

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE
GORDURAS COMESTÍVEIS NO ESTRESSE OXIDATIVO
PROVOCADO POR ESPÉCIES ATIVAS DO OXIGÊNIO NO
CORÇÃO ISOLADO DE RATO**

PATRÍCIA FARIA DI PIETRO

Orientador

Prof. Dr. ANTONIO ANDRÉA BELLÓ

Co-orientadora

Profa. Dra. ADRIANE BELLÓ KLEIN

*Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de
concentração: Fisiologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito
parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas - Fisiologia*

Porto Alegre -1998

“Vencer a si próprio é a maior das vitórias.”

Platão

Dedico este trabalho ao meu amado esposo Daniel qm sempre me incentivou em todos os momentos, dispondo-se a auxiliar-me com sabedoria, analisando, sugerindo e apreciando este estudo.

AGRADACIMENTOS

“ o que a gentileza livremente oferece
agradecimentos não podem pagar.”

John Masefileld

Agradecer a todas as pessoas que de forma consciente ou inconsciente me ajudaram na elaboração deste trabalho é impossível. No entanto, algumas tiveram uma participação especial, seja pelo afeto que lhes tenho como seres humanos ou profissionais, ou ainda ambos. Por isso desejo citá-las individualmente.

Meu esposo Daniel pela compreensão, pelo carinho e pelo indispensável apoio durante todas as fases deste trabalho.

Meus pais Antonio e Marlene que sempre acreditaram em mim.

Os amigos que sempre estiveram ao meu lado.

Meu orientador Prof. Dr. Antonio Andréa Belló e minha co-orientadora Profa. Dra. Adriane Belló Klein, pela confiança em mim depositada e pelos valiosos ensinamentos técnicos e humanos dados durante todo o andamento do trabalho.

O Prof Dr. Sergio Fernando Torres de Freitas, do Departamento de Saúde Pública da UFSC, pela orientação na análise estatística.

o Prof. Dr. Jorge Mancini Filho por ceder-me a técnica de análise de ácidos graxos e ao Laboratório de Lípidos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

A Prof. Dra. Silvia Cozzolino, do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, por ceder-me alguns reagentes.

A Profa. Dra. Eliane Moretto e o bolsista Luciano do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFSC, pela análise da composição centesimal das rações experimentais.

O Prof Dr. Marcos Perry do Departamento de Bioquímica da UFRGS, pela orientação referente às dietas experimentais e pela aquisição de alguns nutrientes das rações.

As colegas Ileana, Vera e Sandra do Departamento de Nutrição da UFSC pelo carinho e apoio.

A bolsista Patrícia Martins Bock, pela sua essencial ajuda na confecção das rações, manuseio de animais e auxílio nas análises bioquímicas.

O aluno de mestrado do curso de Pós-Graduação em Farmacologia da USP e cunhado Giuliano Di Pietro, por todo o apoio na análise dos ácidos graxos.

A laboratorista Rosângela Pavan Torres do laboratório de lípidos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pela orientação na análise dos ácidos graxos.

A colega Madalena pelo carinho e pelos primeiros e preciosos ensinamentos da técnica.

Os demais colegas do laboratório de Fisiologia Cardiovascular, Álvaro, Hélio, Liliane, Carlos e Brunetto, pela amizade e pelo auxílio na execução deste trabalho.

VI

A Coordenação e a todos os professores do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Fisiologia da UFRGS, pela oportunidade de realizar este curso e pelo ensinamento oferecido.

Todos os funcionários do Departamento de Fisiologia, em especial à funcionária Tânia, por seu carinho e sua disposição em auxiliar-me nas tarefas de laboratório. A secretária Míriam por toda atenção oferecida e ao funcionário Mário, pela seleção e cuidados dos animais do biotério.

A Janete Maria Gheller pelo auxílio na revisão do português.

As empresas Proteimax, Blanver e Roche por fornecer-me alguns produtos para execução das rações.

A FAPERGS, FINEP, PROPESQ-UFRGS e CNPq, pelo apoio financeiro.

A FAPERGS pela bolsa recém-mestre, a qual deu início a esta pesquisa.

O CNPq e CAPES pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XIV
ÍNDICE DE TABELAS	XIX
RESUMO.....	xxii[^]
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Radicais livres (RL).....	1
1.2. Lipoperoxidação (LPO).....	8
1.3. Sistemas de defesas antioxidantes.....	12
1.3.1. Cobre, zinco e manganês.....	14
1.3.2. Ferro.....	15
1.3.3. Selênio e aminoácidos sulfurados.....	16
1.3.4. p-caroteno.....	17
1.3.5. Vitamina E.....	17
1.3.6. Vitamina C.....	19
1.3.7. Outros componentes da dieta.....	20
1.4. Lipídios da dieta.....	21
1.5. Nutrição e a patogenicidade da LPO.....	25
1.5.1. Doenças cardiovasculares.....	26
1.5.2. Câncer.....	35
1.6. Recomendações nutricionais.....	37
1.7. Objetivos.....	39
1.7.1. Objetivo geral.....	39
1.7.2. Objetivos específicos.....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1. Animais.....	40
2.2. Ensaio biológico e dietas.....	40

vin

2.2.1. Dietas semipurificadas com 8g% de gordura.....	40
2.2.2. Dietas semipurificadas com 15g% de gordura.....	41
2.2.3. Mistura de minerais e vitaminas.....	43
2.2.4. Confeção das dietas semipurificadas.....	45
2.2.5. Especificações dos ingredientes das dietas semipurificadas.....	45
2.2.6. Análise e composição centesimal das dietas semipurificadas.....	46
2.3. Reagentes.....	48
2.4. Soluções.....	50
2.4.1. Tyrode.....	50
2.4.2. Tyrode com H ₂ O ₂	51
2.4.3. Soluções - Tampão.....	51
2.4.4. Soluções “estoque”.....	52
2.4.5. Soluções para dosagem de proteínas.....	52
2.4.6. Soluções para dosagem de ácidos graxos (AG).....	52
2.5. Grupos experimentais.....	53
2.6. Perfusão cardíaca.....	55
2.6.1. Aparelho de perfusão.....	55
2.6.2. Sequência experimental da perfusão cardíaca.....	57
2.6.3. Fenômenos contráteis estudados.....	58
2.6.3.1. Contratura ventricular esquerda.....	58
2.6.3.2. Frequência cardíaca (FC).....	59
2.6.3.3. Diferença de pressão no ventrículo esquerdo (AP).....	59
2.7. Métodos bioquímicos.....	60
2.7.1. Preparo do homogeneizado.....	60
2.7.2. Ácidos graxos (AG).....	60
2.7.3. Teste do TBARS.....	62
2.7.4. Quimiluminescência iniciada por hidroperóxido de <i>tert-hnXil</i> (QL - í-BOOH)...	63
2.7.5. Dosagem de proteína.....	63
2.8. Apresentação dos dados.....	64
2.9. Análise estatística.....	64

3. RESULTADOS.....	66
3.1. Valores dos parâmetros estudados após tratamento com dietas a 8g% de gordura.....	66
3.1.1. Efeito das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g%, no peso corporal, peso do fígado, peso do coração e no perfil de ácidos graxos (AG) do fígado e coração.....	66
3.1.2. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% na lipoperoxidação (LPO) do fígado.....	75
3.1.3. Influências das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% nos efeitos do H ₂ O ₂ sobre a contratatura e LPO cardíacas.....	77
3.1.4. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% nos efeitos do H ₂ O ₂ sobre a frequência cardíaca (FC).....	93
3.1.5. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% nos efeitos do H ₂ O ₂ sobre a pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP)...	96
3.2. Valores dos parâmetros estudados após tratamento com dietas a 15g% de gordura.....	99
3.2.1. Efeito das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%; no peso corporal, peso do fígado, peso do coração e do perfil de AG do fígado e coração.....	99
3.2.2. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, na LPO do fígado.....	109
3.2.3. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, nos efeitos do H ₂ O ₂ sobre a contratatura e LPO cardíaca.....	111
3.2.4. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, no efeito do H ₂ O ₂ sobre a frequência cardíaca (FC).....	129
3.2.5. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, no efeito do H ₂ O ₂ sobre a pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP)...	133
4. DISCUSSÃO.....	140
5. CONCLUSÕES.....	156
6. REERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158

ABREVIATURAS

AA	- ácido araquidônico
ADP	- difosfato de adenosina
AG	- ácido graxo
AGE	- ácido graxo essencial
AGI	- ácido graxo insaturado
AGM	- ácido graxo monoinsaturado
AGP	- ácido graxo polinsaturado
AGS	- ácido graxo saturado
AMP	- monofosfato de adenosina
ANOVA	- análise de variância
ANOVA2	- análise de variância a dois critérios
AOAC	- Association of Official Analytical Chemists
apo	- apolipoproteína
ATP	- trifosfato de adenosina
Canola8%	- grupo de ratos alimentados com 8g% de óleo de canola
Canola8%/H2O2	- Canola8% sem perfusão de H2O2 no coração
Canola8%/c/H2O2	- Canola8% com perfusão de H2O2 no coração
Canola15%	- grupo de ratos alimentados com 15g% de óleo de canola
Canola 15%/H2O2	- Canola15% sem perfusão de H2O2 no coração
Canola 15%/c/H2O2	- Canola 15% com perfusão de H2O2 no coração
CAT	- catalase
Coco8%	- grupo de ratos alimentados com 8g% de gordura de coco
Coco8%/H2O2	- Coco8% sem perfusão de H2O2 no coração
Coco8%/c/H2O2	- Coco8% com perfusão de H2O2 no coração
Coco 15%	- grupo de ratos alimentados com 15g% de gordura de coco
Coco15%/H2O2	- Coco 15% sem perfusão de H2O2 no coração

XI

Coco15% ^c /H ₂ O ₂	-■ Coco 15% com perfusão de H ₂ O ₂ no coração
cps	-■ contagens por segundo
CuZn-SOD	-•SOD dependente de cobre e zinco
DHA	-•ácido docosahexaenóico
DHS	-■ diferença honestamente significativa
DMS	-•diferença mínima significativa
EAO	-•espécies ativas de oxigênio
EPA	--ácido eicosapentaenóico
FC	-■ frequência cardíaca
GSH	--glutathiona reduzida
GSSG	--glutathiona oxidada
GSHPX	-•glutathiona peroxidase
HDL	-■ lipoproteína de alta densidade
H(P)ETEs	-■ ácidos hidroxi(peroxi)eicosatetraenóicos
H ₂ O ₂	-■ peróxido de hidrogênio
L	-- litro
L*	-■ radical lipídico centrado no carbono
LDL	-■ lipoproteína de baixa densidade
LH	-•grupo metil dos AGP
LO*	-•radical lipoxil
[^] L=0	-■ carbonila excitada, composto no estado <i>triplet</i>
LOO*	-■ radical peroxil lipídico
LOOK	- hidroperóxido lipídico
LPO	- lipoperoxidação
LTs	- leucotrienos
LXs	- lipoxigenases
MDA	- malondialdeído
mg	- miligrama
Milho8%	- grupo de ratos alimentados com 8g% de óleo de milho
Milho8% ^s /H ₂ O ₂	- Milho8% sem perfusão de H ₂ O ₂ no coração

Milho8% ^c /H2O2	-Milho8% com perfusão de H2O2 no coração
Milho 15%	- grupo de ratos alimentados com 15g% de óleo de milho
Milho 15% ^s /H2O2	-Milho 15% sem perfusão de H2O2 no coração
Milho 15% ^c /H2O2	-Milho 15% com perfusão de H2O2 no coração
min	■ minuto
mL	- mililitro
Mn-SOD	• SOD dependente de manganês
(n-3)	■ ácidos graxos da série dos ômega 3
(n-6)	■ ácidos graxos da série dos ômega 6
NADP ⁺	■ nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidada
NADPH	■ nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
ni	- não identificado
NO*	■ óxido nítrico
O ₂ -	- radical superóxido
¹ O ₂	■ oxigênio <i>singlet</i>
O ₃	■ ozônio
OH-	■ hidroxila
*OH	- radical hidroxil
OX-LDL	■ LDL modificada oxidativamente
PAF	• platelet-activating factor/ fator de ativação plaquetária
PD	■ pressão diastólica
PGs	- prostaglandinas
PGD ₂	- prostaglandina D ₂
PGE ₂	- prostaglandina E ₂
PGF ₂	- prostaglandina F ₂
PGG ₂	■ prostaglandina G ₂
PGH ₂	■ prostaglandina H ₂
PGI ₂	■ prostaglandina I ₂
prot.	■ proteína
PS	- pressão sistólica

xm

QL	- quimiluminescência
q.s.p.	- quantidade suficiente para
RDA	- <i>Recommended Dietary Allowance!</i> recomendação nutricional
RL	- radical livre
mRNA	- ácido ribonucléico
RO*	- radical alcoxil
ROO*	- radical peroxil
ROONO	- alquil peroxinitrito
SH	- grupo sulfidril
SOD	- enzima superóxido dismutase
TBA	- ácido tiobarbitúrico
TBARS	- substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
/-BOOH	- hidroperóxido de <i>tert-butyl</i>
TCA	- ácido tricloroacético
TXs	- tromboxanas
TXA ₂	- tromboxana A ₂
UI	- imidade internacional
'Ag ou Ag ⁰²	- oxigênio <i>singlet</i> delta
AP	- diferença de pressão do ventrículo esquerdo
Sg ⁰²	- oxigênio <i>singlet</i> sigma
a-tocoferol*	- radical a-tocoferoxil
µL	- microlitro
famol	- micromol
8-oxodG	- 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina
8-OHdG	- 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina

ÍNDICE DE FIGURAS

I-	Distribuição eletrônica das ligações da molécula diatômica de oxigênio.....	2
II-	Redução monoelétrica do oxigênio, formando as EAO.....	5
ni-	Reações em cadeia da LPO.....	10
IV-	Danos por radicais livres dos lipídios de membranas e proteínas associados às membranas celulares.....	11
V-	Metabolismo dos ácidos graxos (n-6) e (n-3).....	24
VI-	Esquema geral do aparelho de perfusão.....	56
VII-	Vias metabólicas do ácido araquidônico. PGs, prostaglandinas; TXs, tomboxanas; Lts, leucotrienos; LXs, lipoxigenases; H(P)ETEs, ácidos hidroxi(peroxi)eicosatetraenóicos.....	141
Vni-	Formação do radical livre de oxigênio nas vias da ciclooxigenase e lipoxigenase do metabolismo do AA.....	142
IX-	Ácido araquidônico e ácido eicosapentaenóico.....	143
1-	Curva de peso corporal de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias de experimento.....	67
2-	Composição dos AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	70
3-	Composição dos AG em corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	73
4-	TBARS (nmoles/mg prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	75
5-	QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	76
6A-	Variação percentual da contratatura cardíaca no 8-º minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias.....	78

6B- Variação percentual da contratatura cardíaca do 7º ao 10º minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	79
6C- Variação percentual da contratatura cardíaca no 8º minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	80
7A- TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias.....	83
7B- TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	84
8A- QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras coco, canola e milho durante 42 dias.....	86
8B- QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	87
8C- Perfil da cinética da QL iniciada por ^BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, sem perfusão de H ₂ O ₂	88
8D- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, através da perfusão de H ₂ O ₂	89
8E- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de gordura de coco durante 42 dias, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	90
8F- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de óleo de canola durante 42 dias, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	91

8G-	Perfil da cinética da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de óleo de milho, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	92
9-	Variação percentual da frequência cardíaca (FC) do 6 ^o ao 10 ^o minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	94
10-	Variação percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) do 4 ^o ao 10 ^o minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	97
11-	Curva de peso corporal de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias de experimento.....	100
12-	Composição de AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	104
13-	Composição de AG em corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	107
14-	TBARS (nmoles/mg prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	109
15-	QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	110
16A-	Variação percentual da contratatura cardíaca do 4 ^o ao 10 ^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias.....	113
16B-	Variação percentual da contratatura cardíaca do 4 ^o ao 10 ^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	114
16C-	Variação percentual da contratatura cardíaca do 4 ^o ao 10 ^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	115
17A-	TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias.....	119

17B- TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	120
18A- QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canela e milho durante 42 dias.....	122
18B- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, sem perfusão de H ₂ O ₂	123
18C- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, através da perfusão de H ₂ O ₂	124
18D- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de gordura de coco durante 42 dias, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	125
18E- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de óleo de canola durante 42 dias, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	126
18F- Perfil da cinética da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de óleo de milho durante 42 dias, sem e com perfusão de H ₂ O ₂	127
19A- Variação percentual da frequência cardíaca (FC) do 8° ao 10° minuto do estudo de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias.....	130
19B- Variação percentual da frequência cardíaca (FC) do 8° ao 10° minuto do estudo de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	131
20A- Variação percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) do 2° ao 10° minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H ₂ O ₂	135

20B- Variação percentual da pressão desenvolvida do ventriculo esquerdo (AP) do 4^o ao 10[^] minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂..... 136

ÍNDICE DE TABELAS

1-	Espécies ativas de oxigênio (EAO) e espécies ativas de nitrogênio (EAN) 3	
II-	Antioxidantes que ocorrem naturalmente.....	13
III-	Ácidos graxos e suas fontes alimentares mais comuns.....	23
IV-	Mecanismos de indução de aterogênese pela LDL modificada oxidativamente (OX-LDL).....	30
V-	Ingredientes das dietas semipurificadas com 8g% de gordura (g/Kg).....	41
VI-	Ingredientes das dietas semipurificadas com 15g% de gordura (g/Kg).....	42
VII-	Mistura de sais minerais (g/Kg de mistura).....	43
Viii-	Mistura de vitaminas (mg/g de mistura).....	44
IX-	Ingredientes utilizados nas dietas semipurificadas e suas respectivas especificações.....	46
X-	Composição centesimal das dietas com 8g% de gordura.....	47
XI-	Composição centesimal das dietas com 15g% de gordura.....	48
XII-	Reagentes utilizados com seus respectivos pesos moleculares e fornecedores.....	49
IA-	Peso corporal de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	68
IB-	Peso dos fígados e corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	68
2-	Medidas das concentrações (%) de AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	71
3-	Medidas das concentrações (%) de AG em corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	74
4-	Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	76

5-	Medidas da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	77
6A-	Medidas das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	81
6B-	Resultados das percentagens da contratura cardíaca pelo Teste de análise de variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	81
6C-	Comparações individuais das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS/DMS ($p<0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	82
7A-	Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	84
7B-	Resultados do TBARS pelo Teste de análise de variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	85
7C-	Comparações individuais das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS ($p<0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	85
8A-	Medidas da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	93
8B-	Resultados da QL iniciada por /-BOOH pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	93
8C-	Comparações individuais da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS ($p<0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	93

9A-	Medidas das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	95
9B-	Resultados das percentagens da frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	95
9C-	Comparações individuais das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	96
IOA-	Medidas das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.....	98
IOB-	Resultados das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.....	98
IOC-	Comparações individuais das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura	99
11	A- Peso corporal de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	101
IIB-	Peso de fígado e coração de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	102
12-	Medidas das concentrações (%) de AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	105
13-	Medidas das concentrações (%) de AG em corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	108
14-	Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	110

15-	Medidas da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	111
16A-	Medidas das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	116
16B-	Resultados das percentagens da contratura cardíaca pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	116
16C-	Comparações individuais das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	117
17A-	Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	120
17B-	Resultados do TBARS pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	121
17C-	Comparações individuais das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	121
18A-	Medidas da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	128
18B-	Resultados da QL iniciada por /-BOOH pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	128
18C-	Comparações individuais da QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	128

19A-	Medidas das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	132
19B-	Resultados das percentagens da frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	132
19C-	Comparações individuais das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	133
20A-	Medidas das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.....	137
20B-	Resultados das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	137
20C-	Comparações individuais das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.....	138

RESUMO

Os ácidos polinsaturados (AGP) têm sido recomendados para a prevenção de doenças cardiovasculares. Contudo, esses AGP, devido à insaturação, favorecem ao ataque das espécies ativas de oxigênio (EAO). Por outro lado, os ácidos graxos saturados (AGS), na dieta, têm sido relacionados com o aumento do colesterol sanguíneo, contribuindo como fator de risco para as doenças cardiovasculares. Os ácidos graxos monoinsaturados (AGM), mais especificamente o ácido oléico, além de diminuir LDL, parece ser mais resistente à lipoperoxidação (LPO). O objetivo desta pesquisa foi verificar a suscetibilidade à oxidação de corações de ratos alimentados com diferentes tipos de gorduras e sua resistência quando submetidos ao estresse oxidativo. Os ratos foram alimentados com 8g% ou 15g% de gorduras; coco (rico em AGS), canola (rico em AGM) e milho (rico em AGP) durante 42 dias. Os animais foram sacrificados no 42^o dia; os corações foram perfundidos sem ou com H₂O₂ (1mM); foi registrado a atividade mecânica (contratura, frequência e diferença de pressão do ventrículo esquerdo). Analisou-se os níveis de ácidos graxos (AG), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e quimiluminescência iniciada por *tert-hxúil* (QL iniciada /-BOOH) no coração e no fígado. As gorduras alimentares modificaram a composição em ácidos graxos teciduais; essas mudanças foram mais significativas no fígado. O óleo de canola obteve menor nível de QL hepática. Em dieta a 15g%, o grupo que consumiu óleo de milho obteve o maior nível de QL no fígado. No coração, o óleo de canola aumentou a resistência à LPO (TBARS e QL). O tratamento com óleos de canola e milho (8 e 15g%), retardou o aparecimento da contratura cardíaca, e com de gordura de coco (8 e 15g%) apresentou maior contratura cardíaca. O óleo de canola, a 15g%, preservou a frequência cardíaca inicial, preveniu a bradicardia induzida pelo H₂O₂ e retardou a diminuição da diferença de pressão induzida pelo H₂O₂. Concluiu-se que o óleo de canola diminui a suscetibilidade do coração à LPO e aumenta sua resistência ao estresse oxidativo induzido pelo H₂O₂.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Radicais livres (RL)

Um radical livre (RL) é alguma espécie capaz de existência independente (próprio do significado do termo livre) que contém um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989), isto é, elétrons sozinhos num orbital atômico (Figura I) (HALLIWELL, 1996a). As espécies não radicais são menos reativas do que os radicais, porque os elétrons são mais estáveis quando o par está junto no mesmo orbital (FOEGH et al., 1990). Os RL podem ser formados pela perda de um elétron de um não radical ou pelo ganho de um elétron por um não radical. Eles também podem ser formados quando uma ligação covalente é quebrada, se cada um dos átomos ficar com um elétron num processo conhecido como fissão homolítica (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

Os RL e antioxidantes são largamente discutidos na literatura clínica e nutricional. Antioxidantes são necessários para prevenir a formação e se opor à ação das espécies ativas de oxigênio (EAO) e das espécies ativas de nitrogênio (EAN), que são gerados *in vivo* e causam danos ao ácido desoxirribonucléico (DNA), lipídios, proteínas e outras biomoléculas. EAO e EAN são termos coletivos que incluem ambos radicais de oxigênio e nitrogênio respectivamente, e alguns não radicais que são agentes oxidantes e/ou são facilmente convertidos em radicais (HALLIWELL, 1996a). Portanto, os termos EAO e EAN parecem mais corretos, uma vez que nem todas essas espécies são RL (Tabela I) (de GROOT, 1994).

Os estudos sobre a toxicidade da molécula de oxigênio (O₂) tiveram seus avanços neste século, com o trabalho de Gerschman e colaboradores (1954). Estes pesquisadores observaram que a formação de EAO seria a possível causa dos efeitos letais da irradiação com raio X e a

exposição ao O₂ hiperbárico (GERSCHMAN et al., 1954). O O₂ é um birradical, por apresentar dois elétrons desemparelhados nos orbitais externos com spins paralelos (Figura I). Estes previnem a adição direta de um par de elétrons (que teriam um spin paralelo e um antiparalelo) na molécula, necessitando a inversão do spin antes de formar uma ligação (DEL MAESTRO, 1980).

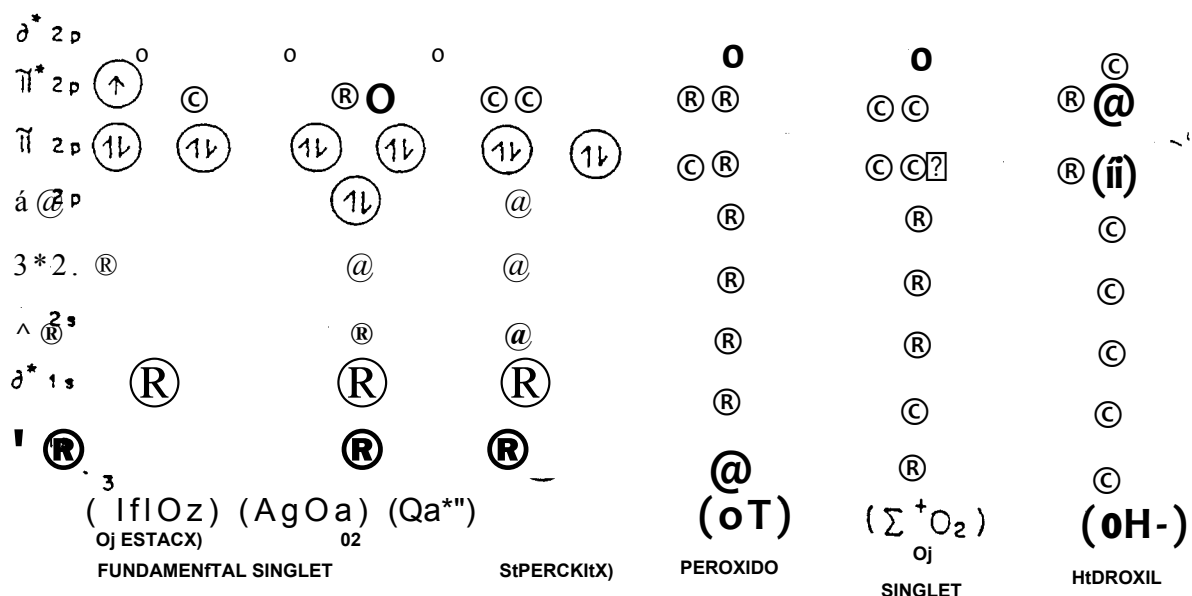


Figura I - Distribuição eletrônica das ligações da molécula diatômica de oxigênio (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

As EAO podem ser produzidas por reações enzimáticas e não enzimáticas. As enzimas associadas à cadeia respiratória, fagocitose, metabolismo do ácido araquidônico (AA) e reações dependentes do citocromo P-450 estão envolvidas na formação de EAO. Além disso, os RL são gerados por radiação ionizante e estão presentes nos poluentes (KRZANOWSKI, 1991). Portanto, os RL são produzidos também como resultado dos processos metabólicos normais. Como exemplo, o seu envolvimento na morte de microorganismo pelas células fagocíticas (MENEHINI, 1987), como os leucócitos (neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos) que podem levar à injúria celular e tecidual diretamente pela degradação, por via oxidativa, de

componentes celulares essenciais bem como indiretamente por alteração no balanço entre proteases e antiproteases, que normalmente existem no tecido intersticial, iniciando e/ou ampliando a resposta inflamatória (CONNER & GRISHAM, 1996).

Tabela I - Espécies ativas de oxigênio (EAO) e espécies ativas de nitrogênio (EAN)

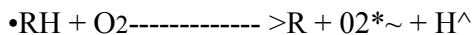
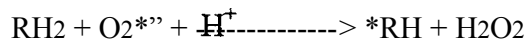
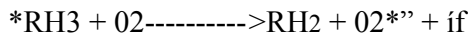
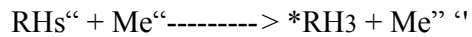
Radicais	Não radicais
EAO Superóxido, $O_2^{\cdot-}$	Peróxido de hidrogênio, H_2O_2
Alcoxil, $^{\cdot}OH$	Ácido hipocloroso, $HOCl$
Peroxil, ROO^{\cdot}	Ozônio, O_3
Alcoxil, RO^{\cdot}	Oxigênio singlet, 1O_2
Hidroperoxil, HOO^{\cdot}	
EAN Óxido nítrico, NO^{\cdot}	Ácido nitroso, HNO_2
Dióxido de nitrogênio, NO_2^{\cdot}	Cátion nitrosil, NO^+
	Ânion nitrosil, NO^-
	Tetróxido dinitrogênio, N_2O_4
	Trióxido dinitrogênio, N_2O_3
	Peroxinitrito, $ONOO^{\cdot}$
	Ácido peroxinitroso, $ONOOH$
	Cátion nitrônio, NO_2^+
	Alquil peroxinitrito, $ROONO$

(modificado de HALLIWELL, 1996^a e HALLIWELL, 1996b).

O exercício físico também pode resultar em aumento de RL (REDDY et al, 1992), porém os danos oxidativos dependem da intensidade e duração do exercício, do estado de treinamento, do tecido examinado (WITT et al., 1992) e da quantidade de antioxidantes da dieta (SINGH, 1992).

Metabolicamente, o O₂ requer 4 elétrons para formar água (H₂O). Durante a respiração 95-99% do O₂ é reduzido desta forma, ou seja, tetravalentemente. O complexo enzimático citocromo oxidase efetua esta reação (Figura II) (MEÏEGHINI, 1987). Tem-se estimado que de 2-5% do O₂ que respiramos se transformam em EAO (BRAWN & FRIDOVICH, 1980).

A redução univalente do O₂ a radical superóxido (O₂^{•-}) pode ser catalisada por muitos sistemas enzimáticos, como: oxidases, desidrogenases e peroxidases (Figura II) (MACHLIN & BENDICH, 1987). Outras enzimas, as que participam da formação das prostaglandinas (ciclooxigenase) e leucotrienos (lipoxigenase) também formam O₂^{•-} (FOEGH et al, 1990). Esta redução também ocorre em reações não enzimáticas e em reações de autooxidação como a da epinefrina, formando adrenocromo (MISRA & FREDOVICH, 1972).



RH_j~ = Epinefrina

Me^o = Metais de transição

R = Adrenocromo

O ânion O₂^{•-} produzido pelo sistema redox celular é a EAO liberada em maior quantidade por vários tipos de células, incluindo os fagócitos estimulados e os leucócitos polimorfonucleares. Embora não seja particularmente reativo, o O₂^{•-} é capaz de se difundir em relativamente larga distância nas células e entre as células (KRZANOWSKI, 1991).

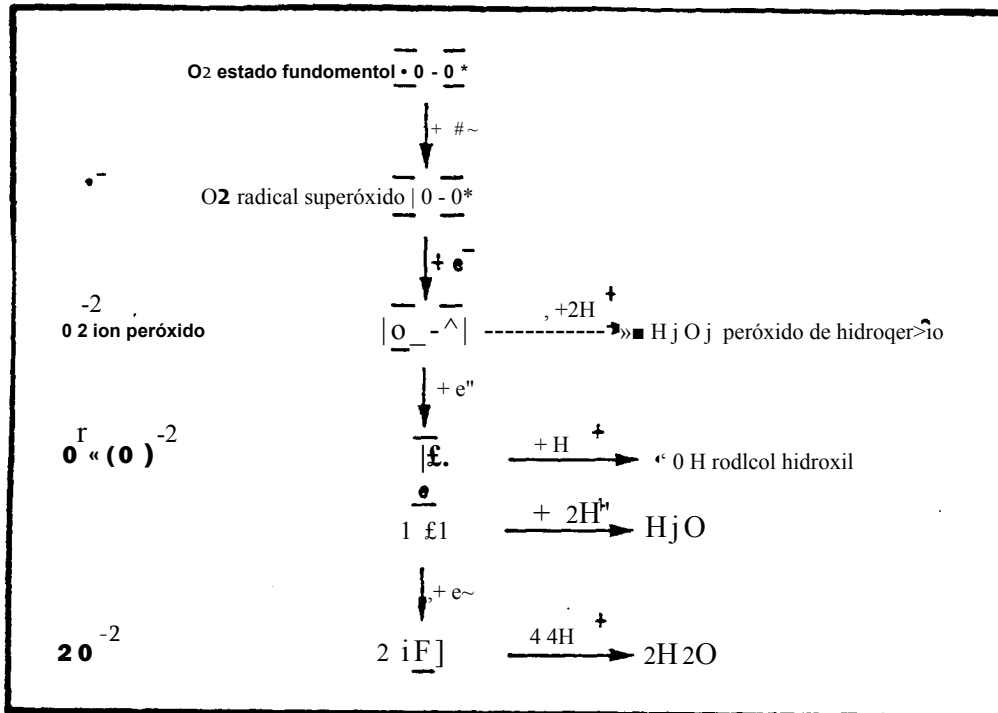
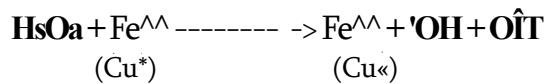


Figura n - Redução monoelétrica do oxigênio, formando as EAO (BELLÓ-KLEIN, 1993)

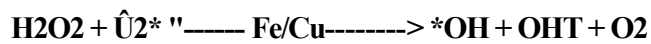
O H₂O₂ é produzido por 2 fontes básicas: indiretamente pela redução univalente do oxigênio, seguida por dismutação do O₂^{*} ou diretamente pela redução divalente do O₂ (Figura n). O processo indireto é catalisado pelas enzimas superóxido dismutase (SOD). O processo direto é realizado por oxidases encontradas nos peroxissomas (DEL MAESTRO, 1980; SOUTHORN & POWIS, 1988). O H₂O₂ não é um radical livre, mas ele é completamente tóxico para as células. Grande quantidade de H₂O₂ pode danificar o DNA. Isto pode causar a ruptura e a liberação de íons de cálcio dentro da célula (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

As reações que produzem o radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$) são raras e necessitam da presença de íons metais de transição como o ferro e o cobre. A reação de H₂O₂ com íons de ferro é chamada de reação de Fenton (1894) que leva a produção do $\cdot\text{OH}$. O $\cdot\text{OH}$ é a espécie mais reativa (DEL MAESTRO, 1980; FOEGH et al., 1990), a qual pode reagir imediatamente a todas as

biomoléculas com taxa de difusão limitada (constante da reação de $10^* - 10^{*'} M'^{sec}'^{\wedge}$) (de GROOT, 1994). Portanto, a vida-média é muito curta, reagindo no seu próprio sítio de formação (CONNER & GRISHAM, 1996).

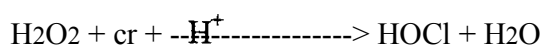


Este radical também pode ser formado a partir de $\text{O}_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 em presença de ions ferro (ou cobre), reação descrita por Haber e Weiss em 1934.

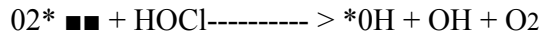


Os íons ferro e cobre estão ligados, o ferro esta ligado à transferrina e o cobre à ceruloplasmina. Desta forma, estão impossibilitados de catalisarem reações oxidativas no organismo vivo. Porém, durante a injúria celular, o ferro pode ser liberado das proteínas. Desta forma o íon metal pode também acelerar o processo de peroxidação pela decomposição de hidroperóxidos lipídicos em radicais alcoxil e peroxil (FOEGH et al., 1990). Além disso, eles podem ser liberados destas proteínas após redução pela cisteína, ácido ascórbico e também $\text{O}_2^{\bullet-}$ (de GROOT, 1994).

Outra EAO importante é o ácido hipocloroso (HOCl), secretado pelos monócitos e neutrófilos, que é catalisado por uma protease que oxida o Cr através do H_2O_2 .



o HOCl é **100-1000** vezes mais tóxico do que o O₂*⁻ e H₂O₂ (CONNER & GRISHAM, **1996**). Além disso, tem sido proposto um outro mecanismo de formação do 'OH, que é a reação entre o Os*["] e o HOCl (CANDEIAS et al., **1993**).



A alta reatividade do *OH, uma vez gerado, permite seu ataque a tudo o que estiver próximo. Os organismos vivos não dispõem de *scavengers* enzimáticos contra esta EAO, apenas os sistemas antioxidantes previnem a sua formação e reparam os danos por ele causados (HALLIWELL, **1996**[^]).

Muitas evidências suportam que também há formação de EAO no tecido isquêmico reperfundido (DAS & MAULDC, **1994**; WERNS & LUCCHESI, **1990**). Quando ocorre no coração, há diminuição da contratilidade e aparecimento de arritmias, quadro este denominado de *stunned heart* (coração atordoado) e/ou contraturas denominadas de *stone heart* (coração de pedra) (HEARSE, **1977**). Existem diversas hipóteses sobre as fontes de aparecimento das EAO durante a isquemia/reperfusão. A hipótese mais aceita é a do sistema xantina oxidase de Mc Cord (**1985**). Este propõe que a enzima xantina oxidase seria responsável pelo aumento na velocidade de formação de O₂*["] durante a reoxigenação. Durante a isquemia, há um acúmulo de hipoxantina nos tecidos, resultante da degradação de trifosfato de adenosina (ATP) através de difosfato de adenosina (ADP), monofosfato de adenosina (AMP) e adenosina. A hipoxantina é oxidada à xantina e ácido úrico. A reação em tecidos normais é efetuada pela xantina desidrogenase. A isquemia converte esta enzima a sua forma oxidase que formará O₂*["] e H₂O₂ quando o O₂ volta na reperfusão (CHAMBERS et al., **1985**).

