

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS DE ITAQUI
CURSO DE BACHARELADO INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA**

HILTON ANDRÉ SEVERO MESSA

**INVESTIGAÇÃO DE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
OXIDATIVAS INDUZIDAS POR SUPLEMENTAÇÃO COM GORDURA
INTERESTERIFICADA E POSTERIOR EXPOSIÇÃO AO FERRO EM *D.*
melanogaster.**

**ITAQUI
2024**

HILTON ANDRÉ SEVERO MESSA

**INVESTIGAÇÃO DE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
OXIDATIVAS INDUZIDAS POR SUPLEMENTAÇÃO COM GORDURA
INTERESTERIFICADA E POSTERIOR EXPOSIÇÃO AO FERRO EM *D.*
melanogaster.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à componente curricular de TCC, do Bacharelado Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia, da Unipampa, Campus de Itaqui, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em ciência e tecnologia.

Orientador: Hecson Jessor Segat;

Co-orientadora: Luana Barreto Meichtry

Itaqui

2024

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

M656i Messa, Hilton Andre Severo Messa
 investigação de alterações comportamentais e oxidativas
 induzida com suplementação com gordura interesterificada e
 posterior exposição ao ferro em D. melanogáster. / Hilton
 Andre Severo Messa Messa.

23 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA,
2024.

"Orientação: Hecson jesser segat Segat".

1. saúde. I. Título.

HILTON ANDRE SEVERO MESSA

**INVESTIGAÇÃO DE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
OXIDATIVAS INDUZIDAS POR SUPLEMENTAÇÃO COM GORDURA
INTERESTERIFICADA E POSTERIOR EXPOSIÇÃO AO FERRO EM *D.***

melanogaster.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso Bacharelado Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharelado em Ciência e Tecnologia.

Área de concentração:
Interdisciplinar.

Trabalho de conclusão de curso apresentado e aprovado em 11 de julho de 2024

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente



HECSON JESSER SEGAT

Data: 18/07/2024 16:25:50-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Professor Dr. Hecson Jesser Segat (Orientador) - Unipampa

Documento assinado digitalmente



LUANA BARRETO MEICHTRY

Data: 17/07/2024 00:13:16-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dra. Luana Barreto Meichtry (Coorientadora) - Unipampa

Documento assinado digitalmente



MARINA PRIGOL

Data: 15/07/2024 16:22:09-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Professora Dra. Marina Prigol -Unipampa

Documento assinado digitalmente



NATHALIE SAVEDRA GOMES CHAVES

Data: 15/07/2024 17:04:23-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Me. Nathalie Gomes Savedra - Unipampa

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a minha mãe por nunca medir esforços em me apoiar e me incentivar em prol da minha educação.

Aos meus irmãos que sempre acreditaram em mim e um agradecimento especial ao meu orientador por aceitar me orientar e por sua valiosa contribuição ao decorrer de todo esse processo.

Agradeço também a minha co orientadora por sua atenção e disponibilidade para atender minhas demandas.

Agradeço também aos meus colegas e amigos que de forma direta ou indireta sempre me incentivaram a não desistir.

Agradeço a Universidade Federal do Pampa e seu corpo docente que demonstrou estar comprometido com a qualidade e excelência do ensino.

RESUMO

A mudança dos hábitos alimentares contribuiu significativamente para o aumento do consumo de gorduras ultraprocessadas. Entre as gorduras sintéticas mais utilizadas em produtos alimentícios, encontra-se a Gordura interesterificada (GI). No entanto, alguns estudos já demonstram que a ingestão dessa gordura se mostra nociva para a saúde. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar se a exposição aguda de uma concentração baixa de ferro (Fe) afeta os parâmetros comportamentais e oxidativos em moscas *D. melanogaster* previamente expostas à GI. As moscas foram divididas em quatro grupos experimentais: I) Controle; II) GI 5%; III) Fe 5 mM; IV) GI 5% + Fe 5 mM. Primeiramente foram expostas, por 7 dias, à GI, e na sequência foram expostas por 24 h em solução de Ferro. Posteriormente, foram submetidas a testes comportamentais de atividade locomotora (labirinto de campo aberto e geotaxia negativa). Após as análises comportamentais, foram eutanasiadas, e homogeneizadas para análises de estado oxidativo (espécies reativas e redução da resazurina). Dessa maneira, verificamos que as moscas expostas à GI e ao Ferro apresentaram maiores danos (motores e oxidativos).

Palavras - chave: Estresse oxidativo; Moscas; Gordura ultraprocessada.

