	35
4.7.2	<u>Microscopia</u>	35
4.7.3	<u>RT-qPCR</u>	35
4.7.4	<u>Western Blot</u>	37
4.7.5	<u>Análises estatísticas</u>	37
5	RESULTADOS	38
5.1	Consumo alimentar, ingestão hídrica e massa corporal	38
5.2	Pressão arterial	39
5.3	Análises plasmáticas	39
5.4	Análises hepáticas	39
5.4.1	<u>Lipogênese</u>	40
5.4.2	<u>B-oxidação</u>	41
5.4.3	<u>Biogênese mitocondrial</u>	42
5.4.4	<u>Inflamação</u>	43

6	DISCUSSÃO	45
	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE – Artigo científico publicado.....	63
	ANEXO – Comitê de ética.....	64

INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada pelo acúmulo hepático de lipídios, ou esteatose, que pode progredir para esteato-hepatite não alcoólica (inflamação, fibrose e, por fim, cirrose) (CAREY et al., 1983). Aproximadamente um bilhão de indivíduos em todo o mundo atualmente têm DHGNA, a manifestação hepática da síndrome metabólica (LOOMBA; SANYAL, 2013). Estudos epidemiológicos (JEGATHEESAN; DE BANDT, 2017) e experimentais (KARISE et al., 2017) demonstram uma forte correlação entre a ingestão de frutose e a DHGNA.

Apesar de hoje sabermos que a frutose ingerida é metabolizada primeiro no intestino delgado, em um mecanismo que pode ficar saturado com sua sobrecarga, com o acúmulo de frutose no intestino acaba chegando à circulação e conseqüentemente ao fígado (JANG et al., 2018). Portanto, a frutose induz lipogênese de novo, secreção de triglicérides, β -oxidação de ácidos graxos e gliconeogênese, resultando no acúmulo de lipídios e dano hepático (HU; ZHANG et al., 2012; LIU et al., 2018).

Os triglicérides de cadeia média (TCM) são compostos de um esqueleto de glicerol e três ácidos graxos que têm uma cauda alifática de 6-12 átomos de carbono. O TCM geralmente tem duas ou três das cadeias de ácidos graxos, como ácidos graxos de cadeia média (MCFA) (do inglês, medium chain fatty acids). O TCM existe em alimentos naturais com altos percentuais encontrados no óleo de coco, no óleo de palma, no coco desidratado e na carne crua de coco, de acordo com o Departamento Nacional de Nutrição dos EUA (WANG et al., 2018). Ao contrário dos triglicérides de cadeia longa (TCL), o TCM é dividido em glicerol e MCFA, que são absorvidos diretamente na corrente sanguínea. Em contraste com os TCL, o TCM é rapidamente hidrolisado para MCFA e não precisa ser incorporado aos quilomícrons, sendo assim, conduzido diretamente para a veia porta e conseqüentemente ao fígado (KIM et al., 2017).

O TCM vêm sendo descrito e utilizado como uma fonte alimentar com potencial de melhorar o acúmulo de gordura corporal, resistência à insulina e inflamação em camundongos (GENG et al., 2016), e em humanos sugere-se o uso aumentado para a perda de peso (DE VOGEL-VAN DEN BOSCH et al., 2011). No entanto, os resultados referentes ao metabolismo hepático e TCM ainda são controversos. Uma dieta baseada em TCM pode levar ao aumento da lipogênese e à redução do metabolismo lipídico hepático em camundongos deficientes da enzima acil-CoA desidrogenase de cadeia muito longa (TUCCI et al., 2010), e

o acúmulo de lipídios e metabolismo é alterado no fígado de camundongos alimentados com TCM na dieta, indicando que doses altas de TCM podem ser prejudiciais (CHAMMA et al., 2017).

A hipótese do estudo proposto foi que o TCM, em doses normais, seria capaz de reverter os efeitos deletérios causados pela frutose diminuindo o dano hepático dos camundongos.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Frutose

Conseguimos observar com a evolução humana, mudanças importantes no comportamento alimentar e social da humanidade. Essa visão é mais passível de ser observada na população ocidental, onde a indústria alimentar e o marketing tem grande influência sobre a população em geral (MURAKAMI et al., 2018).

A partir da revolução industrial, onde as pessoas passaram a consumir alimentos industrializados ao invés de alimentos naturais preparados em casa, o consumo desenfreado de sacarose foi mantido em suas dietas. Esse padrão se deve à sua alta aceitabilidade pela população. Com isso, surgiu por volta da década de 70, o xarope de milho rico em frutose, utilizado até os dias atuais como o principal agente adoçante, dado seu alto poder edulcorante, fácil manuseio e baixo custo para indústria alimentícia (WANG; VAN EYS, 1981; HANOVER; WHITE, 1993).

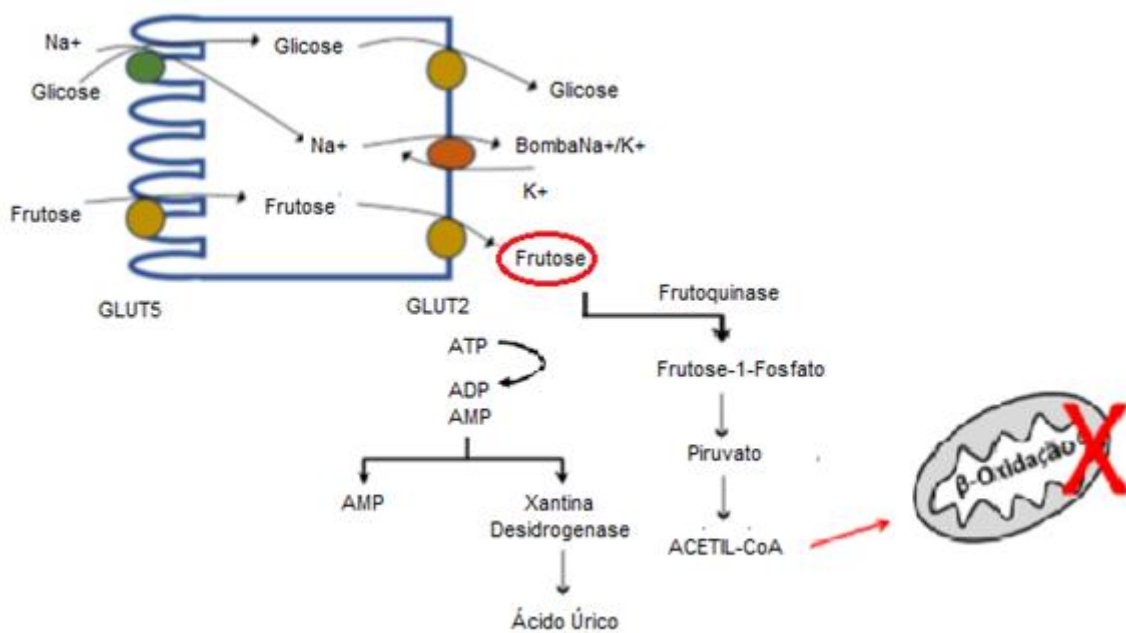
A frutose é um monossacarídeo naturalmente presente nas frutas e no mel. Contudo, a principal fonte de frutose em todo mundo é a sacarose, ou açúcar de mesa (TAPPY et al., 2010). A sacarose é um dissacarídeo que consiste em 50% de frutose e 50% de glicose. Após a ingestão, a sacarose é degradada pelo intestino, liberando frutose e glicose. A glicose é absorvida diretamente pelo intestino delgado, enquanto que a frutose é, em pequenas quantidades, digerida pela microflora intestinal. Entretanto essa digestão inicial realizada pelos microrganismos da luz intestinal possui pouca influência na absorção geral de frutose dado que a alimentação atual possui grandes quantidades de frutose. Sendo assim, a frutose excedente também é absorvida pelo intestino delgado assim como a glicose (JANG et al., 2018).

A literatura mostra que o consumo agudo de frutose modula os níveis plasmáticos de lipídeos em indivíduos saudáveis, além de provocar aumento significativo de lipoproteína de alta intensidade (HDL) (do inglês, high density lipoprotein) com um aumento simultâneo da lipoproteína de baixa intensidade (LDL) (do inglês, low density lipoprotein) em comparação com a glicose e sacarose (JAMEEL et al., 2014). Adicionalmente, o consumo crônico e elevado de frutose está relacionado ao desenvolvimento de comorbidades associadas a

síndrome metabólica, como o estresse oxidativo, disfunção endotelial e doença hepática gordurosa não alcoólica ou DHGNA (FERNANDES-SANTOS et al., 2009).

Após ser absorvida, a frutose transpõe o intestino delgado e é transportada para os enterócitos através de seus receptores de transporte de glicose (do inglês, GLUT, glucose transporter) 5, localizados no polo apical da célula. GLUT5 é um transportador específico que não é dependente de insulina. Uma vez dentro do enterócito, a frutose se dirige para circulação porta através de seus receptores GLUT2 na superfície basolateral do enterócito (DOUARD; FERRARIS, 2008), sendo então, conduzida ao fígado onde rapidamente será fosforilada nas posições carbono 1 (mediada pela frutoquinase), formando frutose-1-fosfato (F1F) ou carbono 6 (mediada pela hexoquinase), formando frutose-6-fosfato (F6F).

Figura 1 - Absorção e metabolismo da frutose



Legenda: A frutose é absorvida no enterócito pelo receptor GLUT5, localizado no polo apical da célula. Em seguida se dirige para a circulação porta através de seus receptores GLUT2 na superfície basolateral do enterócito. Ao entrar no hepatócito pelos receptores GLUT2, a frutose é rapidamente fosforilada a frutose-1-fosfato (F1F) por ação da frutoquinase. A grande atividade da frutoquinase frente ao excesso de frutose absorvido leva a um aumento na relação AMP/ATP que resulta na formação de ácido úrico pela xantina desidrogenase. De maneira semelhante, inicia-se uma intensa formação de acetil-CoA que inibe diretamente a β -oxidação.

Fonte: A autora, 2019.

A fosforilação da frutose em F1F é capaz de evitar que o SREBP1c (do inglês, Sterol regulatory element-binding protein) via co-ativador de ativador de proliferação peroxissomal gama (PGC) (do inglês, peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator) -1 β .

E, através da conversão em F6F, há a ativação da proteína de ligação ao elemento de resposta ao carboidrato (ChREBP) (do inglês, carbohydrate responsive element-binding protein) via proteína fosfatase 2A (PF2A). Como SREBP1c e ChREBP são fatores de transcrição que ativam enzimas lipogênicas, como ATP-citrato liase (ACL), acetil-CoA carboxilase, ácido graxo sintase (FAS) (do inglês, fatty acid synthase) e estearoil coenzima-A desaturase, a frutose é capaz de ativar a lipogênese de novo. Consequentemente, a concentração de malonil-CoA é aumentada no interior do hepatócito, inibindo CPT1 e posteriormente a β -oxidação (DENECHAUD et al., 2008; KOO et al., 2009; KIM et al., 2018).

A maioria da frutose é fosforilada no carbono 1 e acumula-se rapidamente no fígado, onde é hidrolisada em duas trioses: dihidroxiacetona e gliceraldeído-fosfato. Essas duas trioses podem seguir três caminhos distintos: 1- participar na via glicolítica produzindo piruvato, que é convertido em ácido láctico em condições anaeróbicas ou entrar no ciclo do ácido cítrico como acetil CoA em condições aeróbicas, liberando energia; 2- o fosfato de dihidroxiacetona pode ser reduzido a glicerol-3-fosfato, o que é necessário para a síntese de lipídeos incluindo triglicerídeos (TG) e fosfolipídeos; e 3- dihidroxiacetona fosfato pode ser condensado para formar fructose-1,6-difosfato, formando glicose ou glicogênio. Consequentemente, se produz piruvato, lipídio e glicogênio (TAPPY et al., 2010).

Para a fosforilação de frutose em F1F, há entrada de um fosfato proveniente de ATP, que passa então a ser adenosina difosfato (ADP) (do inglês, adenosine diphosphate). A frutoquinase não é inibida por ADP ou por concentrações de citrato e, portanto, não é regulada pelo estado energético celular. Neste ponto, a frutose difere da glicose, já que tanto o ADP quanto as concentrações de citrato exercem um feedback negativo sobre as enzimas dos passos iniciais da glicólise (LIM et al., 2010).

Por ser extremamente instável, ADP é rapidamente convertido em adenosina monofosfato (AMP) (do inglês, adenosine monophosphate). A rápida conversão de frutose em F1F gera um desequilíbrio, aumentando a razão AMP/ATP. O destino deste AMP é definido por duas enzimas: a proteína quinase ativada por AMPK (do inglês, AMP-activated protein kinase) e a xantina desidrogenase. Quando a xantina desidrogenase é mais ativa que a AMPK, o AMP é convertido em ácido úrico, gerando hiperuricemia (JENSEN et al., 2018).

Altas concentrações de ácido úrico são observadas em uma ampla variedade de doenças metabólicas, o que suporta a hipótese de que a hiperuricemia é um fator causal na progressão de síndrome metabólica (CHOI; FORD, 2007). Por provocar diminuição na concentração de óxido nítrico, o aumento de ácido úrico provoca vasoconstrição e subsequente aumento da pressão arterial. De fato, estudos em modelos experimentais

(FARAH et al., 2006; SANCHEZ-LOZADA et al., 2006; DIANAT et al., 2015) e em humanos (NGUYEN et al., 2009) demonstraram associação entre dietas ricas em frutose e hipertensão arterial sistêmica (HAS).

Os mecanismos pelos quais a frutose causa HAS são considerados multifatoriais e muitos não são totalmente conhecidos. No entanto, sabe-se que a eliminação não enzimática de intermediários da glicólise, na qual a frutose participa, gera aumento da produção de metilglioxal (LIU et al., 2011). Este composto é um aldeído altamente tóxico capaz de gerar espécies reativas de oxigênio e reagir com os grupos sulfídricos das proteínas, alterando suas funções. Além disso, também pode alterar a função de canais de cálcio, levando a um aumento do cálcio intracelular que gera resistência vascular em células musculares lisas (VASDEV et al., 2004).

Além do aumento da produção de ácido úrico e formação de metilglioxal, outros fatores que relacionam consumo de frutose com HAS foram propostos como a atenuação do barorreflexo e aumento da atividade do sistema nervoso simpático, elevação das catecolaminas circulantes, aumento da atividade do sistema renina-angiotensina, aumento da reabsorção de sódio e disfunção endotelial (DORNAS et al., 2015).

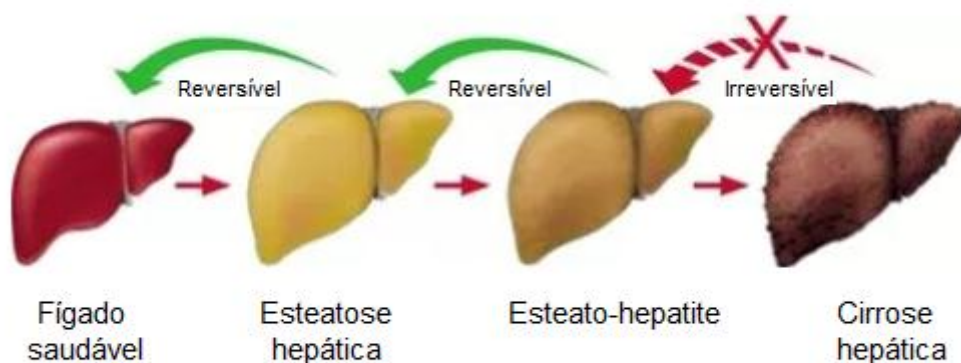
Ainda, já é sabido que a frutose modula outras alterações metabólicas importantes, incluído efeitos na resistência à insulina, inflamação e na esteatose hepática (FERDER et al., 2010; YKI-JARVINEN et al., 2010; BASARANOGLU et al., 2013).