Num modelo experimental praticado no laboratório de Fisiologia Cardiovascular desta Universidade, a perfusão de H₂O₂ no coração isolado de rato, provoca contraturas cardíacas (BELLÓ & BELLÓ, **1988**; BELLÓ & BELLÓ, **1989**).

A hipótese alternativa apresenta a mitocôndria como principal sítio gerador de O_2^* “ durante a reperfusão (JONES, 1985). Durante a isquemia, a ausência de O_2 determina um estado máximo de redução dos componentes da cadeia respiratória mitocondrial. Na reperfusão, o vazamento de elétrons da cadeia respiratória é maior, e, portanto, aumentaria a concentração de O_2^* intramitocondrial (DEL MAESTRO, 1980).

A primeira hipótese é aplicável a tecidos com alta atividade de xantina desidrogenase, como o intestino e coração de rato. E a segunda é válida para tecidos com baixa atividade de xantina desidrogenase, como o coração humano (FERREIRA et al, 1988).

Outra EAO é o oxigênio singlet (1O_2) que pode ser produzido por exposição á fotoirradiação em presença de azul de metileno, uma fotossensibilização hidrossolúvel, ou com 12 (1-pireno) ácido dodecanóico, uma fotossensibilização lipossolúvel (OJIMA et al, 1993). O 1O_2 pode apresentar-se em dois estados; o Sigma (Zg^1O_2), que é mais reativo e possui 2 elétrons desemparelhados, e o Delta (Ag^1O_2) que não é um radical (Figura I) (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

1.2. Lipoperoxidação (LPO)

As EAO podem reagir com uma variedade de biomoléculas, incluindo os ácidos graxos polinsaturados (AGP) presentes nas membranas celulares e na lipoproteína de baixa densidade (LDL) do sangue. Esta oxidação envolve uma propagação de hidroperoxidação de reação em cadeia das duplas ligações encontradas nos AGP. Este tipo de reação, aparentemente, participa da gênese e/ou manutenção de algumas doenças, tal como a doença cardiovascular (KRZANOWSKI, 1991). Dessa forma, podem ser produzidos efeitos biológicos distantes do sítio de geração do primeiro RL formado. As reações em cadeia tem uma série de etapas durante as quais se consome uma espécie intermediária, e os reativos se convertem em produtos, sendo os intermediários regenerados, permitindo que o ciclo recomece (BELLÓ-KLEIN, 1993).

O processo de lipoperoxidação (LPO) em sistemas biológicos seguem três passos: iniciação, propagação e terminação (Figura III) (KUBOW, 1992);

1º PASSO; Iniciação

Oxidantes tal como $\cdot\text{OH}$ e ion ferril (Fe^{+2}) atacam o grupamento químico metileno dos AGP da membrana lipídica (LH), abstraindo um átomo de hidrogênio, gerando um radical lipídico centrado no carbono (L^*) (Figura III/ reação 1), o qual tende a se estabilizar por um rearranjo molecular, formando um dieno conjugado (de GROOT, 1994; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989). O ácido graxo (AG), dieno conjugado que existe em maior quantidade no soro e tecido humano, é um isômero do ácido linoléico (ácido 9,12 - octadecadienóico) e é chamado ácido 9,11 - octadecadienóico (BRITTON et al., 1992). Este, por sua vez, ao combinar com o O_2 , produz um radical peroxil ou radical peróxi lipídico (LOO^*) (Figura III/ reação 2) (de GROOT, 1994; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

2º PASSO; Propagação

Os LOO^* podem atacar outro LH abstraindo hidrogênio de outra molécula lipídica ou se combinar com o átomo de hidrogênio que ele abstraiu, produzindo um hidroperóxido lipídico (LOOH), enquanto gera um novo L^* (Figura III/ reação 3). Os LOOH se decompõem numa reação catalisada por complexos de ferro e cobre, num ou outro radical alcóxil (LO^*) (Figura III/ reação 4) ou radical LOO^* (Figura III/ reação 6). Ambos os RL formados podem controlar o ciclo de propagação independentemente como iniciadores secundários (Figura III/ reação 3 e 5) (de GROOT, 1994; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

3º PASSO; Terminação

Admite-se que a colisão de dois LOO^* secundários geram duas diferentes espécies excitadas eletronicamente, $^1\text{O}_2$ e um composto no estado *triplet* (possivelmente uma carbonila, $^1\text{L}=\text{O}$) (Figura III/ reação 7). O LOO^* pode formar cinco endoperóxidos, que se decompõem em aldeídos e cetonas de baixo peso molecular, como malondialdeído (MDA) (Figura III/ reação 8). As reações em cadeia de terminação ocorrem ao longo das reações 9 e 10 (Figura III) (de GROOT, 1994).

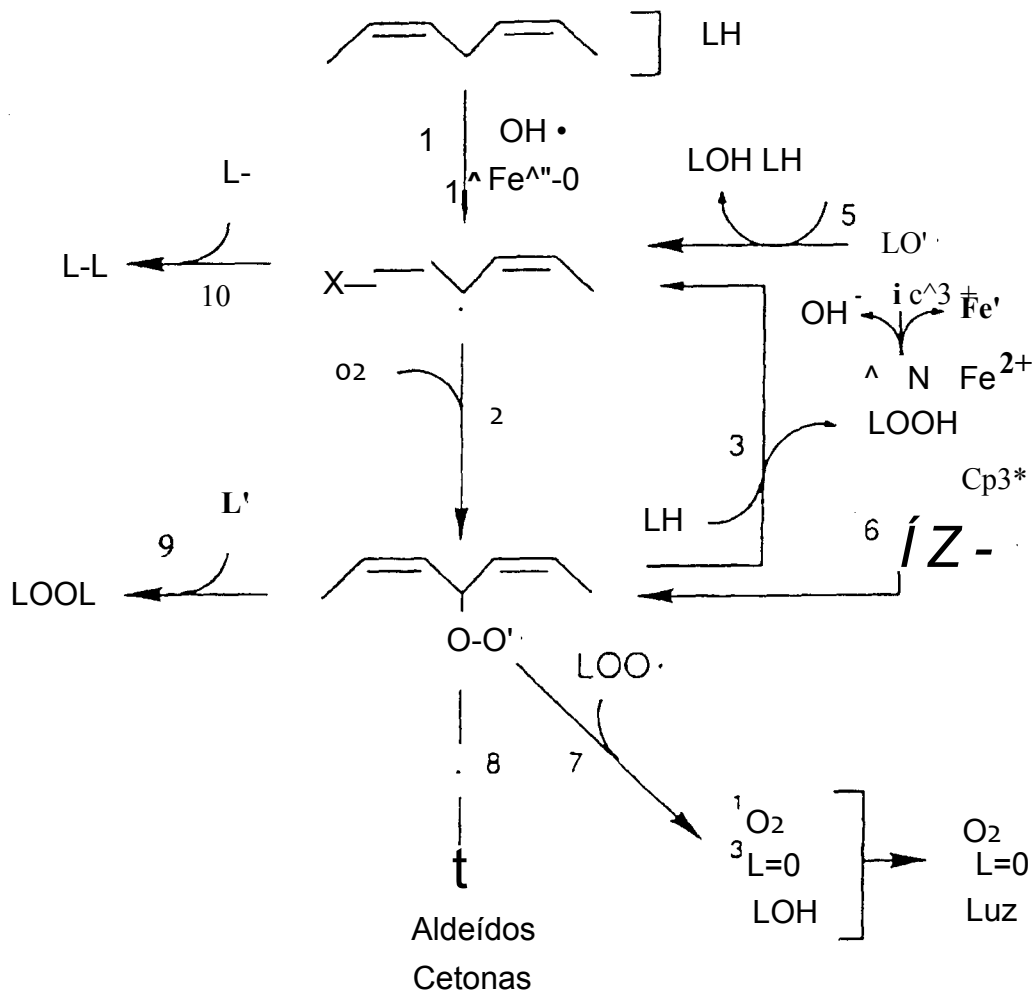


Figura in - Reações em cadeia da LPO (modificado de De GROOT, 1994)

Efeitos da LPO sobre a membrana celular (RICHTER & FREI, 1988): (1) mudanças no microambiente lipídico de enzimas ligadas à membrana, em canais iônicos e receptores, ativando ou inibindo a atividade destas proteínas; (2) formação de novos canais de permeabilidade; (3) formação de ligações cruzadas entre proteínas e fosfolipídios, inativando-as irreversivelmente; (4) oxidação de grupos -SH nos sítios ativos de enzimas ligadas à membrana, acarretando perda de suas propriedades funcionais (Figura IV).

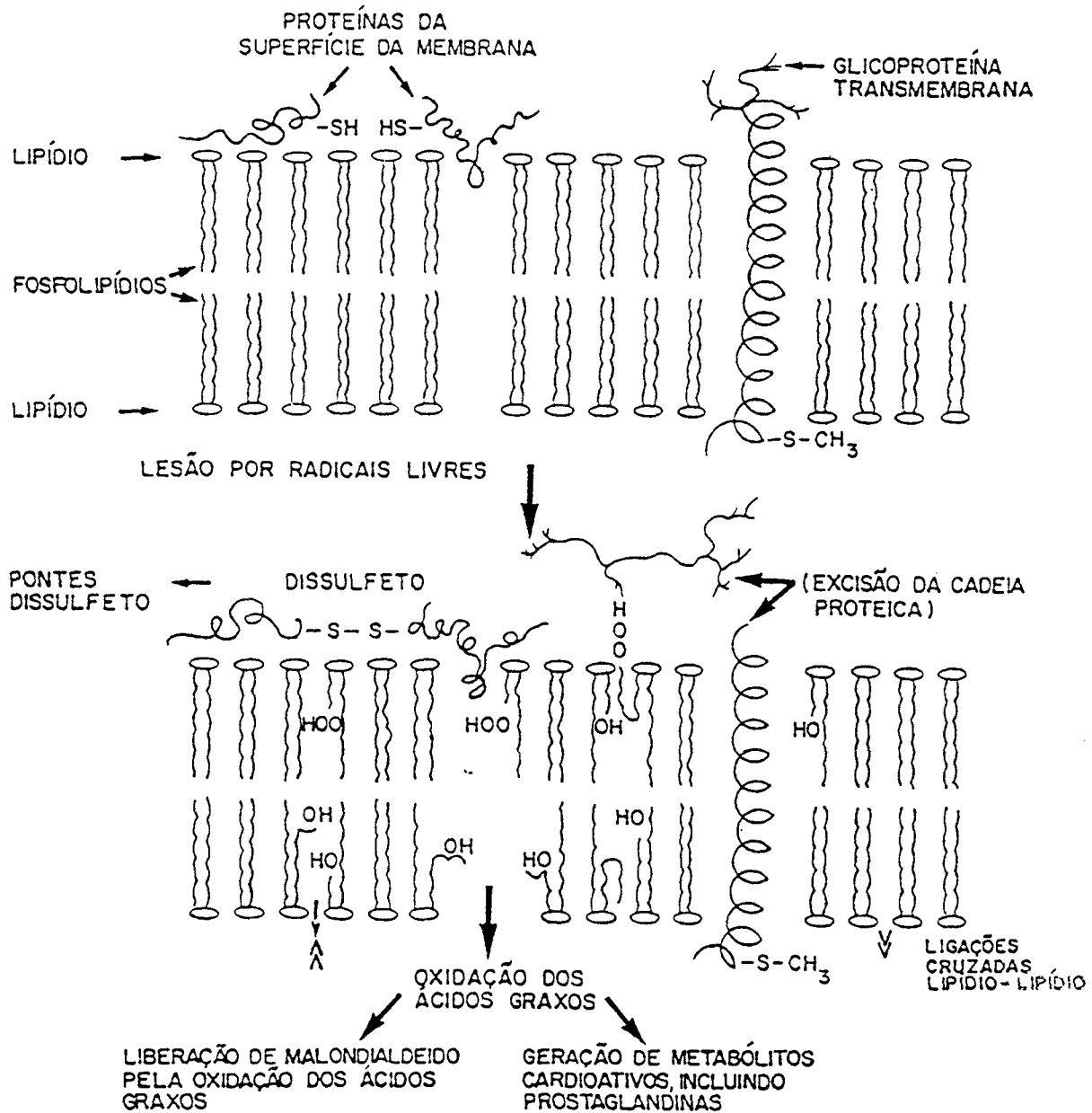


Figura IV - Danos por radicais livres dos lipídios de membranas e proteínas associados às membranas celulares (BELLÓ-KLEIN, 1993).

Como descrito anteriormente, através da seqüência de eventos da LPO, vários índices de peroxidação de lipídios no plasma e outros tecidos podem ser mensurados, refletindo diferentes estágios do processo. Estes envolvem abstração do hidrogênio da cadeia lateral do AG pelos radicais livres, formando dienos conjugados, que se oxidam a peróxidos lipídicos e subseqüentemente quebram em aldeídos tóxicos, tal como o malondialdeído, os quais mediam efeitos patológicos de peroxidação (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

1.3. Sistemas de defesas antioxidantes

Há um número de mecanismos disponíveis que enfrentam os efeitos potencialmente danosos das EAO, incluindo enzimas como a SOD, catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSHPX), que convertem as EAO em outros radicais, espécies menos tóxicas ou em água. As vitaminas C, E, P-caroteno, glutathione (peptídeo antioxidante), proteínas plasmáticas, ácido úrico (KRZANOWSKI, 1991) e outros componentes da dieta, como os flavonóides (DRAPER & BETTGER, 1994), protegem as células do efeito danoso destas espécies. Embora as proteínas plasmáticas quelantes de metais (transferrina, ceruloplasmina, albumina, haptoglobina e hemopexina) não interajam diretamente na decomposição das EAO, elas são consideradas antioxidantes por estarem ligadas a metais com atividade redox, limitando a produção de RL catalisada por metais (Tabela II) (CONNER & GRISHAM, 1996). Além disso, componentes da membrana, como é o caso do colesterol, podem proteger as biomembranas do ataque dos RL (DAS&NAIR, 1980).

A tabela II mostra uma lista de antioxidantes que ocorrem na natureza e sua ação como *scavengers* de RL, EAO ou quelantes de metais.

Tabela II - Antioxiđantes que ocorrem naturalmente

SOD	<i>Scavenger</i> de O ₂ * ⁻
NO*	<i>Scavenger</i> de O ₂ * ⁻ e LOO*
Catalase, GSHPX e Piruvato	<i>Scavenger</i> de H ₂ O ₂
Carotenóides	<i>Scavenger</i> de RL e 'O ₂
Bilirrubina e Ubiquinol-10	<i>Scavengers</i> de RL
Albumina	Unida ao cobre
Transferrina	<i>Scavenger</i> de HOCl Unida ao ferro
Ceruloplasmina	<i>Scavenger</i> LO* Unida ao cobre
Haptoglobina	Unida a hemoglobina
Hemopexina	Unida a hemoglobina livre
Glicose, manitol e GSH	<i>Scavengers</i> de *OH
Grupos SH	<i>Scavenger</i> de RL e HOCl
Ácido úrico	<i>Scavenger</i> de RL e HOCl Quelante de ferro
a - Tocoferol	<i>Scavenger</i> RL e LOO'
Ácido ascórbico	<i>Scavenger</i> de L* <i>Scavenger</i> de HOCl

(modificado de CONNER & GRISHAM, 1996; de GROOT, 1994; FOEGH et al., 1990; HALLIWELL, 1996t; VOEGELI et al., 1992)

Os mecanismos pelos quais certos minerais e vitaminas têm efeito protetor em relação a algumas patologias estão baseado fortemente na sua habilidade em prevenir a formação de RL, ou atuar como *scavenger* de RL, atuando indiretamente como cofator de certas enzimas ou diretamente através das vitaminas (BARNETT, 1994). Observamos que, nutricionalmente, temos minerais como o cobre, zinco, manganês, ferro e selênio, que são essenciais na incorporação de enzimas antioxidantes. Em contrapartida, alguns destes mesmos minerais, como o cobre, podem ser tóxicos induzindo de forma pronunciada a LPO (DOUGHERTY & HOEKSTRA, 1982).

Existem evidências de que o (3-caroteno, o oc-tocoferol, o ácido ascórbico e o selênio são os maiores moduladores e moderadores das mudanças bioquímicas que podem prevenir patologias associadas ao ataque dos RL (KAPPUS & DIPLOCK, 1992). Tanto o P-caroteno como o oc-tocoferol têm sido implicados como antioxidantes importantes na proteção das membranas celulares (PALOZZA et al., 1992).

1.3.1. Cobre, zinco e manganês

Existem dois tipos de SOD, uma dependente de manganês (Mn-SOD) e a outra de cobre e zinco (CuZn-SOD), sendo mitocondrial e citosólica, respectivamente (CHANCE et al., 1979). A SOD é largamente distribuída nos tecidos de mamíferos, remove o $O_2^{\bullet-}$ catalizando a reação de dismutação, formando H_2O_2 e O_2 (McCORD & FRJDOVICH, 1969). Considerando os danos potenciais do H_2O_2 , que, em certas condições, é significativamente mais pronunciada do que $O_2^{\bullet-}$, a defesa antioxidante da SOD toma-se compreensível somente quando sua ação é considerada em conjunto com enzimas que degradam H_2O_2 (CAT e GSHPX) (de GROOT, 1994).



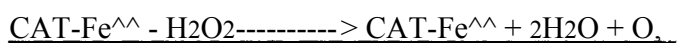
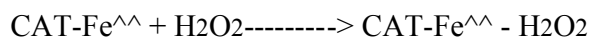
A suplementação farmacológica de cobre, zinco e/ou manganês não produzem aumento da atividade da SOD em animais (DRAPER & BETTGER, 1994), porém em pesquisas com dietas deficientes em cobre, observa-se redução substancial da SOD total e da SOD citosólica (CuZn-SOD), com aumento compensatório relativo da SOD mitocondrial (Mn-SOD) (BARTOLI et al., 1988). A deficiência alimentar de zinco também induz diminuição da atividade da SOD citosólica e conseqüente aumento na geração de RL e da peroxidação lipídica (CAO & CHEN, 1991). Além disso, o bloqueio da CuZn-SOD, com um agente quelador de cobre, provoca o acúmulo do $O_2^{\bullet -}$ e posterior formação de $\bullet OH$, através de reação de Haber-Weiss catalisada por ferro (ITO et al., 1996).

O zinco pode competir com o cobre e o ferro nos sítios de ligações na membrana, reduzindo a formação do $\bullet OH$, via reações redox. Portanto, além de estabilizar a função da membrana, o zinco pode ter papel fisiológico como antioxidante por proteger os grupos sulfidril contra a oxidação e inibir a produção de EAO por metais de transição (OTEIZA et al., 1995).

1.3.2. Ferro

O ferro tem um papel antioxidante importante no metabolismo em virtude da sua presença na CAT, embora o predomínio interesse deste elemento é sob o ponto de vista da sua ação catalítica na geração do $\bullet OH$ e LO^{\bullet} (DRAPER & BETTGER, 1994). A CAT está presente nos peroxissomas em todas os tipos de células de mamíferos (CFLANCE et al., 1979).

O H_2O_2 formado pela dismutação do $O_2^{\bullet -}$ pode ser transformado em H_2O e O_2 molecular pela ação da enzima CAT (DAS & MAULIK, 1994).

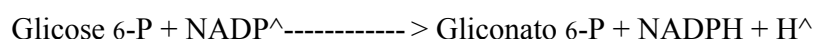
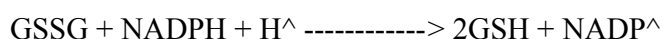
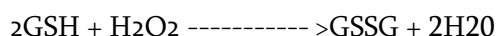


O ferro catalítico é liberado das proteínas heme e não heme na presença de oxidantes (isto é, da ferritina por $O_2^{\cdot -}$ e da hemoglobina por H_2O_2) e há evidências que esta liberação das formas ligadas são resultados da injúria tecidual (DRAPER & BETTGER, 1994).

1.3.3. Selênio e aminoácidos sulfurados

O selênio faz parte da enzima antioxidante GSHPX, porém existe GSHPX independente de selênio. A GSHPX tem alta atividade no fígado e eritrócitos e moderada atividade no coração e nos pulmões e baixa atividade no músculo (MILLS, 1960).

É provável que a enzima que mais remova o H_2O_2 em células de mamíferos seja a GSHPX, a qual usa o H_2O_2 para oxidar a glutathiona reduzida (GSH) em glutathiona oxidada (GSSG). Embora a GSHPX compartilhe do substrato H_2O_2 com a catalase, pode reagir efetivamente com hidroperóxidos orgânicos (CHANCE et al., 1979). A glutathiona é regenerada pela glutathiona redutase às custas de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). O NADPH é, então, regenerado pela glicose 6-fosfato pela ação da glicose 6-fosfato desidrogenase (DAS & MAULIK, 1994).



A ação antioxidante dos aminoácidos sulfurados é atribuída ao fato de serem precursores da glutathiona, a qual compõe a enzima glutathiona peroxidase, que utiliza a glutathiona reduzida (DRAPER & BETTGER, 1994). A glutathiona é o composto tiol não protéico que existe em maior quantidade, que controla a regeneração dos grupos sulfidril das pontes dissulfeto, podendo então atuar também como *scavenger* não enzimático de RL (BEUTLER, 1989). Os substratos para síntese de glutathiona são o ácido glicâmico, glicina, cisteína ou N-acetilcisteína (um

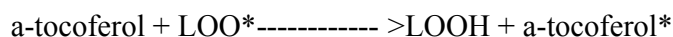
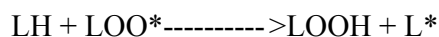
produto da cisteína) (HENNIG et al., 1996). Normalmente as células são bem supridas de ácido glutâmico e glicina, porém o fator limitante na síntese de glutatona é a disponibilidade de cisteína (BUTTERWORTH et al., 1993). Em condições normais, a cisteína é sintetizada a partir da metionina no fígado e em outros tecidos. Células extra-hepáticas apresentam limitada habilidade em utilizar a metionina na produção de cisteína (HORTON et al., 1987).

13A. p-caroteno

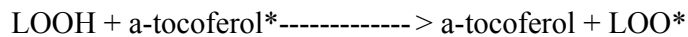
O P-caroteno é quantitativamente o mais importante dos carotenóides (MORENO et al., 1991). É reconhecido que o P-caroteno é *quencher* bastante efetivo de 1O_2 e reage diretamente com radicais ROO^* e RO^* . Portanto, interfere com a reação em cadeia da LPO (DAS & MAULIK, 1994). Ele é um importante estabilizador dos AGP e outros lipídios insaturados nos alimentos de origem vegetal, particularmente sob condições de exposição a luz e radiação ionizante, que catalisam a geração de oxigênio *singlet* (DRAPER & BETTGER, 1994). Além disso, eles protegem a vitamina E dos danos oxidativos causados por 1O_2 no plasma. Porém, parece que níveis mais baixos de P-caroteno são mais efetivos na inibição da LPO e também no retardo da oxidação da vitamina E, do que níveis muito grandes (OJIMA et al., 1993).

U.5. Vitamina E

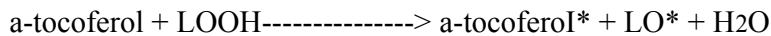
Vitamina E é um termo genérico usado para descrever todos os tocoferóis e tocotrienóis ativos e seus derivados que exibem qualitativamente a atividade biológica da RRR-alfa-tocoferol (KAPPUS & DIPLOCK, 1992). A função primária da vitamina E é interferir nas reações em cadeia da peroxidação lipídica geradas pelos RL, particularmente nas membranas que são ricas em AGP (KRZANOWSKI, 1991), atuando como *scavenging* de LOO^* .



Isto gera um radical a-tocoferol (radical a-tocoferoxil) menos reativo comparado com o LOO*. Entretanto, o a-tocoferol pode perder suas propriedades antioxidantes quando a reação de LPO for fechada, porque, nesses casos, há uma diminuição de a-tocoferol, com permanência constante de LH e um aumento da razão LOOH/ a-tocoferol, a reação é revertida.



Além disso, altas concentrações de a-tocoferol podem ser danosas pela sua função pró-oxidante (DAS & MALILDC, 1994).



Por outro lado, Kappus e Diplock (1992), numa revisão sobre vitamina E, observaram que ela apresenta toxicidade muito baixa. Não foram observadas, em animais experimentais, alterações mutagênicas, teratogênicas e nem carcinogênicas. Para os autores, os estudos em humanos mostram que doses de 100 a 300 mg de vitamina E podem ser consideradas inofensivas do ponto de vista toxicológico. Os estudos em humanos, com grandes doses, demonstraram efeitos adversos inconsistentes. Entretanto, observaram que altos níveis de vitamina E podem exacerbar o defeito de coagulação sangüínea na deficiência da vitamina K, causada por má absorção ou terapia com anticoagulante. Para Draper e Bettger (1994), taxas de 1000 L[I por dia de vitamina E (670 mg de a-tocoferol), são geralmente bem toleradas, embora a baixa absorção de tal dose possa resultar em distúrbio intestinal, causando também um leve prejuízo na absorção de vitaminas A e K.

A administração de um derivado hidrofílico do a-tocoferol (MDL 74,405) reduz o tamanho do infarto, provocado pelo processo isquemia-reperfusão. A redução do tamanho do

infarto pode ser próprio da diminuição da peroxidação lipídica, representada pela redução das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), induzida por sua ação de *scavenger*. Este antioxidante é cardioseletivo, e, portanto, é fortemente incorporado ao tecido cardíaco. A disfunção cardíaca pós-isquemia é atenuada pelo tratamento prévio com MDL 74,405, portanto, antes da restauração do fluxo (PETTY et al., 1994). Porém, quando existe deficiência de ácido ascórbico, o α -tocoferol é ineficiente na prevenção da LPO cardíaca (CHAKRABARTY et al., 1992).

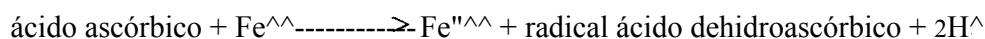
Estudo comparativo entre indivíduos de Nápoles (sul da Itália) e Reino Unido (norte da Europa), que apresentam diferentes hábitos alimentares e diferentes taxas de mortalidade por doenças isquêmicas do coração, revela que a população de Nápoles apresenta altas concentrações de antioxidantes no plasma, particularmente vitamina E e p-caroteno, sendo que a sua dieta tem grande quantidade de óleo de oliva e tomates frescos, fatos que podem estar relacionados com a baixa peroxidação lipídica e a baixa mortalidade por doenças isquêmicas no coração (PARFITT et al, 1994).

Há uma grande inter-relação entre o selênio e vitamina E na inibição da oxidação tecidual, inclusive do DNA (HAEGELE et al., 1994). A vitamina E é doadora de hidrogênio para radicais lípoxi, resultando em um hidroperóxido, e o selênio é constituinte da GSHPX e pode catalisar a redução dos hidroperóxidos lipídicos (DRAPER & BETTGER, 1994). Esta interação ocorre, apesar da GSHPX independente de selênio, ser a enzima envolvida primariamente nesta redução e, a GSHPX, dependente de selênio, estar envolvida principalmente na redução de H_2O_2 (STADTMAN, 1987).

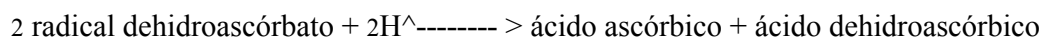
1.3.6. Vitamina C

A vitamina C, além de ser um *scavenger* de RL, também regenera a vitamina E e a glutathiona (KRZANOWSKI, 1991). Interferências ambientais e xenobióticos, elevam a LPO (BAINY, 1995) e conseqüentemente aumentam os requerimentos de antioxidantes, como a vitamina E e C (KAWAI-KOBAYASHI & YOSHIDA, 1986). Importantes cuidados com a ingestão de ácido ascórbico (vitamina C) devem ser tomados, uma vez que altas doses parecem ter efeitos deletérios. Apresentam efeitos pró-oxidantes, por reduzir o íon férrico (Fe^{++}) a íon

ferroso (Fe^{2+}), que podem catalisar a reação de Fenton, produzindo o radical hidroxil e a LPO (WITT et al., 1992; DRAPER & BETTGER, 1994). Além disso, altas concentrações de ácido ascórbico podem formar o radical dehidroascorbato;



Entretanto, o radical dehidroascorbato é uma substância inofensiva, e é regenerado a ácido ascórbico (DAS & MAULIK, 1994).



Apesar do seu efeito pró-oxidante *in vitro*, não há indicação, baseada na excreção de MDA ou outras medidas da LPO, de que megadoses de ácido ascórbico têm efeitos pró-oxidantes *in vivo*. Embora o ácido ascórbico tenha um papel indefinido no metabolismo das EAO, seu papel como mediador no aumento da absorção de ferro dos alimentos no intestino (ação redutora do ferro) e o seu papel metabólico na hidroxilação da prolina e da lisina, bem como sua atividade anti-escorbuto, são bem estabelecidas (DRAPER & BETTGER, 1994). Enquanto isto, sabe-se que os alimentos apresentam quantidades suficientes de ácido ascórbico para suprir além das taxas diárias recomendadas de 60mg, 40mg e 25mg/1000Kcal para americanos, canadenses (DRAPER & BETTGER, 1994) e brasúeiros (VANNUCCHI et al, 1990) respectivamente.

13.7. Outros componentes da dieta

Além das substâncias citadas acima, existem outros grupos químicos na dieta humana que inibem a peroxidação, que são os derivados do ácido hidroxilínâmico, do ácido

hidroxibenzóico e dos taninos. Uma característica comum a todas estas estruturas é a presença do grupo o-dihidroxi (catecol), que é o sítio alvo do radical. Os dados indicam que estes compostos são *scavenger* de ROO* na fase aquosa (isto é, durante a doação do átomo de hidrogênio), portanto previnem a fase de iniciação da peroxidação. O antioxidante é consumido numa taxa constante e quando é depletado, a reação de propagação é retomada, indicando a formação de um radical fenoxil, que é destituído da atividade para iniciar a reação de peroxidação (LARANJINHA et al., 1994). Os taninos protegem a mitocôndria cardíaca contra a LPO. Quando estes estão conjugados com o grupo benziltoéster, a inibição do consumo de O₂ e formação de MDA é 60 vezes menor do que o α-tocoferol (HONG et al., 1995).

Alguns extratos de vegetais também têm mostrado potente efeito inibidor da LPO como plantas orientais, como o *Ginkgo biloba* (PÓVOA et al., 1993), verduras como a couve de bruxelas, o brócolis, o repolho roxo (PLUMB et al., 1996) e as frutas (MATHIESEN et al., 1995). Estes autores responsabilizam um conjunto de substâncias antioxidantes como as vitaminas, os glicosinolatos, os flavonóides e as substâncias fenólicas.

Os flavonóides são compostos polifenólicos que estão presentes nos vegetais, frutas e bebidas tais como chás e vinhos. Os grupos mais importantes dos flavonóides são as antocianinas, flavonóis, flavonas, catequinas e flavononas. Os flavonóis são *scavengers* de O₂*, O₂⁻ e LOO*, bem como quelantes de íons metais (DRAPER & BETTGER, 1994).

A proteção do corpo contra as EAO depende das suas taxas de formação e de adequados níveis de antioxidantes que neutralizem o seu excesso. Enquanto algumas defesas, tais como, os antioxidantes endógenos (SOD, enzimas que removem H₂O₂, proteínas ligadas a metais) não são facilmente controladas e são inadequadas para prevenir completamente os danos, outras defesas, influenciadas pela dieta e, portanto, mais facilmente controladas, são importantes para a manutenção da saúde (KRZANOWSKI, 1991).

1.4. Lipídios da dieta

Os lipídios são macronutrientes que desempenham funções energéticas, estruturais, hormonais e também reguladoras no organismo. Gorduras e óleos têm como principal função

fornecimento de energia, enquanto os fosfolipídios são constituintes da membrana, desempenhando função estrutural de alta importância biológica. As gorduras e óleos veiculam as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e ácidos graxos essenciais (AGE). Os AG são compostos integrantes de quase todos os lipídeos. Eles são ácidos monocarboxílicos de cadeia hidrocarbonada de tamanho variável, podendo apresentar duplas ligações em posições específicas entre os átomos de carbono (SANTOS, 1998).

O tipo de gordura da dieta, mais especificamente o tipo de AG, influencia na composição dos AG da LDL e das membranas celulares (REAVEN & WITZTUM, 1996). Estes podem modificar de forma pronunciada o metabolismo, alterando até mesmo a função imune (GUIMARÃES et al., 1993; GUIMARÃES et al., 1994).

Os AG são classificados de acordo com a saturação de átomo de hidrogênio na cadeia carbonada, em ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) e polinsaturados (AGP), com nenhuma, uma e duas ou mais duplas ligações respectivamente. Os ácidos graxos insaturados (AGI), ou seja AGM e AGP, são agrupados de acordo com a posição da primeira dupla ligação, contada a partir da terminação metil da cadeia de carbono, em ômega 3 (©3 ou n-3), ômega 6 (a6 ou n-6) e ômega 9 (©9 ou n-9) (PPER, 1996). A tabela H1 informa os principais AG contidos nos alimentos e suas respectivas fontes alimentares.

Tabela 111 - Ácidos graxos e suas fontes alimentares mais comuns

Ácidos graxos	Fontes alimentares
AGS	
Laurico (C12:0)	Coco, óleo de palma
Mirístico (C14:0)	Coco
Palmítico (C16:0)	Óleo de palma, carne de boi
Estearico (C18:0)	Manteiga de cacau, carne de boi
AGM	
Oléico (C18:1)	Óleo de oliva, óleo de canola, carne de boi
AGP	
Linoléico (C18:2)	Óleo de milho, óleo de semente de algodão. óleo de girassol, óleo de soja, óleo de açafroã
Linolênico (C18:3)	Vegetais folhosos, óleo de soja, produtos de soja (tofi)
Eicosapentaenóico (EPA) (C20:5)	Cavala, sardinha, truta de água doce
Docosahexaenóico (DHA) (C22:6)	Salmão, atum, pomátomo, hipoglossos

(modificado PECKENPAUGH&POLEMAN, 1995)

Os óleos das sementes da prímula contêm 75% de ácido linoléico e 9% de γ -linolênico, um ácido graxo que é rapidamente alongado para ácido δ -linolênico (Figura V). Uma das gorduras mais ricas em ácido α -linolênico é o óleo da semente de linho (WELSCH, 1995).

Os ácidos eicosapentaenóicos (EPA) e docosahexaenóicos (DHA) pertencem à família dos n-3, o que significa que a primeira dupla ligação está apenas a três átomos de carbono distante da terminação metil da cadeia de carbonos. Os peixes e seus produtos fornecem grandes quantidades de EPA e de DHA, com uma variação de 0,1 a 90% do peso entre as diferentes espécies. As carnes de outros animais fornecem grandes quantidades de ácido araquidônico (AA; C20:4 n-6), que também é formado pela conversão do ácido γ -linolênico (C18:3 n-6) (Figura V) (MEHTA et al., 1987).