ABSTRACT

The change in eating habits has significantly contributed to the increase in the consumption of ultra-processed fats. Among the most commonly used synthetic fats in food products is Interesterified Fat (IF). However, some studies have already shown that the intake of this fat is harmful to health. Therefore, the objective of this study was to evaluate whether acute exposure to a low concentration of iron (Fe) affects the behavioral and oxidative parameters in *D. melanogaster* flies previously exposed to IF. The flies were divided into four experimental groups: I) Control; II) IF 5%; III) Fe 5 mM; IV) IF 5% + Fe 5 mM. First, they were exposed to IF for 7 days, and then they were exposed to an iron solution for 24 hours. Subsequently, they underwent behavioral tests for locomotor activity (open field maze and negative geotaxis). After the behavioral analyses, they were euthanized and homogenized for oxidative state analyses (reactive species and resazurin reduction). In this way, we found that flies exposed to IF and iron showed greater damage (motor and oxidative).

keywords; oxidative stress; flies; ultra processed fat.

LISTA DE ABREVIATURAS

GI – Gordura interesterificada.

LDL – Lipoproteína de baixa densidade (do inglês, *low density lipoprotein*).

HDL – Lipoproteína de alta densidade (do inglês, *high density lipoprotein*).

AVC – Acidente vascular cerebral.

TG – Triacilglicerol.

ER – Espécie reativa.

mM – Milimolar.

RS – Resazurina.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Curva de mortalidade.....	16
Figura 2- Efeito das diferentes dietas em <i>D. melanogaster</i>	17
Figura 3- Efeito da exposição crônica a GI e exposição aguda ao ferro sobre análise comportamental em <i>D. melanogaster</i>	17
Figura 4- Análise oxidativas em <i>D. melanogaster</i> após exposição crônica a GI e exposição aguda ao ferro.....	18

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Materiais e métodos	13
2.1. Reagentes.....	13
2.2 Cultura das moscas <i>D. melanogaster</i>	13
2.3 Procedimentos experimentais.....	13
2.3.1. Confecção da curva de mortalidade induzida por ferro.....	13
2.3.2 Exposição crônica à GI e posteriormente ao ferro	14
2.3.3 Análises <i>in vivo</i>	14
2.3.4. Análises <i>ex vivo</i>	15
2.3.5. Análise estatística.....	15
3. Resultados	16
3.1 Curva de mortalidade induzida por exposição aguda ao ferro, em <i>d. melanogaster</i>	15
3.2. Mortalidade em <i>D. melanogaster</i> expostas à Gi e posteriormente ao ferro.....	16
3.3. Análises comportamentais em <i>D. melanogaster</i> após exposição crônica à GI e exposição aguda ao ferro.....	17
3.4. Análises oxidativas em <i>D. melanogaster</i> após exposição crônica à GI e exposição aguda ao ferro.	18
4. Discussão.....	18
Conclusão	20
Referências	21

1. INTRODUÇÃO

A história da espécie humana (*Homo sapiens*), ao decorrer de milhares de anos, sempre se manteve mutável. Os seres humanos sobreviveram a períodos de escassez, beirando até a extinção. No entanto, devido à capacidade adaptativa, a nossa espécie conseguiu sobreviver a todos os eventos (Harari, 2020). Concomitantemente com a nossa evolução a alimentação teve e tem um papel crucial para o desenvolvimento físico e psíquico do indivíduo. Atualmente, a tecnificação da agricultura, e também o desenvolvimento dos meios de transporte, (sejam eles terrestres, aéreos, ou marítimos), permitiram uma globalização, a qual nos possibilita apreciar uma infinidade de alimentos de diversas culturas, um exemplo é a comida japonesa muito apreciada em praticamente os continentes (Proença, 2010), também neste mundo globalizado, outros alimentos tornaram-se muito consumidos, como *fast foods*, biscoitos e outros panificados de longa duração (Moratoya et al., 2013).

O Brasil é um país de dimensões continentais, apresenta uma diversidade cultural que engloba variados alimentos que são específicos de cada região (Peccini, 2013). Porém, devido à globalização e a mudança de hábitos alimentares, como a ingestão de alimentos altamente processados, com altas taxas energéticas, ou seja, com alto teor de açúcares e gorduras (Garcia, 2003). Nesse ínterim, é preciso destacar que com tais alterações alimentares, as próximas gerações sofrerão as consequências, com taxas crescentes de doenças metabólicas, tais como diabetes mellitus, dislipidemias, alterações cardiovasculares e também alterações neurológicas (Martins; Faria, 2018). Entre os insumos alimentares, os óleos e as gorduras desempenham um papel relevante para os seres humanos, pois são fontes de energia para o corpo. Além disso, conferem sabor, aroma e textura característicos aos alimentos.