2.2. Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA)

O fígado desempenha papel central no controle da homeostase corporal e está sujeito a uma regulação complexa por substratos, insulina e outros hormônios (MUSSO et al., 2009).

A DHGNA é um termo clínico dado a mudanças estruturais, que podem evoluir para esteato-hepatite não alcoólica, progredindo para fibrose, carcinoma hepatocelular e falência hepática (CHARLTON et al., 2004; TORRES; HARRISON, 2015).

Figura 2 - Evolução da doença hepática gordurosa não alcoólica



Legenda: A evolução da doença hepática gordurosa não alcoólica perpassa por 3 (três) níveis de diferenciação, onde o último estágio se torna irreversível.

Fonte: Adaptado de TORRES; HARRISON, 2015.

O fígado é um regulador principal da homeostase lipídica e, como tal, realiza múltiplos processos metabólicos, incluindo lipogênese de novo e processamento de ácidos graxos para a síntese de ATP através de β -oxidação (HAGGARTY et al., 2010).

Como resultado da disfunção mitocondrial, o excesso de lipídios no fígado pode promover a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), levando à peroxidação lipídica e inflamação (PEREZ-CARRERAS et al., 2003; SERVIDDIO et al., 2008), sendo a inflamação outro componente importante na fisiopatologia da DHGNA.

A síndrome metabólica é uma condição que engloba, além da obesidade central, um prejuízo na tolerância à glicose, diabetes mellitus, dislipidemia com aumento das concentrações plasmáticas de TG e diminuição de HDL e HAS (REAVEN et al., 2011). Atualmente, a síndrome metabólica é reconhecida como uma entidade nosológica pela Organização Mundial da Saúde (SOYAL et al., 2015). O grande interesse no estudo da síndrome metabólica nas últimas décadas tem melhorado a percepção da sua fisiologia integrativa complexa e as suas consequências (RASK-MADSEN; KAHN, 2012). As mudanças nos hábitos alimentares nas últimas décadas estão entre os principais fatores que contribuem para a crescente prevalência da síndrome metabólica no mundo. Tais mudanças são caracterizadas pelo aumento da ingestão alimentar sobretudo de açúcares refinados, particularmente a frutose (LAVILLE; NAZARE, 2009).

O fígado é um órgão central no metabolismo e uma de suas funções é manter os níveis de glicose plasmática de acordo com o estado nutricional do organismo. A glicose, no fígado, também é convertida em ácidos graxos que são utilizados para a síntese de TG que são a

primeira fonte de estoque energético. Hepatócitos saudáveis oxidam ácidos graxos através de enzimas que ficam nos peroxissomas, mitocôndrias e retículo endoplasmático (MUSSO et al., 2009). Os TG, por sua vez, são empacotados em lipoproteínas no retículo endoplasmático granuloso e no complexo de Golgi, e, então, exportados para o estoque no TAB. Alterações moleculares e fisiológicas que ocorrem na síndrome metabólica resultam em acúmulo de TG no tecido hepático conduzindo à DHGNA (BERLANGA et al., 2014).

A DHGNA é a mais comum desordem hepática no mundo e em problemas metabólicos sua incidência corresponde a 70%-90% dos casos. Por conta disso, a DHGNA foi classificada como o componente hepático da síndrome metabólica. De acordo com a Associação Americana de Estudos de Doenças do Fígado, a DHGNA é definida como um acúmulo de gordura no tecido hepático excedendo de 5%-10% do seu peso sem que haja algum histórico de ingestão excessiva de álcool ou outras doenças relacionadas e sua prevalência é estimada em 10%-25% da população no mundo ocidental (TSOCHATZIS; PAPTAEODORIDIS, 2011).

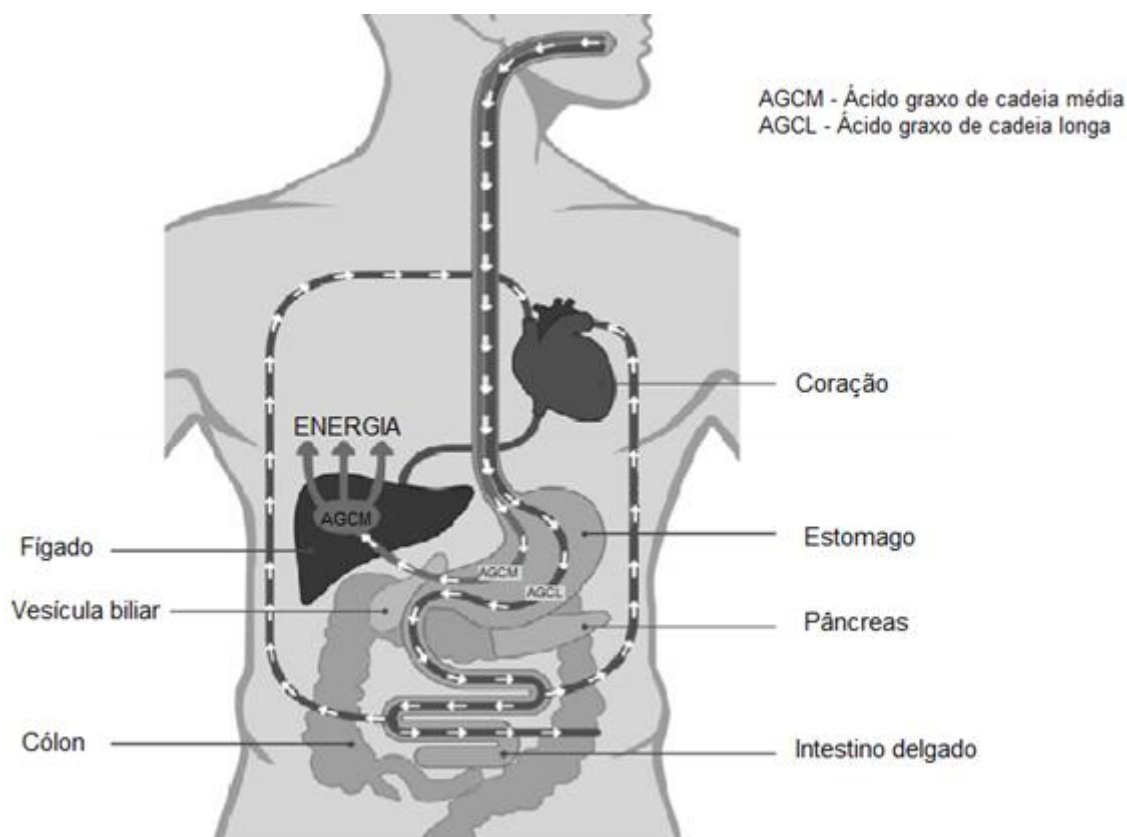
A lipogênese de novo é uma via enzimática que contribui substancialmente para o desenvolvimento da DHGNA. Esse processo é regulado por fatores de transcrição como SREBP-1c e ChREBP. A ativação de ambos leva à conversão do piruvato em ácidos graxos livres no fígado e a um aumento das enzimas lipogênicas (DENECHAUD et al., 2008) culminando com o acúmulo excessivo de lipídios no tecido hepático.

A β -oxidação, uma sequência de remoção de dois fragmentos de carbono pela produção de cetonas ou geração de energia no interior na mitocôndria, é a principal rota do metabolismo de ácidos graxos longos sob condições normais. Esse processo, no entanto, pode ser afetado em diferentes pontos de ação enzimática e também corroboram para o desenvolvimento da DHGNA. A importação de ácidos graxos para a matriz mitocondrial para β -oxidação se dá pela sua ligação covalente à carnitina, uma molécula carreadora da mitocôndria. Cada ácido graxo se liga à carnitina através da carnitina O-palmitoiltransferase 1 (CPT-1), uma enzima que também é responsável pela regeneração da carnitina, sendo esse um passo regulatório e limitante da β -oxidação. A malonil-CoA, formada pela dimerização e subsequente descarboxilação do acetil-Coa (primeiro passo da síntese de ácidos graxos) é conhecida por ser um inibidor da CPT1. As concentrações de malonil-CoA no tecido hepático começam a aumentar quando há acúmulo de citrato, o primeiro substrato da lipogênese de novo, que é formado além da capacidade de oxidação ou de necessidade do fígado. Assim, o aumento da lipogênese de novo e o prejuízo da β -oxidação, corroboram para o desenvolvimento da DHGNA (LIM et al., 2010).

2.3. Triglicerídeo de cadeia média

Os ácidos graxos de cadeia média (AGCM) contêm de 6 a 12 ligações de carbono em sua molécula e são predominantemente saturados (BABAYAN et al., 1987). São encontrados em maiores concentrações no leite de vaca, leite materno, óleo de palma e óleo de coco (TAKEUCHI et al., 2006; LI et al., 2015; LEMARIE et al., 2016). Ainda, estes apresentam composição e metabolismo diferente dos outros AGs.

Figura 3 - Absorção do triglicerídeo de cadeia média e triglicerídeo de cadeia longa



Legenda: Devido ao seu menor comprimento de cadeia, o AGCM apresenta metabolismo distinto do AGCL. Enquanto o AGCL é transportado através do sistema linfático pelos quilomícrons após serem absorvidos no intestino delgado, o AGCM é absorvido na mucosa intestinal diretamente para o sistema porta e são transportados diretamente para o fígado. No fígado, o AGCM é oxidado na mitocôndria para formar acetil-CoA e produzir energia. Ao contrário do AGCL é liberado na corrente sanguínea como TG, fosfolípidos e ésteres de colesterol ou se transportam pelo sistema da carnitina para serem metabolizados como fonte energética mais rapidamente do que o AGCL.

Fonte: adaptado de WALLACE et al., 2018.

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) contêm de 2 a 6 ligações de carbono em sua molécula e são predominantemente saturados. Podem ser produtos finais da fermentação da microbiota intestinal de alimentos não digeridos como carboidratos complexos, com o amido

resistente e a fibra dietética que estão presentes em frutas e vegetais como banana verde, chicória e alcachofra, que são substratos principais para a produção dos AGCC (MACFARLANE et al., 2012).

Os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) contém mais de 12 ligações de carbono em sua molécula e podem ser saturados ou insaturados. São encontrados na maioria das fontes alimentares (LEMARIE et al., 2016), como por exemplo, banha de porco, manteiga, ovos e carne vermelha (saturados); peixes como salmão, atum e óleos vegetais como óleo de soja e óleo de oliva (insaturados).

O óleo de coco, um alimento rico em gordura saturada, pode ser utilizado no preparo e na finalização de pratos ou até mesmo ingerido isoladamente (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004; LIAU et al., 2011; ARUNIMA; RAJAMOHAN, 2014). Contudo, por este óleo conter grande quantidade de ácidos graxos saturados se dá a necessidade de isolar esses triglicerídeos para avaliar seus efeitos individuais em estudos.

Em sua composição, o óleo de coco apresenta grande concentração de AGCM, entre 70-85% (LIAU et al. 2011) e também contém AGCC em menor quantidade, e em maior concentração o ácido láurico (ARUNIMA; RAJAMOHAN, 2014), que leva ao aumento dos níveis de colesterol sérico e da razão HDL (do inglês, high density lipoprotein) – colesterol e LDL (do inglês, low density lipoprotein) estando associado com menor risco cardiovascular.

Os TG ingeridos na dieta são digeridos no estômago e no intestino delgado por lipases gástrica e pancreática. Os principais produtos são 2-monoacilgliceróis e ácido graxo de cadeia longa, que são absorvidos pelos enterócitos no intestino delgado. Essas células intestinais reesterificam os ácidos graxos em TG, que são transportados em quilomícrons dos vasos linfáticos até atingir a corrente sanguínea (CAREY et al., 1983). Porém, o TCM sofre digestão e transporte diferenciados dos demais (CALABRESE et al., 1999).

Um estudo realizado em 2011 mostrou que o óleo de coco está relacionado com efeitos benéficos como a redução da circunferência da cintura (LIAU et al., 2011), regulação do metabolismo de lipídeos hepáticos e séricos, a redução dos níveis de colesterol total, de LDL-colesterol e de TG e o aumento do HDL-colesterol (COX et al., 1995; FERANIL et al., 2011) em humanos; e em animais por diminuir a lipogênese e aumentar o catabolismo de ácidos graxos a partir da modulação da atividade de enzimas envolvidas na síntese e na oxidação de ácidos graxos (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004; ARUNIMA; RAJAMOHAN, 2014). Contudo, outros estudos sugerem que as dietas ricas em TCM induzem resistência à insulina (DE VOGEL-VAN DEN BOSCH et al., 2011), assim como causadores de danos hepáticos, com alteração na lipogênese e na β -oxidação de lipídeos (CHAMMA et al., 2017).

O óleo de coco, por conter alto teor de ácido láurico, um TCM com maior estabilidade em relação aos demais, pode ser utilizado no cozimento em temperaturas moderadas por apresentar maior ponto de fumaça em relação ao TCM, tendendo a formar menos substâncias tóxicas durante o aquecimento (TAKEUCHI et al., 2008; MCCARTY; DINICOLANTONIO, 2016).

O TCM é encontrado na forma líquida em temperatura ambiente (AOYAMA et al., 2007). Esse é produzido industrialmente como suplemento alimentar através da hidrólise do óleo de coco ou do óleo de palma, com filtragem dos AGCM e subsequente reesterificação em TG. São lipídeos formados por três AGCM, fornecem 8,25 Kcal/g e em sua composição de ácidos graxos predominam o ácido caprílico (C₈H₁₆O₂; 50-80%) e o ácido cáprico (C₁₀H₂₀O₂; 20-50%) (BACH; BABAYAN, 1982; FERREIRA et al., 2014).

O TCM vem sendo amplamente utilizado como fonte alimentar na adição de preparações ou consumido isoladamente. Não é indicado para o cozimento por apresentar baixo ponto de fumaça (140° C aproximadamente) podendo formar substâncias tóxicas durante o aquecimento (AOYAMA et al., 2007; MCCARTY; DINICOLANTONIO, 2016).

O TCM começou a ser utilizado na década de 50 na nutrição clínica principalmente em doenças de má-absorção devido a sua fácil digestão, rápida absorção e boa solubilidade no lúmen intestinal e no citoplasma de células-alvo em relação aos AGCL (SEATON et al., 1986; AOYAMA et al., 2007). O menor tamanho de cadeia dos AGCM confere diferenças na absorção e no metabolismo em comparação com os AGCL. Estudos com TCM mostraram benefícios no perfil lipídico evidenciando melhoras no risco cardiovascular (CARPENTIER et al., 2010; CARPENTIER et al., 2012; ZHANG et al., 2015). Os AGCC e AGCM estão associados com aumento de HDL-colesterol (MENSINK et al., 2003).