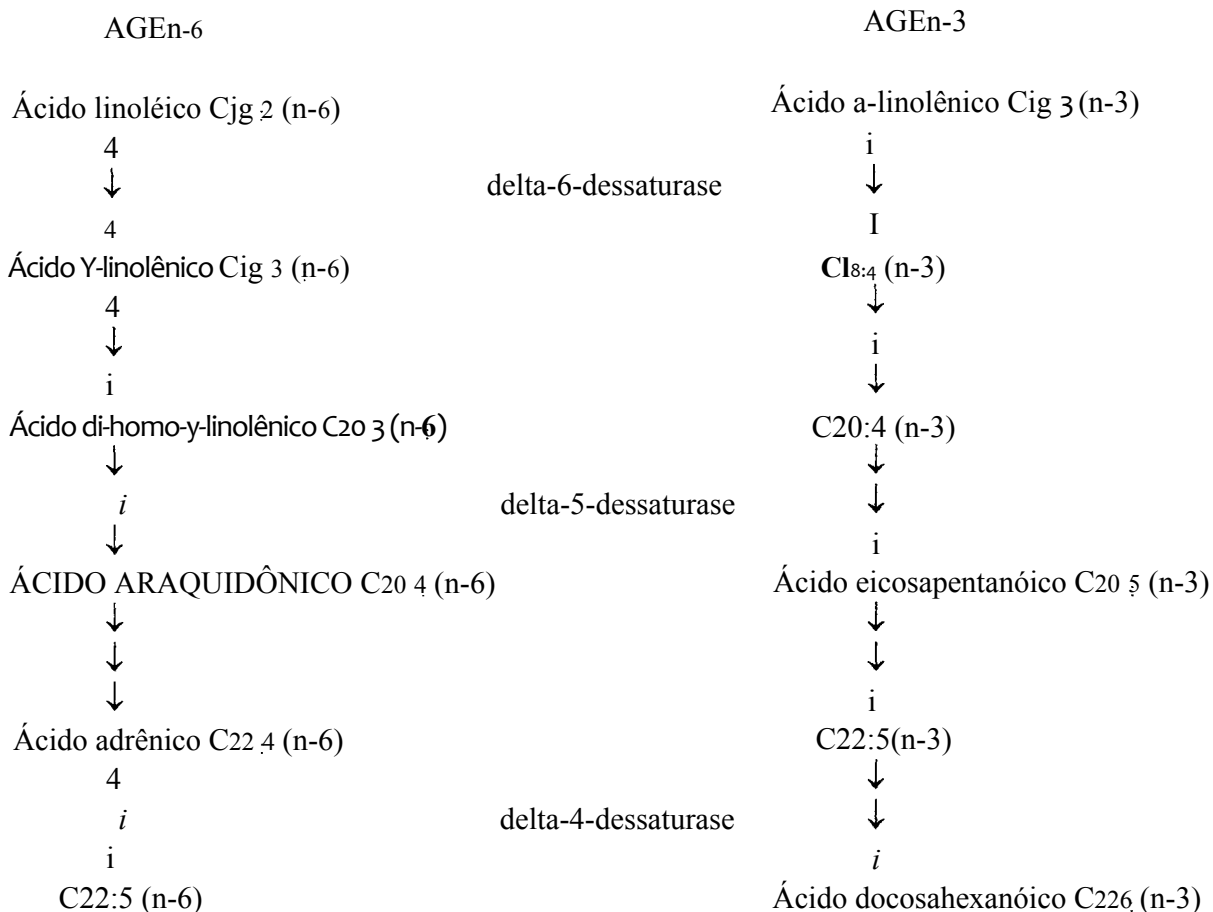


Figura V - Metabolismo dos ácidos graxos (n-6) e (n-3) (EWIN, 1997)

As gorduras dos alimentos e óleos alimentares também podem sofrer danos oxidativos, onde o grau de oxidação pode ser influenciado pelo processamento na indústria e na confecção das preparações das refeições, como, por exemplo, pela fritura e altas temperaturas. A oxidação dos lipídios dos alimentos é iniciada por RL e/ou O_2 , no qual geram uma série de reações de RL autocatalíticas (KUBOW, 1992).

Havendo uma elevada ingestão de óleos vegetais e conseqüentemente aumento no consumo de AGP como o ácido linoléico, há a possibilidade de maior ingestão de lipídios peroxidados, RL e outros produtos de oxidação. A grande reatividade das duplas ligações dos AGP, representa uma fonte significativa de material reativo para iniciar e propagar as reações de

oxidação (FINLEY & OTTERBURN, 1993). Os lipídios oxidados da dieta danificam estruturas celulares, (de GRITZ & RAHKO, 1995) e podem provocar doenças, como as miocardites, levando animais experimentais à morte (KUSEWITT et al., 1984).

1.5. Nutrição e a patogenicidade da LPO

Pesquisas de várias décadas têm evidenciado o envolvimento das EAO na patofisiologia de grande número de doenças, tal como hipertensão (KRZANOWSKI, 1991), infarto agudo do miocárdio (SINGH et al., 1995), aterosclerose (BIFFANTI et al., 1994), câncer (LOFT & POULSEN, 1996), diabete melito (STAPRĀNS et al., 1993b), doenças da idade, como doença de Alzheimer (BARNETT, 1994), cataratas (AWASTHI et al., 1996) e o próprio processo de envelhecimento (PAOLISSO et al., 1995), que foi proposto desde 1954 como a “teoria do radical no envelhecimento” (HARMAN, 1992). Cross e colaboradores (1987) chamam as doenças citadas anteriormente como doenças de “radicais livres”, que podem ser classificadas dentro de três grupos, nas quais as desordens são causadas primariamente por elementos genéticos, uma combinação de fatores genéticos e ambientais e influências ambientais. Muitos autores, porém, têm dúvidas se as mudanças induzidas pelos RL são conseqüências ou causa de certas doenças (KRZANOWSKI, 1991; GEY, 1993).

Durante o processo de envelhecimento parece que as defesas do organismo vão diminuindo, com aumento na incidência de algumas doenças. Entre alguns fatores dietéticos, como a restrição alimentar, sem alterações do estado nutricional (desnutrição), teriam efeitos benéficos sobre as doenças e transtornos relacionados com a idade (HABIB et al., 1990). Isto é constatado com a diminuição da peroxidação lipídica (HABIB et al., 1990; RAO et al., 1990), e o aumento da atividade da SOD, CAT e GSHPX (RAO et al., 1990). Portanto, a restrição alimentar parece retardar o processo de envelhecimento a partir da modulação dos danos provocados pelos RL. Danos estes que podem estar a nível de mRNA (RAO et al., 1990) e DNA (CHUNG et al., 1992), provocando uma série de doenças degenerativas como as citadas acima.

Desde que os AG e os antioxidantes da dieta influenciam a composição dos AG e antioxidantes das lipoproteínas e dos tecidos, a quantidade e o tipo de gordura da dieta e

antioxidantes alimentares podem afetar a suscetibilidade a danos oxidativos destas estruturas biológicas (REAVEN & WITZTUM, 1996; DRAPER & BETTGER, 1994).

Os mecanismos pelos quais algumas doenças são afetadas pelo tipo e/ou quantidade de gordura e antioxidantes da dieta, e sua relação com o aumento ou diminuição da suscetibilidade ao ataque dos RL, será relatado a seguir.

1.5.1. Doenças cardiovasculares

Neste item serão relatadas as doenças cardiovasculares mais estudadas com relação ao envolvimento das EAO como a hipertensão, infarto agudo do miocárdio e principalmente a aterosclerose. A diabete melito será incluída neste item devido às evidências do papel da hiperglicemia no aumento da morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares.

Estudos populacionais revelam que pacientes hipertensos geralmente têm menores taxas de ácido ascórbico e possivelmente outros antioxidantes, como por exemplo, o selênio (SALONEN, 1991). A deficiência de ácido ascórbico pode levar a um defeito da vasodilatação e ao aumento da pressão sangüínea, devido á destruição pelos RL de certos fatores relaxantes dependentes do endotélio. Dois produtos vasodiladores derivados do endotélio têm sido identificados: PGI₂ e o fator relaxante derivado do endotélio, o NO*. Estas substâncias vasodilatadoras podem ser destruídas pelas EAO, permitindo aumento no tônus vascular e na resistência periférica, possibilitando o aparecimento da hipertensão (KRZANOWSKI, 1991). Além disso, evidências sugerem efeitos na diminuição da pressão sangüínea pelos AGP (n-3), possivelmente como precursor da prostaglandina I₃ e tromboxana A₃ (Figura IX). Entretanto, o papel dos AGP(n-6) e AGS são controversos. Não tem sido estudado o efeito anti-hipertensivo dos AGM (SALONEN, 1991).

Os homens, após infarto agudo do miocárdio, também apresentam baixos níveis de ácido ascórbico no plasma. Pesquisadores observaram, em estudo com 406 pessoas, com até 48 horas de infarto agudo do miocárdio, que foram orientados para o consumo de dietas ricas em antioxidantes (um mínimo de 400 gramas entre firutas, vegetais e legumes), uma redução nos

níveis de peróxidos lipídicos, da enzima cardíaca lactato desidrogenase (indicador de necrose cardíaca) e aumento de ácido ascórbico plasmático (SINGH et al., 1995).

A aterosclerose é um processo complexo que envolve importantes perturbações na “interação célula - célula”, no metabolismo das lipoproteínas, no metabolismo do AA e em vários outros fatores. Tem sido sugerido que interações críticas entre alguns tipos de células, monócitos-macrófagos, plaquetas, células endoteliais e células do músculo liso, estariam envolvidas na aterogênese (MEHTA et al., 1987).

Reaven e Witztum (1996) sintetizaram os passos da evolução da aterosclerose, informando que a camada gordurosa é a primeira a ser lesada no processo e é quase certo que é o precursor das placas transicionais e das placas fibrosas mais complexas, que se rompem e podem levar a eventos isquêmicos. Portanto, o entendimento da etiologia da camada gordurosa, com suas características de macrófagos derivados de monócitos carregados de lipídios, possibilitará estratégias efetivas para inibir a formação e desenvolvimento de lesões subseqüentes.

Em experimento com animais alimentados com colesterol, um dos eventos detectáveis precocemente é a ligação dos monócitos com o endotélio de revestimento com acúmulo de colesterol, provavelmente mediada por várias moléculas de adesão. Estes monócitos migram para o subendotélio através das junções *gap*, atraídos por várias substâncias quimioatrativas. Dentro do espaço subendotelial, os monócitos se diferenciam em macrófagos e expressam um gene totalmente novo, incluindo receptores para lipoproteínas oxidadas (ou modificadas) (MEHTA et al., 1987; REAVEN & WITZTUM, 1996; ROBERT, 1996). Os macrófagos espumosos (*foam*), bem como outras células, podem produzir citocinas e fatores de crescimento no qual causam a proliferação e migração de células do músculo liso da camada média para íntima, e o acúmulo de lípidos nas células do músculo liso são características proeminentes da formação das placas fibrosas (HENNIG et al., 1996).

A hipercolesterolemia, principalmente com níveis elevados de LDL colesterol, representa um reconhecido fator de risco para as doenças cardiovasculares ateroscleróticas (PRASAD & KALRA, 1993), entretanto o mecanismo bioquímico envolvido nesta patogenese não está inteiramente entendido (ROBERT, 1996).

Bierenbaum e colaboradores (1992), em experimento com humanos hipercolesterolêmicos, observaram que os mesmos apresentavam níveis elevados de TBARS e produtos de oxidação lipídica.

Existem evidências substanciais que sugerem que a LDL pode sofrer modificações oxidativas *in vivo* e que este processo pode ser crítico na iniciação e evolução da aterosclerose (BIFFANTI et al, 1994; REAVEN & WITZTUM, 1996; STEINBRECHER et al, 1990). Portanto, o entendimento dos determinantes da susceptibilidade da oxidação da LDL é essencial para o desenvolvimento das estratégias para inibição desse processo (REAVEN & WITZTUM, 1996). Embora as evidências a esse respeito sejam muito convincentes, a atual contribuição da LDL oxidada no aumento do risco aterogênico, ainda necessita de mais especulação (BIFFANTI et al, 1994).

Vários agentes podem aumentar a suscetibilidade à modificação oxidativa da LDL *in vitro*, incluindo cultura de células endoteliais e do músculo liso (MATA et al, 1996; REAVEN & WITZTUM, 1996; STEINBRECHER et al, 1990); monócitos - macrófagos (PRASAD & KALRA, 1993); irradiação (BEDWELL et al, 1989; BONNEFONT-ROUSSELOT et al, 1993; OJIMA et al, 1993); indutores *azo* (BIFFANTI et al, 1994; LARANJINHA et al, 1994; NOGUCHI et al, 1993) e íons de metais de transição, como o Cu^{++} (NOGUCHI et al, 1993).

Atualmente se conhecem alguns fatores que contribuem para a suscetibilidade da oxidação da LDL, entre eles, o mais importante, é o conteúdo de AGP, o substrato inicial para a peroxidação lipídica, bem como os antioxidantes endógenos. O a-tocoferol é provavelmente o antioxidante mais importante da LDL. Por outro lado, as condições pró-oxidantes da parede arterial, também têm um papel fundamental nas taxas de oxidação de LDL (REAVEN & WITZTUM, 1996).

A quebra dos AGP resulta na formação de aldeídos, cetonas e outros produtos altamente reativos, e estes podem ligar-se a resíduos de lisina da apolipoproteína B da LDL. Estas ligações alteram as cargas da LDL e acredita-se que são reconhecidos por receptores *scavengers* de macrófagos (REAVEN & WITZTUM, 1996). Portanto, as modificações da LDL por processo oxidativo, resultam num axunento de receptores *scavengers* de macrófagos, podendo levar à

formação de células espumosas (*foam*) (BONNEFONT-ROUSSELOT, 1993; KRZANOWSKI, 1991; STEWART-PHILLIPS et al., 1991).

É possível que a chave da patogênese das placas ateroscleróticas seja o resultado do acúmulo de colesterol nas células *foam*, embora não se tenha provas definitivas (STEINBRECHER et al, 1990).

O reconhecimento da LDL oxidada por receptores *scavenger* pode resultar em inúmeras mudanças estruturais e de composição como o aumento da mobilidade eletroforética, aumento da densidade, fragmentação da apolipoproteína (apo) B, depleção de a-tocoferol, hidrólise da fosfatidilcolina, derivações de resíduos de aminoácidos essenciais (grupos amino lisina), aumento das cargas negativas, mudanças conformacionais, formação de TBARS e dienos conjugados e aparência de fluorescência diferencial própria da ligação covalente dos produtos de oxidação da apo B (BEDWELL et al., 1989; BONNEFONT-ROUSSELOT, 1993; NOGUCHI et al., 1993).

Além da LDL, modificada por macrófagos, convertida em células *foam*, ser pro-aterogênica, existem ainda muitos outros fatores, como mostra a Tabela IV. A oxidação da LDL se dá pela abstração do hidrogênio do AGP, formando os ROO* e RO', que podem iniciar a oxidação. Portanto, a composição dos AG da LDL contribuem para o processo de oxidação da LDL (REAVEN & WITZTUM, 1996).

A gordura da dieta é um dos mais importantes fatores determinantes das concentrações de LDL colesterol no plasma (MATA et al., 1996) e a dieta com alto teor de gordura saturada tem influência no aumento do nível plasmático de colesterol total e LDL, enquanto que os AGP têm efeito contrário (HUMPHRIES et al., 1996). A dieta também pode modular a suscetibilidade da LDL plasmática na modificação oxidativa (MATA et al, 1996). Estes efeitos têm sido atribuídos às mudanças na concentração de AGP (BIFFANTI et al., 1994; REAVEN & WITZTUM, 1996) e antioxidantes da dieta (BIFFANTI et al., 1994; SARKKINEN et al., 1993; REAVEN & WITZTUM, 1996).

Tabela IV - Mecanismos de indução de aterogênese pela LDL modificada oxidativamente (OX-LDL)

Aumento da captação pelos macrófagos para a formação de células ricas em ester colesterol e *foam*

Quimiotático para os linfócitos T e monócitos

Inibe a motilidade das células endoteliais e macrófagos teciduais

Citotóxico

Pode alterar a expressão do gene de célula arterial vizinha tal como de proteína quimioatrativa de monócitos (MPC-1), fatores estimulantes de colônia, interleucina e expressão endotelial de moléculas de adesão

Pode induzir uma variedade de genes pró-inflamatórios e seus produtos como hemoxigenase, aminoácidos sulfurados e ceruloplasmina

Imunogênico e pode eliciar a formação de auto anticorpos e células T reativas

Confere LDL mais suscetível à agregação, no qual independentemente conduz a um aumento de macrófagos

Pode desfavoravelmente alterar as vias de coagulação, tal como indução de fatores teciduais e alteração da agregação plaquetária

Pode, desfavoravelmente, alterar as propriedades vasomotoras das artérias coronarianas

(REAVEN & WITZTUM, 1996)

Os mesmos AGP da dieta que diminuem as concentrações de LDL colesterol plasmático são substratos para oxidação e, portanto, podem ter efeitos potencialmente aterogênicos se eles promoverem a LPO. Os AG da dieta produzem imia significativa mudança na composição de AG da LDL e nos níveis plasmáticos de lipoproteínas em homens e mulheres saudáveis, consumindo dieta regular. A substituição isocalórica de AGS por AGM, AGP (n-6) e AGP (n-3) resulta em

diminuição dos níveis de colesterol total e LDL colesterol sanguíneo. Entretanto, estas mudanças modificam a suscetibilidade da LDL à oxidação e adesão de monócitos em células endoteliais humanas *in vitro*. A LDL mostra um aumento da resistência na modificação oxidativa associada ao consumo de dietas ricas em AGM (MATA et al, 1996).

O aumento nas taxas de peroxidação lipídica tem sido influenciado pela composição do ácido linoléico (C18:2) (BIFFANTI et al., 1994). As dietas enriquecidas com C18:1 têm aumentado a suscetibilidade à oxidação da LDL quando comparada com LDL rica em ácido oléico (C18:1) (REAVEN e WITZTUM, 1996).

A inibição da peroxidação lipídica está diretamente relacionada ao conteúdo de vitamina E (BIFFANTI et al., 1994). Além da vitamina E, os compostos fenólicos que estão presente em quantidades representativas na dieta humana são responsáveis pela diminuição da oxidação da LDL (LARANJINHA et al., 1994). Os carotenóides também têm um papel importante na diminuição da oxidação da LDL, atuando diretamente contra as EAO ou indiretamente, através da proteção dos tocoferóis contra os danos oxidativos provocados pelas EAO (OJIMA et al., 1993).

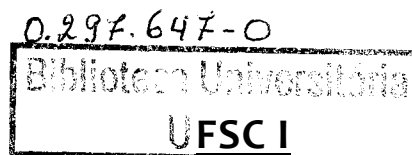
Além disso, a composição em AG também influencia a formação celular das EAO, portanto, os AG da dieta podem ajudar a determinar a atividade pró-oxidante das células da parede arterial (HENNIG et al., 1996; REAVEN & WITZTUM, 1996). Evidências sugerem que há degradação acelerada do NO*, derivado do endotélio, pelo ânion O2*⁻ em vasos hipercolesterolêmicos. Os vasos hipercolesterolêmicos produzem mais O2*⁻ do que os vasos normais. Foi observado que o endotélio é fonte de O2*⁻ na hipercolesterolemia, provavelmente pela ativação da xantina oxidase. O aumento do O2*⁻ endotelial nos vasos hipercolesterolêmicos podem inativar o NO* derivado do endotélio e ser fonte de outras EAO, contribuindo para o processo de aterosclerose (OHARA et al., 1993). O receptor de laminina-elastina, presente nas células endoteliais, provoca o vasorelaxamento dependente do NO*. É demonstrado, que na exposição crônica de altas concentrações do agonista peptídico elastina presente no sangue humano e, principalmente durante o envelhecimento, o receptor não acopla sua via de transmissão, mas continua liberando RL como o O2*⁻. O NO* e o O2*⁻ resultam em peroxinitrito

(ONOO^-), um ânion tóxico, que necessita de GSH para sua neutralização. A produção de GSH diminui com a idade. Este processo diminui a biodisponibilidade de NO^* para a vasodilatação e pode então contribuir para o aumento da pressão sanguínea dependente da idade e produzir lesões endoteliais, levando ao desenvolvimento da atero-arteriosclerose. Este termo, atero-arteriosclerose, diz respeito a duas disfunções vasculares, a formação de placas de ateroma, discutida anteriormente, e arteriosclerose que diz respeito à alterações em toda a parede dos vasos e pode se caracterizar por aumento da razão colágeno/elastina, difusão de lipídios e deposição de cálcio (Ca^2+ com concomitante perda da elasticidade e perda do coração secundário (devido à elasticidade da aorta) ou efeito *windkessel* (reservatório elástico). A arteriosclerose é claramente dependente da idade, enquanto que as placas ateromatosas podem formar-se precocemente (ROBERT, 1996).

Recentes estudos têm demonstrado a existência de uma relação inversa entre a concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) e a prevalência de doenças coronarianas (SOLÀ et al., 1997). A hipótese que altos níveis de HDL plasmático protejam contra doenças coronarianas foi inicialmente proposto no princípio da década de 50 (BARR et al., 1951). A HDL constitui um grupo heterogêneo de partículas que diferem em densidade, tamanho, mobilidade eletroforética, composição lipídica e conteúdo de apo e estas podem ser fracionadas dentro de diferentes subclasses (TAILLEUX & FRUCHART, 1996).

A HDL circulante constitui 30 a 35% do total das lipoproteínas. As partículas de HDL consistem em aproximadamente 50% de proteína, 25% de fosfolipídios, 20% de colesterol e 5% de triglicerídeos. HDLs têm numerosas apo, tal como as apo A-I, A-II, A-IV, E, Cs, D, F e H. A apo A-I e apo A-II representam aproximadamente 80 a 90% do total do conteúdo das apo da HDL (TAILLEUX & FRUCHART, 1996).

Um importante achado é que as proteínas estimulam o transporte reverso do colesterol (lecitina acil colesterol transferase, proteína de transferência de ester de colesterol) e estão presente principalmente nas lipoproteínas compostas de apo A-I e não apo A-I:A-II (CHEUNG et al., 1986). O metabolismo da HDL está altamente ligado ao transporte reverso do colesterol. Este termo refere-se a uma série de etapas metabólicas na qual o excesso de colesterol é levado das



células periféricas para o fígado e, posteriormente, é excretado ou reciclado pelo corpo, reduzindo o acúmulo de colesterol na parede arterial (TAILLEUX & FRUCHART, 1996).

A síntese no intestino delgado de apo B e A-I é regulada pelos lipídios alimentares, variando em relação ao comprimento e saturação da cadeia. A síntese de apo A-I é maior em animais alimentados com triglicerídeos polinsaturados de cadeia longa, quando comparado a triglicerídeos de cadeia média e triglicerídeos saturados de cadeia intermediária (WANG et al., 1996). A dieta rica em ácido oléico aumenta a concentração de apo A-I e A-II plasmática comparada com a dieta rica em ácido linoléico (SOLÀ et al., 1997).

As subfrações de HDL podem ser mensuradas através de sucessivas precipitações, obtendo HDL2 e HDL3. A subfração HDL2 parece estar mais relacionada à proteção contra as doenças coronarianas, assim como a lipoproteína que contém apo A-I parece ser um indicador seguro de prognóstico no risco de doenças coronarianas. As medidas das subclasses podem dar informações não somente sobre os riscos de doença aterosclerótica, mas também sobre os mecanismos fisiológicos destes riscos. Entretanto, existem controvérsias sobre os procedimentos analíticos das apoproteínas e subfrações das lipoproteínas. Estudos em população e casos-controle indicam que as concentrações de subclasses de HDL foram negativamente associadas às doenças coronarianas, mas não foram superiores ao íDL colesterol, portanto não é recomendado que os clínicos estendam a quantificação de apo A-I, HDL2/HDL3 colesterol ou lipoproteína que contém apo A-I (TAILLEUX & FRUCHART, 1996).

A HDL pode ser modificada significativamente quando submetida a um processo oxidativo *in vitro* (BRADAMANTE et al., 1992). Alguns autores observaram o efeito protetor da HDL, sugerindo que este efeito não muda muito em presença de sistemas oxidantes químicos e biológicos (PARTHASARATHY et al., 1990a). Porém, quando se analisa, por ressonância nuclear magnética, observa-se perda completa dos sistemas polinsaturados junto com apreciável diminuição dos picos de colina, demonstrando grande escala de degradação lipídica da HDL. A aparência dos sistemas de epóxido sobre as cadeias graxas e a identificação dos derivados de colesterol oxidados como 5a, 6a-epóxido, 5p, 6p-epóxido, 7-ceto e 25-hidroxi colesterol confirmam isto. A análise de fosfolípidios indicam alteração do perfil de fosfolípidios em liso-

fosfatidilcolina e o desaparecimento da fosfatidiletanolamina. Estas mudanças são detectadas pela análise de ressonância nuclear magnética, porém não existem grandes variações quando utilizados métodos clássicos, como LOOH e TBARS (BRADAMANTE et al., 1992).

A oxidação da HDL pode ser iniciada *in vitro* por incubação com cobre (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 1995; BRADAMANTE et al., 1992, SOLÀ et al., 1997), células endoteliais (PARTHASARATHY et al., 1990a), por radiações ultravioleta (ALOMAR et al., 1992) ou por gama radiólise (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 1995).

A oxidação dos lipídios da HDL resulta na perda da habilidade dessas lipoproteínas em incorporarem colesterol. A capacidade sobre o efluxo de colesterol está diretamente relacionado à fluidez da HDL, que é modificada pela oxidação, levando à perda das propriedades, resultando em sua rigidez. Isto explica a possibilidade da HDL oxidada estar envolvida na patogênese da aterosclerose (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 1995).

Apesar das modificações oxidativas das lipoproteínas poderem contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose, as influências das gorduras alimentares sobre a HDL na modificação oxidativa é desconhecida (SOLÀ et al., 1997).

Staprãns et al. (1993a) observaram que os quilomicrons oxidados têm maior afinidade com o endotélio cardíaco e a sua hidrólise também está diminuída pela lipoproteína lipase endotelial. Isto indica que os quilomicrons oxidados alteram o metabolismo normal dos quilomicrons, aumentando a deposição de lipídios na parede vascular, podendo contribuir para o processo de aterosclerose.

Os diabéticos têm aumento do risco de doenças vasculares. Os níveis de lipoproteínas oxidadas estão aumentadas em homens e animais diabéticos. Em experimentos com ratos diabéticos, alimentados com lipídios oxidados, houve maior incorporação desses lipídios oxidados nas lipoproteínas. O mecanismo pelo qual o diabético aumenta os níveis de peróxidos lipídicos na lipoproteína e o risco à aterosclerose, permanece especulativa (STAPRÃNS et al., 1993b). O aumento dos peróxidos lipídicos podem ser próprios do aumento das EAO geradas durante a autooxidação da glicose, podendo interferir com a ação do NO* e atenuar sua atividade

vasodilatadora. A injúria oxidativa pode também estar aumentada no diabetes melito, porque a defesa está debilitada pela redução de antioxidantes endógenos (vitamina E, GSH). O desequilíbrio próprio da redução da produção de NO* ou aumento da produção de RL, principalmente o ânion O*~, pode facilitar o desenvolvimento do espasmo funcional da artéria. O tratamento com diferentes antioxidantes aumenta o fluxo sangüíneo, diminui a pressão sangüínea e a viscosidade em humanos normais. A vitamina E inibe o estresse oxidativo e a viscosidade das células vermelhas do sangue no paciente diabético (GHJGLLANO et al., 1995).

1.5.2. Câncer

O câncer é a segunda causa de morte nos Estados Unidos, bem como em muitos países desenvolvidos (HENNEKENS, 1994). Segundo a publicação do Ministério da Saúde, através da Coordenação de Informação e Análise de Situação (CIASS), do Centro Nacional de Epidemiologia (CENAPI) e da Fundação Nacional de Saúde (FNS), que em 1997 publicaram o estudo da “Mortalidade Brasil - 1994”, o Brasil apresenta o câncer como a quarta causa de morte, sendo, na região sul, a segunda.

Muitos estudos, envolvendo tecidos com câncer ou outras amostras de pacientes com doenças malignas ou doenças associadas com aumento de risco de câncer, mostram sinais de aumento das modificações oxidativas do DNA ou alguma deficiência no seu reparo. Os experimentos suportam que os danos oxidativos do DNA são importantes fatores mutagênicos e aparentemente carcinogênicos (LOFT & POULSEN, 1996). As EAO são conhecidas por induzir modificações oxidativas do DNA, que podem causar alterações durante a replicação da síntese, podendo determinar um processo carcinogênico, e essas modificações podem ser alteradas pelas intervenções dietéticas (HAEGELE et al., 1994). Na revisão bastante vasta sobre tumorigênese da glândula mamária, concluiu-se que a quantidade e o tipo de gordura da dieta podem influenciar no desenvolvimento e/ou crescimento dos tumores. A gordura da dieta pode ser tanto estimulatória como inibitória neste processo tumorigênico (WELSCH, 1995). Autores observam que tanto o ácido α -linolênico (C18:3) como o EPA (C20:5) exibem potente ação citotóxica sobre células de mieloma em camundongos e isto está relacionado às EAO e peróxidos lipídios, uma vez que a SOD e a vitamina E inibem essa ação. Além disso, ambos

umentam a formação do ânion O_2^{*-} , H_2O_2 e peróxidos lipídios, causando redução nos níveis das enzimas antioxidantes; SOD, catalase e GSHPX, e induz a danos significativos no DNA dessas células (KUMAR & DAS, 1995).

Outras pesquisas mostram que especificamente o aumento de AGP, pode elevar os danos oxidativos do DNA, como é observado pelo aumento da 8-hidroxi-2'- deoxiguanosina (8-OHdG), um importante marcador dos danos oxidativos e agente etiológico no desenvolvimento do txrnior. Porém, uma menor concentração na dieta de antioxidantes, como a vitamina E e selênio também pode contribuir para o aumento dos danos oxidativos (HAEGELE et al, 1994).

O próprio tratamento do câncer através da radioterapia forma radical hidroxil, que é o maior mecanismo pelo qual as células malignas são mortas (FOEGH et al, 1990). Entretanto, esses pacientes têm mostrado baixo aumento dos níveis de 8-oxoguanina (8-oxodG) nos leucócitos circulantes (WILSON et al, 1993) com aumento na excreção urinária (TAGESSON et al, 1995).

As pesquisas sugerem que os danos oxidativos do DNA diminuem com a idade, possivelmente devido à diminuição do metabolismo, porém a excreção urinária de produtos oxidativos do DNA parece também diminuir, dificultando a eliminação desses produtos pelo organismo (LOFT & POULSEN, 1996).

Evidências sugerem o possível benefício das vitaminas antioxidantes sobre o câncer, através de; (a) pesquisas básicas, que têm identificado *trap* de radicais livres e/ou desativador do oxigênio molecular excitado como mecanismos de proteção química do câncer, (b) estudos epidemiológicos descritivos, que possibilitam verificar as diferenças geográficas na incidência do câncer, explicadas através das variações regionais das taxas de vitaminas antioxidantes, e (c) estudos epidemiológicos analíticos individuais, que têm demonstrado associações inversas entre as taxas alimentares ou mVeis sangüíneos de vitaminas antioxidantes e risco de câncer. Apesar de ser plausível que as taxas de alimentos ricos em antioxidantes sejam um indicador protetor, os benefícios podem não ser resultado das siias propriedades antioxidantes, mas de outros componentes. Também é possível que as taxas de vitaminas antioxidantes dos alimentos ou

suplementos estejam correlacionadas com outros comportamentos não dietéticos desconhecidos ou não medidos (HENNEKENS, 1994).

Na prevenção das doenças relacionadas aos radicais livres, observou-se que a mortalidade por câncer está inversamente relacionada ao nível de P-caroteno (DRAPER & BETTGER, 1994; GEY, 1993), ou a- mais P-caroteno e em parte, também, com os níveis de vitamina E, C e A (GEY, 1993). Moreno e colaboradores (1991) observaram que o P-caroteno tem influência inibitória na fase de iniciação do processo carcinogênico. Alimentos ou mais precisamente como sucos de cenoura e espinafre, fontes clássicas de P-caroteno e clorofila (e vitamina C) reduziram moderadamente os danos genéticos induzidos por drogas quimioterápicas (ABRAHAM et al., 1986).

1.6. Recomendações nutricionais

Estudos com humanos não têm demonstrado que a ingestão de antioxidantes prolongam a vida, mas há evidências da implicação dos RL em muitas doenças do envelhecimento (MORLEY, 1992), com possível prevenção das mesmas através da suplementação de antioxidantes (WARD, 1994).

A redução da gordura total e saturada na dieta do homem, acompanhada de alimentos vegetais, resulta em maiores quantidades de antioxidantes na dieta (SARKKINEN et al, 1993). Alguns autores recomendam em dietas muito ricas em AGP, deve ser considerado o aumento de antioxidantes, como a vitamina E (REAVEN & WITZTUM, 1996; HALLIWELL, 1996^). Porém, as recomendações de vitamina E atuais devem ser mantidas, se os AGP forem limitados em 10% da energia total (DRAPER & BETTGER, 1994).

Dietas ricas em AGM apresentam vantagens substanciais, pois diminuem o colesterol e LDL, sem baixar o HDL, e ao mesmo tempo diminuem a suscetibilidade da oxidação da LDL e, possivelmente, de todas as células. A suplementação com AGP (n-3) (óleo de peixe), que diminui os níveis de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e triglicerídeos, pode ter efeito único sobre a trombose, pressão sanguínea e inflamação. Além disso, o óleo de peixe pode reduzir a atividade pró-oxidante celular e, então, diminuir a oxidação da LDL *in vivo*. Portanto, a

dieta contendo AGS pode ser substituída pelo uso de AGM com pequena quantidade de óleo de peixe. Quantidade adequada de antioxidantes, na dieta contendo óleo de peixe, possibilita a prevenção do aumento da peroxidação lipídica (REAVEN & WITZTUM, 1996). A suplementação com vitamina E reduz a LDL, triglicerídeos e aumenta HDL em sujeitos normolipidêmicos (PAOLISSO et al., 1995), enquanto que em sujeitos hipercolesterolêmicos não há alteração do lipídio sérico, mas há diminuição significativa dos produtos de peroxidação lipídica (BIERENBAUM et al., 1992) e diminui a formação de placas, apesar de não mudar a aparência histológica da lesão aterosclerótica (PRASAD & KALRA, 1993). Além disso, uma dieta rica em AGM, comparado com AGS e AGP, também aumenta a fluidez da HDL e sua capacidade de efluxo de colesterol (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 1995). Porém, alguns autores não observam nenhuma diferença entre a dieta rica em ácido oléico e linoléico quanto ao aumento da fluidez e, portanto, do efluxo de colesterol da HDL, apesar do ácido oléico aumentar a resistência à oxidação, como se constata através da dosagem de TBARS (SOLÀ et al., 1997).

Muitas avaliações nutricionais demonstram alta expectativa de vida e um baixo risco de câncer e doença isquêmica do coração em sujeitos que têm preferência por dietas especiais, tais como ricas em vegetais (não necessariamente vegetariana restrita) e dieta do Mediterrâneo. Recomenda-se nutricionalmente a diminuição da gordura total da dieta, principalmente a gordura animal, mas com relativo aumento dos óleos vegetais ricos em ácidos monoinsaturados junto ao aumento do consumo de frutas e vegetais verde-amarelo. Uma dieta ótima pode teoricamente reduzir a incidência de câncer em 30-60% (DOLL, 1992). Ward (1994) sugere que não há motivo para desencorajar as pessoas mais velhas que desejam ingerir vitamina E e C extra, porém informa que uma dieta adequada, de frutas e vegetais, provém quantidades suficientes de β -caroteno. Os níveis plasmáticos são os indicadores mais conclusivos do nível de antioxidante do que o cálculo das taxas dietéticas, já que os níveis *in vivo* são influenciados pela biodisponibilidade de antioxidantes (depende do fornecimento pela dieta, absorção intestinal, secreção hepática e regulações metabólicas) e do requerimento individual que pode ser aumentado pelos nutrientes propensos à peroxidação, tal como os AGP, pelo estresse oxidativo, pelo ambiente (incluindo fumantes) ou por fatores do estilo de vida, isto é, exercício exaustivo e a possibilidade do estresse relacionado às catecolaminas (GEY, 1993). Alguns autores

(DIPLOCK, 1987; GEY et al., 1987) sugerem mudanças na recomendação nutricional (RDA- Recommended Dietary Allowance): aproximadamente 1 mg de vitamina A (1 RDA), 60-250 mg de vitamina C (1-4 vezes a RDA), no mínimo 60-100 UI de vitamina E (4-6 vezes a RDA) e aproximadamente 6-15 mg de P-caroteno, a fim de assegurar níveis de proteção adequados ao organismo humano. Porém, muitos estudos devem ser feitos com respeito a maior ingestão desses nutrientes, tanto com suplementação medicamentosa como alimentar, a fim de verificar as suas interferências quanto à sua biodisponibilidade e de outros nutrientes no organismo vivo.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo geral

Avaliar o(s) tipo(s) de gordura(s) comestível(is) que beneficia(m) contra o ataque dos radicais livres, proporcionando uma diminuição na taxa de doenças degenerativas.

1.7.2. Objetivos específicos

- Observar se tipos de gorduras na dieta causam diferentes graus de lipoperoxidação.
- Verificar se diferentes tipos de gorduras na dieta modificam a sensibilidade do coração ao ataque das EAO, através da perfusão com H₂O₂.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

Foram utilizados 150 ratos machos *Wistar* recém desmamados (21 dias de idade), pesando entre 40 a 50 gramas, adquiridos do biotério do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2.2. Ensaios biológicos e dietas

Metade dos animais recém desmamados foram submetidos a dieta com nível de gordura a 8g%, a outra metade a 15g%. Os ratos foram alimentados durante 42 dias, mantidos sob condições ambientais de temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, controlada por condicionador de ar, em um ciclo claro/escuro de 12/12 horas, controlado com temporizador *Timer*. Os ratos foram pesados uma vez por semana, a ração e a água foram fornecidas *ad libitum*.

2.2.1. Dietas semipurificadas com 8g% de gordura

Foram testados 3 tipos de dietas semipurificadas com 8g% de gordura, cada dieta com um tipo diferente de gordura comestível comercial:

- Grupo Cocos - dieta com gordura de coco a 8g%.
- Grupo Canola - dieta com óleo de canola a 8g%.
- Grupo Milho - dieta com óleo de milho a 8g%.