A nível industrial, as empresas visando um tempo maior de prateleira, conservando a palatabilidade do alimento, textura, aroma, entre outras características, resolveram desenvolver a hidrogenação parcial (Pinho; Suarez, 2013). Esse processo consiste em transformar o óleo vegetal em gordura, esse processo é basicamente colocar óleo vegetal em um tanque de níquel e inserir hidrogênio na molécula, isso faz com que a ligação dupla do ácido graxo seja quebrado, desta forma uma cadeia carbônica insaturada passa ser parcialmente saturado (Merçon, 2010). Na configuração *trans*, os átomos de hidrogênio encontram-se em direções opostas, dando origem a uma estrutura semelhante à dos ácidos graxos saturados (Pinho; Suarez, 2013). O consumo em excesso do ácido graxo *trans*, faz com que ocorra uma elevação nos níveis do LDL colesterol, e ao mesmo tempo a diminuição do HDL colesterol, tal desequilíbrio entre as frações de colesterol provoca um acúmulo indesejado de gordura nas artérias, causando então

uma série de complicações para a saúde, como problemas cardiovasculares, aterosclerose, acidente vascular cerebral (AVC), diabetes mellitus tipo 2 (Milanesi, 2017; Pinho; Suarez, 2013).

Devido aos malefícios causados pelo consumo de gordura *trans*, as agências de saúde determinaram a sua utilização consideravelmente nas indústrias alimentícias (WHO, 2023). Dessa forma, como método alternativo, as indústrias passaram a utilizar a gordura interesterificada (GI), processo em que há a produção de gordura sólida a partir de óleos vegetais, sem haver a formação de gordura *trans* (Sloop; Weidman; Cyr, 2018).

Assim como a gordura parcialmente hidrogenada, a GI é também modificada quimicamente, no entanto essa modificação consiste no rearranjo na molécula de triacilglicerol (TG), resultando em um produto com consistência e aroma desejado, e principalmente sem a presença de isômero *trans*. Apesar desta gordura já estar presente nos alimentos industrializados, as suas implicações na saúde humana ainda permanecem escassas. Alguns estudos já mostram a influência negativa do consumo crônico de GI em roedores, por alterar o comportamento e elevar os danos oxidativos (D'Ávila et al., 2017, 2022). No entanto, é de grande importância a busca por modelos alternativos que possibilitem compreender as alterações provocadas pela gordura interesterificada em humanos. Diante disso, estudos demonstram que a *Drosophila melanogaster* é promissora na compreensão das doenças humanas, (WHO, 2019; Domingues et al., 2023).

O Ferro (Fe) é um elemento essencial para diversas funções biológicas, incluindo o transporte de oxigênio e a produção de energia celular (Grotto, 2008). No entanto, seu excesso no organismo pode ser prejudicial devido aos seus efeitos oxidativos (Grotto, 2008). Quando presente em concentrações elevadas, o ferro pode catalisar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) através da reação de Fenton. Essas EROs, como o radical hidroxila, são altamente reativas e podem causar danos significativos a lipídios, proteínas e DNA. Esse estresse oxidativo pode levar a várias patologias, incluindo doenças neurodegenerativas, câncer e desordens cardiovasculares (Fernandez, 2007). Além disso, o excesso de ferro pode sobrecarregar os mecanismos antioxidantes do organismo, agravando ainda mais o dano oxidativo. Portanto, é crucial manter um equilíbrio adequado de ferro no corpo para prevenir esses efeitos deletérios e garantir a saúde celular (Fernandez, 2007). Tendo em vista o caráter oxidativo do Fe, o presente estudo teve por objetivo avaliar se a exposição aguda a uma dose subtóxica de ferro afeta parâmetros comportamentais e oxidativos em moscas *D. melanogaster* previamente expostas à GI.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes

A GI (Coamo®, PR, Brasil) e o óleo de soja, usado como controle isocalórico (Coamo®, PR, Brasil) foram obtidos em mercados locais. Os demais reagentes foram adquiridos da Sigma-ALdrich® (SP, Brasil).

2.2 Cultura das moscas *D. melanogaster*

As moscas *Drosophila melanogaster* (cepa harwich) foram mantidas em incubadora com demanda de bio-oxigênio em um ciclo padrão claro/escuro de 12 horas, a 25 °C e 60% de umidade. As moscas foram alimentadas com dieta padrão de laboratório composta por farinha de milho (76,59%) gérmen de trigo (8,51%), açúcar (7,23%), leite em pó (7,23%), sal (0,43%) (Meichtry et al., 2020).

2.3 Procedimentos experimentais

2.3.1 Confeção da curva de mortalidade induzida por ferro.

Primeiramente foi confeccionada uma curva de concentração de Fe (mM) X mortalidade (%), para determinar menor concentração de Fe que não induza mortalidade significativamente diferente do grupo controle, em moscas saudáveis. Para a confecção desta curva foram preparados frascos contendo a base forrada com papel filtro embebido com 1 mL de sulfato ferroso (fonte de Fe) nas seguintes concentrações: 5 mM, 10 mM, 20 mM, 30 mM e 40 mM, por 24h. O sulfato ferroso foi dissolvido em solução de sacarose 1%. O grupo controle recebeu somente sacarose 1%. Na sequência foram introduzidas em cada frasco, 50 moscas, que permaneceram em contato com a solução de Fe por 24h. Na sequência foi contabilizada a quantidade de indivíduos mortos e foi realizado o cálculo de % de mortes (adaptado de Poetini et al., 2018). Foi utilizado um 'n' experimental de 5 para a confecção da curva. Foi eleita a concentração de 5 mM de Fe, conforme apresentado no item 4.1.