Diferente do TCL, o TCM possui menor comprimento de cadeia, sendo assim, esses não necessitam sofrer a ação de enzimas digestivas como a lipase pancreática para serem absorvidos, atravessam rapidamente a mucosa intestinal, caindo na corrente sanguínea como os AGCL sendo então ligados á albumina e transportados diretamente para o fígado através da veia porta, fazendo com que o sistema linfático seja desnecessário na sua absorção (GUILLOT et al., 1993; TAKEUCHI et al., 2008) sendo rapidamente β-oxidados (LEYTON et al., 1987). Por ser mais rapidamente hidrolisado no intestino em relação ao TCL (GREENBERGER et al., 1966), o TCM é completamente oxidado pelos hepatócitos. Enquanto isso, os AGCL são redistribuídos como TCL e LDL através do sistema linfático pelos quilomicrons para tecidos extra-hepáticos. Assim, o TCL pode ser armazenado como tecido adiposo após ser absorvido no intestino delgado, enquanto os TCM são absorvidos na

mucosa intestinal e são enviados diretamente para o sistema porta sendo transportados diretamente para o fígado (MCGARRY; FOSTER, 1980; LEMARIE et al., 2016). No fígado, são oxidados na mitocôndria para formar acetil-CoA para produção de energia. Sua reesterificação nos hepatócitos e em outras células é limitada (PAPAMANDJARIS et al., 1998), sendo preferencialmente oxidados e se comportando mais como fonte glicídica do que como fonte lipídica (BABAYAN et al., 1987). Além disso, o TCM não necessita do transportador CPT-1 (do inglês, Carnitine Palmitoyltransferase I) para atingir o interior da mitocôndria e ser β -oxidado (FRIEDMAN et al., 1990), ao contrário dos outros tipos de ácidos graxos. Sendo assim, os TCM não são estocados diretamente no tecido adiposo e são rapidamente oxidados no fígado, além de ser descrito como não participante do ciclo do colesterol (LIAU et al., 2011). Alguns estudos mostraram aumento do gasto energético basal em animais e em humanos a partir da ingestão do TCM (WHITE et al., 1999; ST-ONGE et al., 2008), levando a um menor acúmulo de gordura corporal (BOURQUE et al., 2003; ST-ONGE; JONES 2003; ST-ONGE et al., 2003) sem que houvesse restrição calórica, devido ao aumento da oxidação de gordura corporal. Entretanto esses resultados não são bem elucidados.

Pelas características descritas acima, o TCM é mais rapidamente absorvido pelo organismo e metabolizado como combustível, sendo, por vezes usado como uma fonte de lipídeos na nutrição parenteral total (BACH; BABAYAN, 1982; LI et al., 2015; MACIAS-ROSALES et al., 2016). A inclusão do TCM em formulações de nutrição parenteral pode ser útil em intervenções terapêuticas para tipos de doenças resultantes da inflamação crônica (CARLSON et al., 2015; WU et al., 2017). Mas este deve ser utilizado com cautela quando referido aos demais grupos de pessoas.

Devido a sua metabolização diferenciada no organismo, o óleo de TCM vêm sendo utilizado em larga escala pela população em geral com base em publicações que demonstram seu potencial de redução de níveis de lipídeos séricos (LI et al., 2013; LI et al., 2015), relacionados com a diminuição do acúmulo de lipídeos estocados como tecido adiposo (GENG et al., 2016) levando a um aumento na oxidação de ácidos graxos em estudos com animais (AOYAMA et al., 2007; SHINOHARA et al., 2010) e humanos (SHINOHARA et al., 2005; ST-ONGE et al., 2008), em relação aos AGCL.

O TCM tem a capacidade de regular fatores de transcrição que levam à modulação da atividade de enzimas relacionadas com reações de síntese e oxidação de lipídeos como, por exemplo, os PPAR (do inglês, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) (EVANS et al., 2004).

Uma dieta com alto teor de TCM parece ser capaz de estimular a lipogênese e levar a um desequilíbrio no metabolismo de lipídeos hepáticos (CHAMMA et al., 2017). Contudo, em situações de aumento da necessidade energética, parece ser uma alternativa segura de tratamento (TUCCI et al., 2010), demonstrando a importância da individualidade na prescrição dietética. O aumento de AGL periféricos e a lipogênese de novo contribui para o acúmulo de lipídeos no fígado (DONNELLY et al., 2005). Esses mecanismos podem ser controlados através dos tipos de lipídeos que são ingeridos na dieta por serem capazes de modular a atividade de enzimas hepáticas relacionadas com o metabolismo de ácidos graxos (MUMME; STONEHOUSE, 2015).

Uma dieta rica em TCM, resultou em uma redução dose-dependente na esteatose e necrose ativando PPAR- α , e aumento na respiração mitocondrial. Esse achado indica que a substituição de AGL, como óleo de milho, por TCM poderia ser utilizado como um suplemento no tratamento de DHGNA (RONIS et al., 2013).

Um estudo mostrou que o TCM induziu RI hepática e causou maior grau de DHGNA em relação aos AGCL em camundongos (TURNER et al., 2009). Essa elevação nos níveis de TG hepáticos parece não ser somente devido à diminuição da capacidade de oxidação lipídica. Como a entrada de AGCM nas mitocôndrias não depende de CPT-1 ocorre uma oxidação acelerada e um excesso de produção de acetil-CoA e grande parte é convertida em corpos cetônicos, de acordo com estudos animais (DIAS et al., 1990; SHINOHARA et al., 2010). Acetil-CoA por ser também um substrato para lipogênese de novo, causa um aumento na expressão de enzimas relacionadas com a lipogênese hepática para poder lidar com o acetil-CoA em excesso, contribuindo para os níveis de TG aumentados nestes animais (SHINOHARA et al., 2005; BUETTNER et al., 2006).

Alguns artigos relacionam o TCM como agente de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis como obesidade e a RI (ST-ONGE et al., 2005; GENG et al., 2016). Estudos em animais e em humanos mostraram propriedades antidiabéticas do TCM, em que dietas contendo TCM levaram à melhora do metabolismo de lipídeos e da intolerância à glicose em ratos e em pacientes diabéticos (ECKEL et al., 1992; HAN et al., 2003; TERADA et al., 2012).

Embora estudos tenham mostrado que os AGCM tenham reduzido a adiposidade e preservado a ação da insulina no músculo e no tecido adiposo, esse tipo de ácido graxo está relacionado com o aumento da DHGNA (HAN et al., 2003; BUETTNER et al., 2006) e da RI hepática (TURNER et al., 2009), provavelmente devido ao aumento da atividade de enzimas relacionadas com a lipogênese hepática. Dessa forma, a suplementação com AGCM pode ser

benéfica na prevenção do desenvolvimento da obesidade e da RI periférica (TURNER et al., 2009; GENG et al., 2016), no entanto, pode levar ao acúmulo de lipídeos hepáticos e RI hepática.

Para serem oxidados na matriz mitocondrial (KELLY; SCARPULLA, 2004; CAMARA et al., 2009; CHAN et al., 2013), os ácidos graxos devem ultrapassar as membranas mitocondriais externas e internas. Os AGCL dependem do sistema mitocondrial de transporte da carnitina para serem transportados para a matriz mitocondrial (FRITZ et al., 1959) enquanto os AGCM podem ultrapassar as membranas mitocondriais sem necessitarem do transporte pela carnitina (MCGARRY; FOSTER, 1980). Esse sistema de transporte consiste de CPT-1 localizado na membrana externa da mitocôndria e CPT-2 localizado na região da matriz mitocondrial da membrana interna (KERNER; HOPPEL, 2000).

Além do sistema mitocondrial, a β -oxidação peroxissomal também está envolvida na oxidação de ácidos graxos. Os sistemas mitocondriais e peroxissomais diferem em relação à especificidade do substrato (MANNAERTS; VAN VELDHOVEN, 1993): enquanto os peroxissomos são responsáveis pela β -oxidação de AGCL com mais de 20 átomos de carbono, a mitocôndria oxida principalmente AGCL entre 16 a 20 átomos de carbono (VAN VELDHOVEN; MANNAERTS, 1999). As enzimas relacionadas com a β -oxidação peroxissomal e mitocondrial são reguladas por diferentes genes. O sistema peroxissomal não é regulado por malonil-CoA (MANNAERTS; VAN VELDHOVEN, 1993). A Acil-CoA (ACO) é a primeira enzima limitante da β -oxidação peroxissomal (MANNAERTS; VAN VELDHOVEN, 1993). Devido à baixa afinidade da ACO com ácidos graxos com menos de 12 átomos de carbono, essa rota acaba não sendo utilizada pelos AGCM (MANNAERTS; VAN VELDHOVEN, 1993).

Em vista dos graves danos causados pela frutose no tecido hepático, o aumento do consumo do óleo de coco e, mais recentemente, do TCM isolado pela população, se observa a necessidade de estudo para avaliar esses efeitos no metabolismo hepático.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito do TCM na estrutura e metabolismo hepático de camundongos alimentados com dieta rica em frutose.

3.2. Objetivos específicos

- a) Avaliar a evolução da massa corporal dos camundongos;
- b) Analisar o metabolismo lipídico e de carboidratos;
- c) Avaliar a lipogênese hepática;
- d) Avaliar a β -oxidação e biogênese mitocondrial no fígado;
- e) Analisar o perfil inflamatório hepático dos camundongos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Protocolo experimental

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (CEUA 002/2018) de acordo com as diretrizes já estabelecidas (KILKENNY et al., 2010). Os animais foram mantidos em gaiolas ventiladas sob condições controladas (sistema NexGen, Allentown Inc., PA, EUA, 20 ± 2 °C e 12 h / 12 h ciclo claro/escuro), com livre acesso a alimento e água. A terminologia de genes e proteínas foi padronizada (DAVISSON, 1994): os símbolos do gene estão em itálico, com a primeira letra em maiúscula; os símbolos de proteína são os mesmos que o símbolo do gene, mas não estão em itálico, e todos são maiúsculos.

40 camundongos C57bl/6 machos com três meses de idade foram aleatoriamente divididos em quatro grupos, a estes foram ofertados diferentes dietas por 12 semanas: grupo controle (C); Grupo controle-TCM (C-TCM; 8% da energia total de triglicerídeos de cadeia média); Grupo frutose (F; 50% da energia total da frutose); Grupo Frutose-TCM (F-TCM; 50% da energia total de frutose mais 8% da energia total de triglicerídeos de cadeia média).

As dietas foram preparadas com nutrientes purificados (Pragsolucoes, Jaú, SP, Brasil) de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition para roedores (AIN 93M) (REEVES et al., 1993). O TCM isolado (Pura Vida, 2018) foi adicionado as respectivas dietas experimentais. O óleo de soja foi inserido para ajustar cada dieta ao requisito mínimo para ácidos graxos essenciais, e os minerais e as vitaminas seguiram as recomendações da AIN 93M (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais

Nutrientes (g)	C	C-TCM	F	F-TCM
Maisena	622,692	622,692	148,392	148,392
Caseína	136,0	136,0	136,0	136,0
Frutose	-	-	474,3	474,3
Sacarose	100,0	100,0	100,0	100,0
Óleo TCM	-	37,8	-	37,8
Óleo de soja	42,0	4,2	42,0	4,2
Fibra	50,0	50,0	50,0	50,0
Mix de vitaminas	10,0	10,0	10,0	10,0
Mix de minerais	35,0	35,0	35,0	35,0
Cistina	1,8	1,8	1,8	1,8
Colina	2,5	2,5	2,5	2,5
Antioxidante	0,008	0,008	0,008	0,008
Total	1.000,0	1.000,0	1.000,0	1.000,0
Energia (Kcal)	3812,8	3790,1	3812,8	3790,1
Carboidratos (%Kcal)	75,8	76,3	75,8	76,3
Frutose (%Kcal)	-	-	50	50
Lipídios (%Kcal)	9,9	9,4	9,9	9,4
TCM (%)	-	8	-	8
Proteínas (%Kcal)	14,3	14,3	14,3	14,3

Legenda: Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média.

Fonte: A autora, 2019.

4.2. Consumo alimentar, ingestão hídrica e massa corporal

Medimos a ingestão de alimentos e ingestão de água diariamente. A massa corporal foi avaliada semanalmente por meio da balança eletrônica (Shimadzu; BL 3200H).

4.3. Pressão Arterial

A pressão arterial sistólica foi medida entre 10 e 12 horas semanalmente, por pletismografia da cauda em animais conscientes, usando um pletismógrafo programado EFF 306 (Insight, São Paulo, Brasil). A média de pelo menos 3 leituras por sessão foi registrada e a média foi calculada.

4.4. Teste oral de tolerância à glicose

O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) foi realizado no final do experimento usando uma solução de glicose a 25% (1,0 g / kg) administrada por gavagem orogástrica após um período de jejum de 6 h. O sangue foi obtido a partir da veia da cauda. A glicemia foi medida (glicômetro Accu-Check, Roche, SP, Brasil) antes da administração de glicose (0 min, que foi considerada a glicemia basal) e 15, 30, 60 e 120 min após a administração de glicose. Os resultados são apresentados como a 'área sob a curva' (GraphPad Prism versão 7.00, La Jolla, CA, EUA).

4.5. Eutanásia

Após jejum de 6 h, os animais foram anestesiados profundamente (pentobarbital sódico intraperitoneal, 150 mg) e amostras de sangue foram obtidas rapidamente por punção cardíaca e o plasma foi coletado por centrifugação (1200 g, 15 min) à temperatura ambiente e armazenado individualmente a -80°C até a análise. O fígado foi dissecado e pesado, e as amostras foram fixadas em uma solução fixadora preparada recentemente (formaldeído a 4% p / v, tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) por 48 h para microscopia de luz ou armazenada a -80°C para outras análises.

4.6. Análises plasmáticas

Foram medidos os triglicerídeos plasmáticos e o colesterol plasmático (espectrofotômetro automático e o kit comercial Bioclin System II, Quibasa, Belo Horizonte, MG, Brasil).

4.7. Análises hepáticas

4.7.1. Bioquímica

Medimos os triglicerídeos hepáticos e o colesterol hepático (espectrofotômetro automático e kit comercial Bioclin System II, Quibasa, Belo Horizonte, MG, Brasil).

4.7.2. Microscopia

Fragmentos de fígado fixados foram preparados para microscopia de luz, embebidos em Paraplast Plus (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), seccionados com espessura de 5 µm e corados com hematoxilina e eosina. Vários cortes foram obtidos por bloco, e dez campos aleatórios e cegos foram analisados para cada animal. Fotomicrografias digitais foram obtidas em microscópio Nikon (modelo 80i e câmera digital DS-Ri1, Nikon Instruments, Inc., Nova York, EUA).

4.7.3. RT-qPCR

O ácido ribonucleico (RNA) (do inglês, ribonucleic acid) total foi extraído de aproximadamente 50 mg do fígado usando o reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). A quantidade de RNA foi determinada usando espectroscopia Nanovue (GE Life

Sciences). Em seguida, o RNA (1 µg) foi tratado com DNase I (Invitrogen). A primeira cadeia de DNAc foi sintetizada utilizando iniciadores Oligo (dT) para RNAm e transcriptase reversa Superscript III (ambos Invitrogen). A PCR quantitativa em tempo real foi realizada utilizando-se um termociclador BioRad CFX96 (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) e a mistura SYBR Green (Invitrogen). Os primers são descritos na Tabela 2. A expressão da beta-actina foi utilizada para normalizar a expressão dos genes-alvo.

Após um programa de pré-desnaturação e ativação de polimerase (4 min a 95 ° C), 44 ciclos de 95 ° C por 10 s e 60 ° C por 15 s foram seguidos por um programa de curva de fusão (60-95 ° C com uma taxa de aquecimento de 0,1 ° C / s). Os controles negativos consistiram em poços nos quais o cDNA foi substituído por água deionizada. A relação de expressão relativa do mRNA foi calculada pelo método $2^{-\Delta\Delta C_t}$, no qual ΔC_t representa a diferença entre o número de ciclos dos genes alvo e do controle endógeno.