Os ingredientes das dietas com 8g% de gordura estão listados na tabela V.

Tabela V - Ingredientes das dietas semipurificadas com 8g% de gordura (g/Kg).

DIETAS	Coco8%	Canola8%	Milho8%
INGREDIEMÈS			
proteína de soja	200,0	200,0	200,0
dl-metionina	5,0	5,0	5,0
amido de milho	537,0	537,0	537,0
sacarose	100,0	100,0	100,0
celulose	10,0	10,0	10,0
mistura de sais minerais ⁽¹⁾	53,0	53,0	53,0
mistura de vitaminas ⁽¹⁾	15,0	15,0	15,0
gordura de coco	80,0	0,0	0,0
óleo de canola	0,0	80,0	0,0
óleo de milho	0,0	0,0	80,0

¹ Association Of Official Analytical Chemists (AOAC), 1984 - Tabela VII e VIII.

2.2.2. Dietas semipurificadas com 15g% de gordura

Foram testados 3 tipos de dietas semipurificadas com 15g%, cada dieta com um tipo diferente de gordura comestível comercial;

- Grupo Cocol5% - dieta com gordura de coco a 15g%.
- Grupo Canola15% - dieta com óleo de canola a 15g%.
- Grupo Milho 15% - dieta com óleo de milho a 15g%.

Os ingredientes das dietas com 15g% de gordura estão listados na tabela VI.

Tabela VI - Ingredientes das dietas semipurificadas com 15g% de gordura (g/Kg).

DIETAS	Coco 15%	Canola15%	Milho15%
INGREDIENTES			
Proteína de soja	200,0	200,0	200,0
dl-metionina	5,0	5,0	5,0
Amido de milho	467,0	467,0	467,0
Sacarose	100,0	100,0	100,0
Celulose	10,0	10,0	10,0
Mistura de sais minerais ⁽¹⁾	53,0	53,0	53,0
Mistura de vitaminas ⁽¹⁾	15,0	15,0	15,0
Gordura de coco	150,0	0,0	0,0
óleo de canola	0,0	150,0	0,0
óleo de milho	0,0	0,0	150,0

⁽¹⁾ AOAC, 1984 - Tabelas VII e Vm.

Foi utilizada proteína de soja completando-a com metionina, já que a soja apresenta como limitante este aminoácido. A proteína de soja, com níveis adequados de metionina, apresenta bons resultados de crescimento corporal, equivalentes às proteínas de alto valor biológico, como a caseína (CHIJI et al., 1990; FORSYTHE III, 1986; REID & MICKELSEN, 1963).

2.2.3. Mistura de minerais e vitaminas

A mistura de sais minerais e de vitaminas das dietas semipurificadas com 8g% ou 15g% de gordura, foi elaborada segundo a AOAC, 1984 (Tabelas VII e VIII).

Tabela VII - Mistura de sais minerais (g/ Kg de mistura)

MISTURA DE SAIS MINERAIS	g/ Kg de mistura
NaCl	139,300
KI	0,790
KH ₂ PO ₄	389,000
MgS ₀₄ anidro	57,300
CaCO _s	381,400
FeS ₀₄ .7H ₂₀	27,000
MnS ₀₄ .H ₂₀	4,010
ZnS ₀₄ -7H ₂₀	0,548
CUSO ₄ .5H ₂₀	0,477
CoCl ₂ .6H ₂₀	0,023
AOAC, 1984	

Tabela Vni - Mistura de vitaminas (mg/ g de mistura)

MISTURA DE VITAMINAS	mg/ g de mistura
vitamina A	2000 UI
viatamina D	200 UI
vitamina E	10 UI
menadiona	0,500
colina	200,000
ácido p-aminobenzóico	10,000
inositol	10,000
niacina	4,000
Pantotenato-D Ca	4,000
riboflavina	0,800
tiamina.HCl	0,500
piridoxina.HCl	0,500
ácido fólico	0,200
biotina	0,040
vitamina B12	0,003
glicose - q.s.p.	1000,000

AOAC, 1984

2.2.4. Confecção das dietas semipurificadas

As rações foram confeccionadas no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os ingredientes das rações estão listados nas tabelas V, VI, vn e vm. As rações foram elaboradas segundo a metodologia empregada pelo Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina. Os ingredientes foram misturados, exceto 100g de amido de milho por quilo de ração. O amido de milho foi suspenso em 100ml de água por quilo de ração; adicionou-se este conteúdo em 300ml por quilo de ração de água fervente, continuando o aquecimento até a formação de goma. Após o resfriamento da goma, esta foi adicionada aos outros ingredientes, misturados até a formação de uma massa homogênea. Os *pellets* foram moldados à mão e secos em estufa regulada a 40°C (DI PIETRO, 1992).

As rações foram preparadas semanalmente, armazenadas em sacos plásticos e mantidas em geladeira para minimizar o processo de oxidação lipídica, sendo as mesmas retiradas somente quando oferecidas aos animais.

2.2.5. Especificações dos ingredientes das dietas semipurificadas

Os alimentos e as substâncias químicas ou nutrientes utilizados nas dietas semipurificadas, com suas respectivas especificações (fornecedores, marcas,...) estão apresentados na tabela IX.

Tabela IX - Ingredientes utilizados nas dietas semipurificadas e suas respectivas especificações.

INGREDIENTES	ESPECIFICAÇÕES
proteína de soja	Proteimax 90 HG
dl-metionina	Delaware - referência 101.0009.01
amido de milho	Maizena - Duryea
açúcar	Doçula
celulose	Marca Blanver, produto Microcel, tipo 3E-200, lote 2003/93.
minerais	Produtos Roche - Químicos e Farmacêuticos S.A.
vitaminas	Produtos Roche - Químicos e Farmacêuticos S.A. - PREMIX Vitamínico
gordura de coco	BRASIL - refinadora de óleos Brasil Ltda.
óleo de canola	Olivebra Industrial S.A./ PURILEV
óleo de milho	Mazola

2.2.6. Análise e composição centesimal das dietas semipurificadas

A análise da composição centesimal das rações foi feita no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para a determinação da composição centesimal das dietas, utilizou-se os métodos da AOAC, 1984: umidade - método 13.002; proteína (Nx6,25) - método 27.007; extrato etéreo - método 27.006; fibra - método 28.008; cinzas - método 27.009. O conteúdo de carboidrato foi estimado através da somatória dos resultados obtidos da umidade, proteína, extrato etéreo, fibra e cinzas, subtraindo de 100, conhecido como fi-ação "nifext" (nitrogen free extract). O valor energético total (VET) foi calculado pela estimativa dos fatores de ATWATER (WELSCH,

1995); proteína = 4 Kcal/ g; lípidio (extrato etéreo) = 9 Kcal/ g; carboidrato (fração nífext) = 4 Kcal/ g, o VET foi expresso em Kcal por 100 gramas de ração.

Os resultados se encontram na tabela X e XI.

Tabela X - Composição centesimal das dietas com 8g% de gordura.

Nutrientes	Coco8%	Canola8%	Milho8%
Umidade (g%)	13,38	15,44	11,43
Proteína bruta (Nx6,25) (g%)	13,01	12,63	14,21
Extrato etéreo (g%)	6,37	5,67	6,72
Fração nífext (g%)	62,74	62,29	63,05
Fibra bruta (g%)	0,67	0,35	0,46
Cinzas (g%)	3,83	3,62	4,13
Energia (Kcal)	360,33	350,71	369,52

Tabela XI - Composição centesimal das dietas com 15g% de gordura.

Nutrientes	Coco 15%	Canolal 5%	Milho15%
Umidade (g%)	9,35	7,42	11,22
Proteína bruta (Nx6,25) (g%)	14,60	16,88	13,80
Extrato etéreo (g%)	13,03	14,93	12,69
Fração nifext (g%)	59,56	55,79	57,48
Fibra bruta (g%)	0,61	0,68	0,68
Cinzas (g%)	2,85	4,30	4,13
Energia (Kcal)	413,91	425,05	399,33

2.3. Reagentes

Para as análises fisiológicas e bioquímicas realizadas, foram utilizados os reagentes apresentados na tabela XII, onde também estão seus respectivos pesos moleculares e fornecedores.

Tabela XII - Reagentes utilizados com seus respectivos pesos moleculares e fornecedores.

REAGENTE	PESO MOLECULAR	FORNECEDOR
NaCl	58,45	Reagen
MgCl ₂ .6H ₂ O	203,30	Reagen
KCl	74,50	Reagen
Na ₂ S ₀₄	142,00	Reagen
NaH ₂ P ₀₄ .H ₂ O	138,00	Reagen
NaHC ₀₃	84,00	Reagen
CaCl ₂ .2H ₂ O	147,00	Reagen
Glicose	180,20	Reagen
H ₂ O ₂ (solução a 30%)	34,00	Merk
Carbogênio (95% O ₂ /5%C ₀₂)		White Martins
C ₂ HCl ₃ O ₂ (ácido tricloroacético-TCA)	163,39	Vetec
4,6-didroxi-pirimidina-2 tior (ácido tiobarbitúrico-TBA)	144,10	Sigma
CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ OH (álcool n-butílico)	74,12	Synth
Na ₂ HP ₀₄ .7H ₂ O	268,07	Reagen
Hidroperóxido de tert-butil (t-BOOH) (solução a 70%)	90,12	Sigma
NaOH	40,00	Vetec

CUSO ₄ .5H ₂ O	249,68	Merk
C ₄ H ₄ O ₆ KNa.4H ₂ O (Tartarato de sódio e potássio)	282,23	Merk
Reagente de Folin		Fator 1
Albumina bovina	Fração V, pH 7,0	Serva
Clorofórmio	Grau cromatográfico	Merk
Metanol	Grau cromatográfico	Merk
Ácido sulfúrico	Grau cromatográfico	Merk
Clorido de amônia	Grau cromatográfico	Merk
Hexano	Grau cromatográfico	Merk

2.4. Soluções

As várias soluções utilizadas neste trabalho estão descritas a seguir.

2.4.1. Tyrode

A solução de Tyrode, utilizada para perfusão do coração isolado de rato, apresentava a seguinte composição, em mM: NaCl 120; MgCl₂.6H₂O 1,8; KCl 5,4; Na₂S₀₄ 1,8; NaH₂P₀₄.H₂O 2; NaHCO_s 27; CaCl₂.2H₂O 1,25 e glicose 11,1.

Foram preparadas três “soluções-mãe”; uma contendo NaCl, MgCl₂ e KCl, denominada “Cloretos”, outra contendo Na₂S₀₄; NaH₂P₀₄.H₂O e NaHCO_s, denominada “Sódios” e outra contendo CaCl₂, denominada “Cálcio”. As soluções-mãe eram preparadas com uma concentração 20 vezes maior, ou seja, a partir delas, podiam ser preparados 20 litros de Tyrode. Para cada litro de solução-mãe pesava-se as seguintes quantidades em gramas de reagentes;

* Solução-mãe “Cloretos”: NaCl 140,4, MgCl₂.6H₂O 4,07; KCl 8,05.

* Solução-mãe “Sódios”: Na₂SO₄ 5,11; NaH₂PO₄.H₂O 5,52; NaHCO₃ 5,36.

* Solução-mãe “Cálcio”: CaCl₂.2H₂O 14,7.

Para preparar um litro de Tyrode era necessário misturar 50 mL de “Cloretos”, 50 mL de “Sódios”, 12,5 mL de ‘Cálcio, 2 gramas de glicose e completar com água destilada.

As “soluções-mãe” eram armazenadas a uma temperatura de 0 a +4°C e o Tyrode foi preparado minutos antes de ser utilizado para a perfusão do coração.

O Tyrode foi aerado com carbogênio (95% de oxigênio e 5% de gás carbônico) por 10 minutos aproximadamente, para acidificar a solução, a fim de ajustar o pH em 7,4. O pH foi medido com um instrumento digital (Digimed, modelo DMPH - 2). A solução foi aerada com carbogênio, durante todo o experimento, para mantê-la oxigenada.

2.4.2. Tyrode com H₂O₂

A solução Tyrode com H₂O₂ foi obtida acrescentando-se ao Tyrode a quantidade necessária de H₂O₂ (solução a 30%) para obter-se a concentração final de 1mM. Foi escolhida a concentração de 1mM, pois esta produz praticamente os mesmos efeitos que antes só era obtido com concentrações de 128mM ou mais, quando perfundido à pressão constante (BRUNETTO, 1995).

Para tanto, era adicionado um volume de 113µL da solução de H₂O₂ a 30% para cada litro de Tyrode.

2.4.3. Soluções - Tampão

Foram utilizadas 2 soluções “tampão”, cujas composições estão descritas abaixo:

* Tampão KCl 1,15%: 11,5 gramas de KCl e água destilada q.s.p. para 1L.

* **Tampão 20 mM de [fosfato] e 140 mM de [KCl] - pH = 7,4:** 19 mL de solução A

+ 81 mL de solução B + 10,43 gramas de KCl + água destilada q.s.p. para 1 L.

- solução A; [NaH₂P0₄.H₂O] a 200mM.

- solução B: [Na₂HP0₄.7H₂O] a 200mM.

2.4.4. Soluções “estoque”

* **Solução de ácido tricloroacético (TCA) a 10%:** 10 gramas de TCA + água destilada

q.s.p. para 100 mL

* **Solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,67%:** 0,67 grama de TBA + água destilada

q.s.p. para 100 mL.

* **Solução de hidroperóxido de te/t-butil (í-BOOH:) [í-BOOH] a 400 mM.**

2.4.5. Soluções para dosagem de proteínas

* **Reativo A:** NaHCO₃ a 2% em NaOH 0,1N.

* **Reativo Bi:** CUSO₄.5H₂O a 1%.

* **Reativo B2:** C₄H₄O₆KNa.4H₂O a 2%.

* **Reativo C:** 50 mL de **Reativo A** + 0,5 mL do **Reativo Bi** + 0,5 mL do **Reativo B2**.

* **Reagente de Folin:** diluído a 1/3 em água destilada.

* **Solução de albumina bovina:** 1 mg de albumina por ml de água destilada.

2.4.6. Soluções para dosagem de AG

* **Solução de clorofórmio-metanol 2:1 (v/v):** 20 mL de clorofórmio + 10 mL de

metanol (MeOH).

* Solução de KCl 0,88%; 0,88 grama de KCl + H₂O destilada q.s.p. para 100 mL.

* Solução de NaOH 0,5N metanólico: 20 grama de NaOH + MeOH q.s.p. 1 L.

* Solução de MeOH-H₂O 1:1 (v/v): 10 mL de MeOH +10 mL de H₂O.

* Solução de NaHCO₃ saturado: q.s.p. de NaHCO₃ que sature a H₂O.

* Mistura para esterificação: 16 gramas de cloreto de amónia + 480 mL de MeOH + 24 mL de H₂SO₄ concentrado. Utiliza-se balão de fundo redondo de 1 L. Mistura-se o cloreto de amónia com MeOH no balão. Acrescenta-se cuidadosamente o H₂SO₄ (gotejando) para evitar o super aquecimento, colocando no banho de gelo. Utiliza-se pérolas de vidro dentro do balão para evitar o aumento da ebulição. Após acrescentar o H₂SO₄, tira-se o balão do gelo e coloca-se na manta aquecida até que ocorra completa dissolução do cloreto de amónia. Deve-se acoplar ao balão o condensador de refluxo com entrada e saída de H₂O. Esta mistura é refluída por 15 minutos, usando-se água no condensador.

2.5. Grupos experimentais

O trabalho compõe-se de 2 ensaios biológicos, cada qual com um nível diferente de gordura na dieta, mn a 8g% e o outro a 15g%. Para cada ensaio biológico foram testados 3 tipos de gordura: coco, canola e milho.

Estabeleceram-se, com respeito ao tratamento, 3 grupos experimentais para cada nível de gordura na dieta:

*Dieta a 8g%: Coco8%, Canola8% e Milho8%.

*Dieta a 15g%: Cocol5%, Canolal5% e Milhol5%.

Os corações foram perfundidos com uma solução de Tyrode, no caso dos grupos sem H₂O₂ e xuna solução de Tyrode acrescido de H₂O₂ (concentração fmal de 1 mM), no caso dos grupos com H₂O₂.

Estabeleceram-se, com respeito à perfusão cardíaca, 6 grupos experimentais para cada nível de gordura na dieta;

***Dieta a 8g%:** CocoSyos/HjOz, Coco8%/H2O2, Canola8%/H2O2, Canola8%/H2O2, Milho8%/H2O2 e Milho8%/H2O2.

***Dieta a 15g%:** Cocol5%/H2O2, Cocol5%/H2O2, Canolal5%/H2O2, Canolal5%/H2O2, Milhol5%/H2O2 e Milho 15%/H2O2-

Os grupos Coco8%/H2O2, Coco8%/H2O2, Canola8%/H2O2, Canola8%/H2O2, Milho8%/H2O2 e Milho8%/H2O2 são referentes ao tratamento dietético com um nível de 8g% de gordura na dieta por imi período de 42 dias.

Os corações dos grupos sem H2O2 (Coco8%/H2O2, Canola8%/H2O2 e Milho8%/H2O2) foram perfimdididos por 20 minutos com Tyrode.

Os corações dos grupos com H2O2 (Coco8%/H2O2, Canola8%/H2O2 e Milho8%/H2O2) foram perfimdididos por 10 minutos com Tyrode e, após esse período, os corações recebiam uma solução de Tyrode acrescido de H2O2 a 1 mM, por mais um período de 10 minutos.

Os corações dos grupos Coco8%/H2O2 e Coco8%/H2O2 são referentes aos animais alimentados com gordura de coco a 8g%; Canola8%/H2O2 e Canola8%/H2O2 com óleo de canola a 8g% e; Milho8%/H2O2 e Milho8%/H2O2 com óleo de milho a 8g%.

Os grupos Cocol5% /H2O2, Cocol5%/H2O2, Canolal5%/H2O2, Canolal5%/H2O2, Milhol5%/H2O2 e Milho 15%/H2O2 são referentes ao tratamento dietético com um nível de 15g% de gordura na dieta por um período de 42 dias.

Os corações dos grupos sem H2O2 (Cocol5%/H2O2, Canolal 5%/H2O2 e Milho 15%/H2O2) foram perfimdididos por 20 minutos com Tyrode.

Os corações dos grupos com H2O2 (Cocol5%/H2O2, Canolal 5 %/H2O2 e Milho 15%/H2O2) foram perfundidos por 10 minutos com Tyrode e, após esse período, os

corações recebiam uma solução de Tyrode acrescido de H₂O₂ a 1 mM, por mais um período de 10 minutos.

Os corações dos grupos Cocol5%_s/H₂O₂ e Cocol5%_c/H₂O₂ são referentes aos animais alimentados com gordura de coco a 15g%; Canolal5%_s/H₂O₂ e Canola 15%_c/H₂O₂ com óleo de canola a 15g% e; Milho 15%_s/H₂O₂ e Milho 15%_c/H₂O₂ com óleo de milho a 15g%.

2.6. Perfusão cardíaca

2.6.1. Aparelho de perfusão

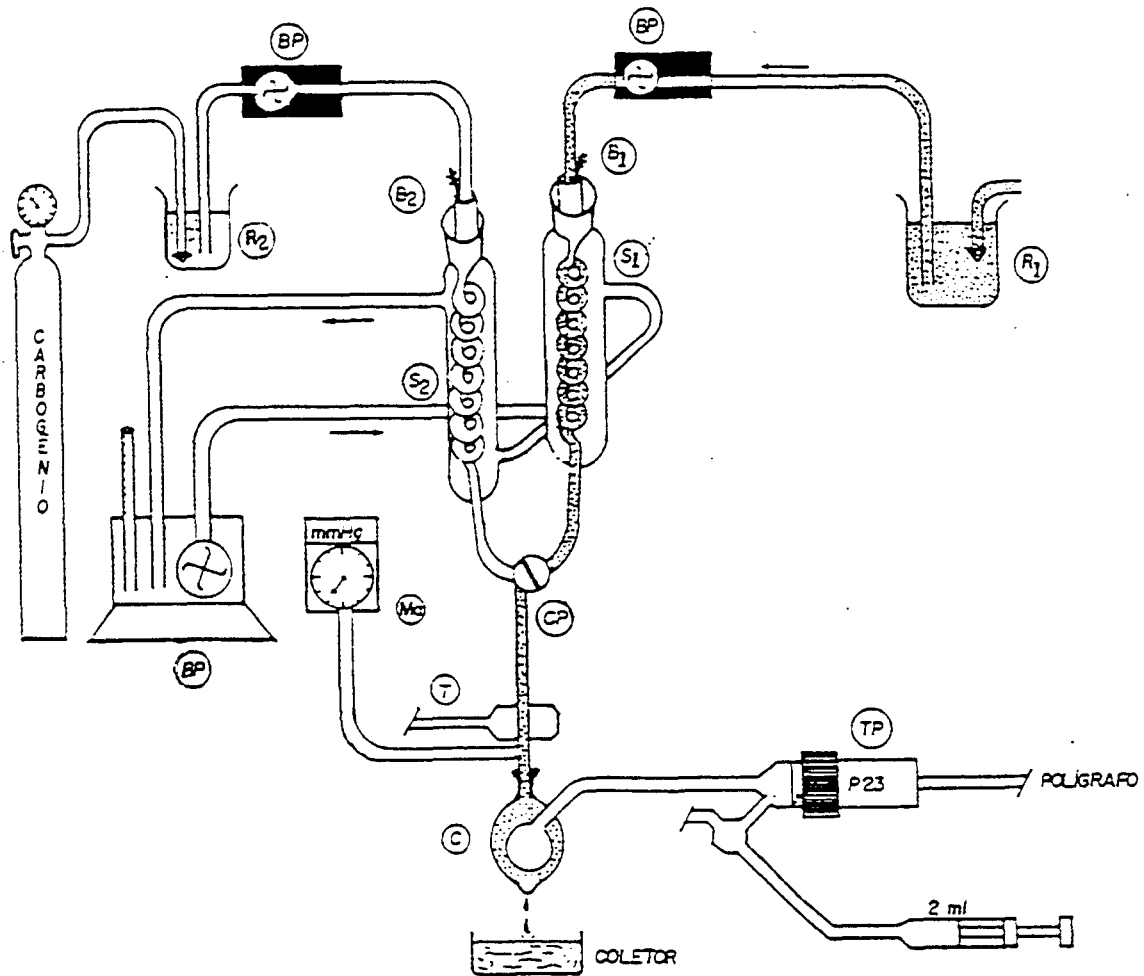
A perfusão do coração isolado de rato foi feita utilizando-se o método de Langendorff (LANGENDORFF, 1895).

O aparelho perfusor foi construído no laboratório de Fisiologia Cardiovascular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O esquema do aparelho perfusor (Figura VI) e a descrição do processo de perfusão encontra-se a seguir.

Antes do início de uma série de experimentos, os dois reservatórios do aparelho perfusor (Figura VI) foram preenchidos com uma solução perfusora em cada um deles, conforme o grupo experimental (sem ou com H₂O₂) em andamento. As bolhas foram retiradas através dos tubos laterais (BI e B2 - Figura VI). Nos reservatórios, as soluções perfusoras foram constantemente aeradas com carbogênio (95% de O₂ e 5% de CO₂) (Figura VI). Após, cada solução percorria uma serpentina (SI e S2 - Figura VI), onde foi aquecida pela circulação de água quente ao seu redor, através de uma bomba com termômetro digital (T - Figura VI), colocada próximo à cânula de perfusão (CP - Figura VI) (BRUNETTO, 1995).

Todos os experimentos envolvendo perfusão foram realizados a 31°C.

Cabe salientar que, embora os dois reservatórios (RI e R2 - Figura VI) estivessem ocupados, a perfusão foi feita com uma única solução perfusora de cada vez. A solução perfusora foi bombeada por uma bomba peristáltica (BP - Figura VI) regulada para manter o volume de perfusão constante em 10 ml/min (BRUNETTO, 1995).



- RI e R2 iReservatórios;
 B1e B2 ;Tubos laterais para a retirada de bolhas do circuito;
 BP :Bomba peristáltica (Haake FE Circulators);
 C : Coração;
 CP : Cânula de perfusão;
 Ma :Manmetro aneróide;
 S1 e S2 '.Serpentina;
 T : Termmetro digital;
 TP .Transdutor de pressão.

Figura VI - Esquema geral do aparelho de perfusão (LANGENDORFF, 1895).

A perfusão das artérias coronárias através da aorta faz com que a solução perfusora saia principalmente pelo seio venoso coronariano, situado no átrio direito, próximo à desembocadura da veia cava inferior. Assim, a solução pode refluir pelas veias cavas ou passar para o ventrículo direito e ser expulsa através da artéria pulmonar. Parte da solução pode sair pelas veias de Tebésio, de ambos os ventrículos. O líquido proveniente das veias de Tebésio penetram no ventrículo esquerdo. Para que este líquido não se acimiule é necessário a abertura de um orifício no ápice ventricular com vmi trocarte, antes da introdução do *balonete* (pequeno balão de borracha). Todo o líquido expulso do coração, geralmente, escorre pelas paredes cardíacas externas, umedecendo o mesmo. Os devidos cuidados foram tomados para que a cânula de perfusão não ultrapassasse a válvula aórtica, evitando a penetração da mesma no ventrículo esquerdo. No aparelho de perfusão empregado, quando a cânula ultrapassava a válvula aórtica, a pressão observada no manômetro aneróide (Ma - Figura VI), tomava-se pulsátil e os corações eram desprezados (BRUNETTO, 1995).

2.6.2. Seqüência experimental da perfusão cardíaca

Antes de iniciar a perfusão cardíaca, foi feito um registro de calibração a partir de um manômetro de mercúrio, conectado ao transdutor de pressão (TP - Figura VI). Após este procedimento, os ratos foram pesados e sacrificados com irnia “pancada na cabeça”. O tórax foi aberto, o coração e o fígado foram removidos e imersos em solução de Tyrode (descrito no item 2.4.1.) à temperatura ambiente. Imediatamente, a aorta era fixada à cânula do aparelho de perfusão. Utilizava-se o Tyrode para todos os grupos experimentais nos 10 primeiros minutos de perfusão, chamado “período controle”. Logo após o início da perfusão, era feita uma abertura no átrio esquerdo, por onde se introduzia um trocarte passando pela válvula atrioventricular, perfurando o ápice do ventrículo esquerdo. Logo após, um *balonete* vazio, era introduzido pelo átrio, indo até o ventrículo esquerdo. Este *balonete* era ligado a um transdutor de pressão (TP - Figura VI) por um tubo de polietileno preenchido totalmente com água destilada. A pressão no balonete era ajustada próxima de 0 (zero) mmHg no final da diástole. Cabe salientar que quando a pressão no balonete ficava ligeiramente superior a 0 mmHg, sempre foi descontada para efeito de cálculo. Durante o ajuste da pressão no final da diástole, o *balonete* não recebia mais do que 300 μ L de H₂O destilada (BRUNETTO, 1995).

Após os 10 minutos do “período controle”, os grupos eram submetidos a uma perfusão de mais 10 minutos, a qual denominou-se “período experimental”. No “período experimental”, os corações dos grupos sem H₂O₂ continuavam sendo perfundidos com Tyrode (descritos no item 2.4.1.), enquanto os corações dos grupos com H₂O₂ o Tyrode era trocado rapidamente pela solução de Tyrode com H₂O₂ (descrito no item 2.4.2.).

Durante o experimento, a atividade mecânica do coração era registrada em um polígrafo (Physiograph, Narco Biosystems, Houston, Texas) (Figura VI).

Ao final da perfusão (totalizando 20 minutos), os corações eram retirados do aparelho perfusor, limpos, secos em papel filtro, pesados e congelados em nitrogênio líquido.

O fígado era lavado com Tyrode (descrito no item 2.4.1.) 5 vezes, era seco em papel filtro, pesado e congelado em nitrogênio líquido.

2.6.3. Fenômenos contráteis estudados

Antes de cada registro era feita a calibração. Os parâmetros referentes à atividade contrátil do ventrículo esquerdo estudados neste trabalho foram os seguintes:

2.6.3.1. Contratura ventricular esquerda

Para calcular a contratura ventricular esquerda é necessário conhecer o que significa a pressão sistólica (PS) e pressão diastólica (PD).

A PS é a pressão máxima alcançada na sístole. Neste trabalho, foi medida a partir do registro em papel, utilizando-se um paquímetro. A PS do período controle (PS controle) foi medida ao final do nono minuto e serviu de base para diversos cálculos, que serão descritos mais a frente. A PS do período experimental (PS experimental) foi medida ao final de cada dois minutos do período experimental (BRUNETTO, 1995).

A PD é a pressão registrada ao final da diástole e corresponde ao ponto de maior relaxamento do ventrículo esquerdo. A PD do período controle (PD controle) foi considerada a linha de base, numericamente igual a zero. Isto foi feito porque em alguns casos, durante o

enchimento do balonete, a PD do período controle ficava um pouco superior a zero (nunca maior que 5 mmHg em relação a calibração). A PD do período experimental (PD experimental) foi medida ao final de cada dois minutos do período experimental, sempre a partir da linha de base (BRUNETTO, 1995).

A contratatura ventricular esquerda é o aumento da PD do ventrículo esquerdo no período experimental em relação ao período controle, ou seja, a falta de relaxamento do ventrículo esquerdo (BRUNETTO, 1995).

Para o cálculo da contratatura ventricular esquerda, foi considerada a PD controle (numericamente igual a zero). A partir desta linha de base (PD controle) foi medida a variação da PD a cada dois minutos do experimento. Esta medida da variação foi expressa percentualmente em relação a PS do período controle (BRUNETTO, 1995).

$$\text{Contratatura (\%)} = (\text{PD experimental} / \text{PS controle}) \times 100$$

2.6.3.2. Frequência cardíaca (FC)

A frequência cardíaca (FC) dos corações perfundidos neste trabalho originou-se da atividade intrínseca do marcapasso cardíaco. A FC propriamente dita, foi obtida a partir da contagem das sístoles a cada dois minutos do período experimental (FC experimental). No período controle a FC foi contada entre 9 e 10 minutos de perfusão (FC controle) (BRUNETTO, 1995).

$$\text{FC (\%)} = (\text{FC experimental} / \text{FC controle}) \times 100$$

2.6.3.3. Diferença de pressão do ventrículo esquerdo (AP)

A diferença de pressão do ventrículo esquerdo (AP) indica sua capacidade de gerar pressão, sobre o balonete, a cada batimento cardíaco. Os cálculos da AP foram realizados a cada dois minutos do experimento. A AP foi calculada a partir da diferença entre a pressão sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo (BRUNETTO, 1995).

$$\text{AP (\%)} = (\%PS - \%PD)$$

2.7. Métodos bioquímicos

Foram realizados quatro tipos de análises bioquímicas; o perfil de AG, medidas de LPO (TBARS e quimiluminescência - QL) e proteína (Prot.). Para a análise do TBARS, QL e Prot. foi preparado o que se chamou de homogeneizado.

2.7.1. Preparo do homogeneizado

Os corações que foram submetidos à perfusão cardíaca e os fígados que foram lavados em Tyrode até 5 vezes, congelados em nitrogênio líquido, eram descongelados até 24 horas após. Em seguida, os tecidos eram picados com uma tesoura e homogeneizados (Potter-Elvehjem) numa solução de KCl 1,15% (descritos no item 2.4.3.), numa proporção de 1 ; 5 (gramas ; mililitro) e 1 ; 9 (gramas ; mililitro) para coração e fígado respectivamente, durante 30 segundos. Durante todos os procedimentos, os tecidos foram mantidos entre 0-4°C. Estes homogeneizados eram centrifugados à temperatura de 0 a +4°C (centrífuga refrigerada - Sorvall RC 5B - Rotor SM 24) por 10 minutos a 1000g (LLESLÍY et al., 1985). O precipitado era desprezado e o sobrenadante utilizado para as medidas de LPO e proteína. Os homogeneizados reservados para medir a concentração proteica, eram armazenados a -78°C por no máximo 30 dias. A medida de LPO era efetuada no mesmo dia da elaboração dos homogeneizados.

2.7.2. Ácidos graxos (AG)

Os AG foram medidos no Laboratório de Lípidos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

A análise dos AG baseou-se em duas etapas; a obtenção da fração lípidos (FOLCH et al., 1957) e dos ésteres metílicos de AG (HARTMAN & LAGO, 1973).

A primeira etapa da análise, isolamento e purificação dos lípidos totais, procedeu-se através da homogeneização de 1 grama de amostra triturada com clorofórmio e metanol (2;1 v/v) por 5 minutos. Após homogeneização, foi feita a filtração sob vácuo em fimil de Buchner acoplado a imi frasco de Kitassato. O resíduo retido no filtro foi re-homogeneizado com clorofórmio e metanol (2;1 v/v) durante 1 minuto.

O filtrado foi recolhido em proveta com tampa esmerilhada, medido o volume e adicionado $\frac{1}{10}$ volume do filtrado de solução aquosa de KCl 0,88%. Foi realizada agitação manual e deixou-se em repouso por alguns minutos até a formação de duas fases, desprezando-se por aspiração a fase superior com auxílio de uma pipeta Pasteur. Adicionou-se à fase inferior imia mistura de metanol e H₂O (1:1 v/v) e foi feita agitação manual novamente. Formaram-se novamente, duas fases e a fase superior foi desprezada por aspiração. O restante foi novamente filtrado com sulfato de sódio anidro, para a purificação completa da amostra. O filtrado foi evaporado em rota-evaporador na temperatura de 40°C. A fração lipídica foi ressuspensa em 5 ml de clorofórmio, transferida para vidro âmbar sob atmosfera de nitrogênio e armazenada a - 20°C, até a fase de preparação dos ésteres metílicos de AG para a análise cromatográfica (FOLCH et al., 1957).

A preparação dos ésteres metílicos para a análise em cromatografia gasosa foi feita tomando-se uma alíquota de solução lipídica de 2 ml, a qual foi transferida para um tubo com tampa esmerilhada, e o solvente evaporado a vácuo a temperatura de 35-37°C. Adicionou-se 2 ml de uma solução de NaOH 0,5N metanólico e a mistura aquecida em banho-maria fervente por 5 minutos. Após este processo, adicionou-se 6 ml de uma mistura para esterificação (descrito no item 2.4.6.), sendo novamente aquecida por mais 3 minutos em banho-maria fervente. Deixou-se esfriar e adicionou-se 5 ml de água fna, agitando no agitador de tubos por 1 minuto. Os ésteres metílicos foram extraídos com 3 porções sucessivas de 2 ml de hexano, transferindo a fase orgânica (superior) para outro tubo com auxílio de uma pipeta Pasteur. A essa fase orgânica foi adicionada 5 ml de solução de NaHCO₃ saturada, agitou-se por 1 minuto, transferindo a fase orgânica para outro tubo, para posterior evaporação do solvente no rota-evaporador com banho-maria a uma temperatura de aproximadamente de 40°C. Os ésteres metílicos obtidos foram ressuspensos em 1 ml de hexano. Essa solução foi injetada no cromatógrafo (HARTMAN & LAGO, 1973).

A composição dos AG foi analisada por cromatografia gás liquido (CGL), nas seguintes condições de análise: cromatógrafo a gás modelo CG-500, equipado com detector de ionização de chama, coluna capilar de sílica fundida, contendo polietileno ghcol (Carbowax 20 m), 30 m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e integrador processador CG 300. As condições

cromatográficas foram as seguintes: temperatura da coluna isotérmica a 230°C, temperatura do vaporizador de 240°C e temperatura do detector de 250°C, gás de arraste, hidrogênio com fluxo de 1 ml/minuto. A identificação dos AG das amostras foi feita pela comparação dos tempos de retenção de ésteres metílicos dos AG das amostras e de padrões conhecidos (Sigma), e os níveis de AG foram calculados como percentual do total de AG.

O índice de insaturação é resultado da soma dos valores obtidos através da multiplicação do número de duplas ligações pelo percentual da composição de cada AG individual (JAESCHKE et al., 1987).

2.7.3. Teste do TBARS

A técnica do TBARS consiste em aquecer o material biológico a ser testado na presença do ácido tiobarbitúrico (TBA), sob condições ácidas, e medir a formação de um produto de cor rosa, espectrofotometricamente (BUEGE & AUST, 1978).

Para obtenção do TBARS no homogeneizado, colocou-se 0,5 ml deste homogeneizado em 1,5 ml de TCA a 10% (descrito no item 2.4.4.); 1,0 ml de TBA a 0,67% (descrito no item 2.4.4.) e 0,5 ml de água destilada. Agitava-se por 10 segundos cada tubo e, em seguida, todos foram incubados a 100°C por 15 minutos (banho-maria). Após a fervura, os tubos foram resfriados em gelo e cada um recebeu 3 ml de álcool n-butílico. Os tubos foram agitados fortemente por 40 segundos e logo após centrifugados por 10 minutos a 2500 rpm, à temperatura ambiente. O precipitado foi desprezado e o sobrenadante colocado na cubeta do espectrofotômetro para a leitura em 535 nm. Esse procedimento é normalmente denominado leitura na fase butanólica.