2.3.2 Exposição crônica à GI e posteriormente ao Ferro

Após eleita a concentração de Fe (de 5mM), conforme descrito na curva anterior, foi realizado o experimento de exposição das moscas à GI e posteriormente ao Fe. As moscas, de 1 a 3 dias de vida, foram mantidas por 7 dias em dieta regular enriquecida com a suplementação lipídica respectiva de cada grupo experimental, ao final dos 7 dias (adaptado de Meichtry et al., 2024 e 2020), foram expostas por 24 h ao Fe. Para este experimento as moscas foram distribuídas em quatro grupos experimentais, contendo 50 moscas em cada frasco. Os grupos foram: I) Grupo controle [contendo 5% de óleo de soja (controle isocalórico)]; II) Grupo GI 5% [contendo 5% de GI (incorporada à dieta padrão)]; III) Grupo Fe 5 mM (receberam óleo de soja e depois foi exposto agudamente ao Fe) IV) Grupo GI 5% + Fe mM [foi exposta à GI 5% e posteriormente ao Fe 5mM). Durante os 7 dias de exposição à dieta, foi contabilizada a mortalidade de cada 'n' experimental. Ao final da exposição ao Fe, as moscas foram submetidas aos testes comportamentais para verificar a locomoção (teste de geotaxia negativa e labirinto em campo aberto) e na sequência eutanasiadas para análises de perfil oxidativo (geração de espécies reativa e redução de resazurina).

2.3.3 Análises *in vivo*

a) Geotaxia negativa:

O teste foi utilizado para avaliar a capacidade de escalada e possíveis danos locomotores das moscas, realizado conforme método descrito por Paula et al. (2014) as moscas de cada grupo foram coladas em tubos de ensaios individualmente (10 centímetros de comprimento e 1,5 cm de largura). As moscas foram batidas suavemente até caírem no fundo do tubo, e o tempo em que as moscas levaram para atingir a marca de 8 cm no tubo foi cronometrado.

b) Labirinto de campo aberto:

Após 7 dias de exposição ao tratamento, foi avaliada a capacidade de locomoção e exploração no teste de campo aberto, conforme descrito por Conolly (1966), e modificações de Musachio et al (2020). Moscas de cada grupo foram mantidas individualmente em placas de petri, as quais eram divididas em quadrantes (1x1 cm), antes do início do teste as moscas permanecem no período de adaptação por 10 min, após esse período, o número de cruzamento foi determinado em 60 segundos. 4 experimentos independentes foram realizados.

2.3.4. Análises *ex vivo*

a) Preparo da Homogeneização para análises bioquímicas:

Para preparo da homogeneização, as moscas de cada grupo experimental foram separadas e imobilizadas por congelamento. Na sequência, foram homogeneizadas em tampão adequado para cada análise. O Homogenato foi centrifugado e o sobrenadante reservado e utilizado para as análises descritas abaixo. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

b) Análise de geração de espécies reativas (ER):

A Geração de ER foi determinada pela quantificação de oxidação da 2',7'-diclorofluoresceína diacetato (DCHF-DA). A oxidação da DCHF-DA, pelas ER presentes na amostra, em diclorofluoresceína (DCF) foi determinada em leitor de placas EnsPireR (Perkin Elmer, EUA) com 485 nm para excitação de 530 nm para emissão, de acordo com Pérez-Severiano et al (2004). Os resultados foram expressos em % do grupo controle.

c) Análise de redução da resazurina:

Esta análise se baseia na capacidade que as células viáveis possuem em reduzir a resazurina em resofurina (fluorescente), de acordo com a metodologia proposta por Pérez-severiano et al., 2004. Para o ensaio foram utilizadas 20 moscas por grupo, as quais foram homogeneizadas em tampão Tris HCl 10mM (pH 7,0) e centrifugadas a 3570 r.p.m. por 10 minutos a 4° C. Na sequência, 20uL de sobrenadante foram incubados em placas de ELISA contendo 180 uL e tampão Tris HCl 10mM (pH 7,0) e 10 uL de resazurina, por 1h. A fluorescência foi determinada em leitor de placas EnsPireR (Perkin Elmer, EUA) com 579 nm para excitação de 584 nm para emissão.

2.3.5. Análise estatística

Foi realizada Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls. Os dados foram expressos em média aritmética \pm erro padrão da média. Valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$. As figuras foram confeccionadas no software GraphPad Prism 9.5.

3. RESULTADOS

3.1. Curva de mortalidade induzida por exposição aguda ao Ferro, em *D. melanogaster*.

Na confecção de curva de exposição ao Ferro, observou-se redução significativa, em relação ao grupo controle (não exposto ao Ferro) na sobrevivência, a partir da concentração de 10 mM. A concentração Letal (CL) encontrada foi de 33,4 mM (Figura 1).