Tabela 2 - Primers

Primers	5'-3'	Anti-sense
β-actina	TGAGACCTTCAACACCCCAGCCA	CGTAGTGGGCACAGTGTGGGTG
Cpt1α	GGGCTACTCAGAGGATGGAC	GGAATGTCCCACTGTAGCCT
Fas	TCGAGGAAGGCACTACACCT	CACCCACTGGAAGCTGGTAT
Il-6	AAGAGTGTGCCAATGGTTCC	CACTGCAGGTCTGTGACGTT
Mcad	AAGGTTGAACTCGCTAGGCT	GCATAGTAAGTGTTCCGGCG
Nrf1	GTTGGTACAGGGGCAACAGT	GTAACGTGGCCAGTTTTGT
Pgc1α	GCACCAGAAAACAGCTCCAA	ACACAGCTTGACAGGGATGA
Pppara	ACCTTGTGTATGGCCGAGAA	GGACCTCTGCCTCTTTGTCT
Srebp1c	AGCAGCCCCTAGAACAAACA	TCTGCCTTGATGAAGTGTGG
Tnfa	TCAGCCGATTTGCTATCTCA	TGGAAGACTCCTCCCAGGTA
Ucp3	AGACCCGATACATGAACGCT	TCCTGAGCCACCATCTTCAG

Legenda: β-actina; CPT1α, carnitina-palmitoil-transferase-1α; FAS, ácido graxo sintase; IL6, interleucina 6; MCAD, Acil-CoA desidrogenase de cadeia média; NRF1, Fator nuclear respiratório-1; PGC1α, proliferador ativador peroxissomal do receptor gamma coativador 1α; PPARα, proliferador ativador peroxissomalα; SREBP1c, proteína de ligação ao elemento regulador do esterol-1c; TNFα, fator de necrose tumoralα; UCP3, Proteína desacopladora mitocondrial-3.

Fonte: A autora, 2019.

4.7.4. Western blot

Uma amostra de fígado de aproximadamente 100 mg foi homogeneizada em tampão de lise contendo inibidores de protease e fosfatase. A concentração de proteína foi medida com o kit de proteína BCA (Thermo Scientific, Rockford, IL). As proteínas do fígado (100 µg) foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) e transferidas para uma membrana de PVDF (GE Healthcare Biosciences). As membranas foram bloqueadas com leite em pó desnatado e depois incubadas durante a noite a 4° C com anticorpos para as seguintes proteínas: FAS (270 kDa; SC-20140, Biotecnologia Santa Cruz), PPAR alfa (52 kDa; SC-9000, Biotecnologia Santa Cruz), PPAR gama (67 kDa; SC-7273, Biotecnologia Santa Cruz) e SREBP1c (68 kDa; SC-367, Santa Cruz Biotecnologia, CA, EUA). Em seguida, as membranas foram lavadas e incubadas com anticorpos secundários específicos por 1 h. Utilizou-se beta-actina (42 kDa; SC-81178 Biotecnologia Santa Cruz) para corrigir a expressão das proteínas. As bandas foram detectadas via quimiluminescência usando um kit de reagentes ECL (GE Healthcare BioSciences), e as imagens foram obtidas usando o sistema ChemiDoc (Bio-Rad, EUA). A densidade dos sinais foi medida usando o software Image J, versão 1.51 h para Windows (Instituto Nacional de Saúde, EUA).

4.8. **Análise estatística**

Os valores são mostrados como média e desvio padrão da média. Uma vez que a distribuição normal e homocedasticidade das variâncias foram confirmadas, as diferenças entre os grupos foram testadas por análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida pelo pós-teste de Holm Sidak (versão GraphPad Prism 7.0 para Windows; GraphPad Prism Software, La Jolla, CA, EUA). Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

5 RESULTADOS

5.1. Consumo alimentar, ingestão hídrica e massa corporal

Na última semana do experimento, a ingestão de alimentos e massa corporal não foram diferentes entre os grupos. No entanto, a ingestão de água foi maior nos grupos F e F-TCM em comparação com os respectivos grupos C e C-TCM (+ 81%, $p < 0,0049$; + 47%, $p < 0,0104$, respectivamente) (Tabela 3).

Tabela 3 - Biometria, análises plasmáticas e massa hepática

Análises	C	C-TCM	F	F-TCM
Massa Corporal (g)	23,4±1,8	24,1±1,9	23,7±1,7	23,2±2,2
Glicemia de jejum (mmol/L)	5,2±0,8	5,0±1,3	5,5±0,3	5,3±0,7
Consumo alimentar (g/dia)	2,2±0,5	2,3±0,5	2,3±0,4	2,4±0,6
Massa hepática (g)	0,9±0,1	1,0±0,2	1,0±0,2	1,4±0,2 ‡§
TOTG (AUC, mmol/L/min)	741,5±81,4	737,4±88,6	743,7±77,1	779,7±95,6
CT (mg/dL)	103,2±9,4	107,7±22,7	114,8±8,4	137,5±10,8 ‡§
TG (mg/dL)	35,6±6,7	44,7±6,5	39,0±3,1	47,7±7,9
Pressão arterial sistólica (mmHg)	112,5±15,9	111,5±17,1	140,9±22,5 †	126,5±16,3
Ingestão hídrica (ml/dia)	3,9±0,7	4,6±0,9	7,1±1,8 †	6,7±1,2 ‡

Legenda: Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média. Média±DP, n = 5 - 10/grupo, one-way ANOVA e pós teste de Holm-Sidak. $P < 0.05$ onde: † ≠ C, ‡ ≠ CT e § ≠ F. Abreviações: AUC, área sobre a curva; TOTG, Teste oral de tolerância a glicose; CT, Colesterol total; TG, triglicerídeo total.

Fonte: A autora, 2019.

5.2. Pressão Arterial

A pressão arterial sistólica foi maior no grupo F quando comparado ao grupo C (+ 25%, $p < 0,0004$) na última semana do experimento. Os outros grupos não se apresentaram diferentes quando comparados aos respectivos grupos (Tabela 3).

5.3. Análise Plasmática

A glicemia de jejum e o TOTG foram semelhantes em todos os grupos (Tabela 3).

Na concentração de colesterol plasmático foi observada aumento no grupo F-TCM, em comparação ao grupo C-TCM (+ 28%, $p < 0,0035$) e F (+ 20%, $p < 0,0267$). Nos outros grupos não existia diferenças significativas. Os dados do TG plasmático não mostraram diferenças entre os grupos (Tabela 3).

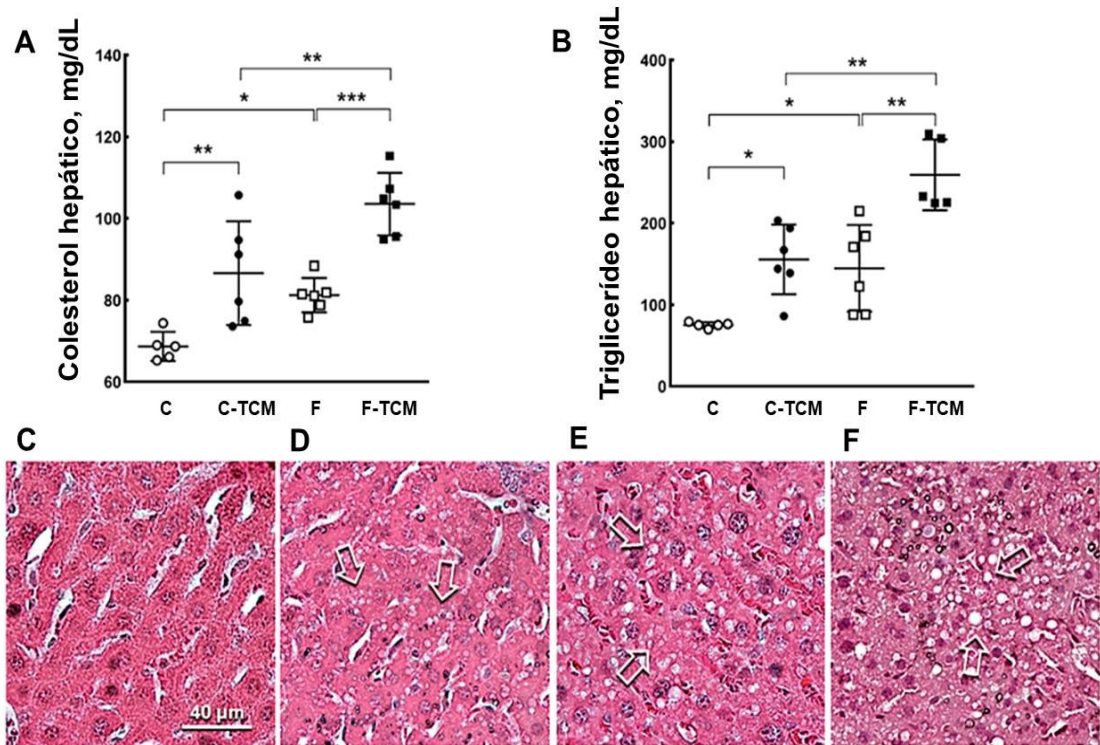
5.4. Análise Hepática

A massa hepática mostrou aumento no grupo F-TCM em comparação com os grupos C-TCM e F (+ 33%, $p < 0,0001$; + 35%, $p < 0,0001$, respectivamente). Além disso, a massa hepática corrigida pela massa corporal mostrou aumento de C-TCM em relação ao grupo C (+ 22%, $p < 0,0055$) e de F-TCM em comparação aos grupos C-TCM e F (+ 29%, $p < 0,0001$; + 38%, $p < 0,0001$, respectivamente). Nos demais grupos não existia diferenças (Tabela 3).

O colesterol hepático foi maior no grupo C-TCM e F comparado ao grupo C (+ 26%, $p < 0,0064$; + 18%, $p < 0,0371$, respectivamente) e o grupo F-TCM foi maior que os grupos C-TCM e F (+ 20%, $p < 0,0064$; + 28%, $p < 0,0006$, respectivamente). Além disso, os triglicerídeos hepáticos apresentaram diferenças significativas entre todos os grupos estudados: os grupos C-TCM (+ 107%, $p < 0,0145$) e F (+ 92%, $p < 0,0249$) foram maiores quando comparados ao grupo C; e o grupo F-TCM aumentou quando comparado aos grupos C-TCM (+ 67%, $p < 0,0025$) e F (79%, $p < 0,0012$) (Figuras 4A e B).

A aparência histológica normal do tecido hepático (grupo C) está demonstrado na figura 4C. A adição de TCM na dieta levou ao acúmulo de gordura (esteatose) dentro dos hepatócitos (grupo C-TCM, Figura 4D). A ingestão de frutose (grupo F) também causou esteatose hepática (Figura 4E), que foi ainda mais pronunciada no grupo F-TCM (Figura 4F).

Gráfico 1 - Acúmulo de lipídios hepáticos e colesterol hepático



Legenda: (A), triglicerídeos hepáticos (B) e fotomicrografias representativas do tecido hepático (C-F). Média \pm DP. Diferenças significativas foram testadas com one-way ANOVA e teste post hoc de Holm Sidak: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$. Fotomicrografias representativas foram coradas com HE e estão na mesma ampliação. O grupo C apresentou histologia normal (C). Por outro lado, os três grupos experimentais (D-F) apresentaram aumento da presença de gotículas lipídicas, principalmente no grupo F-TCM (F), indicando esteatose hepática. Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média.

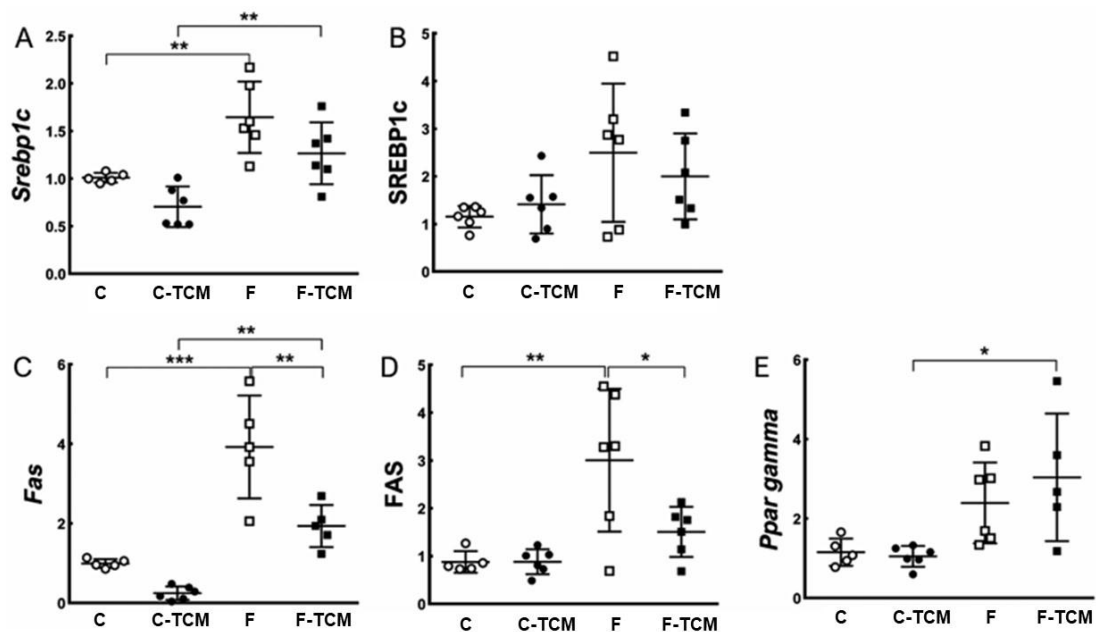
5.4.1. Lipogênese

A expressão do gene da *Srebp1c* foi maior nos grupos contendo frutose (F vs C, + 63%, $p < 0,0065$; F-TCM vs C-TCM, + 80%, $p < 0,0096$). Esses resultados não foram observados para a expressão proteica da SREBP1C, onde os resultados apresentados não obtiveram diferença significativa (Figuras 5A e B).

As expressões gênica e proteica de FAS foram maiores no grupo F do que no grupo C (+ 295%, $p < 0,0001$; + 242%, $p < 0,0022$, respectivamente). Além disso, no grupo F-TCM houve diminuição em comparação com o grupo F para ambas as análises (-51%, $p < 0,0011$; -50%, $p < 0,0217$, respectivamente). Na expressão do gene Fas, o grupo F-TCM também apresentou aumento na comparação com o grupo C-TCM (+ 685%, $p < 0,0024$) (Figuras 5C e D).

A expressão do gene Ppargama foi maior no grupo F-TCM comparado ao grupo C-TCM (+ 190%, $p < 0,0170$). Nos demais grupos não existiam diferenças significativas (Figura 5E).

Gráfico 2 - Marcadores de lipogênese no fígado



Legenda: Expressão gênica de Srebp1c (A), expressão proteica de SREBP1c (B), expressão gênica de Fas (C), expressão proteica de FAS (D) e expressão proteica de PPAR gama (E). Média \pm DP. Diferenças significativas foram testadas com one-way ANOVA e teste post hoc de Holm Sidak: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$. Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média.