A concentração de TBA-RS nos homogeneizados foi expressa em nmol por mg de proteína, utilizando um coeficiente de extinção = $156 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

2.7.4. Quimiluminescência iniciada por hidroperóxido de tórt-butil (QL- í-BOOH)

O método consiste em adicionar nm hidroperóxido orgânico de origem sintética, o *t*-BOOH ao homogeneizado do tecido em estudo. Avalia-se a capacidade de resposta, mediante a determinação da QL produzida pela amostra (LLESLHF et al., 1990).

A QL foi medida em um contador beta (LKB Rack Beta Liquid Scintillation Spectrometer-1215; LKB Produkter AB, Bromma, Sweden) com circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trltio. Os homogeneizados de tecido foram colocados em viais de vidro de 25 mm de diâmetro por 50 mm de altura. Para evitar a fosforescência dos viais, ativada pela iluminação do ambiente, eram conservados no escuro até o momento de seu uso. As determinações também eram realizadas em sala escura.

O protocolo experimental usado para QL foi o seguinte: colocava-se 3,5 mL de tampão 20 mM de [fosfato], 140 mM de [KCl], pH = 7,4 (descrito no item 2.4.3.) acrescido de 500 μ L de homogeneizado (concentração final de proteína mínima de 1 mg/mL). Adicionou-se 30 μ L de solução de í-BOOH (descrito no item 2.4.4.), obtendo uma concentração final de í-BOOH no vial de 3mM. Os resultados foram expressos em contas por segundo (cps) por miligrama de proteína (mg/prot.) (BOVERIS et al., 1985; GONZALEZ-FLECHA et al., 1991).

2.7.5. Dosagem de proteínas

A concentração de proteínas nos homogeneizados de fígado e coração foi determinada através do método de Lowry et al. (1951).

O padrão utilizado foi uma solução de albumina bovina na concentração de 1 mg/mL (descrito no item 2.4.5.), utilizaram-se volumes de 50, 100 e 150 μ L a fim de obter um fator de correção.

As dosagens foram realizadas em duplicata. Colocava-se uma alíquota de 20 μ L do homogeneizado em 0,8 mL de água destilada, acrescidos de 2 mL do reativo C (descrito no item 2.4.5.) preparado “a fresco”. Aguardava-se 10 minutos e, após este período, colocava-se 0,2 mL

do reagente de Folin a 1/3 (descrito no item 2.4.5.). Após 30 minutos, desenvolvia-se cor azul, quantificada espectrofotometricamente a 625 nm.

Os dados das amostras eram multiplicados pelo fator de correção, obtendo-se a quantidade de proteína por volume de homogeneizado (mg prot./ml)

2.8. Apresentação dos dados

Os dados mostrados no item “Resultados” estão dispostos em tabelas e figuras numeradas com algarismos arábicos. As figuras apresentadas nos outros itens recebem numeração com algarismos romanos. No item “Resultados”, para cada parâmetro estudado, há figuras e/ou tabelas com a mesma numeração arábica. Quando há mais de uma figura e/ou tabela para um determinado parâmetro, recebem letras (8A, 8B, 18A, 18B, etc.).

2.9. Análise estatística

Os resultados estão expressos pela média aritmética ou média aritmética \pm erro padrão da média (EPM), quer sejam valores absolutos ou diferenças percentuais.

Em relação ao peso corporal, peso dos órgãos, análises bioquímicas do fígado e análises de AG do coração, a comparação entre os três grupos experimentais (coco, canola e milho), nos níveis de 8g% e 15g%, foi feita através da análise de variância (ANOVA) e do teste de Student-Newman-Keuls para dados não pareados. As diferenças significativas foram representadas através de letras; valores com letras diferentes apresentam diferenças estatísticas significativas. Os dados foram considerados significativamente diferentes a partir de $p < 0,05$. O programa computacional utilizado para esta análise estatística foi o “Primer of Biostatistics”.

A análise estatística dos corações de ratos que foram submetidos também as três dietas experimentais (coco, canola e milho) e posteriormente perfimdidos com ou sem H₂O₂, foi feita através da Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2) e Teste de Diferença Honestamente Significativa (DHS) ou Teste de Diferença Mínima Significativa (DMS) de Tukey para n de tamanhos diferentes. Os dados foram considerados significativamente diferentes a partir de $p <$

0,05. As barras verticais nas tabelas e as horizontais nas figuras indicam equivalência estatística. O programa computacional utilizado para esta análise estatística foi o “Statistic 6.0” .

Os gráficos mostrados nas figuras foram feitos com o auxílio do programa Microsoft Excel 97.

3. RESULTADOS

Os resultados são apresentados em duas partes. Na primeira parte estão os resultados referentes aos grupos alimentados com dieta a 8g% de gordura (3.1) e, na segunda, os grupos alimentados com dieta a 15g% de gordura (3.2). A apresentação de ambas as partes obedece à seguinte ordem:

- 1) Valores do peso corporal, peso do fígado, peso do coração e níveis de ácidos graxos (AG) do fígado e do coração (3.1.1 e 3.2.1);
- 2) Valores de lipoperoxidação (LPO) (medida através do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e quimiluminescência iniciada por hidroperóxido de t-butil (QL- *t*-BOOH) do fígado (3.1.2 e 3.2.2);
- 3) Medidas de contratatura e LPO (medida através do teste de TBARS e QL iniciada por *i*-BOOH) de corações perfundidos sem e com H₂O₂ (3.1.3 e 3.2.3);
- 4) Dados relativos à frequência cardíaca (FC) de corações perfundidos sem e com H₂O₂ (3.1.4 e 3.2.4);
- 5) Dados relativos à diferença de pressão do ventrículo esquerdo (AP) de corações perfundidos sem e com H₂O₂ (3.1.5 e 3.2.5);

3.1. Valores dos parâmetros estudados após tratamento com dietas a 8g% de gordura.

3.1.1. Efeito das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g%, no peso corporal, peso do fígado, peso do coração e no perfil de AG do fígado e coração.

No trigésimo quinto dia e no quadragésimo segundo do ensaio biológico, o grupo alimentado com gordura de coco apresentou menor peso corporal do que os grupos alimentados com óleos de canola e milho. O ganho de peso corporal foi significativamente menor no grupo alimentado com gordura de coco, quando comparado aos grupos canola e milho. Os grupos alimentados com óleos de canola e milho apresentaram igualdade estatística quanto ao peso corporal final e ganho de peso corporal (Figura 1, Tabela 1A).

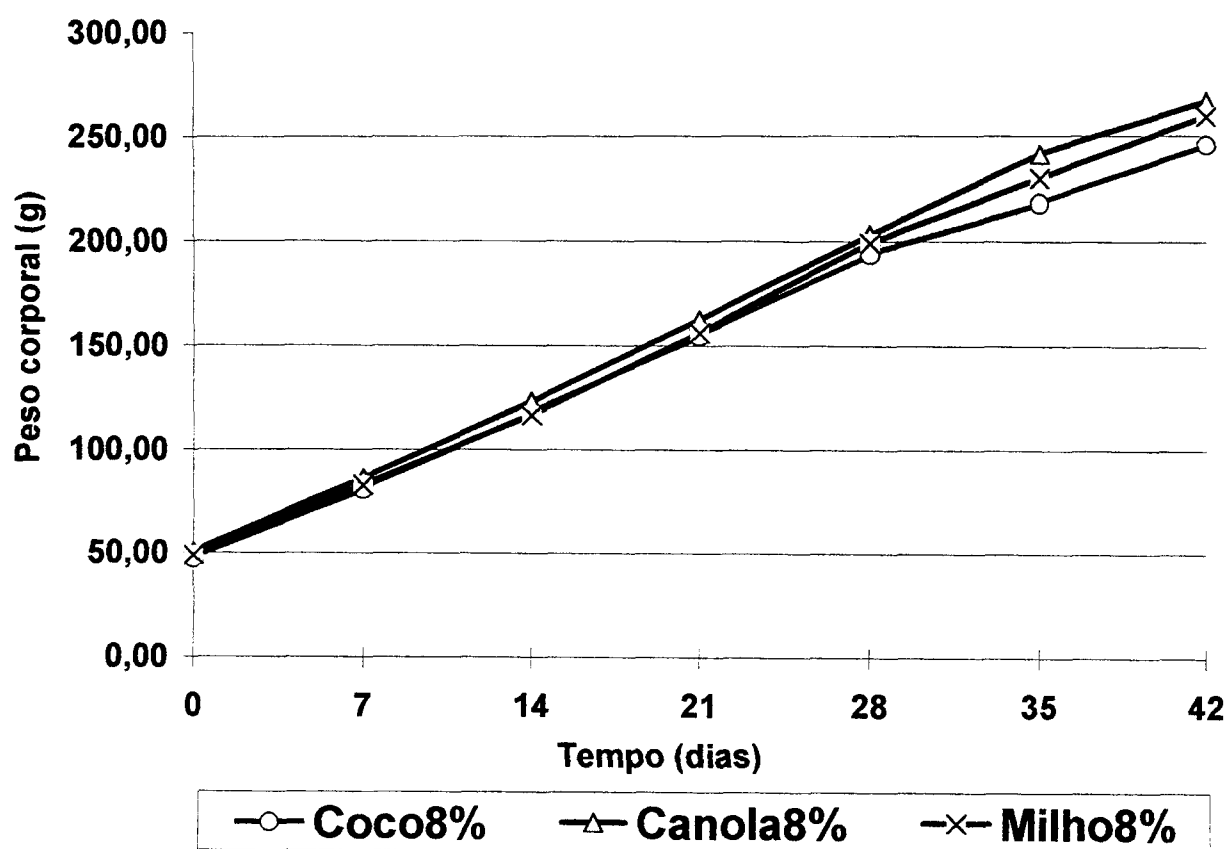


Figura 1 - Curva de peso corporal de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias de experimento. Os valores estão expressos com média. Grupo Coco8%; n= 25; grupo Canola8%; n= 25; grupo Milho8%; n= 25.

Tabela IA - Peso corporal de rtos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	Grupos experimentais		
	Coco8% (n=25)	Canola8% (n=25)	Milho8% (n=25)
Peso inicial	47,56 ± 0,86 [“]	50,56 ± 1,07 [“]	49,15 ± 1,63 [“]
7^ dia	80,82 ± 1,28 [“]	86,06 ± 1,52 [“]	82,84 ± 1,98 [“]
14º dia	117,54 ± 1,54 [“]	123,20 ± 2,59 [“]	116,57 ± 1,59 [“]
21"dia	154,80 ± 2,52 [“]	162,56 ± 2,90 [“]	156,46 ± 2,30 [“]
28^ dia	194,09 ± 2,62 [“]	202,94 ± 3,52 [“]	199,34 ± 3,03 [“]
35º dia	217,85 ± 3,63 [“]	241,11 ± 3,92 ^{*’}	229,56 ± 3,85 [’]
42^ dia	245,57 ± 3,59 [“]	266,51 ± 4,23 ^{*’}	259,39 ± 4,48 [”]
Ganho de peso(42 dias)	198,01 ± 3,22 [“]	215,95 ± 4,03 [”]	210,24 ± 4,40 [”]

^{a,b,c}Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

O peso do fígado e a relação entre o peso do fígado com o peso corporal foi significativamente maior no grupo alimentado com óleo de canola, quando comparado aos grupos coco e milho. Os grupos alimentados com gordura de coco e óleo de milho não apresentaram diferenças significativas quanto ao peso do fígado e relação entre o peso do fígado com o peso corporal. As dietas não alteraram o peso do coração (Tabela IB).

Tabela IB - Peso dos fígados e corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Peso dos rgos	Grupos experimentais		
	Coco8%	Canola8%	Milho8%
Fígado	9,90 ± 0,20(n=19) [“]	11,53±0,28(n=15) ^{*’}	10,21 ± 0,26(n=18) [“]
Fígado/peso corporal(x 1000)	40,42 ± 0,55(n=19) [“]	42,78 ± 0,58 (n=15) [”]	39,17 ± 3,51(n=18) [“]
Coraco	1,25 ± 0,04(n=20) [“]	1,36 ± 0,04(n=20) [“]	1,25 ± 0,03(n=19) [“]
Coraco/peso corporal(x 1000)	5,15 ± 0,19(n=20) [“]	5,04 ± 0,17(n=20) [“]	4,85 ± 0,13(n=19) [“]

^{“*’”}Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (?<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

O grupo Coco8% apresentou um significativo aumento nos níveis de AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) hepático, quando comparado aos grupos Canola8% e Milho8%. Os grupos Canola8% e Milho8% não apresentaram diferenças significativas com relação aos AGS acima citados, com exceção do AG palmítico (C16:0) em que o grupo Canola8% foi significativamente menor do que os grupos Coco8% e Milho8%. O nível de heptadecanóico (C17:0) foi significativamente menor no grupo coco; os grupos canola e milho apresentaram semelhanças estatísticas entre si. A concentração do AG pentadecanóico (C15:0) no fígado não apresentou diferenças significativas entre os três grupos experimentais. O grupo alimentado com óleo de canola a 8g% apresentou uma significativa diminuição do AG esteárico (C18:0) hepático, quando comparado aos grupos alimentados com gordura de coco e óleo de milho a 8g%; estes, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 2).

A concentração de AG palmitoléico (C16:1) no fígado foi significativamente maior no grupo Coco8% do que nos grupos Canola8% e Milho8%. Os três grupos experimentais apresentaram diferenças significativas quanto ao AG oléico (C18:1), sendo que o grupo Canola8% apresentou o maior nível e o grupo Milho8%, o menor. Os grupos experimentais não apresentaram diferenças significativas com relação ao AG eicosanóico (C20:1) no fígado (Tabela 2).

Os três grupos experimentais foram significativamente diferentes, em relação aos AGs linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3), apresentando o grupo Milho8% os maiores níveis e o grupo coco, os menores. O grupo alimentado com óleo de milho apresentou o maior nível de AG araquidônico (C20:4), e os grupos alimentados com gordura de coco e óleo de canola não apresentaram diferenças significativas. O grupo Canola8% apresentou um significativo aumento dos AG eicosapentaenóico (C20:5), docosapentaenóico (C22:5), e docosaheptaenóico (C22:6) no fígado quando comparado aos grupos Coco8% e Milho8%; estes, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 2).

O grupo alimentado com gordura de coco apresentou um significativo aumento de ácidos graxos saturados (AGS) no fígado e o grupo canola apresentou um nível de AGS significativamente menor, quando comparado aos outros grupos. O nível de ácidos graxos

monoinsaturados (AGM) no fígado foi significativamente diferente nos três grupos experimentais, sendo que o grupo alimentado com óleo de canola obteve o maior nível e o grupo milho, o menor. O perfil de ácidos graxos polinsaturados (AGP) no tecido hepático foi significativamente maior no grupo alimentado com óleo de milho, quando comparado aos grupos coco e canola. O grupo coco apresentou um nível de AGP significativamente menor no fígado do que o grupo canola e milho (Tabela 2, Figura 2). O índice de insaturação dos AG do fígado foi menor nos ratos alimentados com gordura de coco (126,12) do que nos alimentados com óleos de canola (167,62) e milho (164,17) (Tabela 2).

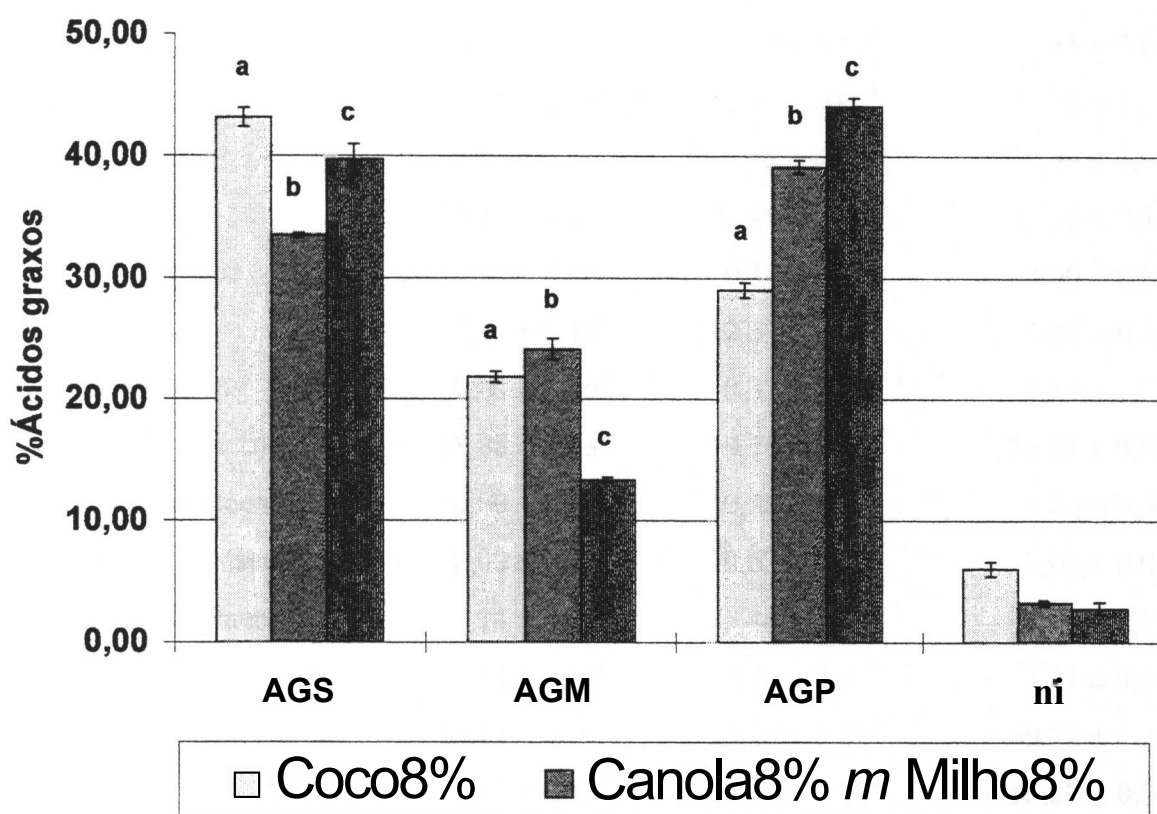


Figura 2 - Composição dos AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 8% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.. Grupo Coco8%: n= 5; grupo Canola8%; n= 5; grupo Milho8%: n= 5; ni: não identificado. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 2 - Medidas das concentrações (%) de AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

%AG	Grupos experimentais		
	Coco8% (n=5)	Canola8% (n=5)	Milho8% (n=5)
C12:00 (láurico)	0,41 ± 0,04[“]	0,14 ± 0,08 [”]	0,00 ± 0,00[“]
C 14:00 (mirístico)	1,82 ± 0,1 r	0,29 ± 0,10 [”]	0,39 ± 0,05[”]
Cl 5:00 (pentadecanóico)	0,02 ± 0,02[“]	0,05 ± 0,06 [“]	0,00 ± 0,00[“]
C 16:00 (palmítico)	21,50 ± 0,51[“]	17,38 ± 0,42 [”]	19,59 ± 0,64[”]
Ci7:00 (heptadecanóico)	0,05 ± 0,04[“]	0,43 ± 0,02 [”]	0,35 ± 0,03[”]
Ci8:00 (esteárico)	19,34 ± 0,32[“]	15,20 ± 0,60 [”]	19,40 ± 1,31[“]
Ci6:i (palmitoléico)	3,48 ± 0,09[“]	1,48 ± 0,23 [”]	1,39 ± 0,13[”]
Ci8:i (oléico)	18,35 ± 0,42[“]	22,45 ± 0,62 [”]	11,98 ± 0,1 r
Cio:1 (eicosanóico)	0,00 ± 0,00[“]	0,18 ± 0,10 [”]	0,00 ± 0,00[“]
Ci8:2 (linoléico)	7,96 ± 0,19[“]	12,37 ± 0,57 [”]	15,05 ± 0,20[']
Ci8:3 (linolênico)	0,00 ± 0,00[“]	0,37 ± 0,03 [”]	0,44 ± 0,02[']
C20:4 (araquidônico)	18,88 ± 0,53[“]	19,76 ± 0,81 [“]	26,14 ± 0,60[”]
C20:5 (eicosapentaenóico)	0,00 ± 0,00[“]	0,58 ± 0,06 [”]	0,00 ± 0,00[“]
C22:5 (docosapentaenóico)	0,00 ± 0,00 [“]	0,62 ± 0,02 [”]	0,00 ± 0,00 [“]
C22:6 (docosahexaenóico)	2,14 ± 0,54[“]	5,44 ± 0,37 [”]	2,47 ± 0,07[“]
Ni	6,04 ± 0,58[“]	3,28 ± 0,25 [”]	2,81 ± 0,50 [”]
AGS	43,13 ± 0,79[“]	33,48 ± 0,21[”]	39,72 ± 1,23[']
AGM	21,84 ± 0,46[“]	24,11 ± 0,84[”]	13,37 ± 0,20[']
AGP	28,99 ± 0,60[“]	39,13 ± 0,56[”]	44,10 ± 0,75[']
índice de insaturação	126,12	167,62	164,17

“”””Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M.. ni: não identificado.

Ao verificarmos as concentrações de AG em coração, percebemos que os AG láurico (C12:00), mirístico (C14:00), pentadecanóico (C15:00), palmítico (C16:00) e heptadecanóico (C17:00) não apresentaram diferenças significativas entre os três grupos experimentais. Em relação ao AG esteárico (C18:00), os três grupos experimentais apresentaram diferenças significativas, tendo o maior nível o grupo Milho8% e o menor, o grupo Canola5% (Tabela 3).

O grupo Coco8% apresentou uma maior concentração de AG palmitoléico (C16:1), quando comparado aos outros dois grupos, diferença esta estatisticamente significativa; contudo, os grupos canola e milho não apresentaram diferenças significativas em relação ao AG citado acima. Os três grupos experimentais não apresentaram diferenças significativas em relação aos AGM oléico (C18:1) e eicosanóico (C20:1) (Tabela 3).

Os três grupos experimentais não apresentaram diferenças significativas em relação à concentração dos AGP linoléico (C18:2), araquidônico (C20:4) e eicosapentaenóico (C20:5). O grupo Canola8% apresentou significativamente maior nível de AG linolênico (C18:3), quando comparado aos grupos Milho8% e Coco8%. O grupo Canola8% também apresentou uma maior concentração de AG docosahexaenóico (C22:6), porém o grupo canola apresentou diferenças significativas apenas com o grupo Milho8%. Em relação ao AG docosapentaenóico (C22:5), o grupo canola obteve o nível significativamente menor quando comparado aos outros dois grupos experimentais (Tabela 3).

A composição dos AG em corações de ratos apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais com relação apenas aos AGS. O grupo alimentado com óleo de canola apresentou uma significativa diminuição dos AGS no coração, quando comparado ao grupo alimentado com óleo de milho. O grupo alimentado com gordura de coco apresentou semelhança estatística com o grupo canola e milho, em relação aos níveis de AGS do coração (Figura 3, Tabela 3). O índice de insaturação dos ácidos graxos do tecido cardíaco foi menor nos ratos alimentados com óleo de milho (152,77); em segundo com gordura de coco (164,75) e, em terceiro, os alimentados com óleo de canola (170,83) (Tabela 3).

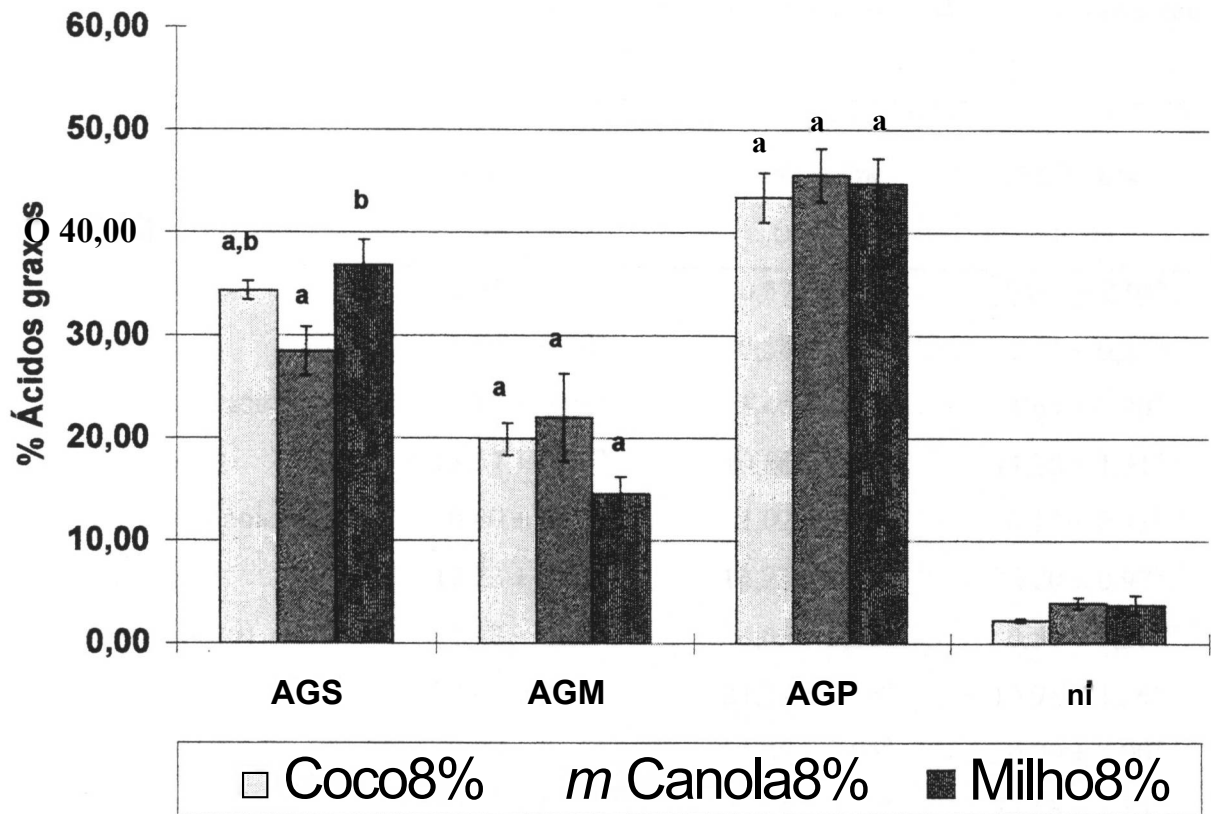


Figura 3 - Composição dos AG em corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.. Grupo Coco8%: n= 5; grupo Canola8%; n= 5; grupo Milho8%: n= 5; ni; não identificado. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 3 - Medidas das concentrações (%) de AG em corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

%AG	Grupos experimentais		
	Coco8% (n=5)	Canola8% (n=5)	Milho8% (n=5)
Ci2:00 (láurico)	0,91 ± 0,33 ^a	0,57 ± 0,25 ^a	0,07 ± 0,04 ^a
Ci4:00 (mirístico)	1,16 ± 0,29 ^a	0,38 ± 0,05 ^a	0,51 ± 0,21 ^a
C 15:00 (pentadecanóico)	1,12 ± 0,08 ^a	1,40 ± 0,23 ^a	1,69 ± 0,20 ^a
Ci6:00 (palmítico)	13,57 ± 0,53 ^a	10,86 ± 0,78 ^a	14,28 ± 1,61 ^a
CI 7:00 (heptadecanóico)	0,40 ± 0,03 ^a	1,02 ± 0,39 ^a	0,12 ± 0,13 ^a
Ci8:00 (esteárico)	17,23 ± 0,62 ^a	14,21 ± 1,19 ^b	20,20 ± 0,97 [*]
Ci6:i (palmitoléico)	1,48 ± 0,25 ^a	0,69 ± 0,20 ^b	0,58 ± 0,26 ^b
Ci8:i (oléico)	18,41 ± 1,34 ^a	21,27 ± 4,16 ^a	13,98 ± 1,56 ^a
Ci0 i (eicosanóico)	0,00 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,05 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
Ci8:2 (linoléico)	19,27 ± 0,34 ^a	23,04 ± 3,22 ^a	23,56 ± 1,54 ^a
Ci8:3 (linolênico)	0,08 ± 0,08 ^a	0,36 ± 0,04 ^b	0,04 ± 0,04 ^a
C20:4 (araquidônico)	18,19 ± 1,32 ^a	15,43 ± 1,69 ^a	16,74 ± 0,85 ^a
C20:5 (eicosapentaenóico)	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
C22:5 (docosapentaenóico)	2,32 ± 0,22 ^a	0,92 ± 0,17 ^b	2,93 ± 0,35 ^a
C22:6 (docosaheptaenóico)	3,62 ± 1,25 ^{a,b,c} *	5,89 ± 0,76 ^b	1,56 ± 0,15 ^a
ni	2,26 ± 0,21 ^a	3,92 ± 0,55 ^a	3,73 ± 0,92 ^a
AGS	34,38 ± 0,87 ^{a,b,c}	28,44 ± 2,37 ^a	36,88 ± 2,43 ^b
AGM	19,89 ± 1,55 ^a	22,01 ± 4,32 ^a	14,56 ± 1,70 ^a
AGP	43,47 ± 2,41 ^a	45,63 ± 2,58 ^a	44,83 ± 2,47 ^a
índice de insaturação	164,75	170,83	152,77

^{a,b,c} Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M.. ni: não identificado.

3.1.2. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% na lipoperoxidação (LPO) do fígado.

A LPO do fígado foi medida através de dois métodos: o teste do TBARS e QL iniciada pelo *i*-BOOH. Não houve diferenças significativas entre os três grupos experimentais quanto ao TBARS no homogeneizado de fígado (Figura 4 e Tabela 4). Através do método da QL iniciada por *i*-BOOH, observou-se um significativo aumento na emissão luminosa do homogeneizado de fígado no grupo alimentado com gordura de coco, quando comparado aos grupos canola e milho. Os grupos canola e milho não apresentaram diferenças significativas quanto à QL iniciada por *t*-BOOH no fígado (Figura 5 e Tabela 5).

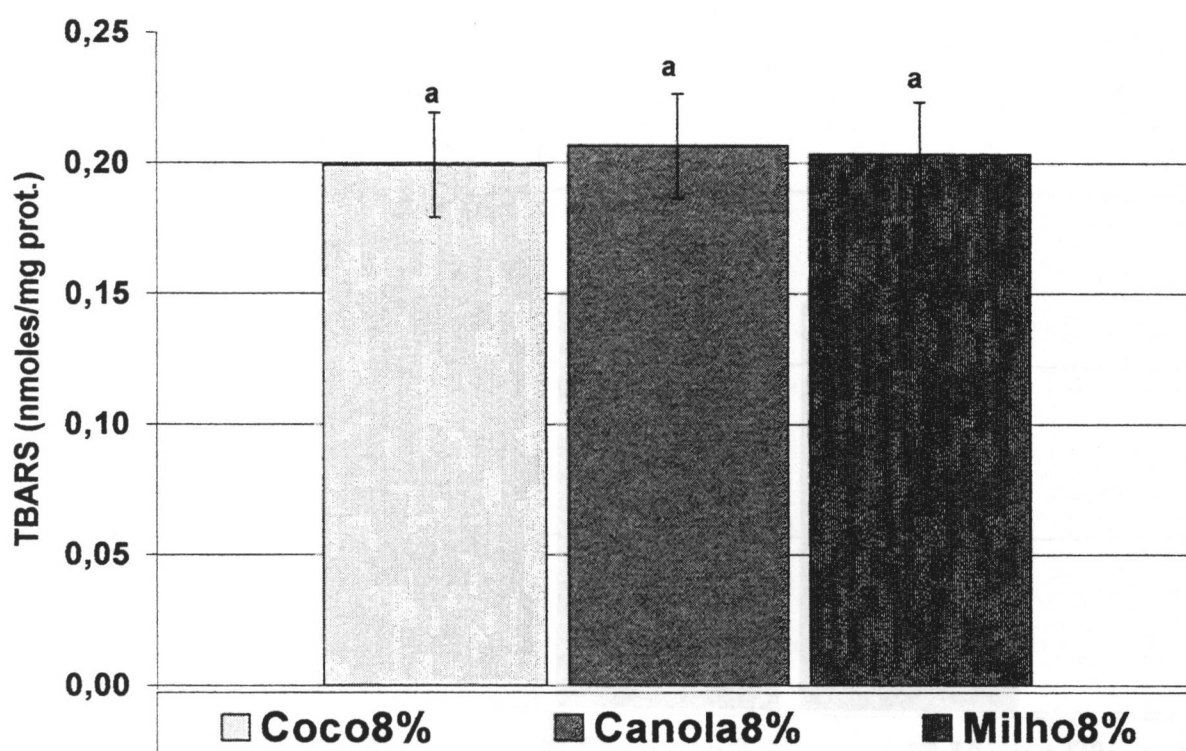


Figura 4 - TBARS (nmoles/mg prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.. Grupo Coco8%: n= 14; grupo Canola8%: n= 15; grupo Milho8%: n= 17. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 4 - Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	[TBARS] (nmol/mg prot.)
Coco8%(n=14)	0,20 ± 0,02 ^{cc}
Canola8%(n=i5)	0,21 ± 0,02 ^{cc}
Milho8%(n=i7)	0,20 ± 0,02 ^{cc}

*Em coluna, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

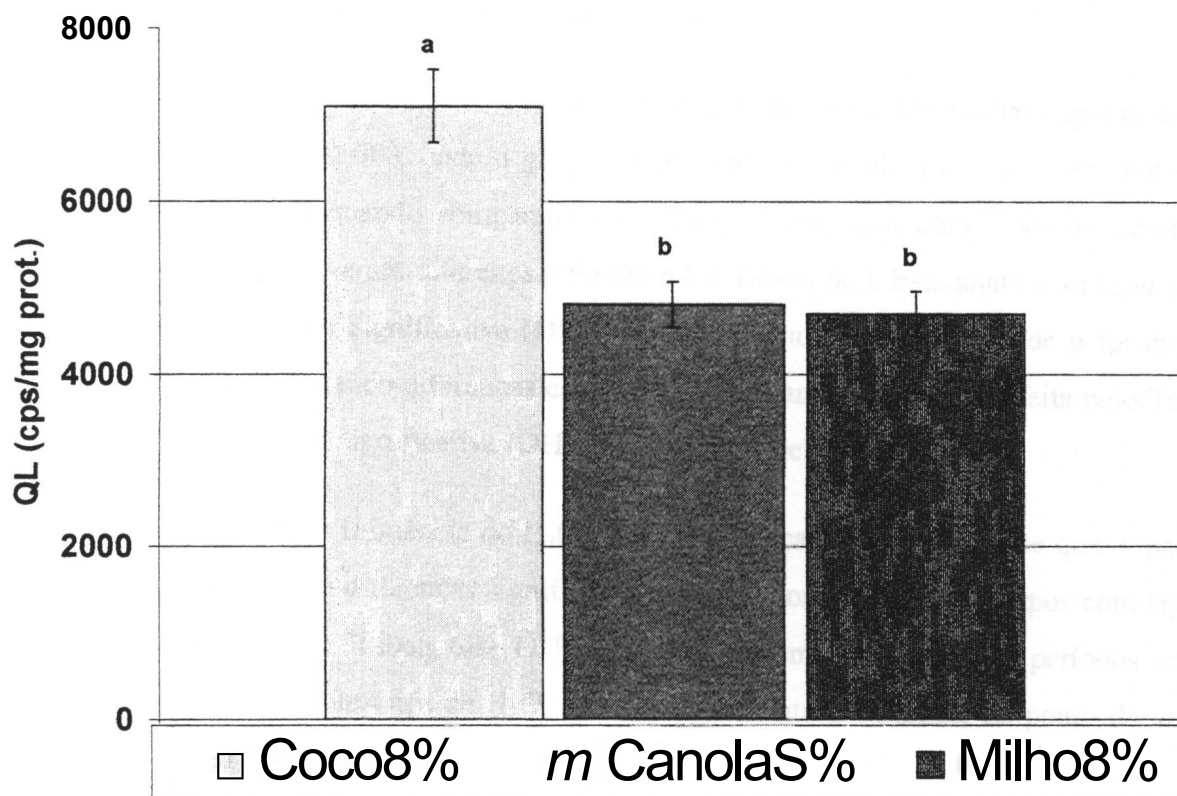


Figura 5 - QL iniciada por /-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média ± E.P.M.. Grupo Coco8%: n= 14; grupo Canola8%: n= 16; grupo Milho8%: n= 13. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 5 - Medidas da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	QUIMTT ,UMINESCÊNCIA (cps/mg prot.)
Coco8%(n=i4)	7093 ± 426 ^{cc}
Canola8%(n=i6)	4806 ± 262 ^{cc}
Milho8%(n=i3)	4700 ± 257 ^{*i}

^{a,b} Em coluna, valores com letras diferentes são sigiüficativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ±E.P.M..

3.1.3. Influências das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% nos efeitos do H₂O₂ sobre a contratura e LPO cardíacas.