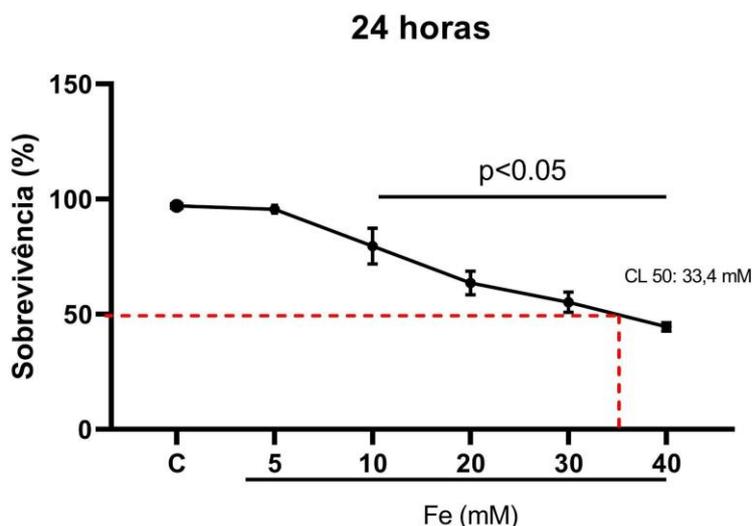


Figura 1: Efeito da exposição ao ferro nas concentrações de 5, 10, 20, 30 e 40 mM sobre sobrevivência em *D. melanogaster*. Os resultados representam a média \pm E.P.M, de 5 experimentos independentes. Resultados para $p < 0,05$ indicam diferença significativa em relação ao grupo controle.

3.2. Mortalidade em *D. melanogaster* expostas à GI e posteriormente ao Ferro.

Na taxa de mortalidade, no último dia após a exposição ao Fe, não se observou diferença significativa (Figura 2 A). Já na mortalidade total, podemos observar um aumento no número de moscas mortas no grupo exposto a Fe 5mM + GI 5%, quando comparado aos demais grupos (Figura 2 B).

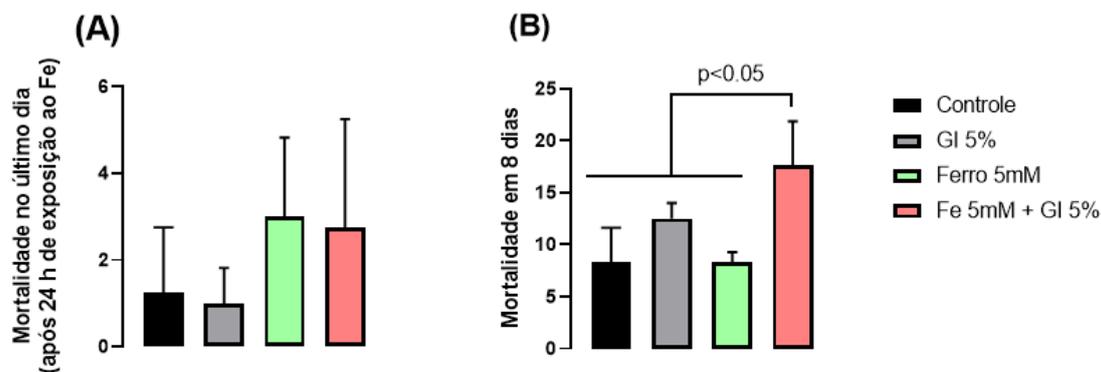


Figura 2: Efeito das diferentes dietas sobre a mortalidade em *D. melanogaster*. (A) Mortalidade no último dia (após 24 h de exposição ao Fe) e (B) Mortalidade total durante 8 dias. Os resultados representam a média \pm E.P.M. de 4 experimentos independentes. Para a mortalidade total, a significância dos resultados foi determinada por ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls. $p < 0,05$ indica diferença significativa.

3.3. Análises comportamentais em *D. melanogaster* após exposição crônica à GI e exposição aguda ao Ferro.

O teste de Geotaxia Negativa foi utilizado para avaliar a capacidade de escalada das moscas. Nossos resultados mostraram que a exposição à Fe 5mM +GI 5% provocou uma redução na capacidade de escalada, quando comparado aos demais grupos, conforme observado através de um maior tempo necessário para atingir 8 cm no tubo (Figura 3A). Já o teste de campo aberto foi utilizado para avaliar a capacidade locomotora das moscas. Nesse teste, não observou-se diferença significativa na capacidade locomotora das moscas entre os grupos experimentais (Figura 3B).