5.4.2. β -oxidação

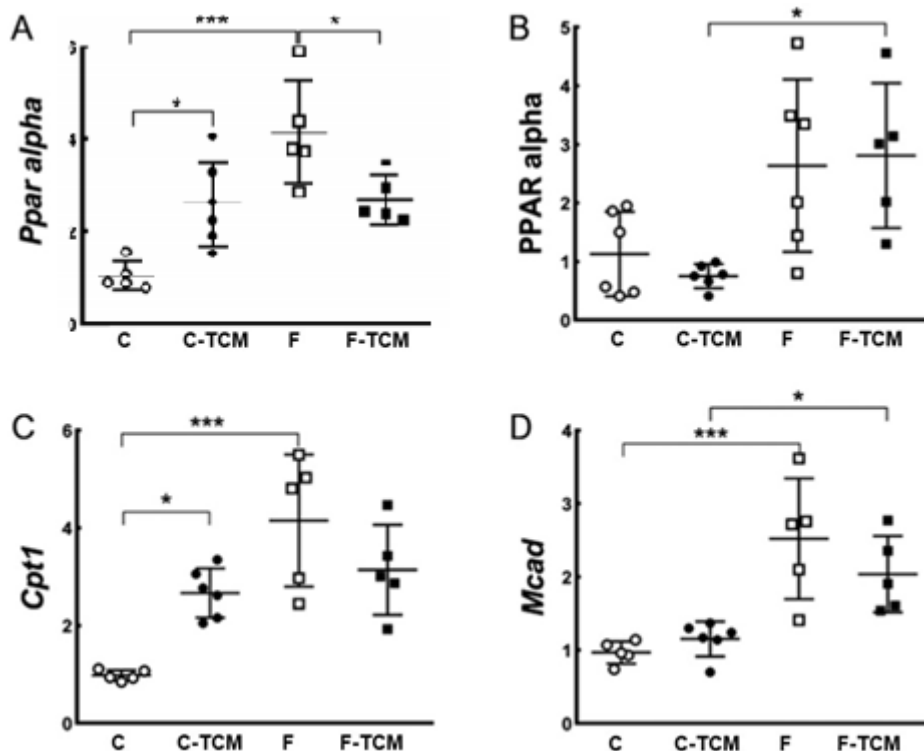
A expressão do mRNA de Pparalfa foi maior nos grupos C-TCM (+ 148%, $p < 0,0228$) e F (+ 295%, $p < 0,0001$) quando comparado ao grupo C. Enquanto isso, a resposta no grupo F-TCM foi menor do que no grupo F (-35%, $p < 0,0228$). Na expressão proteica PPARalfa, o

grupo F-TCM foi maior quando comparado ao grupo C-TCM (+ 273%, $p < 0,0210$) (Figuras 6A e B).

A expressão de mRNA de *Cpt1* foi maior nos grupos C-TCM (+ 172%, $p < 0,0163$) e F (+ 324%, $p < 0,0001$) quando comparado ao grupo C (Figura 6C).

Por fim, a expressão do gene *Mcad* no grupo F foi maior que no grupo C (+ 161%, $p < 0,0007$). Da mesma forma, no grupo F-TCM foi maior do que no grupo C-TCM (+ 77%, $p < 0,0268$) (Figura 6D).

Gráfico 3 - Marcadores de β -oxidação no fígado



Legenda: Expressão gênica de *Ppar* alfa (A), expressão proteica de PPAR alfa (B), expressão gênica de *Cpt1* (C) e expressão gênica de *Mcad* (D). Média \pm DP. Diferenças significativas foram testadas com one-way ANOVA e teste post hoc de Holm Sidak: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$. Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média.

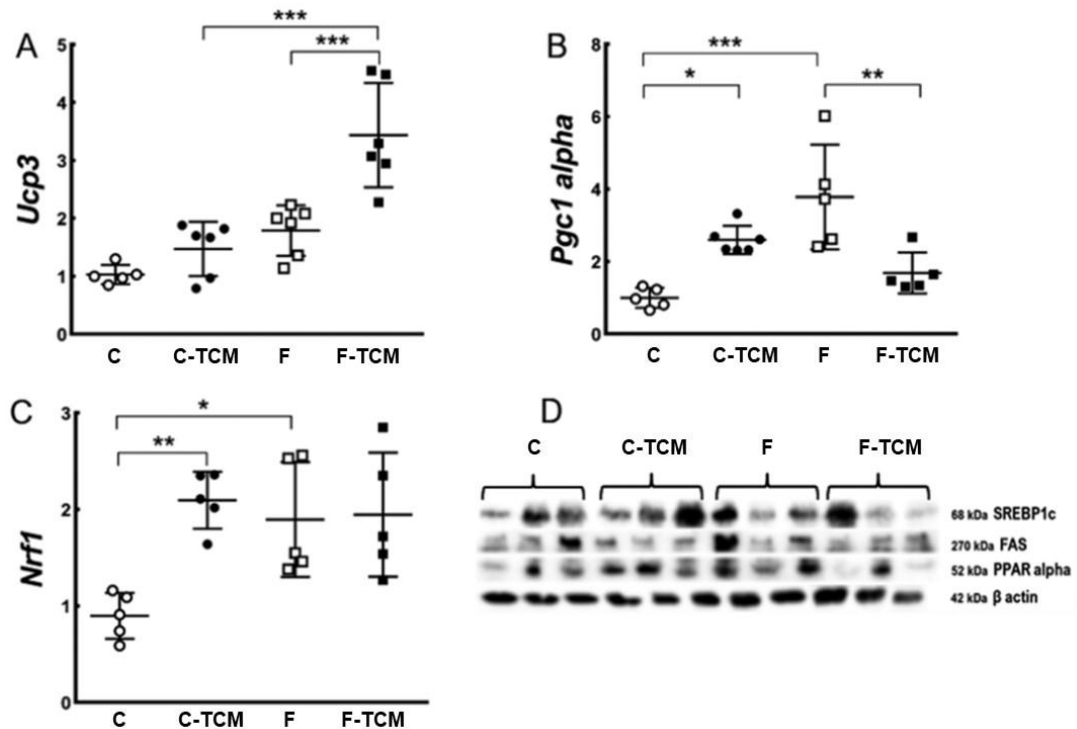
5.4.3. Biogênese Mitocondrial

A expressão de mRNA de *Ucp3* foi maior no grupo F-TCM quando comparada com os grupos C-TCM (+ 133%, $p < 0,0001$) e F (+ 92%, $p < 0,0003$) (Figura 7A).

A expressão de mRNA de Pgc1alpha foi maior nos grupos C-TCM e F (+ 160%, $p < 0,0158$; + 279%, $p < 0,0002$, respectivamente) quando comparada ao grupo C. No entanto, o grupo F-TCM foi menor que o grupo F (-55%, $p < 0,0032$) na mesma análise (Figura 7B).

A expressão do mRNA de Nrf1 foi maior nos grupos C-TCM (+ 133%, $p < 0,0066$) e F (+ 111%, $p < 0,0177$) quando comparada ao grupo C (Figura 7C).

Gráfico 4 - Marcadores de biogênese mitocondrial no fígado

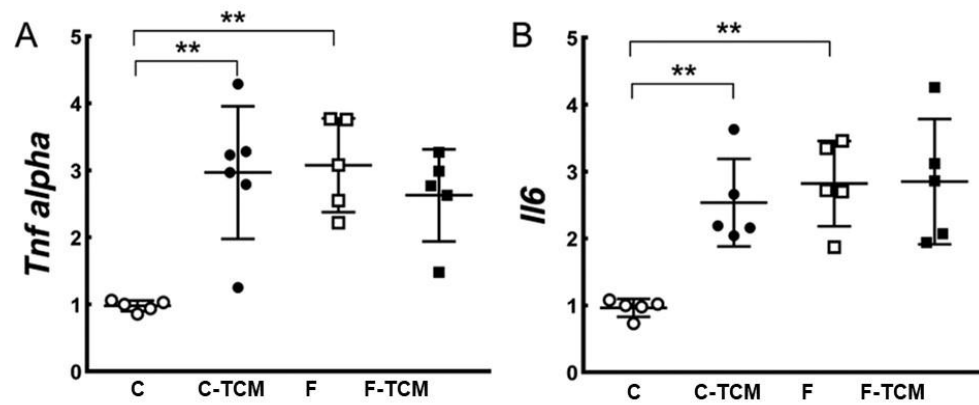


Legenda: Expressão gênica de Ucp3 (A), expressão gênica de Pgc1 alfa (B), expressão gênica de Nrf1 (C) e manchas representativas dos marcadores mencionados em figuras precedentes. Média \pm DP. Diferenças significativas foram testadas com one-way ANOVA e teste post hoc de Holm Sidak: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$. Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média.

5.4.4. Inflamação

Na resposta inflamatória, observamos aumento nas expressões dos genes Tnfalfa e Il-6 no grupo C-TCM (Tnfalfa: + 203%, $p < 0,0015$; Il-6: + 164%, $p < 0,0064$) e F (Tnfalfa: + 215%, $p < 0,0015$; Il-6: + 193%, $p < 0,0020$) grupos quando comparados com o grupo C (Figuras 8A e B).

Gráfico 5 - Marcadores inflamatórios no fígado



Legenda: Expressão gênica de Tnf alfa (A) e expressão gênica de Il-6 (B). Média \pm DP Diferenças significativas foram testadas com one-way ANOVA e teste post hoc de Holm Sidak: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$. Grupos: C, controle; C-TCM, controle acrescido de triglicerídeo de cadeia média; F, frutose; F-TCM, frutose acrescido de triglicerídeo de cadeia média.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, não observamos alterações na massa corporal, ingestão de alimentos e tolerância à glicose entre os grupos estudados. Após o experimento o consumo de água e a pressão arterial foram maiores no grupo F, confirmando o modelo proposto. Em relação ao acúmulo de lipídios no fígado, todos os três grupos experimentais apresentaram aumento da esteatose hepática. Nos grupos F e F-TCM houve lipogênese elevada, assim como beta-oxidação e biogênese mitocondrial. Um dado muito importante do estudo é que o grupo C-TCM tinha sinais de acúmulo de lipídeos no fígado e que o TCM não conseguiu neutralizar e, em alguns casos, exacerbou os danos hepáticos induzidos pela frutose no grupo F-TCM.

Constatamos que nem a ingestão de alimentos nem a massa corporal foram afetadas pela ingestão de frutose e / ou TCM. De acordo com a literatura, a frutose não afeta a ingestão alimentar e a massa corporal (BRAY et al., 1980; FURUSE et al., 1992; MATULKA et al., 2006; SCHWARZ et al., 2015); no entanto, os efeitos da ingestão de TCM é controversa em relação à perda de massa corporal. Estudos clássicos mostram que o consumo de TCM aumenta a saciedade dos animais (MAGLIANO et al., 2015; ZHOU et al., 2017) enquanto novos artigos mostram a manutenção do consumo alimentar e da massa corporal (IEMITSU et al., 2008; XU et al., 2017) corroborando com os resultados encontrados em nosso estudo.

O consumo de água foi elevado pela ingestão de frutose no grupo F, como descrito anteriormente (BARGUT et al., 2017) e o TCM não foi capaz de reverter essa alteração. Semelhante ao resultado do consumo de água, também houve aumento da pressão arterial sistólica no grupo F e que a ingestão de TCM não foi completamente capaz de reverter esse efeito no grupo F-TCM. Já está estabelecido na literatura que a frutose eleva a pressão arterial (HAN et al., 2007) e que a ingestão de TCM não exerce efeito sobre a pressão arterial, embora promova efeitos cardiovasculares positivos (TERADA et al., 2012).

Os dados referentes à homeostase da glicose (glicemia de jejum e TOTG) não foram alterados nem pela adição de frutose nem pelo TCM na dieta. Entretanto, a frutose em excesso é capaz de modular esses parâmetros quando seu consumo ultrapassa 16 semanas (FURUSE et al., 1992), enquanto em situações com menos de 12 semanas esse padrão não é verificado (BARGUT et al., 2017). Bargut et al. (BARGUT et al., 2017) levantaram a hipótese de que com 8 semanas de experimento, a frutose seria capaz de induzir a resistência à insulina, mas não a intolerância à glicose, e isso também pode estar ocorrendo no presente estudo. Em relação ao TCM, estudos mostram que o mesmo não é capaz de alterar a glicemia de jejum

em humanos diabéticos tipo 2 obesos (LANASPA et al., 2012) ou a glicose plasmática e o TOTG na obesidade induzida por dieta hiperlipídica em ratos (LANASPA et al., 2012), como vimos no presente estudo. No entanto, ambos os estudos mostraram melhorias na resistência à insulina (LANASPA et al., 2012), que, embora não tenham sido avaliadas no presente estudo, também podem estar ocorrendo.

Os TG hepáticos foram elevados no grupo F. Já foi classicamente relatado que a frutose é distinta da glicose em sua capacidade única de aumentar a gordura do fígado (EGLI et al., 2013; LIU et al., 2018). De acordo com um estudo recente que demonstrou que o consumo de frutose, mesmo na ausência de obesidade, causa alterações deletérias no fígado com a presença de DHGNA com áreas de inflamação (FURUSE et al., 1992). Um ponto importante é que não é a própria molécula de frutose a principal responsável pela produção de TG, mas a gordura se acumula no fígado pela ativação da lipogênese e, ao mesmo tempo, pelo bloqueio da oxidação dos ácidos graxos (HERMAN; SAMUEL, 2016; JENSEN et al., 2018). Outro fato que vale a pena notar é que os efeitos da frutose são atribuídos à frutose per se, independentemente do balanço energético (MATULKA et al., 2006; JEGATHEESAN et al., 2015).

No presente estudo, observamos que SREBP1c e FAS aumentaram no grupo F. Como estes são marcadores da lipogênese de novo, podemos comprovar que a frutose estimula o acúmulo de gordura hepática. Além disso, houve aumento do PPAR γ , que atua no fígado, reforçando os mecanismos lipogênicos (BORGES et al., 2018). A ingestão crônica de frutose aumenta a lipogênese hepática de novo ativando vários fatores-chave de transcrição (DONG et al., 2013), como o SREBP1c (FERNANDEZ-ALVAREZ et al., 2011). Como consequência, suas principais enzimas-alvo que regulam a síntese de lipídios, como a FAS e a acetil-CoA carboxilase, também aumentam (VLUGGENS; REDDY, 2012).

A β -oxidação é uma das principais vias através das quais os lipídios são metabolizados, enquanto que a inibição da β -oxidação leva ao acúmulo de lipídios nos hepatócitos (SILVA et al., 2001). Como ressaltado anteriormente, a frutose inibe a oxidação dos ácidos graxos, estimulando a esteatose hepática, e isso pode ser devido a um impacto negativo na via de sinalização do PPAR (PONCHAUT et al., 1992; DONG et al., 2013). O PPAR α controla os genes envolvidos na β -oxidação, incluindo o CPT1, que controla a entrada de ácidos graxos nas mitocôndrias, e o MCAD que participa da maquinaria mitocondrial para a β -oxidação (DONG et al., 2013). Surpreendentemente, observamos elevação da β -oxidação no grupo F. Isso vai contra os dados que demonstram que a frutose inibe a CPT1 através do aumento do acúmulo de malonil-CoA (gerado na lipogênese de novo)

(CAMARA et al., 2009). No entanto um trabalho demonstrou que, em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura exibindo esteatose hepática e ácidos graxos livres elevados, a expressão de CPT1 e MCAD estão aumentadas (LIM et al., 2010). Curiosamente, a β -oxidação acelerada promove níveis aumentados de acetil-CoA, que pode ser um substrato para a lipogênese de novo, aumentando, portanto, o acúmulo hepático de TG (WANG et al., 2011).

Juntamente com o aumento da lipogênese e β -oxidação, o grupo F também mostrou aumento dos marcadores da biogênese mitocondrial como o PGC1 α e CPT1. O PGC1 α é o principal regulador da biogênese mitocondrial, sendo responsável pela transcrição da NRF1 (SHINOHARA et al., 2005). Um estudo prévio mostrou que ratos alimentados com dieta rica em frutose apresentam biogênese mitocondrial prejudicada, incluindo a redução da expressão de PGC1 α e NRF1 no fígado (BUTOW; AVADHANI, 2004). Por outro lado, outro estudo mostrou que ratos alimentados com dieta rica em frutose apresentaram aumento da biogênese mitocondrial no músculo esquelético (CIOFFI et al., 2017). Nesse tecido, o aumento da disponibilidade de ácidos graxos se mostrou como indutor da biogênese mitocondrial (CRESCENZO et al., 2013) e isso também pode estar ocorrendo no fígado dos nossos animais. Além disso, como o PGC1 α também é responsável pela indução de PPAR α e CPT1, é possível que o aumento da beta-oxidação no grupo F possa ser secundário ao aumento da expressão de PGC1 α (GARCIA-ROVES et al., 2007; SONG et al., 2010).