As diferentes dietas influenciaram significativamente na contratura cardíaca apenas no 8^o minuto de perfusão (Tabela 6B), onde o grupo alimentado com gordura de coco apresentou a maior contratura cardíaca quando comparado aos grupos alimentados com óleos de canola e milho, os quais não apresentaram diferenças (Figura 6A e Tabela 6C). Esta análise foi feita pelo Teste de Diferença Mínima Significãtiva (DMS) de Tukey, isto porque o valor de p foi muito próximo de 0,05, não detectando diferenças entre os grupos quando a análise foi feita pelo Teste de Diferença Honestamente Significativa (DHS) de Tukey (Tabela 6B).

Quando se observa a influência do H₂O₂ na contratura cardíaca, constata-se que, a partir do 4^o minuto de perfusão há diferenças significativas quando comparadas aos grupos com H₂O₂ e seus controles (sem H₂O₂) (Tabela 6B). O Teste de Tukey demonstrou, para os períodos onde houve significância, que a presença de H₂O₂ aumenta a contratura cardíaca, do ponto de vista estatístico (Figura 6B e Tabela 6C).

A relação entre a influência da dieta e a perfusão com H₂O₂, na contratura do coração, apresentou diferenças estatísticas apenas no 8^o minuto de perfusão (Tabela 6B), onde os animais alimentados com gordura de coco, com corações perfundidos com H₂O₂, apresentaram a maior contratura, porém não houve diferenças significativas no grupo alimentado com óleo de canola perfundido com H₂O₂ e este, por sua vez, apresentou também semelhanças estatísticas com os

demais grupos, ou seja, com o grupo Milho8%/H2O2 e todos os grupos que não foram perfundidos com H2O2 (coco, canola e milho) (Figura 6C; Tabela 6C).

Os resultados em relação à contratatura cardíaca dos animais submetidos à dieta a 8g% de gordura estão ilustrados também na Tabela 6A.

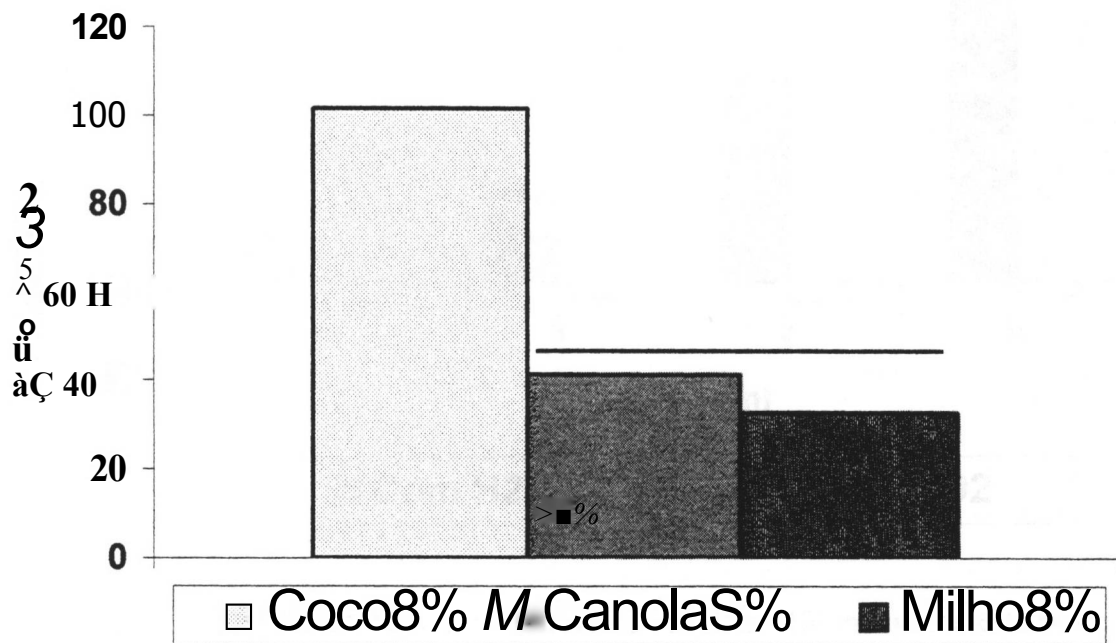


Figura 6A - Variação percentual da contratatura cardíaca no 8^a minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco8%; n= 12; grupo Canola8%: n= 16; grupo Milho8%: n= 14. OBS: A barra horizontal indica equivalência estatística

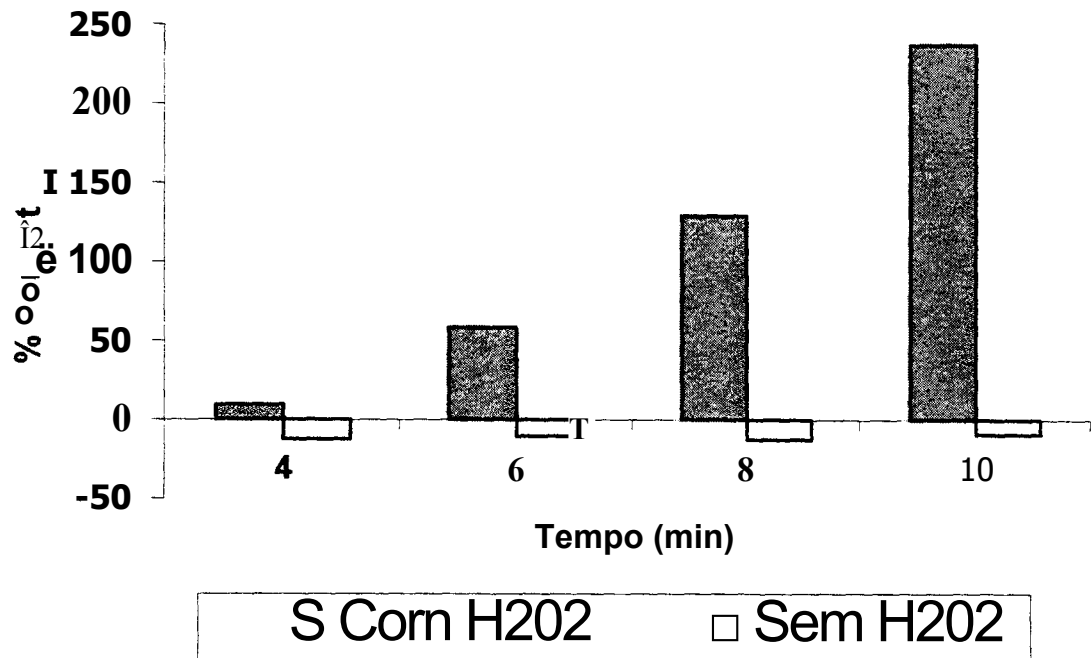


Figura 6B - Variação percentual da contratatura cardíaca do 4^o-ao 10^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂; n= 22; grupo sem H₂O₂; n= 20.

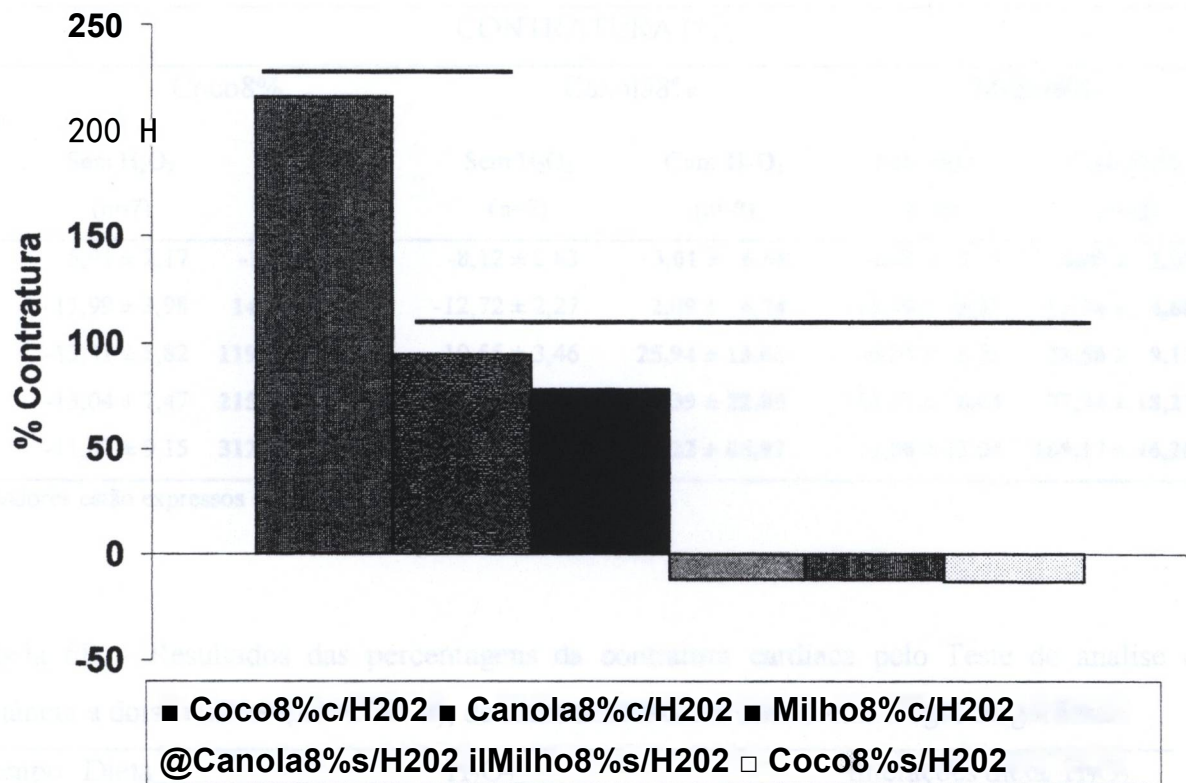


Figura 6C - Variação percentual da contratura cardíaca no 8º minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco8%c/H2O2: n= 5; grupo Canola8%c/H2O2: n= 9; grupo Milho8%c/H2O2; n= 8; Grupo Canola8%s/H2O2: n= 7; Grupo Milho8%s/H2O2: n= 6; grupo Coco8%s/H2O2: n= 7. OBS: As barras horizontais indicam equivalência estatística.

Tabela 6A - Medidas das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Tempo (min)	CONTRATURA (%)					
	Coco8%		Canola8%		Milho8%	
	Sem H ₂ O ₂ (n=7)	Com H ₂ O ₂ (n=5)	Sem H ₂ O ₂ (n=7)	Com H ₂ O ₂ (n=9)	Sem H ₂ O ₂ (n=6)	Com H ₂ O ₂ (n=8)
2	-5,91 ± 2,17	-1,79 ± 4,83	-8,12 ± 2,83	-3,01 ± 6,68	-4,09 ± 4,18	3,09 ± 2,31
4	-11,99 ± 3,98	14,35 ± 6,57	-12,72 ± 2,27	2,09 ± 6,74	-13,79 ± 8,23	11,74 ± 4,68
6	-13,31 ± 5,82	119,65 ± 76,88	-10,55 ± 3,46	25,94 ± 13,66	-6,15 ± 8,33	28,58 ± 9,13
8	-13,04 ± 7,47	215,88 ± 79,98	-11,88 ± 3,79	94,39 ± 22,85	-12,21 ± 8,04	77,94 ± 18,21
10	-11,67 ± 9,15	312,78 ± 85,40	-14,07 ± 3,74	229,22 ± 65,97	-3,68 ± 13,04	169,17 ± 46,26

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 6B - Resultados das percentagens da contratura cardíaca pelo Teste de análise de variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Tempo Dieta (min.)	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
2	F= 0,6840 (n-1)	F= 2,1646 (n-1)
4	F= 0,6604 (n-1)	F= 21,7542 (p< 0,0000)
6	F= 2,0715 (n-1)	F= 12,0362 (p< 0,0013)
8	F= 3,3170 (p< 0,0476)	F= 38,7864 (p< 0,0000)
10	F= 0,8989 (n-1)	F= 37,7799 (p< 0,0000)

Tabela 6C - Comparações individuais das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS/DMS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Tempo min	Dieta Grupos	Média (n)	H2O2		Interações dieta/ H2O2	
			Grupos	Média (n)	Grupos	Média (n)
4			Com	9,40 (22)		
			Sem	-12,83 (20)		
6			Com	58,06 (22)		
			Sem	-10,00 (20)		
8	Coco	101,42(12)	Com	129,40 (22)	Coco8%c/H2O2	215,88 (5)
	Canola	41,26(16)	Sem	-12,38 (20)	Canola8%c/H2O2	94,39 (9)
			Milho		32,86 (14)	Milho8%c/H2O2
					Canola8%s/H2O2	-11,88 (7)
					Milho8%s/H2O2	-12,21 (6)
					Coco8%s/H2O2	-13,04(7)
10			Com	237,06 (22)		
			Sem	-9,81 (20)		

OBS; Os espaços vazios e as barras verticais indicam equivalência estatística.

A composição das gorduras das dietas a 8g% influenciaram no TBARS dos corações (Tabela 7B). A dieta com óleo de canola proporcionou um nível significativamente menor de TBARS, quando comparado aos grupos milho e coco; estes não apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 7A; Tabela 7C).

Analisando apenas a influência do H2O2, constata-se que o H2O2 aumenta significativamente o TBARS, o que indica a presença do estresse oxidativo (Tabela 7B). O Teste de Tukey demonstrou que a presença de H2O2 aumenta o TBARS, do ponto de vista estatístico (Figura 7B; Tabela 7C).

Não houve diferenças significativas com respeito à influência conjunta da dieta e do H₂O₂ (Tabela 7B).

A Tabela 7A ilustra também os resultados do TBARS.

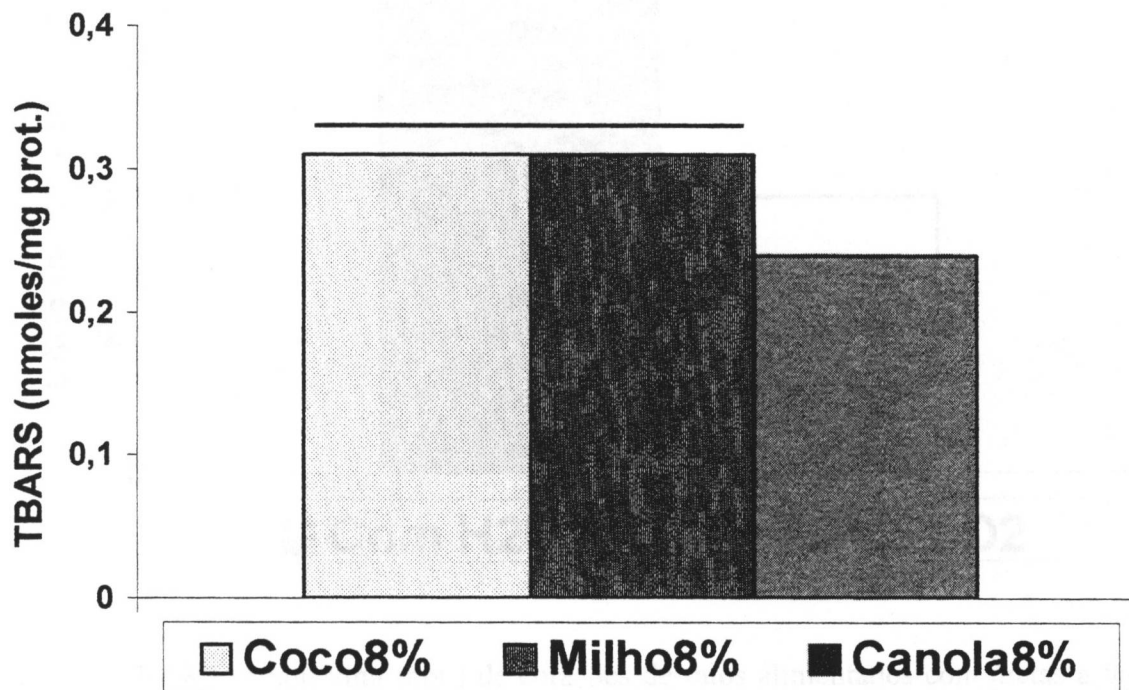


Figura 7A - TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 8% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco8%: n= 15; grupo Milho8%; n= 16; grupo Canola8%: n= 17. OBS: A barra horizontal indica equivalência estatística.

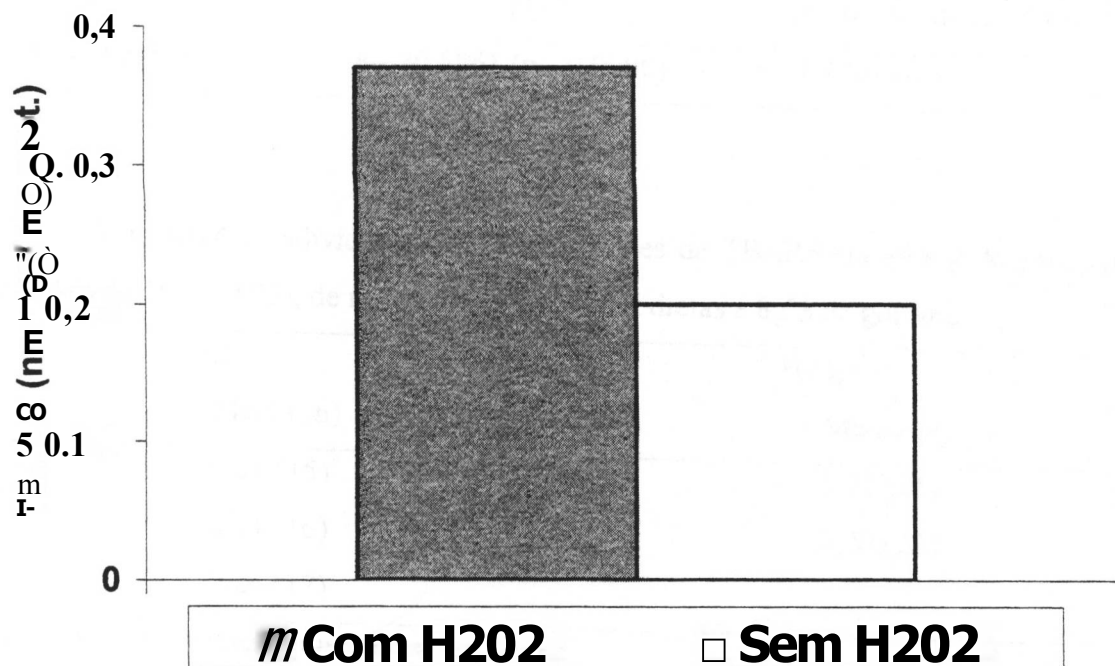


Figura 7B - TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H2O2. Os valores estão expressos como média. Grupo com H2O2: n= 25; grupo sem H2O2: n= 23.

Tabela 7A - Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	[TBA-RS] (nmol/mg prot.)	
	Sem H2O2	Com H2O2
Coco8%	0,21 ± 0,01(n=9)	0,41 ± 0,03(n=6)
Canola8%	0,17±0,02(n=8)	0,30 ± 0,02(n=9)
Milho8%	0,21 ± 0,02(n=8)	0,40 ± 0,04(n=8)

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 7B - Resultados do TBARS pelo Teste de análise de variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Dieta	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
F= 6,6843 (p< 0,0030)	F= 80,8861 (p< 0,0000)	F= 1,2701 (n-1)

Tabela 7C - Comparações individuais das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS (p<0,05), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Grupos	Dieta		H ₂ O ₂	
	Média (n)		Média (n)	
Coco	0,31(15)		Com	0,37 (25)
Milho	0,31(16)		Sem	0,20 (23)
Canola	0,24(17)			

OBS; A barra vertical indica equivalência estatística.

Em relação aos resultados obtidos na QL iniciada por ^tBOOH, foi observada diferença significativa entre as três dietas experimentais (Tabela 8B). Os corações de ratos submetidos à dieta com óleo de canola proporcionaram um significativo menor nível de QL iniciada por ^tBOOH quando comparados ao grupo milho; os corações de ratos alimentados com gordura de coco não apresentaram diferenças significativas com qualquer dieta (Figura 8A; Tabela 8C).

Analisando apenas a influência do H₂O₂, constatou-se que os grupos que não foram perfundidos com H₂O₂, apresentaram irai nível significativamente maior de QL iniciada por ^tBOOH (Tabela 8B). Através do Teste de Tukek verificou-se, sob o ponto de vista estatístico, que o H₂O₂ proporcionou menor nível de QL iniciada por ^tBOOH nos corações de ratos tratados a 8g% de gordura (Figura 8B; Tabela 8C).

Não houve diferenças significativas em relação à influência conjunta da dieta e do H₂O₂ (Tabela 8B).

A Figura 8C, 8D, 8E, 8F 8G e Tabela 8A ilustram também os resultados do QL iniciada por í-BOOH.

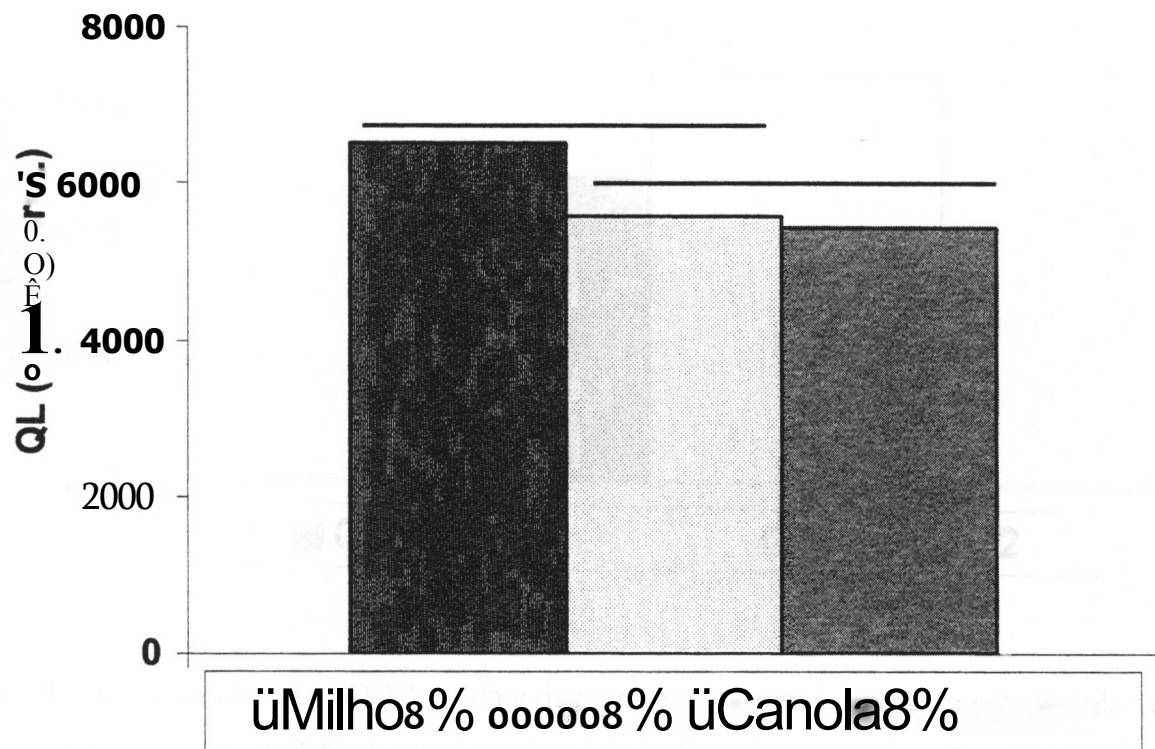


Figura 8A - QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Milho 8%; n= 12; grupo Coco 8%; n= 15; grupo Canola 8%; n= 17. OBS: As barras horizontais indicam equivalência estatística.

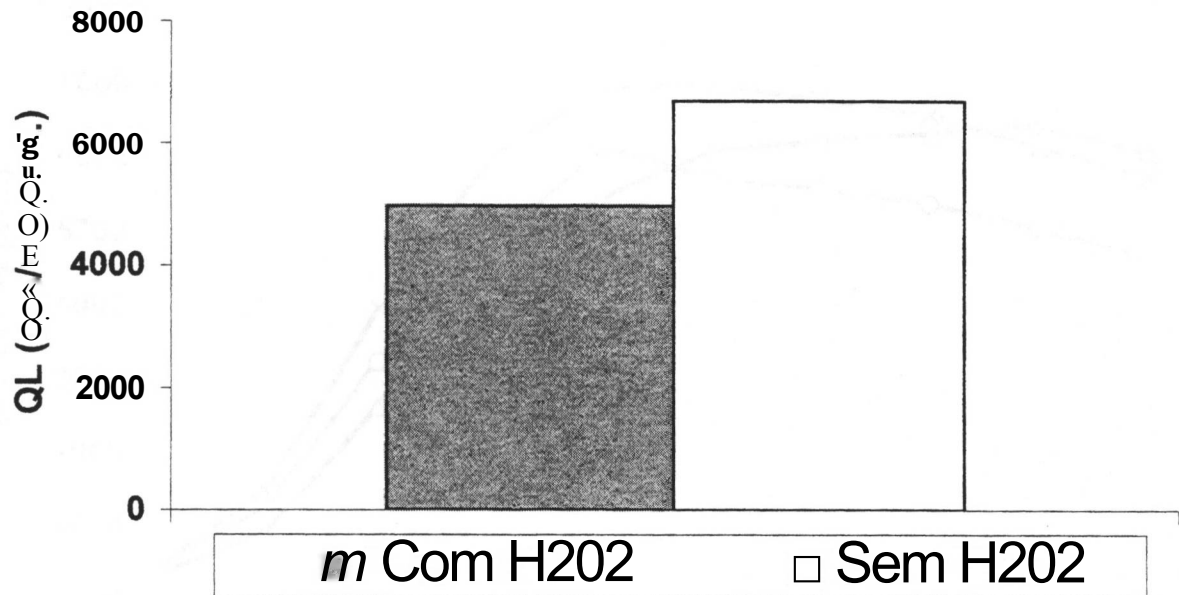


Figura 8B - QL iniciada por *i*-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂; n= 21; grupo sem H₂O₂: n= 23.

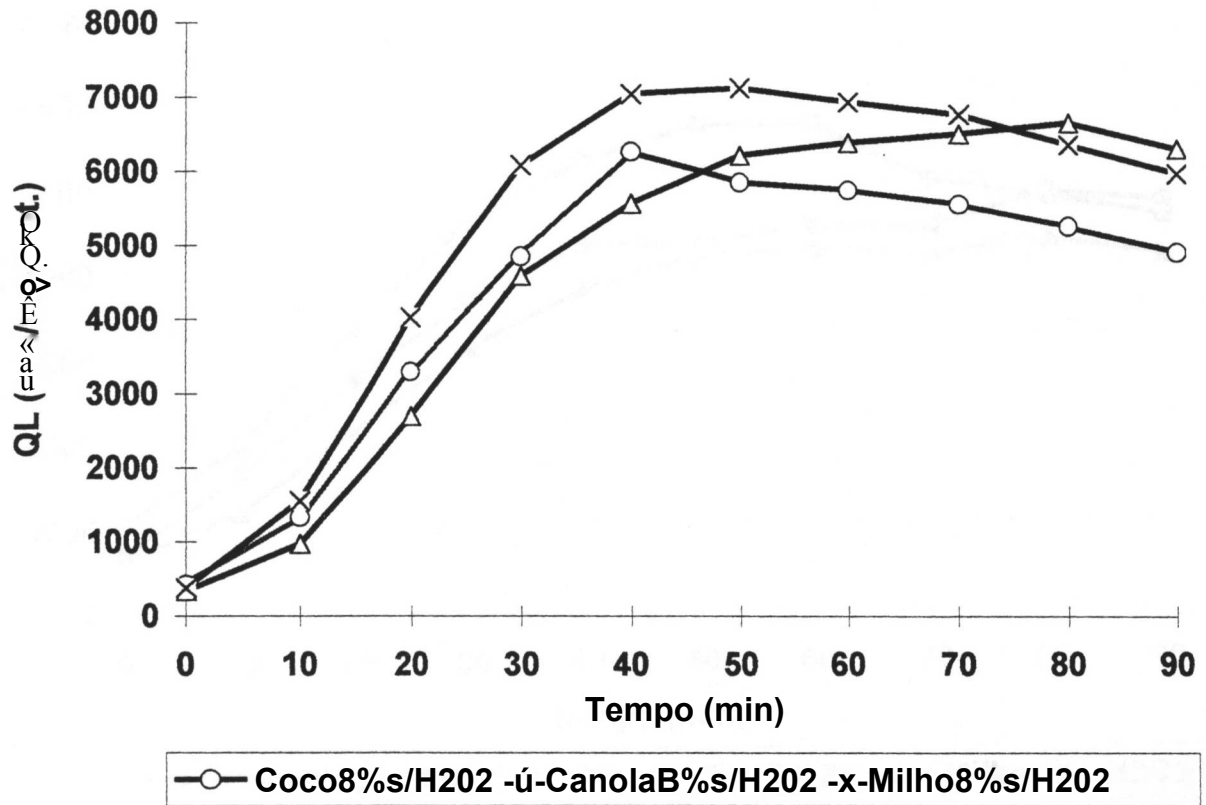


Figura 8C - Perfil da cinética da QL iniciada por H_2O_2 (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, sem perfusão de H_2O_2 . Os valores estão expressos como média. Grupo Coco8%/H2O2: n= 9; grupo Canola8%/H2O2: n= 8; grupo Milho8%/H2O2; n= 6.

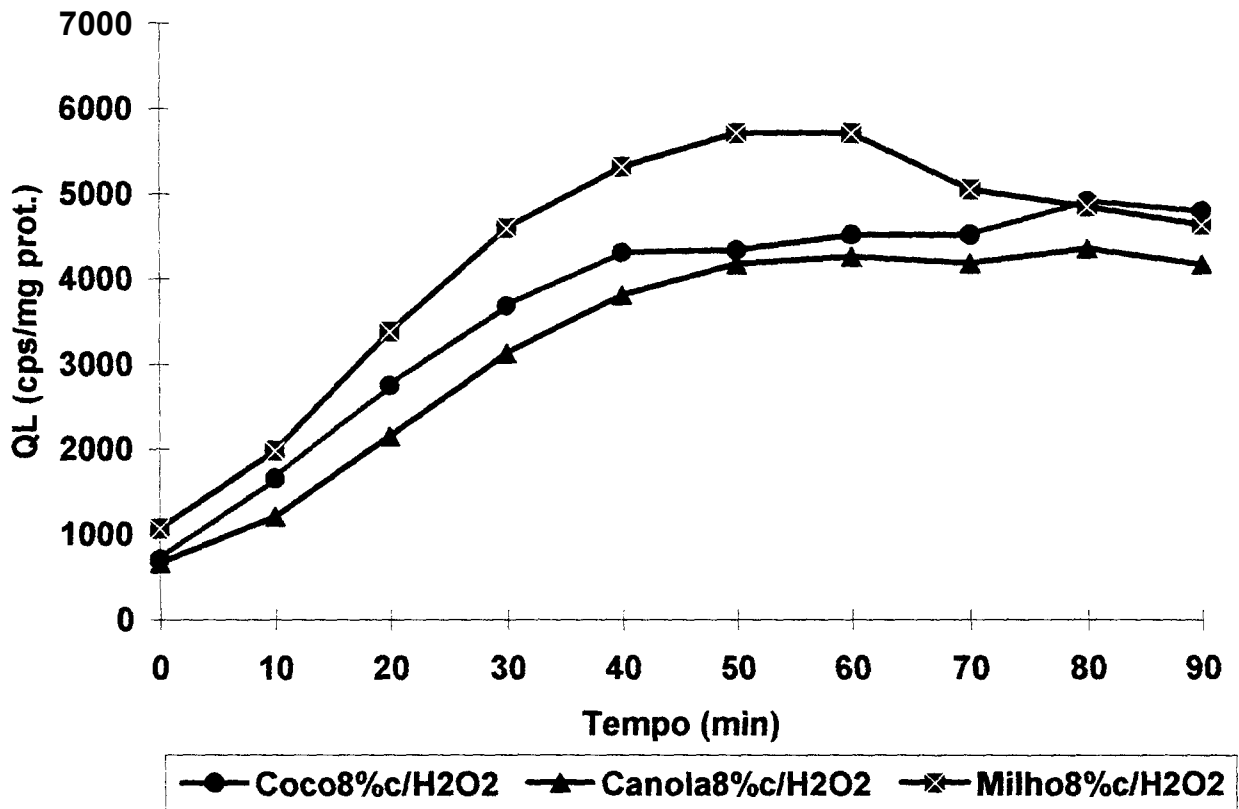


Figura 8D - Perfil da cinética da QL iniciada por H_2O_2 (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, através da perfusão de H_2O_2 . Os valores estão expressos como média. Grupo Coco8%/H2O2; n= 6; grupo Canola8%/H2O2: n= 9; grupo Milho8%/H2O2: n= 6.

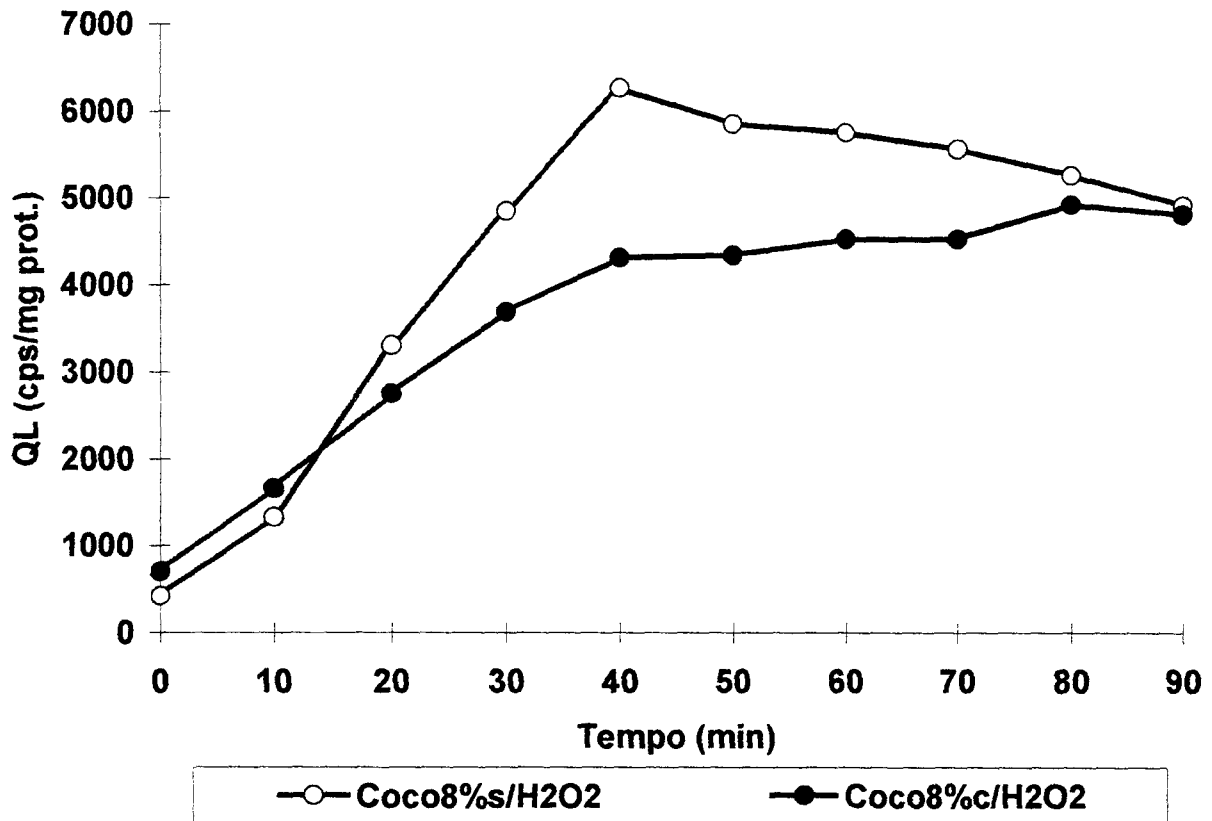


Figura 8E - Perfil da cinética da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de gordura de coco durante 42 dias, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco8% s/H₂O₂; n= 9; grupo Coco8% c/H₂O₂; n= 6.