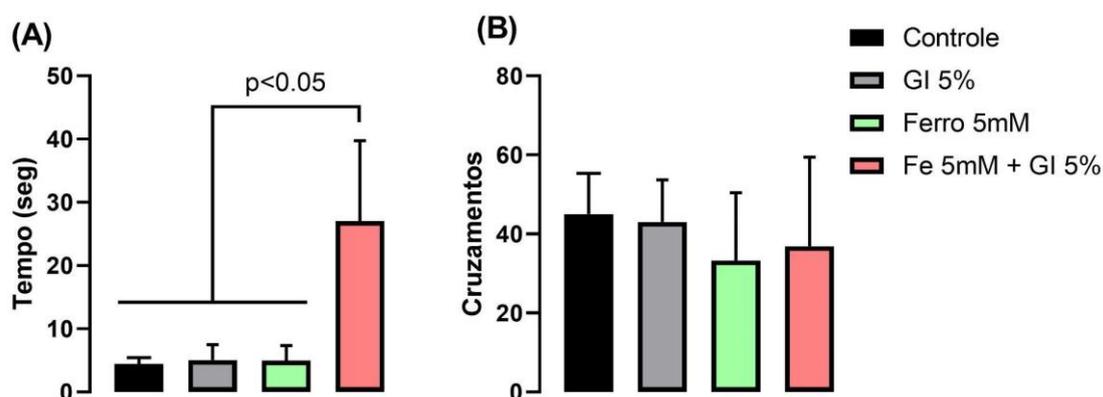


Figura 3: Efeito da exposição crônica à GI e exposição aguda ao ferro sobre análise comportamentais em *Drosophila Melanogaster*. (A) Teste de Geotaxia Negativa; (B) Teste de campo aberto. Para ambos os testes foram utilizadas 20 moscas, totalizando 4 experimentos independentes. A significância dos resultados foi determinada

por ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey. Os resultados foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

3.4. Análises oxidativas em *D. melanogaster* após exposição crônica à GI e exposição aguda ao Ferro.

Nossos resultados mostram que não houve diferença significativa na viabilidade celular entre os grupos experimentais (Figura 4A). A exposição à Fe 5mM +GI 5% aumentou os níveis de espécies reativas, quando comparado aos demais grupos experimentais (Figura 4B).

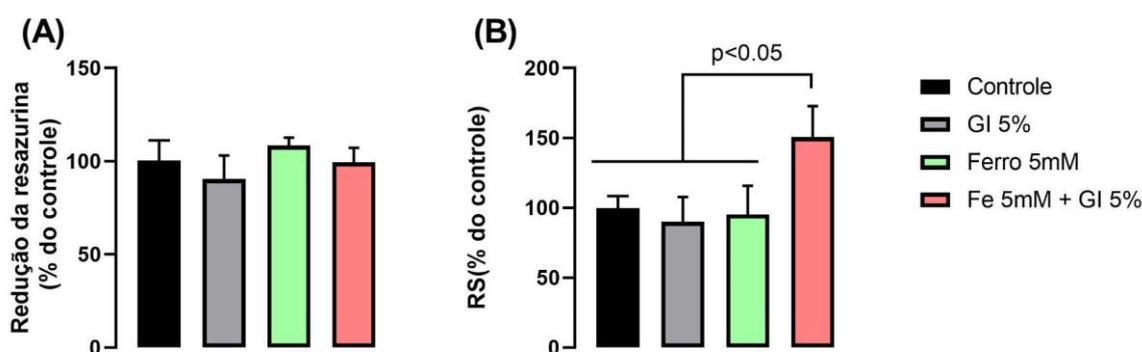


Figura 4: Efeito da exposição crônica à GI e exposição aguda ao ferro sobre parâmetros oxidativos em *Drosophila Melanogaster*. (A) Redução de resazurina. (B) Espécies reativas. Para ambas as análises, foram realizados 4 experimentos independentes. A significância dos resultados foi determinada por ANOVA de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

4. DISCUSSÃO

Entre insumos alimentares, os óleos e as gorduras desempenham um papel relevante para nós seres humanos, pois são fontes de energia para o nosso corpo e exercem algumas funções vitais para o funcionamento do nosso organismo, também conferem sabor, aroma, texturas e características aos alimentos (Milanesi, 2017). Com a substituição da gordura hidrogenada para a GI, essa última passa a ser um insumo presente em nossas vidas, devido a sua grande utilidade nas indústrias, sendo assim, ela já encontra-se nos alimentos industrializados, padarias, lancherias e suas implicações com a saúde humana ainda permanecem escassas.

Um trabalho de revisão conduzido por Coutinho (2021), mostra que o consumo de GI afeta o metabolismo, e gera a propensão a doenças como esteatose hepática, disglucemias e dislipidemias. Também outros estudos já mostram a influência negativa do consumo crônico

de GI em roedores, por alterar o comportamento e elevar os danos oxidativos (D'Avila, 2022, Milanesi, 2017). Neste sentido, o presente trabalho avaliou parâmetros comportamentais e oxidativos de moscas *D. melanogaster* que receberam GI (por 7 dias) e posteriormente foram expostas de maneira aguda (24 h) ao Sulfato ferroso em concentrações subtóxicas. Para este experimento, primeiramente, foram testadas algumas concentrações de sulfato ferroso para determinar qual a maior concentração subtóxica. A curva confeccionada compreendeu concentrações de 5 até 40 mM de ferro. A concentração que não afetou a mortalidade, e consequentemente a escolhida para o estudo, foi a de 5 mM.