Em relação aos grupos alimentados com TCM, observamos que o TCM sozinho na dieta, (grupo C-MCT) induziu elevação da massa hepática, colesterol hepático e TG e esteatose e no grupo F-TCM, houve uma exacerbação desses parâmetros quando comparado com os grupos C-TCM e F. No fígado, o TCM não é incorporado aos lipídeos sintetizados, mas sim dirigidos para as mitocôndrias. Este processo não requer a presença de carnitina, isto é, de CPT1 (FINCK; KELLY, 2006). O resultado é um excesso de acetil-CoA que pode ir para a mitocôndria ou permanecer no citosol, culminando na lipogênese de novo. Corroborando com isso, estudos mostram que os AGCM aumentam os marcadores de lipogênese, como SREBP1c e FAS, e que esse aumento é maior que o dos AGCL (BACH; BABAYAN, 1982; TURNER et al., 2009; WANG et al., 2011).

Também observamos nos nossos resultados, aumento dos marcadores de β -oxidação nos grupos C-TCM e F-TCM. De acordo com Matulka et al. (2006) eles concluíram que a substituição parcial de uma dieta rica em gorduras por AGCM promove aumento da expressão de PPAR α (MATULKA et al., 2006). Portanto, presumimos que o acúmulo de lipídios

observado nos grupos TCM (e também no grupo F) não está associado à diminuição da β -oxidação, mas sim ao aumento da lipogênese hepática.

No presente estudo, o TCM na dieta foi capaz de aumentar os marcadores de biogênese mitocondrial nos grupos C-TCM e F-TCM. Em um estudo recente, os autores mostraram que os AGCM foram comprovados para promover aumento da biogênese mitocondrial no músculo esquelético (WANG et al., 2018). O grupo F-TCM também mostrou aumento da expressão de UCP3. A UCP3 pode ser expressa no fígado quando a oxidação de gordura é elevada, estimulando a expressão de genes envolvidos na biogênese mitocondrial e na oxidação de gordura, incluindo MCAD e PGC1 α (VLUGGENS; REDDY, 2012), embora esses ácidos graxos entrem na mitocôndria para β -oxidação, independentemente da presença de CPT-1 (WANG et al., 2018).

Por fim, observamos que os três grupos experimentais apresentaram marcadores aumentados de inflamação (TNF α e IL-6). Em um estudo com camundongos alimentados com dieta rica em frutose durante 60 dias, houve elevação de IL-1 e TNF α no plasma, indicando que a ingestão crônica de frutose causa inflamação (CARLSON et al., 2015), como relatamos no presente estudo. Embora os efeitos da frutose sobre a inflamação sejam claros, o mesmo não é verdadeiro para o TCM. Vários estudos em roedores mostram que o TCM administrado por via oral exerce efeitos anti-inflamatórios (KONO et al., 2000; KONO et al., 2003). Por outro lado, um estudo *in vitro* realizado por Suzuki et al. (SUZUKI et al., 2013), os autores mostraram que os macrófagos expressam receptor para AGCM, GPR84, que podem exercer um efeito pró-inflamatório. Se esses achados *in vitro* são pertinentes aos AGCM administrados por via oral, não está claro. É importante notar que os efeitos observados nesse estudo podem ser uma consequência do aumento da esteatose hepática, uma vez que o acúmulo de lipídios pode progredir para a inflamação tecidual (ANDERSON; BORLAK, 2008).

CONCLUSÃO

Observamos que a frutose induz o acúmulo de lipídios hepáticos, com aumento da lipogênese, β -oxidação, biogênese mitocondrial e inflamação. Curiosamente, o TCM foi capaz de promover danos no fígado com aumento do acúmulo de lipídios e inflamação no grupo C-TCM, e não foi capaz de reverter anormalidades hepáticas induzidas pela frutose no grupo F-TCM e pelo contrário, potencializou os efeitos deletérios da frutose. Esses resultados indicam que o TCM deve ser usado com cautela, especialmente quando administrado em associação de dieta rica em frutose e ainda, com anormalidades hepáticas.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, N. AND J. BORLAK. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. **Pharmacol Ver**, v. 60, n. 3, p. 311-357, 2008.

AOYAMA, T., N. NOSAKA AND M. KASAI. Research on the nutritional characteristics of medium-chain fatty acids. **J Med Invest**, v. 54, n. 3-4, p. 385-388, 2007.

ARUNIMA, S. AND T. RAJAMOHA. Influence of virgin coconut oil-enriched diet on the transcriptional regulation of fatty acid synthesis and oxidation in rats - a comparative study. **Br J Nutr**, v. 111, n. 10, p. 1782-1790, 2014.

BABAYAN, V. K. Medium chain triglycerides and structured lipids. **Lipids**, v. 22, n. 6, p. 417-420, 1987.

BACH, A. C. AND V. K. BABAYAN. Medium-chain triglycerides: an update. **Am J Clin Nutr**, v. 36, n. 5, p. 950-962, 1982.

BARGUT, T. C. L., L. P. SANTOS, D. G. L. MACHADO, M. B. AGUILA AND C. A. MANDARIM-DE-LACERDA. Eicosapentaenoic acid (EPA) vs. Docosahexaenoic acid (DHA): Effects in epididymal white adipose tissue of mice fed a high-fructose diet. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 123, p. 14-24, 2017.

BASARANOGLU, M., G. BASARANOGLU, T. SABUNCU AND H. SENTURK. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 8, p. 1166-1172, 2013.

BERLANGA, A., E. GUIU-JURADO, J. A. PORRAS AND T. AUGUET. Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. **Clin Exp Gastroenterol**, v. 7, p. 221-239, 2014.

BORGES, C. C., A. F. SALLES, I. BRINGHENTI, D. E. L. C. A. MANDARIM AND M. B. AGUILA. Vitamin D Deficiency Increases Lipogenesis and Reduces Beta-Oxidation in the Liver of Diet-Induced Obese Mice. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)**, v. 64, n. 2, p. 106-115, 2018.

BOURQUE, C., M. P. ST-ONGE, A. A. PAPAMANDJARIS, J. S. COHN AND P. J. JONES. Consumption of an oil composed of medium chain triacylglycerols, phytosterols, and N-3 fatty acids improves cardiovascular risk profile in overweight women. **Metabolism**, v. 52, n. 6, p. 771-777, 2003.

BRAY, G. A., M. LEE AND T. L. BRAY. Weight gain of rats fed medium-chain triglycerides is less than rats fed long-chain triglycerides. **Int J Obes**, v. 4, n. 1, p. 27-32, 1980.

BUETTNER, R., K. G. PARHOFER, M. WOENCKHAUS, C. E. WREDE, L. A. KUNZ-SCHUGHART, J. SCHOLMERICH AND L. C. BOLLHEIMER. Defining high-fat-diet rat

models: metabolic and molecular effects of different fat types. **J Mol Endocrinol**, v. 36, n. 3, p. 485-501, 2006.

BUTOW, R. A. AND N. G. AVADHANI. Mitochondrial signaling: the retrograde response. **Mol Cell**, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2004.

CALABRESE, C., S. MYER, S. MUNSON, P. TURET AND T. C. BIRDSALL. A cross-over study of the effect of a single oral feeding of medium chain triglyceride oil vs. canola oil on post-ingestion plasma triglyceride levels in healthy men. **Altern Med Rev**, v. 4, n. 1, p. 23-28, 1999.

CAMARA, Y., T. MAMPEL, J. ARMENGOL, F. VILLARROYA AND L. DEJEAN. UCP3 expression in liver modulates gene expression and oxidative metabolism in response to fatty acids, and sensitizes mitochondria to permeability transition. **Cell Physiol Biochem**, v. 24, n. 3-4, p. 243-252, 2009.

CAREY, M. C., D. M. SMALL AND C. M. BLISS. Lipid digestion and absorption. **Annu Rev Physiol**, v. 45, p. 651-677, 1983.

CARLSON, S. J., P. NANDIVADA, M. I. CHANG, P. D. MITCHELL, A. O'LOUGHLIN, E. COWAN, K. M. GURA, V. NOSE, B. R. BISTRIAN AND M. PUDER. The addition of medium-chain triglycerides to a purified fish oil-based diet alters inflammatory profiles in mice. **Metabolism**, v. 64, n. 2, p. 274-282, 2015.

CARPENTIER, Y. A., M. HACQUEBARD, L. PORTOIS, I. E. DUPONT, R. J. DECKELBAUM AND W. J. MALAISSE. Rapid cellular enrichment of eicosapentaenoate after a single intravenous injection of a novel medium-chain triacylglycerol:fish-oil emulsion in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 4, p. 875-882, 2010.

CARPENTIER, Y. A., L. PORTOIS AND W. J. MALAISSE. Rapid enrichment of cell phospholipids in long-chain polyunsaturated omega-3 fatty acids after a bolus intravenous injection of a medium-chain triacylglycerol: fish oil emulsion in humans. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 36, n. 6, p. 671-676, 2012.

CHAMMA, C. M., T. C. BARGUT, C. A. MANDARIM-DE-LACERDA AND M. B. AGUILA. A rich medium-chain triacylglycerol diet benefits adiposity but has adverse effects on the markers of hepatic lipogenesis and beta-oxidation. **Food Funct**, v. 8, n. 2, p. 778-787, 2017.

CHAN, S. M., R. Q. SUN, X. Y. ZENG, Z. H. CHOONG, H. WANG, M. J. WATT AND J. M. YE. Activation of PPARalpha ameliorates hepatic insulin resistance and steatosis in high fructose-fed mice despite increased endoplasmic reticulum stress. **Diabetes**, v. 62, n. 6, p. 2095-2105, 2013.

CHARLTON, M. Nonalcoholic fatty liver disease: a review of current understanding and future impact. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v. 2, n. 12, p. 1048-1058, 2004.

CHOI, H. K. AND E. S. FORD. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. **Am J Med**, v. 120, n. 5, p. 442-447, 2007.

CIOFFI, F., R. SENESE, P. LASALA, A. ZIELLO, A. MAZZOLI, R. CRESCENZO, G. LIVERINI, A. LANNI, F. GOGLIA AND S. IOSSA. Fructose-Rich Diet Affects Mitochondrial DNA Damage and Repair in Rats. **Nutrients**, v. 9, n. 4, 2017.

COX, C., J. MANN, W. SUTHERLAND, A. CHISHOLM AND M. SKEAFF. Effects of coconut oil, butter, and safflower oil on lipids and lipoproteins in persons with moderately elevated cholesterol levels. **J Lipid Res**, v. 36, n. 8, p. 1787-1795, 1995.

CRESCENZO, R., F. BIANCO, P. COPPOLA, A. MAZZOLI, L. CIGLIANO, G. LIVERINI AND S. IOSSA. Increased skeletal muscle mitochondrial efficiency in rats with fructose-induced alteration in glucose tolerance. **Br J Nutr**, v. 110, n. 11, p. 1996-2003, 2013.

DAVISSON, M. T. Rules and guidelines for nomenclature of mouse genes. International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice. **Gene**, v. 147, n. 2, p. 157-160, 1994.

DE VOGEL-VAN DEN BOSCH, J., J. HOEKS, S. TIMMERS, S. M. HOUTEN, P. J. VAN DIJK, W. BOON, D. VAN BEURDEN, G. SCHAART, S. KERSTEN, P. J. VOSHOL, R. J. WANDERS, M. K. HESSELINK AND P. SCHRAUWEN. The effects of long- or medium-chain fat diets on glucose tolerance and myocellular content of lipid intermediates in rats. **Obesity (Silver Spring)**, v. 19, n. 4, p. 792-799, 2011.

DE VOGEL-VAN DEN BOSCH, J., S. A. VAN DEN BERG, S. BIJLAND, P. J. VOSHOL, L. M. HAVEKES, H. A. ROMIJN, J. HOEKS, D. VAN BEURDEN, M. K. HESSELINK, P. SCHRAUWEN AND K. W. VAN DIJK. High-fat diets rich in medium- versus long-chain fatty acids induce distinct patterns of tissue specific insulin resistance. **J Nutr Biochem**, v. 22, n. 4, p. 366-371, 2011.

DENECHAUD, P. D., R. DENTIN, J. GIRARD AND C. POSTIC. Role of ChREBP in hepatic steatosis and insulin resistance. **FEBS Lett**, v. 582, n. 1, p. 68-73, 2008.

DIANAT, M., A. VEISI, A. AHANGARPOUR AND H. FATHI MOGHADDAM. The effect of hydro-alcoholic celery (*Apiumgraveolens*) leaf extract on cardiovascular parameters and lipid profile in animal model of hypertension induced by fructose. **Avicenna J Phytomed**, v. 5, n. 3, p. 203-209, 2015.

DIAS, V. C., E. FUNG, F. F. SNYDER, R. J. CARTER AND H. G. PARSONS. Effects of medium-chain triglyceride feeding on energy balance in adult humans. **Metabolism**, v. 39, n. 9, p. 887-891, 1990.

DONG, B., C. F. KAN, A. B. SINGH AND J. LIU. High-fructose diet downregulates long-chain acyl-CoA synthetase 3 expression in liver of hamsters via impairing LXR/RXR signaling pathway. **J Lipid Res**, v. 54, n. 5, p. 1241-1254, 2013.

DONNELLY, K. L., C. I. SMITH, S. J. SCHWARZENBERG, J. JESSURUN, M. D. BOLDT AND E. J. PARKS. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. **J Clin Invest**, v. 115, n. 5, p. 1343-1351, 2005.

- DORNAS, W. C., W. G. DE LIMA, M. L. PEDROSA AND M. E. SILVA. Health implications of high-fructose intake and current research. **Adv Nutr**, v. 6, n. 6, p. 729-737, 2015.
- DOUARD, V. AND R. P. FERRARIS. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 295, n. 2, p. E227-237, 2008.
- ECKEL, R. H., A. S. HANSON, A. Y. CHEN, J. N. BERMAN, T. J. YOST AND E. P. BRASS. Dietary substitution of medium-chain triglycerides improves insulin-mediated glucose metabolism in NIDDM subjects. **Diabetes**, v. 41, n. 5, p. 641-647, 1992.
- EGLI, L., V. LECOULTRE, F. THEYTAZ, V. CAMPOS, L. HODSON, P. SCHNEITER, B. MITTENDORFER, B. W. PATTERSON, B. A. FIELDING, P. A. GERBER, V. GIUSTI, K. BERNEIS AND L. TAPPY. Exercise prevents fructose-induced hypertriglyceridemia in healthy young subjects. **Diabetes**, v. 62, n. 7, p. 2259-2265, 2013.
- EVANS, R. M., G. D. BARISH AND Y. X. WANG. PPARs and the complex journey to obesity. **Nat Med**, v. 10, n. 4, p. 355-361, 2004.
- FARAH, V., K. M. ELASED, Y. CHEN, M. P. KEY, T. S. CUNHA, M. C. IRIGOYEN AND M. MORRIS. Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. **Auton Neurosci**, v. 130, n. 1-2, p. 41-50, 2006.
- FERANIL, A. B., P. L. DUAZO, C. W. KUZAWA AND L. S. ADAIR. Coconut oil is associated with a beneficial lipid profile in pre-menopausal women in the Philippines. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 20, n. 2, p. 190-195, 2011.
- FERDER, L., M. D. FERDER AND F. INSERRA. The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension. **Curr Hypertens Re**, v. 12, n. 2, p. 105-112, 2010.
- FERNANDES-SANTOS, C., R. EVANGELISTA CARNEIRO, L. DE SOUZA MENDONCA, M. BARBOSA AGUILA AND C. A. MANDARIM-DE-LACERDA. Rosiglitazone aggravates nonalcoholic Fatty pancreatic disease in C57BL/6 mice fed high-fat and high-sucrose diet. **Pancreas**, v. 38, n. 3, p. e80-86, 2009.
- FERNANDEZ-ALVAREZ, A., M. S. ALVAREZ, R. GONZALEZ, C. CUCARELLA, J. MUNTANE AND M. CASADO. Human SREBP1c expression in liver is directly regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha). **J Biol Chem**, v. 286, n. 24, p. 21466-21477, 2011.
- FERREIRA, L., K. LISENKO, B. BARROS, M. ZANGERONIMO, L. PEREIRA AND R. SOUSA. Influence of medium-chain triglycerides on consumption and weight gain in rats: a systematic review. **J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)**, v. 98, n. 1, p. 1-8, 2014.
- FINCK, B. N. AND D. P. KELLY. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. **J Clin Invest**, v. 116, n. 3, p. 615-622, 2006.
- FRIEDMAN, M. I., I. RAMIREZ, C. R. BOWDEN AND M. G. TORDOFF. Fuel partitioning and food intake: role for mitochondrial fatty acid transport. **Am J Physiol**, v. 258, n. 1 Pt 2, p. 216-221, 1990.