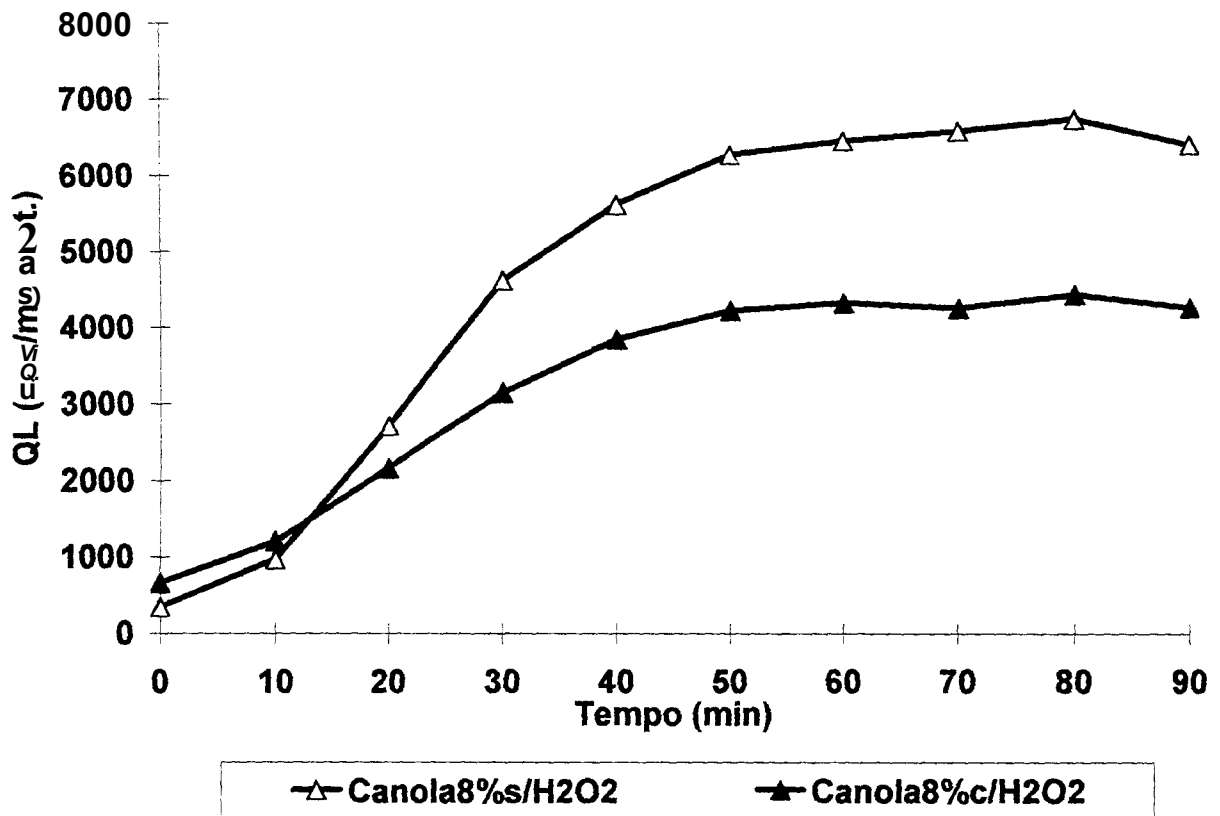


Figura 8F - Perfil da cinética da QL iniciada por r-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de óleo de canola durante 42 dias, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Canola8% s/H₂O₂; n= 8; grupo Canola8% c/H₂O₂: n= 9.

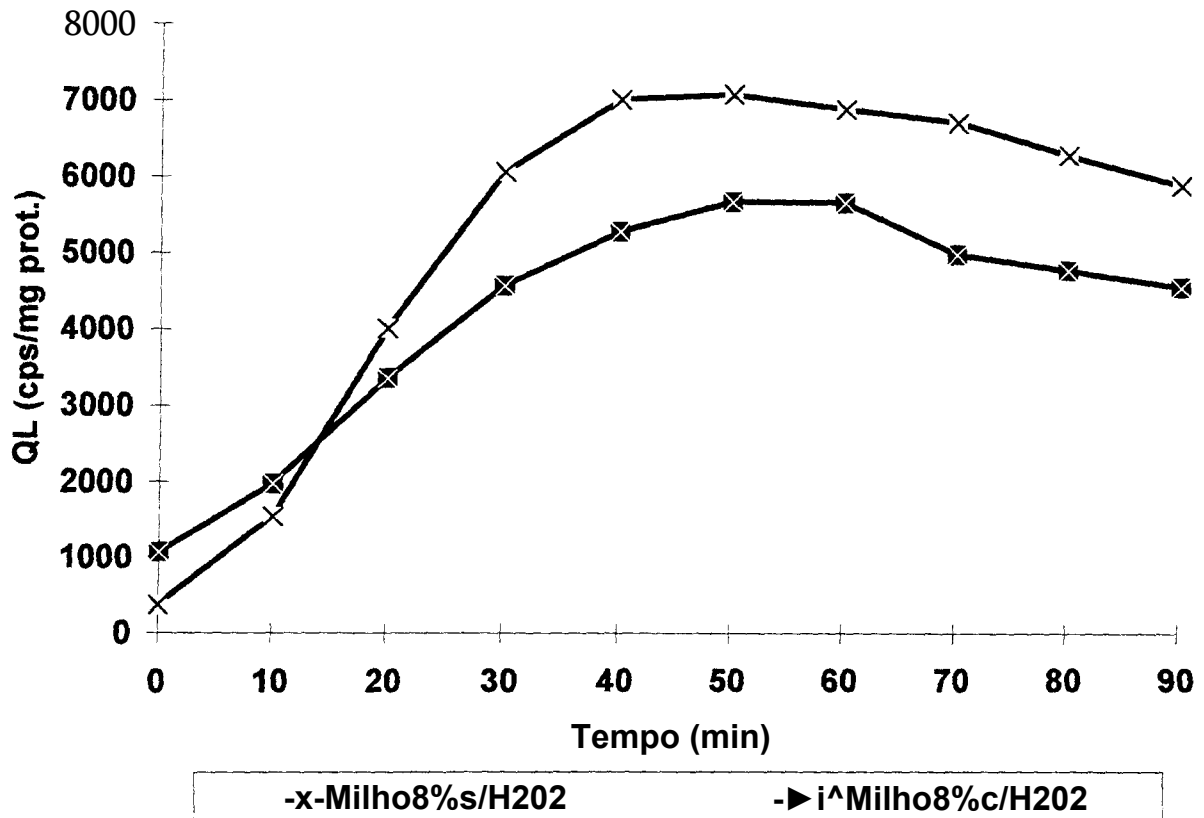


Figura 8G - Perfil da cinética da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 8g% de óleo de milho, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Milho 8% s/H₂O₂: n= 6;. grupo Milho 8% c/H₂O₂: n= 6.

Tabela 8A - Medidas da QL iniciada por r-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

QUIMILUMINESCÊNCIA [^]		
(cps/mg prot.)		
Grupos experimentais	Sem H ₂ O ₂	Com H ₂ O ₂
Coco8%	6214 ± 400(n=9)	4924 ± 414(n=6)
Canola8%	6504±512(n=8)	4313±238(n=9)
Milho8%	7343 ± 263(n=6)	5685 ± 472(n=6)

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 8B - Resultados da QL iniciada por r-BOOH pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Dieta	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
F= 3,9995 (p< 0,0265)	F= 26,6598 (p< 0,0000)	F= 0,6428 (n-1)

Tabela 8C - Comparações individuais da QL iniciada por r-BOOH (cps/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS (p<0,05), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Grupos	Dieta		H ₂ O ₂	
	Média (n)		Média (n)	
Milho	6514(12)		Com	4985 (21)
Coco	5569(15)		Sem	6687 (23)
Canola	5425(17)			

OBS: As barras verticais indicam equivalência estatística.

3.1.4. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g%, nos efeitos do H₂O₂ sobre a frequência cardíaca (FC).

As dietas com os três diferentes tipos de gordura a 8g% não influenciaram de forma significativa a FC em qualquer tempo do estudo (Tabela 9B).

Os corações submetidos ao estresse oxidativo, através da perfusão com H₂O₂, apresentaram uma diminuição significativamente progressiva da FC após o 6^o minuto (Tabela 9B). O Teste de Tukey demonstrou que, do 6^o ao 10^o minuto de perfusão na presença de H₂O₂, ocorre diminuição da FC do ponto de vista estatístico (Figura 9; Tabela 9C).

Não observamos diferenças significativas quando comparamos as diferentes dietas e sua interação com a perfusão de H₂O₂ (Tabela 9B).

A Tabela 9A ilustra os resultados.

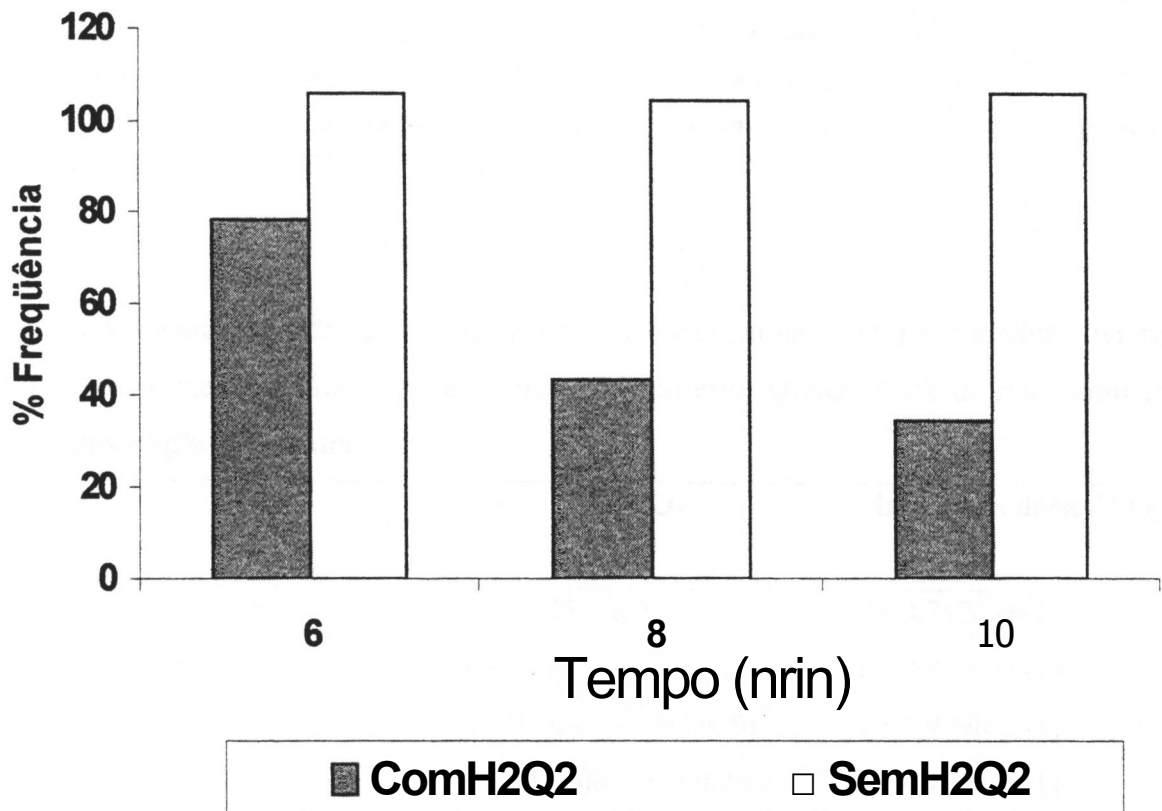


Figura 9 - Variação percentual da frequência cardíaca (FC) do 6^o ao 10^o minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂: n= 22; grupo sem H₂O₂: n= 20.

Tabela 9A - Medidas das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Tempo (min)	FREQUÊNCIA (%)					
	Coco8%		Canola8%		Milho8%	
	Sem H2O2 (n=7)	Com H2O2 (n=8)	Sem H2O2 (n=7)	Com H2O2 (n=9)	Sem H2O2 (n=6)	Com H2O2 (n=8)
*2	109,26 ± 6,63	96,07 ± 4,66	101,21 ± 1,19	99,60 ± 7,89	95,95 ± 1,56	100,84 ± 9,44
4	107,87 ± 7,08	85,87 ± 15,51	100,19 ± 2,50	113,16 ± 3,65	95,71 ± 1,94	91,94 ± 9,13
6	114,53 ± 12,44	66,83 ± 22,45	106,77 ± 5,07	101,62 ± 8,02	96,31 ± 2,60	66,04 ± 10,43
8	121,05 ± 15,00	40,01 ± 21,67	97,48 ± 4,07	49,19 ± 13,94	94,81 ± 2,64	40,40 ± 14,37
10	115,43 ± 12,77	34,30 ± 20,76	99,80 ± 5,07	41,59 ± 14,84	103,69 ± 9,67	26,28 ± 10,05

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 9B - Resultados das percentagens da frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Tempo (min.)	Dieta	H2O2	Interações dieta/ H2O2
2	F= 0,1737 (n-1)	F= 0,3350 (n-1)	F= 0,7920 (n-1)
4	F= 1,8573 (n-1)	F= 0,5145 (n-1)	F= 2,8670 (n-1)
6	F= 2,4870 (n-1)	F= 9,7868 (p< 0,0035)	F= 1,9798 (n-1)
8	F= 0,4185 (n-1)	F= 30,1906 (p< 0,0000)	F= 0,7692 (n-1)
10	F= 0,2768 (n-1)	F= 46,5778 (p< 0,0000)	F= 0,4771 (n-1)

Tabela 9C - Comparações individuais das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Tempo		H ₂ O ₂
min	Grupos	Média (n)
6	Com	78,17 (22)
	Sem	105,87 (20)
8	Com	43,20 (22)
	Sem	104,45 (20)
10	Com	34,06 (22)
	Sem	106,31 (20)

OBS; As barras verticais indicam equivalência estatística.

3.1.5. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 8g% nos efeitos do H₂O₂ sobre a pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP).

Os três diferentes tipos de gordura a 8g% na dieta não influenciaram de forma significativa na AP em qualquer tempo do estudo (Tabela IOB).

Observou-se que ocorre uma diminuição da AP quando os corações são submetidos à perfusão com H₂O₂. Após a perfusão com H₂O₂, houve uma diminuição significativa da AP a partir do 4^o minuto (Tabela IOB). Do ponto de vista estatístico, o Teste de Tukey constata que ocorre diminuição da AP na presença de H₂O₂ nos corações de ratos tratados com 8g% de gordura (Figura 10; Tabela IOC).

Não observamos diferenças significativas, quanto à AP, comparadas às diferentes dietas e sua interação com a perfusão de H₂O₂ (Tabela IOB).

A Tabela IOA ilustra os resultados.

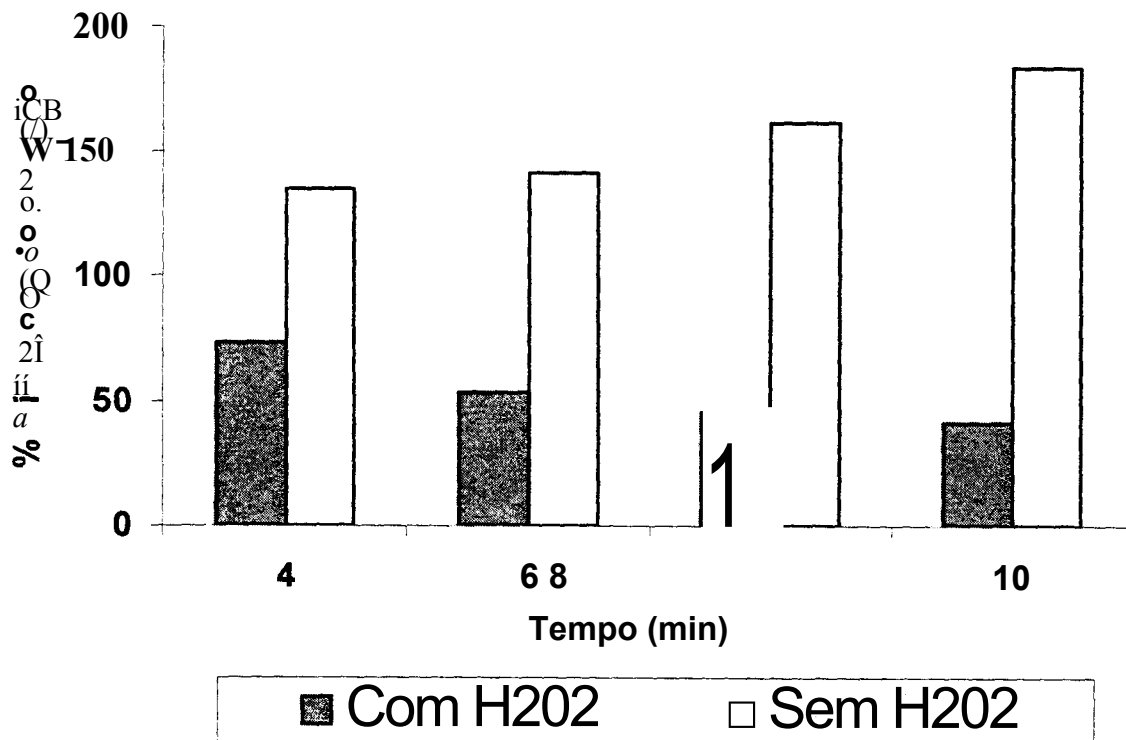


Figura 10 - Variação percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) do 4^o ao 10^o minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂: n= 22; grupo sem H₂O₂; n= 20.

Tabela IOA - Medidas das percentagens da pressão desenvolvida do ventriculo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura durante 42 dias.

Tempo (min)	AP (%)								
	Coco8%			Canola8%			Milho8%		
	Sem H2O2		Com H2O2	Sem H2O2		Com H2O2	Sem H2O2		Com H2O2
	(n=7)	(n=5)	(n=7)	(n=9)		(n=6)	(n=8)		
1	108,90 ± 5,74	235,09 ± 80,73	138,42 ± 24,34	121,89 ± 23,56		107,02 ± 7,33	176,84 ± 53,90		
4	117,73 ± 6,48	115,48 ± 56,44	159,91 ± 32,37	47,86 ± 10,82		127,31 ± 6,96	55,37 ± 10,23		
6	125,49 ± 8,65	75,93 ± 40,18	176,61 ± 42,02	25,88 ± 9,00		121,52 ± 15,65	58,70 ± 16,31		
8	130,25 ± 10,73	56,35 ± 34,00	206,93 ± 62,14	17,49 ± 6,98		147,06 ± 10,08	62,61 ± 21,10		
10	139,97 ± 15,12	51,13 ± 30,54	249,54 ± 73,82	18,53 ± 6,62		161,87 ± 16,46	54,01 ± 18,34		

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela IOB - Resultados das percentagens da pressão desenvolvida do ventriculo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Tempo (min.)	Dieta	H2O2	Interações dieta/H2O2
2	F= 0,6017 (n-1)	F= 3,6173 (n-1)	F= 1,7771 (n-1)
4	F= 0,5796 (n-1)	F= 11,2231 (p< 0,0019)	F= 2,9176 (n-1)
6	F= 0,1424 (n-1)	F= 20,3730 (p< 0,0000)	F= 2,8432 (n-1)
8	F= 0,1950 (n-1)	F= 22,1181 (p< 0,0000)	F= 2,3959 (n-1)
10	F= 0,6761 (n-1)	F= 25,8051 (p< 0,0000)	F= 2,6841 (n-1)

Tabela IOC - Comparações individuais das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 8g% de gordura.

Tempo		H2O2
min	Grupos	Média (n)
4	Com	72,90 (22)
	Sem	134,99 (20)
6	Com	53,51(22)
	Sem	141,21 (20)
8	Com	45,48 (22)
	Sem	161,41 (20)
10	Com	41,73 (22)
	Sem	183,80 (20)

OBS: As barras verticais indicam equivalência estatística.

3.2. Valores dos parâmetros estudados após tratamento com dietas a 15g% de gordura.

3.2.1. Efeito das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%; no peso corporal, peso do fígado, peso do coração e do perfil de AG do fígado e coração.

Os três grupos alimentados a 15g% de gordura (coco, canola e milho) não apresentaram diferenças significativas entre si, quanto ao peso corporal em todas as semanas do experimento, peso corporal final e ganho de peso corporal durante os 42 dias de tratamento dietético (Figura 11, Tabela 11 A).

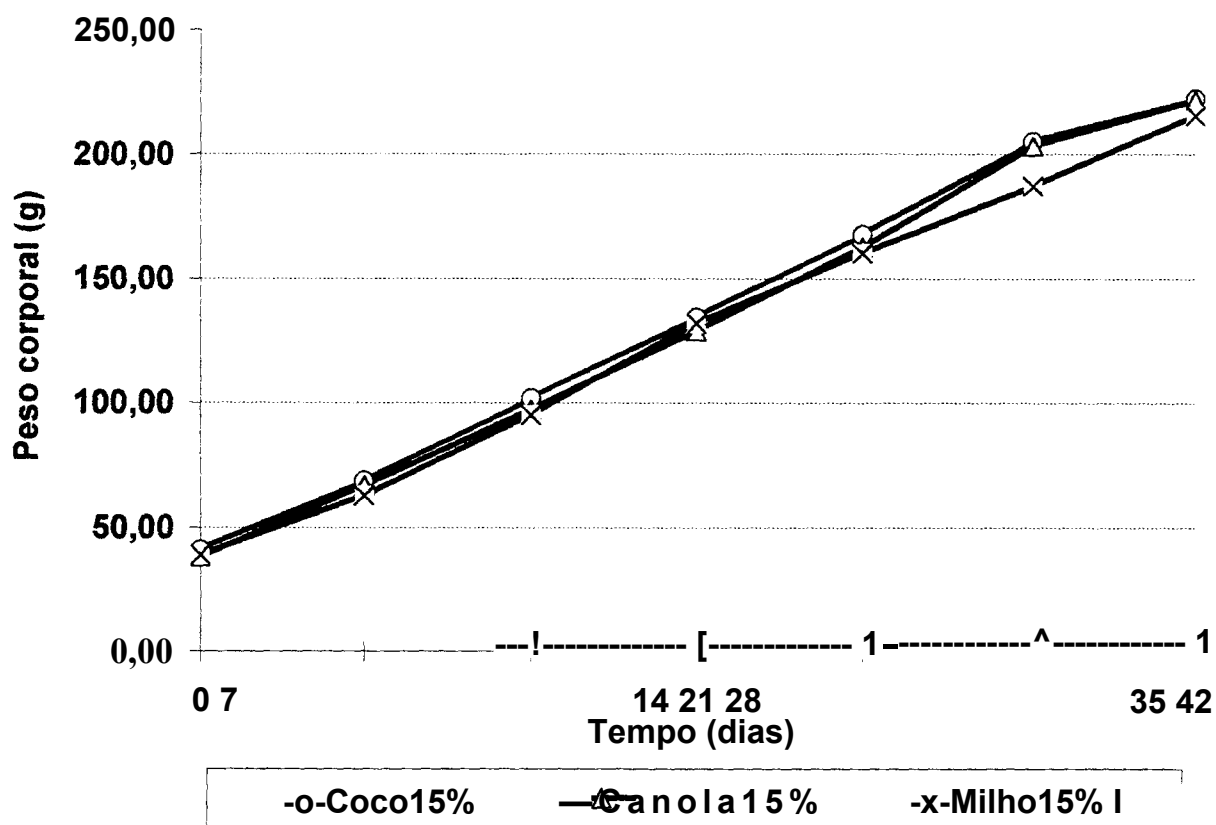


Figura 11 - Curva de peso corporal de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias de experimento. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco 15%; n= 30; grupo Canola15%; n= 34; grupo Milho15%; n= 25.

Tabela 11A - Peso corporal de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	Grupos experimentais		
	Cocol5% (n=30)	Canolal5% (n=34)	Milhol5% (n=25)
Peso inicial	40,98 ± 0,79 ^{cc}	38,07 ± 0,88 ^{cc}	39,02 ± 1,60 ^{cc}
7 dia	68,68 ± 1,81 ^{cc}	66,81 ± 1,63 ^{cc}	62,90 ± 3,22 ^{cc}
14° dia	102,00 ± 2,83 ^{cc}	97,49 ± 1,93 ^{cc}	95,34 ± 3,89 ^{cc}
21° dia	134,45 ± 3,37 ^{cc}	128,99 ± 2,04 ^{cc}	132,05 ± 4,59 ^{cc}
28° dia	167,63 ± 4,85 ^{cc}	162,50 ± 2,95 ^{cc}	160,18 ± 4,71 ^{cc}
35° dia	205,28 ± 5,53 ^{cc}	203,37 ± 3,92 ^{cc}	187,31 ± 7,20 ^{cc}
42° dia	222,59 ± 5,19 ^{cc}	222,13 ± 4,47 ^{cc}	215,98 ± 8,36 ^{cc}
Ganho de peso(42 dias)	181,60 ± 4,89 ^{cc}	184,06 ± 4,06 ^{cc}	176,96 ± 7,54 ^{cc}

^{cc}Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M.,

Não houve diferenças significativas quanto ao peso do fígado, porém a relação entre o peso do fígado/ peso corporal foi significativamente maior no grupo alimentado com óleo de canola. Os outros dois grupos experimentais, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas entre si. As dietas a 15g% de gordura não alteraram o peso do coração e nem a relação do peso do coração/ peso corporal (Tabela 11B).

Tabela IIB - Peso de fígado e coração de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

Peso dos órgãos	Grupos experimentais	
	Coco 15% Canola15%	Milho15%
Fígado	9,76 ± 0,35 (n=14) ^a 10,34 ± 0,40 (n=16) ^f	9,55 ± 0,32 (n=9) ^a
Fígado/peso corporal(x 1000)	43,93 ± 1,17 (n=14) ^a 49,54 ± 0,81 (n=16) ^{*g}	44,34 ± 1,43 (n=9) ^a
Coração	1,23 ± 0,05 (n=18) ^a 1,16 ± 0,03 (n=21) ^a	1,07 ± 0,04 (n=12) ^a
Coração/peso corporal(x 1000)	5,41 ± 0,19 (n=18) ^a 5,37 ± 0,17 (n=21) ^a	5,72 ± 0,23 (n=12) ^a

^{a,b} Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

O grupo Coco 15% apresentou um significativo aumento nas concentrações dos AGS láurico (C12:o), mirístico (C14:o), palmitico (C16:o) e esteárico (C18:o) hepático, quando comparado aos dois outros grupos experimentais, diferença esta estatisticamente significativa. Quando se analisou a concentração do AGS pentadecanóico (C15:o), verificou-se que o mesmo apresentou aumento, com diferença estatisticamente significativa apenas comparado ao grupo milho. Os ratos alimentados com óleo de canola apresentaram um menor nível hepático de AG palmitico (C16:o), quando comparados aos ratos alimentados com gordura de coco e óleo de milho, diferença esta estatisticamente significativa. Não houve diferença na concentração do AG heptadecanóico (C17:o) entre os três grupos experimentais (Tabela 12).

O grupo alimentado com óleo de canola a 15g% apresentou um aumento significativo dos AGM oléico (C18:1) e eicosanóico (C20:1) no fígado, quando comparado aos grupos alimentados com gordura de coco e óleo de milho. O grupo Milho 15% apresentou uma significativa diminuição do AG oléico (C18:1) no fígado, quando comparado ao grupo Cocol5% e Canola 15%. Os grupos Coco 15% e Milho 15% não apresentaram diferenças significativas em relação ao AG eicosanóico (C20:1) hepático. O grupo alimentado com gordura de coco a 15g% apresentou significativamente o maior nível de AG palmitoléico (C16:1), quando comparado aos grupos alimentados com óleos de canola e milho; estes, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 12).

O AG linoléico (C18:2) do fígado foi significativamente maior no grupo Milho15%, quando comparado ao grupo coco; o grupo Canola 15% não apresentou diferenças significativas em relação aos grupos Cocol5% e Milho15%. Não houve diferenças significativas entre os três grupos experimentais, com respeito aos AGP docosapentaenóico (C22:5) e docosahexaenóico (C22:6) hepáticos. O grupo canola apresentou níveis significativamente maiores de AG linolênico (C18:3) e eicosapentaenóico (C20:5) do fígado, comparados aos grupos coco e milho, os quais não apresentaram diferenças significativas entre si. Os três grupos experimentais apresentaram diferenças significativas em relação ao AG araquidônico (C20:4), sendo que o grupo milho denotou o maior nível e o grupo canola, o menor (Tabela 12).

O grupo alimentado com gordura de coco apresentou um aumento significativo de AGS no fígado, quando comparado aos grupos canola e milho. O grupo canola apresentou um nível de AGS significativamente menor do que os grupos alimentados com gordura de coco e óleo de milho. O nível de AGM no fígado foi significativamente diferente nos três grupos experimentais, sendo que o grupo alimentado com óleo de canola obteve o maior nível e o grupo milho, o menor. O perfil de AGP no tecido hepático foi significativamente maior no grupo alimentado com óleo de milho, quando comparado aos grupos coco e canola. Os grupos alimentados com gordura de coco e óleo de canola não apresentaram diferenças significativas quanto ao nível de AGP (Figura 12 e Tabela 12). O índice de insaturação dos ácidos graxos do fígado foi menor nos ratos alimentados com gordura de coco (131,36) do que nos alimentados com óleos de canola (152,17) e milho (159,88) (Tabela 12).

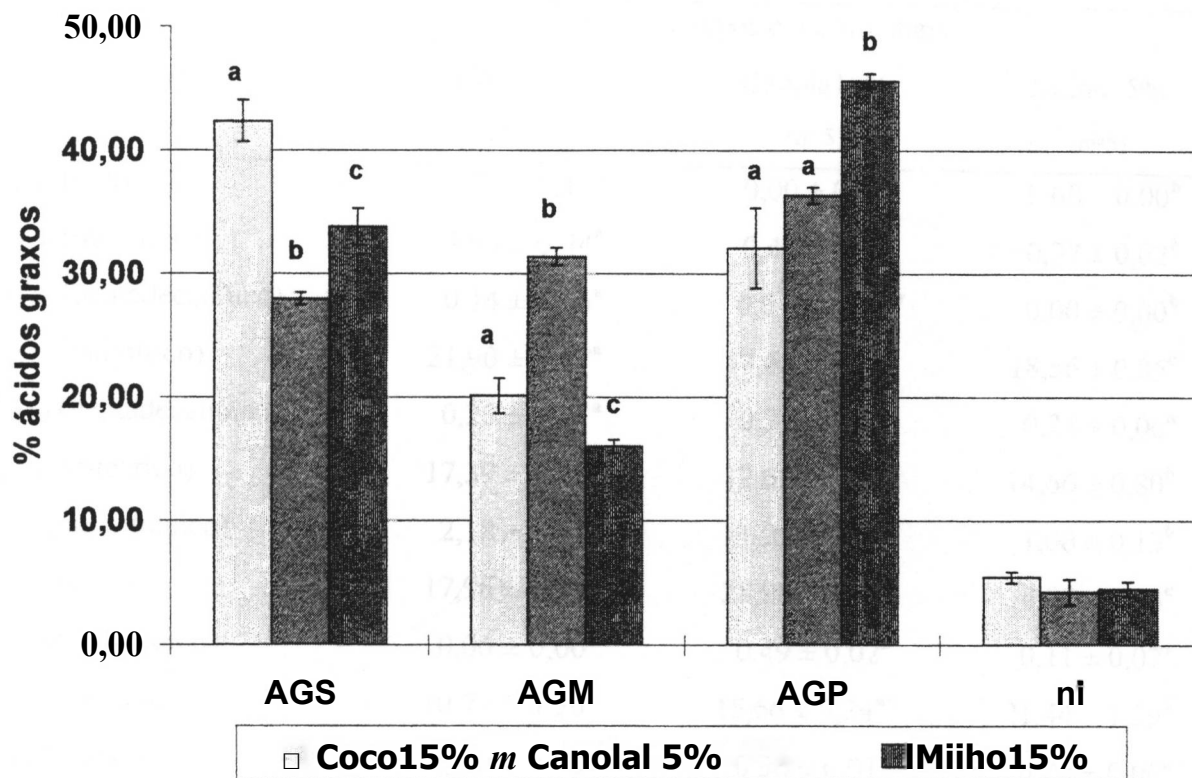


Figura 12 - Composição de AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.. Grupo Cocol5%: n= 5; grupo Canolal5%: n= 5; grupo Milho15%; n= 5. ni; não identificado. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 12 - Medidas das concentrações (%) de AG em fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

%AG	Grupos experimentais		
	Coco 15% (n=5)	Canola 15% (n=5)	Milho 15% (n=5)
C_{12:00} (láurico)	0,73 ±0,15 ^{cc}	0,00 ±0,00^{**}	0,00 ±0,00^{*p}
Ci_{4:00} (mirístico)	1,99 ±0,44 ^{cc}	0,48 ± 0,07 ^{*p}	0,37 ± 0,02^{*p}
Ci_{5:00} (pentadecanóico)	0,14 ±0,05 ^{cc}	0,04 ± 0,04 ^{cc**}	0,00 ± 0,00^{*p}
C_{16:00} (palmítico)	21,90 ±0,67 ^{cc}	14,63 ± 0,22 ^{*p}	18,56 ±0,85[']
Ci_{7:00} (heptadecanóico)	0,20 ±0,01 ^{cc}	0,23 ± 0,06 ^{cc}	0,24 ± 0,06^{cc}
Ci_{8:00} (esteárico)	17,39 ±0,91 ^{cc}	12,62 ± 0,24 ^{*p}	14,66 ± 0,80^{**}
Ci_{6:i} (palmitoléico)	2,18 ±0,39 ^{cc}	1,95 ±0,13 ^{*i}	1,00 ±0,13^{*p}
Ci_{8:i} (oléico)	17,96 ± 1,11 ^{cc}	28,98 ± 0,59 ^{**}	14,97 ± 0,53^{''}
C_{20:i} (eicosanóico)	0,00 ± 0,00 ^{cc}	0,49 ± 0,02 ^{'i}	0,11 ±0,07^{cc}
Ci_{8:2} (linoléico)	10,77 ±3,30 ^{cc}	15,66 ± 0,24 ^{cc''}	21,44 ± 1,29^{*p}
Ci_{8:3} (linolênico)	0,00 ± 0,00^{cc}	0,56 ± 0,01 ^{**}	0,00 ± 0,00^{cc}
C_{20:4} (araquidônico)	19,18 ±0,79 ^{cc}	16,15 ±0,28 ^{''}	22,00 ± 0,94[']
C_{20:5} (eicosapentaenóico)	0,00 ± 0,00 ^{cc}	0,64 ± 0,06 ^{**}	0,10 ±0,10 ^{*p}
Ci_{z:5} (docosapentaenóico)	0,00 ± 0,00^{cc}	0,20 ±0,12 ^{cc}	0,05 ± 0,05^{cc}
C_{22:6} (docosaheptaenóico)	2,16 ±0,22 ^{cc}	3,16 ± 0,72 ^{cc}	2,03 ± 0,13^{cc}
ni	5,41 ± 0,47 ^{cc}	4,23 ± 1,05 ^{cc}	4,49 ± 0,59^{cc}
AGS	42,35 ± 1,68^{cc}	28,00 ±0,51^{*i}	33,82 ± 1,47[']
AGM	20,14 ± 1,42^{cc}	31,41 ± 0,70^{**}	16,07 ± 0,54^{*^}
AGP	32,10 ±3,24^{cc}	36,36 ± 0,66^{cc}	45,62 ± 0,61^{*p}
Índice de insaturação	131,36	152,17	159,88

“”””tm linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-NewTnan-Keuls), Os valores estão expressos como média ±E.P.M., . ni: não identificado.

Os AG láurico (C_{12:0}) e mirístico (C_{14:0}) estiveram em proporções significativamente aumentadas no coração do grupo Coco 15%, quando comparados aos grupos Canola15% e

Milho 15%; entretanto, estes últimos não tiveram diferenças significativas entre si. A concentração de AG pentadecanóico (C15:0), palmítico (C16:0), heptadecanóico (C17:0) e esteárico (C18:0) não apresentaram diferenças significativas entre os corações dos três grupos experimentais (Tabela 13).

O grupo Coco 15% apresentou o nível significativamente maior de AG palmitoléico (C16:1); os grupos Canola 5% e Milho 15% não apresentaram diferenças significativas entre si. Os animais alimentados com óleo de milho apresentaram o menor nível de AG oléico (C18:1), diferença significativa quando comparada aos demais grupos. Os grupos não apresentaram diferenças significativas em relação à concentração do AG eicosanóico (C20:1) (Tabela 13).

Não houve diferenças significativas no nível dos AGP linoléico (C18:2), araquidônico (C20:4) e eicosapentaenóico (C20:5) entre os grupos experimentais. Contudo, os níveis de AGP linolênico (C18:3) e docosahexaenóico (C22:6) foram significativamente maiores nos corações dos ratos alimentados com óleo de canola do que nos grupos Coco 15% e Milho 15%, sendo que estes últimos não apresentaram diferenças significativas entre si. O grupo Milho 15% apresentou o maior nível de AG docosapentaenóico (C22:5) quando comparado aos grupos Coco 5% e Canola 5% que, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 13).

As três dietas testadas não alteraram significativamente o nível de AGS nos homogeneizados de coração. O grupo alimentado com óleo de milho a 15g% apresentou uma significativa diminuição de AGM, quando comparado aos grupos alimentados com gordura de coco a 15g% e óleo de canola a 15g%, que não apresentaram diferenças significativas entre si. O nível de AGP foi significativamente menor no grupo alimentado com gordura de coco do que nos grupos canola e milho. Os grupos canola e milho não apresentaram diferenças significativas, quanto aos AGP (Figura 13 e Tabela 13). O índice de insaturação dos ácidos graxos no tecido cardíaco foi menor nos ratos alimentados com gordura de coco (160,26), seguido pelos alimentados com óleo de milho (178,90) e, por último, o grupo tratado com óleo de canola (189,63) (Tabela 13).