Na sequência foi realizado o experimento com exposição das moscas à GI. As moscas foram expostas à GI na concentração de 5%, por 7 dias, logo, foram expostas ao sulfato ferroso por 24h. observou se que o grupo GI 5% + Fe 5mM, apresentou aumento na mortalidade total em relação aos demais grupos.

Após o período experimental, os testes de campo aberto e geotaxia negativa foram realizados. Nossos resultados mostram que não houve alterações na atividade exploratória das moscas, conforme observado através do teste de campo aberto. Já em relação à habilidade de escalada, podemos observar um aumento no tempo de escalada no grupo GI 5% + Fe 5mM, conforme observado no teste de geotaxia negativa, sugerindo um possível prejuízo locomotor nas moscas. Corroborando com nossos achados, estudos mostram que a exposição à GI causa declínio locomotor em roedores, podendo estar relacionado a danos em áreas cerebrais conectadas à capacidade motora (D'avila 2017; D'avila 2022). Baseado nisso, evidências sugerem que diferentes tipos de ácidos graxos desempenham papel importante no desenvolvimento de funções motoras, sendo que os ácidos graxos provindos da alimentação podem modificar estruturas neuronais influenciando na liberação de neurotransmissores importantes no sistema motor, como a dopamina (D'Avila 2022; Perona 2017).

Também, a oxidação de gorduras no organismo é um processo que pode gerar espécies reativas de oxigênio (EROs), compostos altamente reativos que podem causar danos celulares significativos (Baber, Harris, 1994). Quando o Fe está presente em excesso, ele pode catalisar a formação dessas EROs através da reação de Fenton, na qual o ferro reage com peróxido de hidrogênio, produzindo o radical hidroxila, uma das EROs mais agressivas (Halliwell, 1992). Esse radical pode iniciar a peroxidação lipídica, um processo em que as gorduras das membranas celulares são atacadas, resultando em produtos que comprometem a integridade celular (Benzie, 1996). A interação entre a oxidação de gorduras e a geração de EROs mediada pelo Fe pode, assim, criar um ciclo vicioso de dano oxidativo, exacerbando a peroxidação lipídica e potencialmente levando a diversas doenças crônicas. Corroborando com o descrito

acima, a presença do Fe no grupo que também recebeu GI 5% mostrou maiores danos como geração de RS e como reflexo, maior tempo de escalada no teste de geotaxia negativa. Evidenciando a potencialização da toxicidade quando esses agentes são associados. Desse modo, sugerimos que os níveis elevados de RS pode estar relacionado ao declínio locomotor aqui observado, uma vez que, níveis elevados de RS pode desencadear o quadro de estresse oxidativo, o qual está associado ao envelhecimento e condições neurodegenerativas, e assim contribuindo para o declínio locomotor (Franzoni et al., 2021) po. Apesar de haver um aumento na geração de RS conforme aqui mostrado, isso não foi suficiente para afetar a viabilidade celular, conforme observado através do teste de resazurina.

Ademais, o aumento nos níveis de RS pode estar associado ao aumento na mortalidade total das moscas, já que está relacionado ao desequilíbrio na homeostasia, assim como morte celular e como consequência, redução na expectativa de vida (Musachio et al., 2020). Relacionado a isso, um estudo realizado por D'Ávila et al. (2017) mostrou que a exposição a uma dieta contendo GI, causou aumento de RS no cérebro de ratos, estando de acordo com nossos resultados.

Sabemos que na literatura ainda são poucos os trabalhos a respeito da GI, no entanto, os existentes indicam fortes indícios de que a GI causa efeitos nocivos à saúde. Estudos com animais demonstraram uma relação estreita entre a ingestão de GI e a secreção da insulina, causando aumento nos níveis de LDL e diminuição do HDL, consequentemente causando aterosclerose (D'Ávila, et al. 2017). Outro trabalho bastante pertinente em relação ao consumo crônico desta gordura foi na tese de D'Ávila, et al. (2022) e a influência do consumo de GI sobre parâmetros de locomoção e de memória em ratas, cujo o desfecho foi prejuízo na memória, sistema nervoso central e danos locomotor da prole.

CONCLUSÃO

Conforme os resultados demonstrados neste trabalho, a ingestão crônica da GI em *D.melanogaster* se mostrou em alguns parâmetros nocivos ao decorrer da vida da mosca, causando prejuízo locomotor e dano oxidativo. Nesse sentido, ainda que existam poucos estudos a respeito da GI e o consumo crônico da mesma, há evidências claras do seu efeito deletério à saúde.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao LAFTAMBIO-Pampa pelo empréstimo das instalações, reagentes e equipamentos para a execução do experimento.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses

REFERÊNCIAS

BARBER, A.D.; HARRIS, S.R. Oxygen free radicals and oxidants: a review. **Amer. Pharm.**, v.34 (9), p.26-35, 1994.