FRITZ, I. B. Action of carnitine on long chain fatty acid oxidation by liver. **Am J Physiol**, v. 197, p. 297-304, 1959.

FURUSE, M., Y. H. CHOI, R. T. MABAYO AND J. OKUMURA. Feeding behavior in rats fed diets containing medium chain triglyceride. **Physiol Behav**, v. 52, n. 4, p. 815-817, 1992.

GARCIA-ROVES, P., J. M. HUSS, D. H. HAN, C. R. HANCOCK, E. IGLESIAS-GUTIERREZ, M. CHEN AND J. O. HOLLOSZY. Raising plasma fatty acid concentration induces increased biogenesis of mitochondria in skeletal muscle. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 25, p. 10709-10713, 2007.

GENG, S., W. ZHU, C. XIE, X. LI, J. WU, Z. LIANG, W. XIE, J. ZHU, C. HUANG, M. ZHU, R. WU AND C. ZHONG. Medium-chain triglyceride ameliorates insulin resistance and inflammation in high fat diet-induced obese mice. **Eur J Nutr**, v. 55, n. 3, p. 931-940, 2016.

GREENBERGER, N. J., J. B. RODGERS AND K. J. ISSELBACHER. Absorption of medium and long chain triglycerides: factors influencing their hydrolysis and transport. **J Clin Invest**, v. 45, n. 2, p. 217-227, 1966.

GUILLOT, E., P. VAUGELADE, P. LEMARCHAL AND A. RERAT. Intestinal absorption and liver uptake of medium-chain fatty acids in non-anaesthetized pigs. **Br J Nutr**, v. 69, n. 2, p. 431-442, 1993.

HAGGARTY, P. Fatty acid supply to the human fetus. **Annu Rev Nutr**, v. 30, p. 237-255, 2010.

HAN, J., J. A. HAMILTON, J. L. KIRKLAND, B. E. CORKEY AND W. GUO. Medium-chain oil reduces fat mass and down-regulates expression of adipogenic genes in rats. **Obes Res**, v. 11, n. 6, p. 734-744, 2003.

HAN, J. R., B. DENG, J. SUN, C. G. CHEN, B. E. CORKEY, J. L. KIRKLAND, J. MA AND W. GUO. Effects of dietary medium-chain triglyceride on weight loss and insulin sensitivity in a group of moderately overweight free-living type 2 diabetic Chinese subjects. **Metabolism**, v. 56, n. 7, p. 985-991, 2007.

HANOVER, L. M. AND J. S. WHITE. Manufacturing, composition, and applications of fructose. **Am J Clin Nutr**, v. 58, n. 5, p. 724S-732S, 1993.

HERMAN, M. A. AND V. T. SAMUEL. The Sweet Path to Metabolic Demise: Fructose and Lipid Synthesis. **Trends Endocrinol Metab**, v. 27, n. 10, p. 719-730, 2016.

HU, Q. H., X. ZHANG, Y. PAN, Y. C. LI AND L. D. KONG. Allopurinol, quercetin and rutin ameliorate renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation in fructose-fed rats. **Biochem Pharmacol**, v. 84, n. 1, p. 113-125, 2012.

IEMITSU, M., N. SHIMOJO, S. MAEDA, Y. IRUKAYAMA-TOMOBE, S. SAKAI, T. OHKUBO, Y. TANAKA AND T. MIYAUCHI. The benefit of medium-chain triglyceride therapy on the cardiac function of SHR is associated with a reversal of metabolic and signaling alterations. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 295, n. 1, p. H136-144, 2008.

JAMEEL, F., M. PHANG, L. G. WOOD AND M. L. GARG. Acute effects of feeding fructose, glucose and sucrose on blood lipid levels and systemic inflammation. **Lipids Health Dis**, v. 13, n. 195, 2014.

JANG, C., S. HUI, W. LU, A. J. COWAN, R. J. MORSCHER, G. LEE, W. LIU, G. J. TESZ, M. J. BIRNBAUM AND J. D. RABINOWITZ. The Small Intestine Converts Dietary Fructose into Glucose and Organic Acids. **Cell Metab**, v. 27, n. 2, p. 351-361, 2018.

JEGATHEESAN, P., S. BEUTHEU, G. VENTURA, E. NUBRET, G. SARFATI, I. BERGHEIM AND J. P. DE BANDT. Citrulline and Nonessential Amino Acids Prevent Fructose-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats. **J Nutr**, v. 145, n. 10, p. 2273-2279, 2015.

JEGATHEESAN, P. AND J. P. DE BANDT. Fructose and NAFLD: The Multifaceted Aspects of Fructose Metabolism. **Nutrients**, v. 9, n. 3, 2017.

JENSEN, T., M. F. ABDELMALEK, S. SULLIVAN, K. J. NADEAU, M. GREEN, C. RONCAL, T. NAKAGAWA, M. KUWABARA, Y. SATO, D. H. KANG, D. R. TOLAN, L. G. SANCHEZ-LOZADA, H. R. ROSEN, M. A. LANASPA, A. M. DIEHL AND R. J. JOHNSON. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. **J Hepatol**, v. 68, n. 5, p. 1063-1075, 2018.

KARISE, I., F. ORNELLAS, S. BARBOSA-DA-SILVA, C. MATSUURA, M. DEL SOL, M. . AGUILA AND C. A. MANDARIM-DE-LACERDA. Liver and Metformin: Lessons of a fructose diet in mice. **Biochim Open**, v. 4, p. 19-30, 2017.

KELLY, D. P. AND R. C. SCARPULLA. Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. **Genes Dev**, v. 18, n. 4, p. 357-368, 2004.

KERNER, J. AND C. HOPPEL. Fatty acid import into mitochondria. **Biochim Biophys Acta**, v. 1486, n. 1, p. 1-17, 2000.

KILKENNY, C., W. BROWNE, I. C. CUTHILL, M. EMERSON, D. G. ALTMAN AND N. C. R. R. G. W. GROUP. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. **Br J Pharmacol**, v. 160, n. 7, p. 1577-1579, 2010.

KIM, H., J. H. CHOE, J. H. CHOI, H. J. KIM, S. H. PARK, M. W. LEE, W. KIM AND G. W. GO. Medium-Chain Enriched Diacylglycerol (MCE-DAG) Oil Decreases Body Fat Mass in Mice by Increasing Lipolysis and Thermogenesis in Adipose Tissue. **Lipids**, v. 52, n. 8, p. 665-673, 2017.

KIM, J. W., Y. J. LEE, Y. H. YOU, M. K. MOON, K. H. YOON, Y. B. AHN AND S. H. KO. Effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, empagliflozin, and alpha-glucosidase inhibitor, voglibose, on hepatic steatosis in an animal model of type 2 diabetes. **J Cell Biochem**, 2018.

KONO, H., N. ENOMOTO, H. D. CONNOR, M. D. WHEELER, B. U. BRADFORD, C. A. RIVERA, M. B. KADIISKA, R. P. MASON AND R. G. THURMAN. Medium-chain

triglycerides inhibit free radical formation and TNF-alpha production in rats given enteral ethanol. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 278, n. 3, p. G467-476, 2000.

KONO, H., H. FUJII, M. ASAKAWA, M. YAMAMOTO, M. MATSUDA, A. MAKI AND Y. MATSUMOTO. Protective effects of medium-chain triglycerides on the liver and gut in rats administered endotoxin. **Ann Surg**, v. 237, n. 2, p. 246-255, 2003.

KOO, H. Y., M. MIYASHITA, B. H. CHO AND M. T. NAKAMURA. Replacing dietary glucose with fructose increases ChREBP activity and SREBP-1 protein in rat liver nucleus. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 390, n. 2, p. 285-289, 2009.

LANASPA, M. A., C. CICERCHI, G. GARCIA, N. LI, C. A. RONCAL-JIMENEZ, C. J. RIVARD, B. HUNTER, A. ANDRES-HERNANDO, T. ISHIMOTO, L. G. SANCHEZ-LOZADA, J. THOMAS, R. S. HODGES, C. T. MANT AND R. J. JOHNSON. Counteracting roles of AMP deaminase and AMP kinase in the development of fatty liver. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e48801, 2012.

LANASPA, M. A., L. G. SANCHEZ-LOZADA, Y. J. CHOI, C. CICERCHI, M. KANBAY, C. A. RONCAL-JIMENEZ, T. ISHIMOTO, N. LI, G. MAREK, M. DURANAY, G. SCHREINER, B. RODRIGUEZ-ITURBE, T. NAKAGAWA, D. H. KANG, Y. Y. SAUTIN AND R. J. JOHNSON. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. **J Biol Chem**, v. 287, n. 48, p. 40732-40744, 2012.

LAVILLE, M. AND J. A. NAZARE. Diabetes, insulin resistance and sugars. **Obes Rev**, v. 10, n. Suppl 1, p. 24-33, 2009.

LEMARIE, F., E. BEAUCHAMP, P. LEGRAND AND V. RIOUX. Revisiting the metabolism and physiological functions of caprylic acid (C8:0) with special focus on ghrelin octanoylation. **Biochimie**, v. 120, p. 40-48, 2016.

LEYTON, J., P. J. DRURY AND M. A. CRAWFORD. Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. **Br J Nutr**, v. 57, n. 3, p. 383-393, 1987.

LI, Q., W. ZHONG, Y. QIU, X. KANG, X. SUN, X. TAN, Y. ZHAO, X. SUN, W. JIA AND Z. ZHOU. Preservation of hepatocyte nuclear factor-4alpha contributes to the beneficial effect of dietary medium chain triglyceride on alcohol-induced hepatic lipid dyshomeostasis in rats. **Alcohol Clin Exp Res**, v. 37, n. 4, p. 587-598, 2013.

LI, R., J. MA, K. YU AND L. WANG. Dietary or enteral medium-chain triglyceride usage in a Chinese general hospital. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 24, n. 3, p. 387-393, 2015.

LIAU, K. M., Y. Y. LEE, C. K. CHEN AND A. H. RASOOL. An open-label pilot study to assess the efficacy and safety of virgin coconut oil in reducing visceral adiposity. **ISRN Pharmacol**, v. 2011, p. 949-686, 2011.

LIM, J. S., M. MIETUS-SNYDER, A. VALENTE, J. M. SCHWARZ AND R. H. LUSTIG. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 7, n. 5, p. 251-264, 2010.

- LIU, J., R. WANG, K. DESAI AND L. WU. Upregulation of aldolase B and overproduction of methylglyoxal in vascular tissues from rats with metabolic syndrome. **Cardiovasc Res**, v. 92, n. 3, p. 494-503, 2011.
- LIU, X. J., N. N. DUAN, C. LIU, C. NIU, X. P. LIU AND J. WU. Characterization of a murine nonalcoholic steatohepatitis model induced by high fat high calorie diet plus fructose and glucose in drinking water. **Lab Invest**, 2018.
- LOOMBA, R. AND A. J. SANYAL. The global NAFLD epidemic. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 10, n. 11, p. 686-690, 2013.
- MACFARLANE, G. T. AND S. MACFARLANE. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. **J AOAC**, v. 95, n. 1, p. 50-60, 2012.
- MACIAS-ROSALES, R., A. LARROSA-HARO, G. ORTIZ-GABRIEL AND B. TRUJILLO-HERNANDEZ. Effectiveness of Enteral Versus Oral Nutrition With a Medium-Chain Triglyceride Formula to Prevent Malnutrition and Growth Impairment in Infants With Biliary Atresia. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 62, n. 1, p. 101-109, 2016.
- MAGLIANO, D. C., A. PENNA-DE-CARVALHO, M. VAZQUEZ-CARRERA, C. A. MANDARIM-DE-LACERDA AND M. B. AGUILA. Short-term administration of GW501516 improves inflammatory state in white adipose tissue and liver damage in high-fructose-fed mice through modulation of the renin-angiotensin system. **Endocrine**, v. 50, n. 2, p. 355-367, 2015.
- MANNAERTS, G. P. AND P. P. VAN VELDHOVEN. Metabolic pathways in mammalian peroxisomes. **Biochimie**, v. 75, n. 3-4, p.: 147-158, 1993.
- MATULKA, R. A., O. NOGUCHI AND N. NOSAKA. Safety evaluation of a medium- and long-chain triacylglycerol oil produced from medium-chain triacylglycerols and edible vegetable oil. **Food Chem Toxicol**, v. 44, n. 9, p. 1530-1538, 2006.
- MCCARTY, M. F. AND J. J. DINICOLANTONIO. Lauric acid-rich medium-chain triglycerides can substitute for other oils in cooking applications and may have limited pathogenicity. **Open Heart**, v. 3, n. 2, p. e000467, 2016.
- MCGARRY, J. D. AND D. W. FOSTER. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. **Annu Rev Biochem**, v. 49, p. 395-420, 1980.
- MENSINK, R. P., P. L. ZOCK, A. D. KESTER AND M. B. KATAN. 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. 1146-1155, 2003.
- MUMME, K. AND W. STONEHOUSE. Effects of medium-chain triglycerides on weight loss and body composition: a meta-analysis of randomized controlled trials. **J Acad Nutr Diet**, v. 115, n. 2, p. 249-263, 2015.

MURAKAMI, K., M. B. E. LIVINGSTONE AND S. SASAKI. Thirteen-Year Trends in Dietary Patterns among Japanese Adults in the National Health and Nutrition Survey 2003(-)2015: Continuous Westernization of the Japanese Diet. **Nutrients**, v. 10, n. 8, 2018.

MUSSO, G., R. GAMBINO AND M. CASSADER. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Prog Lipid Res**, v. 48, n. 1, p. 1-26, 2009.

NEVIN, K. G. AND T. RAJAMOCHAN. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. **Clin Biochem**, v. 37, n. 9, p. 830-835, 2004.

NGUYEN, S., H. K. CHOI, R. H. LUSTIG AND C. Y. HSU. Sugar-sweetened beverages, serum uric acid, and blood pressure in adolescents. **J Pediatr**, v. 154, n. 6, p. 807-813, 2009.

PAPAMANDJARIS, A. A., D. E. MACDOUGALL AND P. J. JONES. Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. **Life Sci**, v. 62, n. 14, p. 1203-1215, 1998.

PEREZ-CARRERAS, M., P. DEL HOYO, M. A. MARTIN, J. C. RUBIO, A. MARTIN, G. CASTELLANO, F. COLINA, J. ARENAS AND J. A. SOLIS-HERRUZO. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology**, v. 38, n. 4, p. 999-1007, 2003.

PONCHAUT, S., F. VAN HOOFF AND K. VEITCH. In vitro effects of valproate and valproate metabolites on mitochondrial oxidations. Relevance of CoA sequestration to the observed inhibitions. **Biochem Pharmacol**, v. 43, n. 11, p. 2435-2442, 1992.