BENZIE, I.F.F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **Int. J. Food Sci. Nut**, v.47, p.233-261, 1996.

COUTINHO, A. A. de M. Gordura trans e interesterificada no desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica em ensaios pré-clínicos com roedores: uma revisão sistemática. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 82f, 2021.

D' AVILA, L. F. et al. Influência do consumo de gordura interesterificada sobre os parâmetros de locomoção e memória em ratos. Universidade Federal de Santa Maria, Centro de saúde, 2022.

D' AVILA, L. F. et a. Influência do consumo de gordura interesterificada sobre os parâmetros comportamentais bioquímicos e moleculares em ratos, Universidade Federal de Santa Maria, 2017.

DOMINGUES, J. V. S. et al. Consumo de gordura interesterificada ou parcialmente hidrogenada e seu efeito na modulação do tecido adiposo e gasto energético em camundongos swiss. in: xxxi congresso de iniciação científica - unicamp. 2023. Acesso em 28 de outubro de 2023.

FERNANDEZ, L. L. et al. Ferro e neurodegeneração. **Scientia Medica**, v. 17 (4), p. 218-224, 2007.

FRANZONI, F. et al. Oxidative Stress and Cognitive Decline: The Neuroprotective Role of Natural Antioxidants. **Frontiers in Neuroscience**, v.15, 729757, 2021.

GARCIA, R. W. D. Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana. **Revista de Nutrição**, v. 16(4), p. 483-492, 2003.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** v. 30, p. 390-397, 2008.

HALLIWEL, B.; et al. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? **J. Lab. Clin. Med.** v. 119, p. 568-620, 1992.

HARARI, Y, N. Uma breve história da humanidade, 1 edição, São paulo, Schwarcz, p.16-23, 2020.

MARTINS, P. de F. A; FARIA, L. R. C. Alimentos ultraprocessados: uma questão de saúde pública. **Com. Ciências Saúde**, v. 29(1), p. 14-17, 2018.

MEICHTRY, L. B. et al. Early exposure to trans fat causes cognitive impairment by modulating the expression of proteins associated with oxidative stress and synaptic plasticity in *Drosophila melanogaster*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.279, 109858, 2024.

MEICHTRY, L.B. et al. Addition of Saturated and Trans-fatty Acids to the Diet Induces Depressive and AnLxiety-like Behaviors in *Drosophila melanogaster*. **Neuroscience**, v. 443, p. 164-175, 2020.

MERÇON, F. O que é uma Gordura Trans? **Química Nova na Escola**, v. 32 (2), p. 78-83, 2010.

MILANESI, L. H. et al. Influência da Gordura Interesterificada no período inicial do desenvolvimento sobre os parâmetros de adição por morfina em ratas, programa de pós-graduação. Santa Maria, RS, 2017.

MORATOYA, E.E. et al. Mudanças no padrão de consumo alimentar no brasil e no mundo. **Revista de política agrícola**, v. 1, p. 72-84, 2013.

MUSACHIO, E.A.S.et al. Bisphenol A exposure is involved in the development of Parkinson like disease in *Drosophila melanogaster*. **Food Chem. Toxicol.**, v. 137, 111128, 2020.

PAULA, M. T. et al. Effects of Hg(II) exposure on MAPK phosphorylation and antioxidant system in *D. melanogaster*. **Environ Toxicol.**, v. 29, p. 621-630, 2014.

PECCINI, R. A Gastronomia e o Turismo. **Revista Rosa dos Ventos**, v: 5 (2), p. 206-217, 2013.

PÉREZ-SEVERIANO, F. et al. Increased formation of reactive oxygen species, but no changes in glutathione peroxidase activity, in striata of mice transgenic for the Huntington's disease mutation. **Neurochem. Res.**, v.29, p. 729-733, 2004.

PERONA, J. S. Membrane lipid alterations in the metabolic syndrome and the role of dietary oils. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1859 (9), p. 1690–1703, 2017.

PINHO, D. M. M.; SUAREZ, P. A. Z. A Hidrogenação de Óleos e Gorduras e suas Aplicações Industriais. **Revista virtual de química**, v. 5 (1), p. 47-62,2013.

POETINI, M.R. et al. Hesperidin attenuates iron-induced oxidative damage and dopamine depletion in *drosophila melanogaster* model of parkinson's disease. **Chem. biol. interact.**, v. 279, p. 177-186, 2018.

PROENÇA, R. P. da C. Alimentação e globalização: algumas reflexões. **Ciênc. cult.** v. 62(4), p. 43-47, 2010.

SLOOP, G. D.; WEIDMAN, J. J.; CYR, J. A. Perspective: interesterified triglycerides, the recent increase in deaths from heart disease, and elevated blood viscosity. **Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease**. v. 12 (1), p. 23-28, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 57th directing council 71st session of the regional committee of who for the americas. 30 september-4 october 2019.