RASK-MADSEN, C. AND C. R. KAHN. Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 32, n. 9, p. 2052-2059, 2012.

REAVEN, G. M. The metabolic syndrome: time to get off the merry-go-round?. **J Intern Med**, v. 269, n. 2, p.127-136, 2011.

REEVES, P. G., F. H. NIELSEN AND G. C. FAHEY, JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

RONIS, M. J., J. N. BAUMGARDNER, N. SHARMA, J. VANTREASE, M. FERGUSON, Y. TONG, X. WU, M. A. CLEVES AND T. M. BADGER. Medium chain triglycerides dose-dependently prevent liver pathology in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 238, n. 2, p. 151-162, 2013.

SANCHEZ-LOZADA, L. G., T. NAKAGAWA, D. H. KANG, D. I. FEIG, M. FRANCO, R. J. JOHNSON AND J. HERRERA-ACOSTA. Hormonal and cytokine effects of uric acid. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 15, n. 1, p. 30-33, 2006.

SCHWARZ, J. M., S. M. NOWOROLSKI, M. J. WEN, A. DYACHENKO, J. L. PRIOR, M. E. WEINBERG, L. A. HERRAIZ, V. W. TAI, N. BERGERON, T. P. BERSOT, M. N. RAO,

M. SCHAMBELAN AND K. MULLIGAN. Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 100, n. 6, p. 2434-2442, 2015.

SEATON, T. B., S. L. WELLE, M. K. WARENKO AND R. G. CAMPBELL. Thermic effect of medium-chain and long-chain triglycerides in man. **Am J Clin Nutr**, v. 44, n. 5, p. 630-634, 1986.

SERVIDDIO, G., J. SASTRE, F. BELLANTI, J. VINA, G. VENDEMIALE AND E. ALTOMARE. Mitochondrial involvement in non-alcoholic steatohepatitis. **Mol Aspects Med**, v. 29, n. 1-2, p. 22-35, 2008.

SHINOHARA, H., A. OGAWA, M. KASAI AND T. AOYAMA. Effect of randomly interesterified triacylglycerols containing medium- and long-chain fatty acids on energy expenditure and hepatic fatty acid metabolism in rats. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 69, n. 10, p. 1811-1818, 2005.

SHINOHARA, H., J. WU AND T. AOYAMA. Effect of randomly interesterified triacylglycerol containing medium- and long-chain fatty acids on hepatic fatty acid oxidation after a single administration to rats. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 74, n. 11, p. 2336-2338, 2010.

SILVA, M. F., J. P. RUITER, I. J. L. C. JAKOBS, M. DURAN, I. T. DE ALMEIDA AND R. J. WANDERS. Differential effect of valproate and its Delta2- and Delta4-unsaturated metabolites, on the beta-oxidation rate of long-chain and medium-chain fatty acids. **Chem Biol Interact**, v. 137, n. 3, p. 203-212, 2001.

SONG, S., R. R. ATTIA, S. CONNAUGHTON, M. I. NIESEN, G. C. NESS, M. B. ELAM, R. T. HORI, G. A. COOK AND E. A. PARK. Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPARalpha) and PPAR gamma coactivator (PGC-1alpha) induce carnitine palmitoyltransferase IA (CPT-1A) via independent gene elements. **Mol Cell Endocrinol**, v. 325, n. 1-2, p. 54-63, 2010.

SOYAL, S. M., C. NOFZIGER, S. DOSSENA, M. PAULMICHL AND W. PATSCH. Targeting SREBPs for treatment of the metabolic syndrome. **Trends Pharmacol Sci**, v. 36, n. 6, p. 406-416, 2015.

ST-ONGE, M. P. Dietary fats, teas, dairy, and nuts: potential functional foods for weight control?. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 1, p. 7-15, 2005.

ST-ONGE, M. P., A. BOSARGE, L. L. GOREE AND B. DARNELL. Medium chain triglyceride oil consumption as part of a weight loss diet does not lead to an adverse metabolic profile when compared to olive oil. **J Am Coll Nutr**, v. 27, n. 5, p. 547-552, 2008.

ST-ONGE, M. P. AND P. J. JONES. Greater rise in fat oxidation with medium-chain triglyceride consumption relative to long-chain triglyceride is associated with lower initial body weight and greater loss of subcutaneous adipose tissue. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 27, n. 12, p. 1565-1571, 2003.

ST-ONGE, M. P., B. LAMARCHE, J. F. MAUGER AND P. J. JONES. Consumption of a functional oil rich in phytosterols and medium-chain triglyceride oil improves plasma lipid profiles in men. **J Nutr**, v. 133, n. 6, p. 1815-1820, 2003.

SUZUKI, M., S. TAKAISHI, M. NAGASAKI, Y. ONOZAWA, I. IINO, H. MAEDA, T. KOMAI AND T. ODA. Medium-chain fatty acid-sensing receptor, GPR84, is a proinflammatory receptor. **J Biol Chem**, v. 288, n. 15, p. 10684-10691, 2013.

TAKEUCHI, H., O. NOGUCHI, S. SEKINE, A. KOBAYASHI AND T. AOYAMA. Lower weight gain and higher expression and blood levels of adiponectin in rats fed medium-chain TAG compared with long-chain TAG. **Lipids**, v. 41, n. 2, p. 207-212, 2006.

TAKEUCHI, H., S. SEKINE, K. KOJIMA AND T. AOYAMA. The application of medium-chain fatty acids: edible oil with a suppressing effect on body fat accumulation. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 17, n. Suppl 1, p. 320-323, 2008.

TAPPY, L., K. A. LE, C. TRAN AND N. PAQUOT. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. **Nutrition**, v. 26, n. 11-12, p. 1044-1049, 2010.

TERADA, S., S. YAMAMOTO, S. SEKINE AND T. AOYAMA. Dietary intake of medium- and long-chain triacylglycerols ameliorates insulin resistance in rats fed a high-fat diet. **Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 92-97, 2012.

TORRES, D. M. AND S. A. HARRISON. Nonalcoholic fatty liver disease: Fibrosis portends a worse prognosis. **Hepatology**, v. 61, n. 5, p. 1462-1464, 2015.

TSOCHATZIS, E. A. AND G. V. PAPATHEODORIDIS. Is there any progress in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease?. **World J Gastrointest Pharmacol Ther**, v. 2, n. 1, p. 1-5, 2011.

TUCCI, S., S. PRIMASSIN, F. TER VELD AND U. SPIEKERKOETTER. Medium-chain triglycerides impair lipid metabolism and induce hepatic steatosis in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD)-deficient mice. **Mol Genet Metab**, v. 101, n. 1, p. 40-47, 2010.

TURNER, N., K. HARIHARAN, J. TIDANG, G. FRANGIOUDAKIS, S. M. BEALE, L. E. WRIGHT, X. Y. ZENG, S. J. LESLIE, J. Y. LI, E. W. KRAEGEN, G. J. COONEY AND J. M. YE. Enhancement of muscle mitochondrial oxidative capacity and alterations in insulin action are lipid species dependent: potent tissue-specific effects of medium-chain fatty acids. **Diabetes**, v. 58, n. 11, p. 2547-2554, 2009.

VAN VELDHoven, P. P. AND G. P. MANNAERTS. Role and organization of peroxisomal beta-oxidation. **Adv Exp Med Biol**, v. 466, p. 261-272, 1999.

VASDEV, S., L. LONGERICH AND V. GILL. Prevention of fructose-induced hypertension by dietary vitamins. **Clin Biochem**, v. 37, n. 1, p. 1-9, 2004.

VLUGGENS, A. AND J. K. REDDY. Nuclear receptors and transcription factors in the development of fatty liver disease. **Curr Drug Metab**, v. 13, n. 10, p. 1422-1435, 2012.

WALLACE, T. C. Health Effects of Coconut Oil-A Narrative Review of Current Evidence. **J Am Coll Nutr**, p. 1-11, 2018.

WANG, S., A. KAMAT, P. PERGOLA, A. SWAMY, F. TIO AND K. CUSI. Metabolic factors in the development of hepatic steatosis and altered mitochondrial gene expression in vivo. **Metabolism**, v. 60, n. 8, p. 1090-1099, 2011.

WANG, Y., Z. LIU, Y. HAN, J. XU, W. HUANG AND Z. LI. Medium Chain Triglycerides enhances exercise endurance through the increased mitochondrial biogenesis and metabolism. **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. 191-182, 2018.

WANG, Y. M. AND J. VAN EYS. Nutritional significance of fructose and sugar alcohols. **Annu Rev Nutr** v. 1, p. 437-475, 1981.

WHITE, M. D., A. A. PAPAMANDJARIS AND P. J. JONES. Enhanced postprandial energy expenditure with medium-chain fatty acid feeding is attenuated after 14 d in premenopausal women. **Am J Clin Nutr**, v. 69, n. 5, p. 883-889, 1999.

WU, G. H., O. ZANIOLO, H. SCHUSTER, E. SCHLOTZER AND L. PRADELLI. Structured triglycerides versus physical mixtures of medium- and long-chain triglycerides for parenteral nutrition in surgical or critically ill adult patients: Systematic review and meta-analysis. **Clin Nutr**, v. 36, n. 1, p. 150-161, 2017.

XU, C., A. LU, X. LU, L. ZHANG, H. FANG, L. ZHOU AND T. YANG. Activation of Renal (Pro)Renin Receptor Contributes to High Fructose-Induced Salt Sensitivity. **Hypertension**, v. 69, n. 2, p. 339-348, 2017.

YKI-JARVINEN, H. Nutritional modulation of nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance: human data. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 13, n. 6, p. 709-714, 2010.

ZHANG, Y., Q. XU, Y. H. LIU, X. S. ZHANG, J. WANG, X. M. YU, R. X. ZHANG, C. XUE, X. Y. YANG AND C. Y. XUE. Medium-Chain Triglyceride Activated Brown Adipose Tissue and Induced Reduction of Fat Mass in C57BL/6J Mice Fed High-fat Diet. **Biomed Environ Sci**, v. 28, n. 2, p. 97-104, 2015.

ZHOU, S., Y. WANG, Y. JIANG, Z. ZHANG, X. SUN AND L. L. YU. Dietary Intake of Structured Lipids with Different Contents of Medium-Chain Fatty Acids on Obesity Prevention in C57BL/6J Mice. **J Food Sci**, v. 82, n. 8, p. 1968-1977, 2017.

APÊNDICE – Artigo científico publicado

Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 140 (2019) 64–71



Contents lists available at ScienceDirect

Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/plefa

Medium-chain triglyceride reinforce the hepatic damage caused by fructose intake in mice

Janaina Guimarães^a, Thereza Cristina Lonzetti Bargut^b, Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda^{a,*}, Marcia Barbosa Aguila^a^a Laboratory of Morphometry, Metabolism and Cardiovascular Diseases, Biomedical Center, Institute of Biology, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil^b Basic Sciences Department, Nova Friburgo Health Institute, Fluminense Federal University, Nova Friburgo, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Medium-chain triglycerides
Fructose
Steatosis

ABSTRACT

We aimed to investigate the effects of medium-chain triglyceride oil on the high fructose diet-provoked hepatic abnormalities in mice. We used C57bl/6 mice of 3-months-old divided into four groups for 12 weeks: control (C), control with MCT (C-MCT), fructose (F), and fructose with MCT (F-MCT). We investigated food and water intake, body mass, blood pressure, glucose tolerance, plasma and liver biochemistry, hepatic protein and gene expression. There were no changes in body mass, food intake and glucose tolerance among the groups. The F group presented increased water intake and blood pressure associated with hepatic steatosis and elevated *de novo* lipogenesis, beta-oxidation, mitochondrial biogenesis and inflammation in the liver. Surprisingly, the C-MCT group also showed hepatic steatosis and inflammation in the liver, and the F-MCT group had no exacerbations of fructose-induced abnormalities, showing marked hepatic steatosis, lipogenesis *de novo* and hepatic inflammation. The MCT oil groups also presented increased beta-oxidation and mitochondrial biogenesis. In conclusion, MCT oil showed detrimental hepatic effects and should be used with caution, especially in the presence of hepatic alterations.

1. Introduction

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by hepatic lipid accumulation, or steatosis, which can progress to nonalcoholic steatohepatitis or NASH (inflammation, fibrosis and ultimately cirrhosis) [1]. Approximately one billion individuals around the world currently have NAFLD, the hepatic manifestation of metabolic syndrome [2]. Epidemiological [3] and experimental [4] studies demonstrate a strong correlation between the fructose intake and NAFLD.

Although today we know that ingested fructose is metabolized first in the small intestine, in a mechanism that can get saturated with its overload, with fructose accumulation in the intestine it ends up reaching the circulation and consequently the liver [5]. Therefore, fructose induces *de novo* lipogenesis, triglyceride secretion, low fatty

acid oxidation, and high gluconeogenesis, thereby resulting in lipid accumulation and hepatic damage [6,7].

Medium-chain triglycerides (MCT) are composed of a glycerol backbone and three fatty acids that have an aliphatic tail of 6–12 carbon atoms. MCT usually have two or three of the fatty acid chains as medium-chain fatty acids (MCFA). MCT exists in natural foods with high percentages found in coconut oil, palm kernel oil, desiccated coconut, and raw coconut meat according to the US Department of Agriculture National Nutrient Database [8]. Unlike long-chain triglycerides, MCT will be broken down into glycerol and MCFA, which will be directly absorbed into the bloodstream. In contrast to long-chain triglycerides, MCT is hydrolyzed rapidly to MCFA and do not need to be incorporated into chylomicrons, being driven to the portal vein, and then to the liver [9].

Abbreviations: ACC, acetyl-CoA carboxylase; AIN 93M, American Institute of Nutrition's recommendations for rodents to maintain; ANOVA, analysis of variance; BP, blood pressure; C, control group; CPT, carnitine palmitoyltransferase; C-MCT, control with MCT oil group; F, fructose group; FAS, fatty acid synthase; F-MCT, fructose with MCT oil group; IL, interleukin; MCAD, medium-chain acyl-CoA dehydrogenase; MCFA, medium-chain fatty acids; MCT, medium-chain triglycerides; NAFLD, nonalcoholic fatty liver disease; NASH, nonalcoholic steatohepatitis; NRF, nuclear respiratory factor; OGTT, oral glucose tolerance test; PGC, peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator; PPAR, peroxisome-proliferator-activator receptor; SREBP, sterol regulatory element binding protein; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; TNF, tumor necrosis factor; UCP, mitochondrial uncoupling protein

* Corresponding author at: Laboratório de Morfometria, Metabolismo e Doença Cardiovascular, Instituto de Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 20551-030, Brazil.

E-mail addresses: mandarim@uerj.br, mandarim.ca@gmail.com (C.A. Mandarim-de-Lacerda).

<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.11.005>

Received 17 August 2018; Received in revised form 6 November 2018; Accepted 8 November 2018
0952-3278/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

ANEXO – Comitê de ética


**COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO
DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA)**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos da ingestão de triglicérides de cadeia média (TCM) na estrutura e no metabolismo hepático de camundongos alimentados com dieta rica em frutose", registrada com o nº 002/2018, sob a responsabilidade de **Márcia B. A. Mandarim de Lacerda** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - 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 aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, em reunião de 30/01/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigencia da autorização	30/01/2022
Espécie/linhagem/raça	Camundongo C57BL/6
Nº de animais	40
Peso/idade	18 g / 3 meses
Sexo	Macho
Origem	Biotério setorial

Rio de Janeiro, 30 de Janeiro de 2018.

Prof. Dr. Alex C. Manhães
Coordenador
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Patricia C. Lisboa
Vice-Coordenadora
CEUA/IBRAG/UERJ