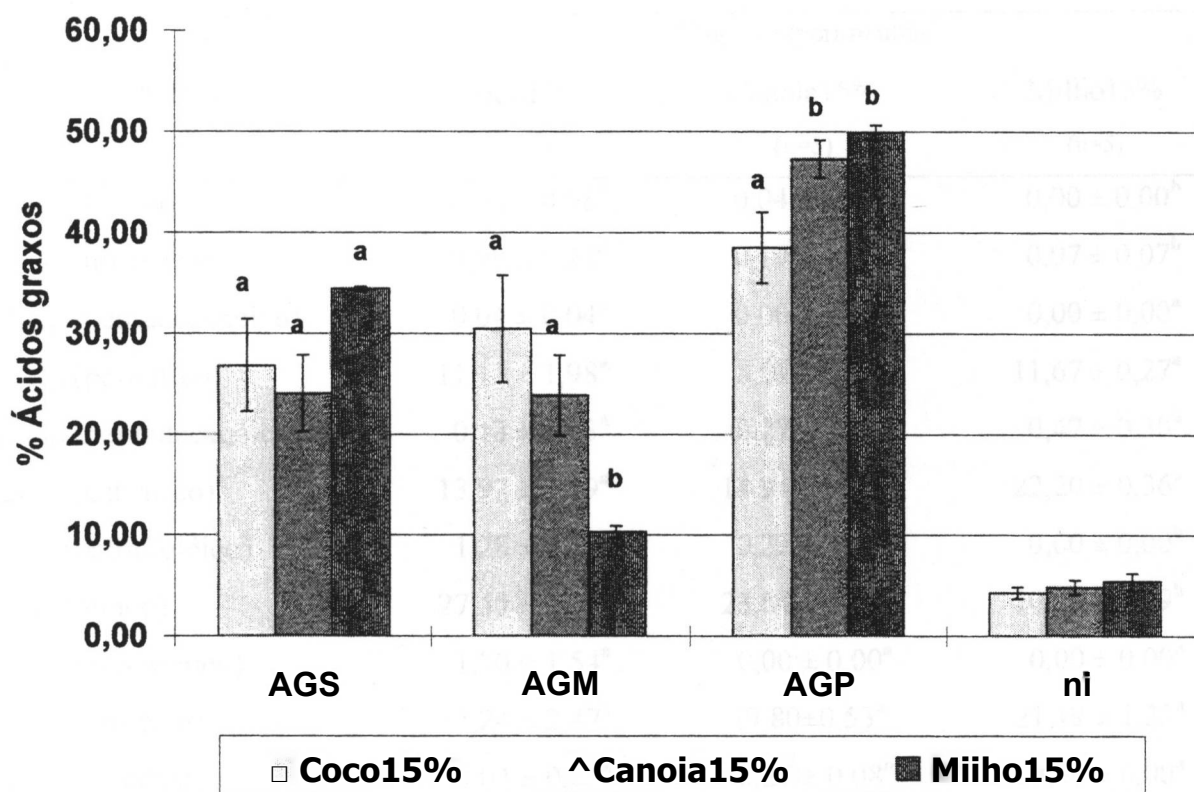


Figura 13 - Composição de AG em corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.. Grupo Coco 15%: n= 5; grupo Canola15%: n= 5; grupo Milho15%: n= 5. ni: não identificado. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 13 - Medidas das concentrações (%) de AG em corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

% AG	Grupos experimentais		
	Coco 15% (n=5)	Canolal 5% (n=5)	Milho15% (n=5)
C _{2:00} (láurico)	0,54 ± 0,08 [“]	0,04 ± 0,04 [”]	0,00 ± 0,00 [”]
C _{4:00} (mirístico)	0,99 ± 0,24 [“]	0,19 ± 0,08 [”]	0,07 ± 0,07 [”]
C _{5:00} (pentadecanóico)	0,04 ± 0,04 [“]	0,00 ± 0,00 [“]	0,00 ± 0,00 [“]
C _{16:00} (palmitico)	11,13 ± 1,98 [“]	8,61 ± 0,65 [“]	11,67 ± 0,27 [“]
C _{17:00} (heptadecanóico)	0,13 ± 0,13 [“]	0,27 ± 0,17 [“]	0,47 ± 0,30 [“]
C _{18:00} (esteárico)	13,97 ± 2,39 [“]	14,94 ± 3,91 [“]	22,20 ± 0,36 [“]
C _{16:1} (palmitoléico)	1,28 ± 0,32 [“]	0,22 ± 0,13 [”]	0,00 ± 0,00 [”]
C _{18:1} (oléico)	27,50 ± 4,18 [“]	23,64 ± 4,06 [“]	10,29 ± 0,59 [”]
C _{20:1} (eicosanóico)	1,70 ± 1,54 [“]	0,00 ± 0,00 [“]	0,00 ± 0,00 [“]
C _{18:2} (linoléico)	15,24 ± 2,47 [“]	19,80 ± 0,53 [“]	21,19 ± 1,23 [“]
C _{18:3} (linolênico)	0,04 ± 0,04 [“]	0,27 ± 0,08 [”]	0,00 ± 0,00 [“]
C _{20:4} (araquidônico)	18,79 ± 2,40 [“]	18,29 ± 0,78 [“]	19,90 ± 0,82 [“]
C _{20:5} (eicosapentaenóico)	0,00 ± 0,00 [“]	0,07 ± 0,07 [“]	0,00 ± 0,00 [“]
C _{22:5} (docosapentaenóico)	2,50 ± 0,86 [“]	1,43 ± 0,17 [“]	6,41 ± 0,45 [”]
C _{22:6} (docosahexaenóico)	1,92 ± 0,55 [“]	7,45 ± 0,51 [”]	2,43 ± 0,67 [“]
ni	4,23 ± 0,56 [“]	4,79 ± 0,68 [“]	5,36 ± 0,87 [“]
AGS	26,80 ± 4,60[“]	24,05 ± 3,84[“]	34,42 ± 0,24[“]
AGM	30,48 ± 5,29[“]	23,86 ± 3,99[“]	10,29 ± 0,59[”]
AGP	38,49 ± 3,54[“]	47,31 ± 1,85[”]	49,93 ± 0,70[”]
^w Índice de insaturação	160,26	189,63	178,90

^{a,b} Em linha, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M.. ni: não identificado.

3.2.2. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g% na LPO do fígado.

A LPO do fígado foi medida através de dois métodos: o teste do TBARS e QL iniciada por r-BOOH. Não houve diferenças significativas entre os três grupos experimentais quanto ao TBARS no homogeneizado de fígado (Figura 14, Tabela 14). Através do método da QL iniciada por r-BOOH, observou-se um significativo aumento da emissão luminosa no homogeneizado de fígado do grupo alimentado com óleo de milho, quando comparado aos grupos alimentados com gordura de coco e óleo de canola. O grupo canola apresentou uma significativa diminuição da QL iniciada por r-BOOH, quando comparado aos grupos coco e milho. Portanto, os três grupos (coco, canola e milho) são significativamente diferentes quanto à emissão máxima da QL iniciada por r-BOOH (Figura 15, Tabela 15).

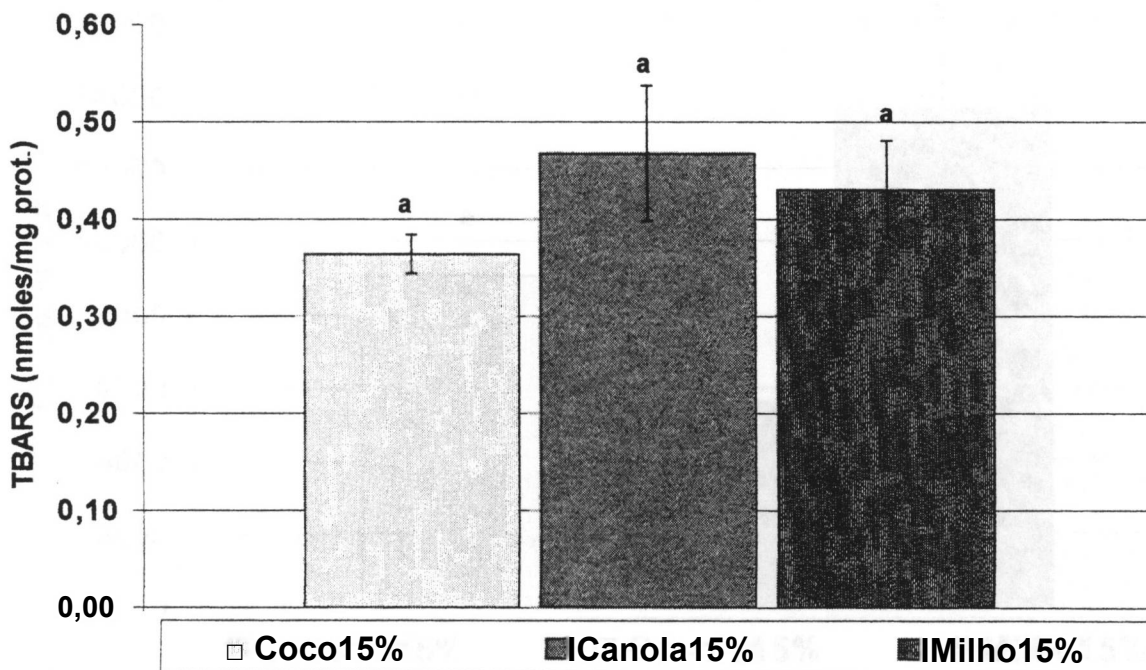


Figura 14 - TBARS (nmoles/mg prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.. Grujx) Cocol5%: n= 10; grupo Canola15%: n= 15; grupo Milho15%: n= 8. OBS: Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 14 - Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	[TBARS] (nmol/mg prot.)
Coco 15% (n=10)	0,36 ± 0,02 ^a
Canola 15% (n=15)	0,47 ± 0,07 ^b
Milho 15% (n=8)	0,43 ± 0,05 ^c

*Em coluna, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos com média ± E.P.M..

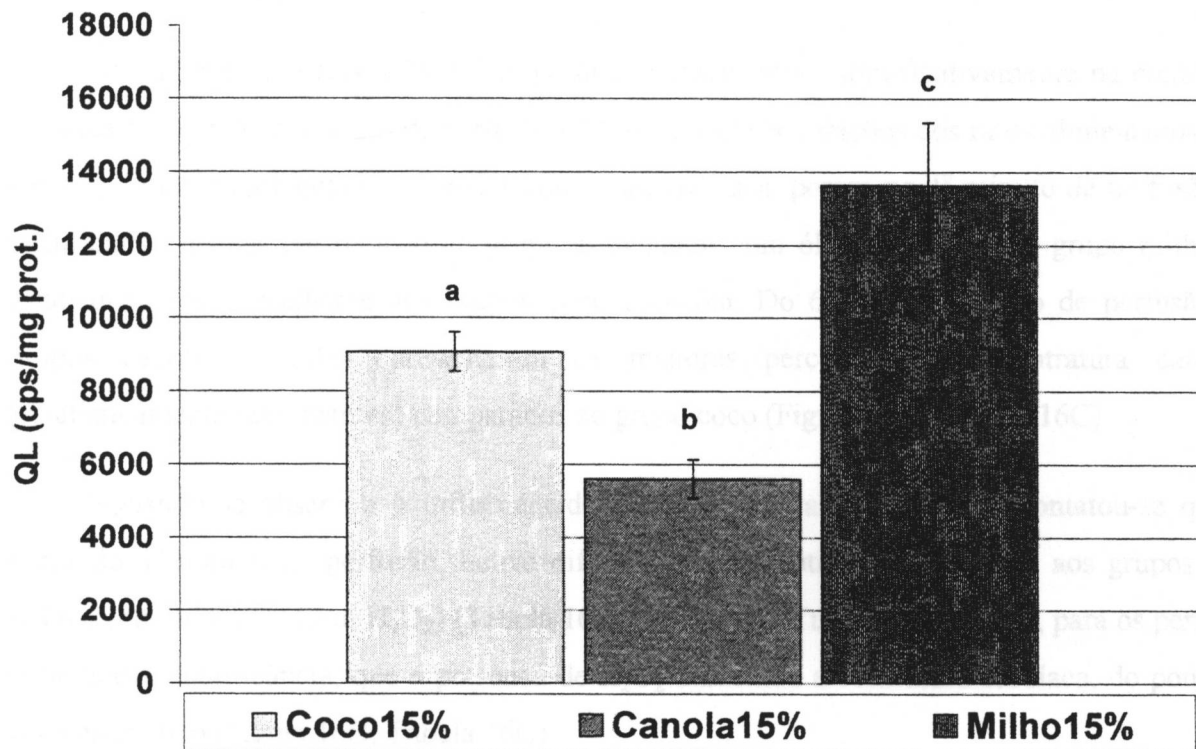


Figura 15 - QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias. Os valores estão expressos como média ± E.P.M.. Grupo Cocol5%; n= 10; grupo Canolal5%: n= 15; grupo Milhol5%: n= 8. OBS; Letras diferentes são significativamente diferentes.

Tabela 15 - Medidas da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de fígados de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	QUIMILUMINESCÊNCIA (cps/mg prot.)
Coco 15% (n=10)	9069 ± 536*
Canola 5% (n=5)	5606 ± 525**
Milho 15% (n=8)	13636 ± 172r

^{a,b,c}Em coluna, valores com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05 - ANOVA/ Teste de Student-Newman-Keuls). Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

3.2.3. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, nos efeitos do H₂O₂; sobre a contratatura e LPO cardíaca.

As diferentes dietas a 15g% de gordura influenciaram significativamente na contratatura cardíaca a partir do 4^o minuto de perfusão (Tabela 16B). Os corações dos ratos alimentados com gordura de coco apresentaram a maior contratatura cardíaca, porém no 4^o minuto de perfusão foi significativo apenas em relação ao grupo alimentado com óleo de canola; o grupo milho foi estatisticamente semelhante aos grupos coco e canola. Do 6^o ao 10^o minuto de perfusão, os grupos canola e milho apresentaram os menores percentuais de contratatura cardíaca (estatisticamente semelhantes) comparados ao grupo coco (Figura 16A; Tabela 16C).

Quando se observou a influência do H₂O₂ na contratatura cardíaca, constatou-se que, a partir do 4^o minuto de perfusão, houve diferenças significativas comparadas aos grupos com H₂O₂ e seus controles (sem H₂O₂) (Tabela 16B). O Teste de Tukey demonstrou, para os períodos onde houve significância, que a presença de H₂O₂ aumentou a contratatura cardíaca, do ponto de vista estatístico (Figura 16B; Tabela 16C).

A relação entre a influência da dieta e a perfusão com H₂O₂, na contratatura do coração, apresentou diferenças estatísticas a partir do 4^o minuto de registro da atividade mecânica (Tabela 16B). No 4^o minuto de perfusão cardíaca, observou-se que os corações perfundidos com H₂O₂ do grupo alimentado com gordura de coco apresentaram um significativo aumento da contratatura cardíaca quando comparados com o grupo canola 5%/H₂O₂ e com todos os grupos não

perfundidos com H₂O₂ (estes não apresentaram diferenças estatísticas entre si); porém, o grupo milho15%*c*/H₂O₂ apresentou igualdade estatística em relação a todos os grupos, com ou sem H₂O₂. Do 6^o ao 10^o minuto de perfusão, a contratatura dos corações perfundidos com H₂O₂ do grupo coco foi significativamente maior do que todos os demais grupos, com ou sem perfusão de H₂O₂, os quais apresentaram semelhanças estatística no 6^o-e 8^o minuto. No 10^o minuto, o grupo alimentado com óleo de milho perfundido com H₂O₂ (2^o maior nível de contratatura) obteve um aumento significativo na contratatura cardíaca quando comparado a todos os grupos sem H₂O₂. A contratatura dos corações com H₂O₂ do grupo canola foi estatisticamente semelhante ao grupo milho com H₂O₂ e ao grupo coco sem perfusão H₂O₂. Apesar disso, os grupos sem H₂O₂ não apresentaram diferenças entre si (Figura 16C; Tabela 16C).

Os resultados referentes à contratatura cardíaca dos animais submetidos à dieta a 15g% de gordura estão também ilustrados na Tabela 16A.

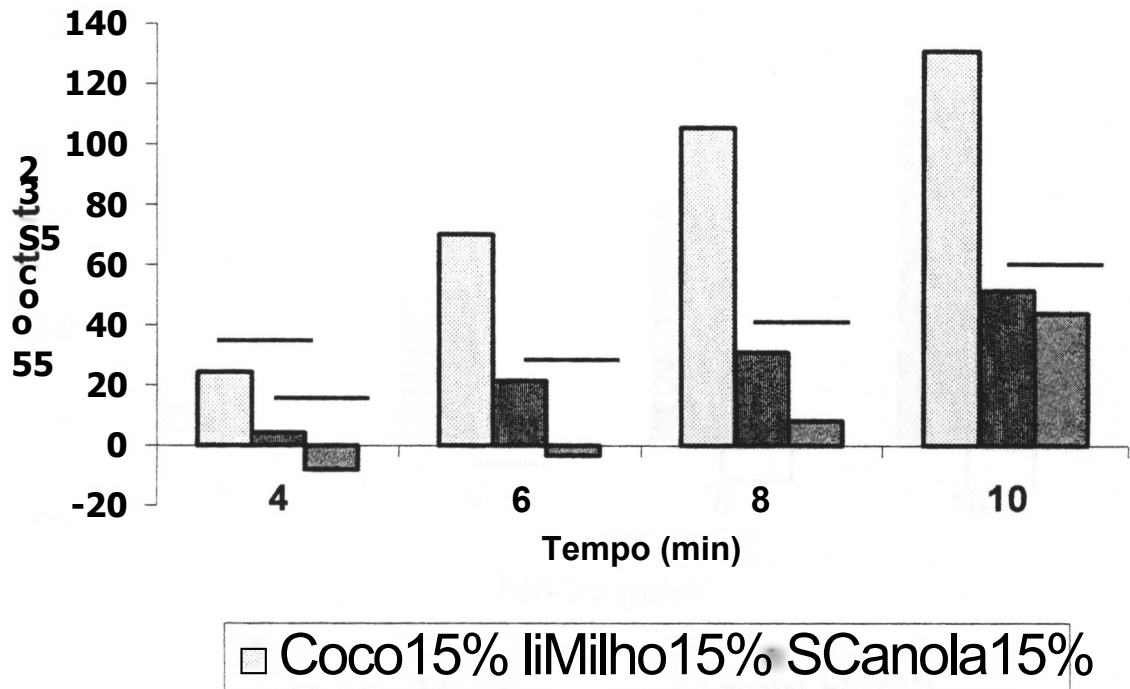


Figura 16A - Variação percentual da contratura cardíaca do 4^o ao 10^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco 15%: n= 11; grupo Milho 15%: n= 12; grupo Canola 15%: n= 14. OBS: As barras horizontais indicam equivalência estatística

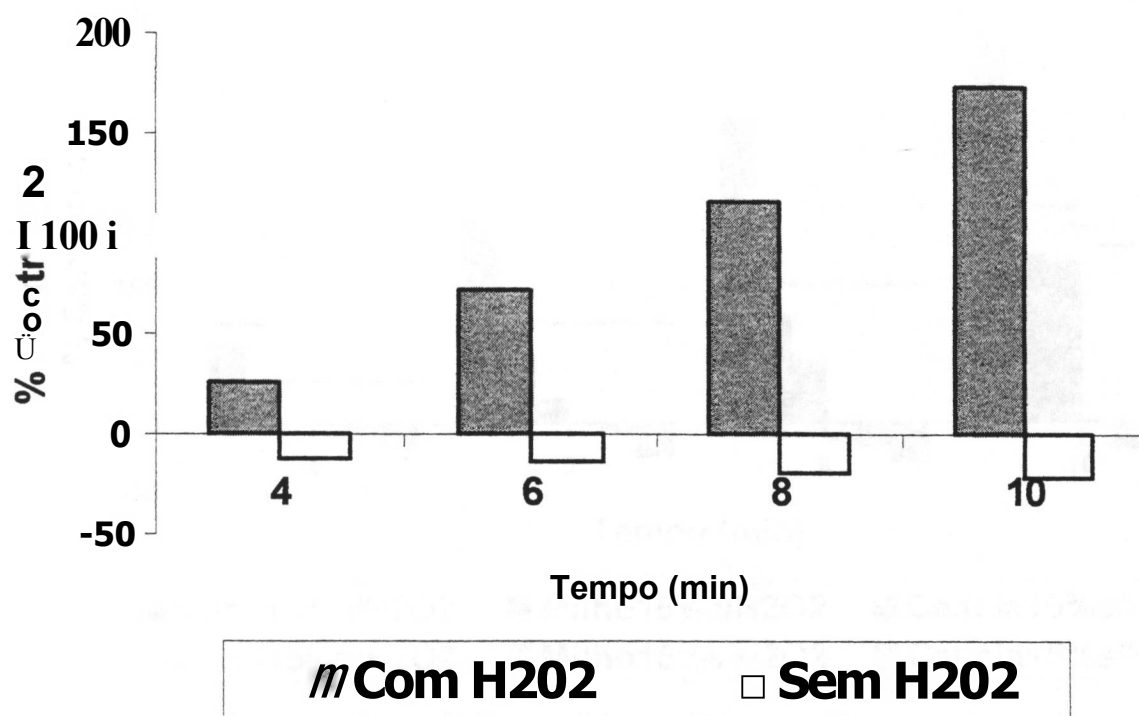


Figura 16B - Variação percentual da contratatura cardíaca do 4^o ao 10^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂; n= 18; grupo sem H₂O₂: n= 19.

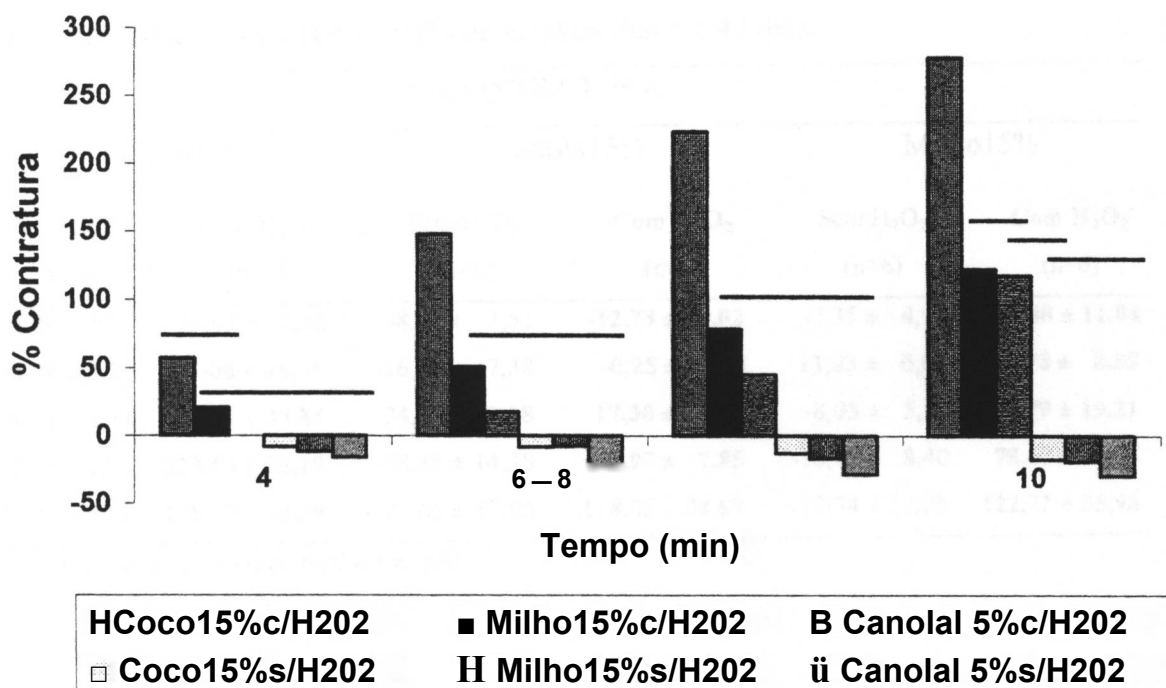


Figura 16C - Variação percentual da contratatura cardíaca do 4^o ao 10^o minuto de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Cocol5%c/H2O2: n= 6; grupo Milho15%c/H2O2: n= 6; grupo Canolal5%c/H2O2: n=6; grupo Cocol5%s/H2O2: n= 5; Grupo Milho 15%s/H2O2: n= 6; Grupo Canolal5%s/H2O2: n= 8. OBS: As barras horizontais indicam equivalência estatística.

Tabela 16A - Medidas das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

% CONTRATURA						
Tempo (min)	Cocol5%		Canolal5%		Milho 15%	
	Sem H ₂ O ₂ (n=5)	Com H ₂ O ₂ (n=6)	Sem H ₂ O ₂ (n=8)	Com H ₂ O ₂ (n=6)	Sem H ₂ O ₂ (n=6)	Com H ₂ O ₂ (n=6)
2	-4,79 ± 2,57	-13,63 ± 12,30	-8,01 ± 3,51	-12,73 ± 10,02	-7,35 ± 4,97	-5,40 ± 11,04
4	-8,48 ± 3,29	57,08 ± 16,91	-16,46 ± 7,38	-0,25 ± 5,23	-11,93 ± 6,08	20,73 ± 8,88
6	-8,39 ± 2,74	148,41 ± 35,84	-24,28 ± 13,18	17,30 ± 7,39	-8,05 ± 5,54	50,79 ± 19,21
8	-12,75 ± 3,74	223,63 ± 53,19	-28,35 ± 14,38	44,97 ± 7,85	-16,75 ± 8,40	78,67 ± 23,45
10	-17,40 ± 4,01	278,99 ± 48,29	-29,65 ± 17,95	118,02 ± 32,68	-19,34 ± 12,86	122,72 ± 35,98

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 16B - Resultados das percentagens da contratura cardíaca pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Tempo (min.)	Dieta	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
2	F= 0,1286 (n-1)	F= 0,3303 (n-1)	F= 0,2080 (n-1)
4	F= 6,2459 (p< 0,0052)	F= 25,3607 (p< 0,0000)	F= 3,6092 (p< 0,0390)
6	F= 8,3185 (p< 0,0012)	F= 33,3349 (p< 0,0000)	F= 5,6126 (p< 0,0083)
8	F= 8,0228 (p< 0,0016)	F= 43,7724 (p< 0,0000)	F= 6,0114 (p< 0,0062)
10	F= 5,0330 (p< 0,0128)	F= 65,4612 (p< 0,0000)	F= 4,1485 (p< 0,0253)

Tabela 16C - Comparações individuais das percentagens de contratura cardíaca nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Tempo min	Dieta Grupos	Média (n)	H2O2 Grupos	Média (n)	Interações dieta/ H2O2		
					Grupos	Média (n)	
4	Coco	24,30(11)	Com	25,85 (18)	Coco15%C/H2O2	57,08 (6)	
	Milho	4,40 (12)	Sem	-12,29 (19)	Milho 15%C/H2O2	20,73 (6)	
					Canolal 5%clRiOi	-0,25 (6)	
	Canola	-8,36(14)				Coco15%S/H2O2	-8,48 (5)
						Milho 15%S/H2O2	-11,93 (6)
						Canola 15 VosLYiOi	-16,46 (8)
	6	Coco	70,01 (11)	Com	72,17(18)	Coco15%C/H2O2	148,41 (6)
Milho		21,37(12)	Sem	-13,58(19)	Milho 15%C/H2O2	50,79 (6)	
					Canolal SVociRiOi	17,30(6)	
Canola		-3,49(14)				Coco15%S/H2O2	-8,39 (5)
						Milho 15%S/H2O2	-8,05 (6)
						Canolal5%S/H2O2	-24,28 (8)
8		Coco	105,44(11)	Com	115,76 (18)	Coco15%C/H2O2	223,63 (6)
	Milho	30,96(12)	Sem	-19,28 (19)	Milho 15%C/H2O2	78,67 (6)	
					Canolal SVodUiOi	44,97 (6)	
	Canola	8,31(14)				Coco15%S/H2O2	-12,75 (5)
						Milho 15%S/H2O2	-16,75 (6)
						Canolal 5%S/H2O2	-28,35 (8)

10	Coco	130,80(11)	Com	173,25 (18)	Coco 15% <i>c</i> /H2O2	278,99 (6)
	Milho	51,69(12)	Sem	-22,13(19)	Milho 1 5% <i>c</i> /H2O2	122,72 (6)
	Canola	44,18(14)			Canola 15 % <i>c</i> /H2O2	118,02 (6)
					Coco15% <i>s</i> /H2O2	-17,40 (5)
					Milho15% <i>s</i> /H2O2	-19,34(6)
					Canola15%<i>s</i>/H2O2	-29,65 (8)

OBS; As barras verticais indicam equivalência estatística.

A composição das gorduras das dietas a 15g% influenciaram no TBARS dos corações (Tabela 17B). A dieta com óleo de canola proporcionou um nível significativamente menor de TBARS, quando comparado ao grupo coco. O grupo milho não apresentou diferenças significativas em relação aos dois grupos experimentais (Figura 17A; Tabela 17C).

Analisando apenas a influência do H2O2, constata-se que o H2O2 aumenta significativamente o TBARS, o que indica a presença do estresse oxidativo (Tabela 17B). O Teste de Tukey demonstrou que a presença de H2O2 aumenta o TBARS, do ponto de vista estatístico (Figura 17B; Tabela 17C).

Não houve diferenças significativas referentes à influência conjunta da dieta e do H2O2 (Tabela 17B).

A Tabela 17A ilustra também os resultados do TBARS.

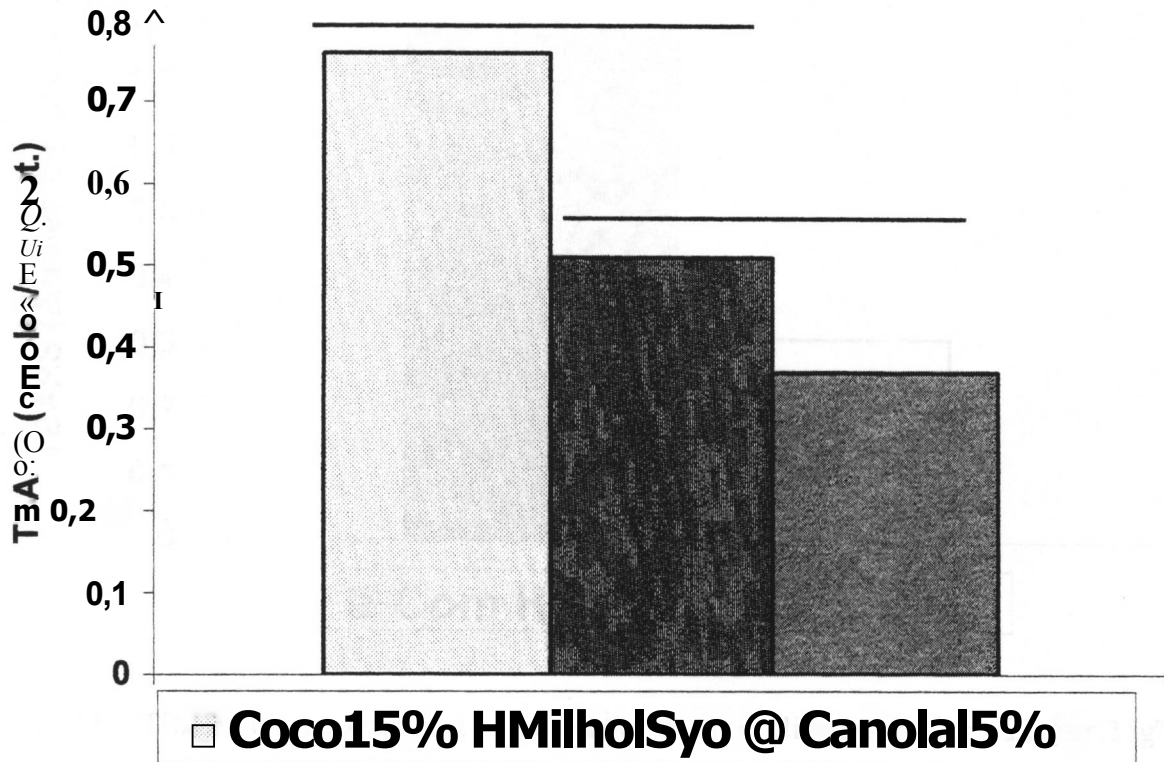


Figura 17A - TBARS (nmoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Cocol5%: n= 18; grupo Milhol5%: n= 12; grupo Canolal5%; n= 16. OBS: As barras horizontais indicam equivalência estatística.

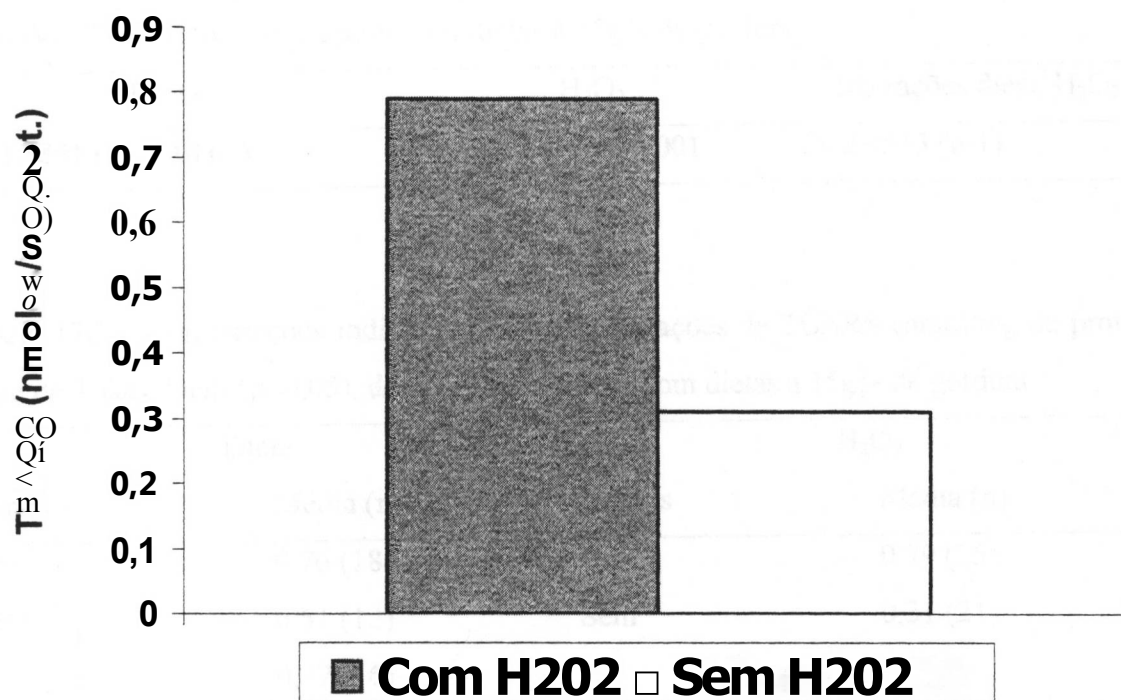


Figura 17B - TBARS (mnoles/mg prot.) de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂: n= 25; grupo sem H₂O₂: n= 21.

Tabela 17A - Medidas das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

Grupos experimentais	[TBARS] (nmol/mg prot.)	
	Sem H ₂ O ₂	Com H ₂ O ₂
Coco 15%	0,35 ± 0,04 (n=6)	1,17 ± 0,20 (n=12)
Canoa 15%	0,26 ± 0,04 (n=9)	0,48 ± 0,03 (n=7)
Milho 15%	0,31 ± 0,01 (n=6)	0,72 ± 0,07 (n=6)

Os valores estão expressos como média ± E.P.M.,

Tabela 17B - Resultados do TBARS pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Dieta	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
F= 4,5891 (p< 0,0161)	F= 18,3224/ p< 0,0001	F= 2,7513 (n-1)

Tabela 17C - Comparações individuais das concentrações de TBARS (nmol/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS (p<0,05), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Grupos	Dieta		H ₂ O ₂	
	Média (n)		Média (n)	
Coco	0,76(18)		Com	0,79(25)
Milho	0,51 (12)		Sem	0,31 (21)
Canola	0,37 (16)			

OBS; As barras verticais indicam equivalência estatística.

No método da QL iniciada por í-BOOH, observou-se uma diminuição significativa da emissão luminosa no grupo canola em relação aos grupos coco e milho. Estes últimos, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas (Figura 18A; Tabela 18B, Tabela 18C).

A QL iniciada por /-BOOH não detectou diferenças significativas relacionadas à ação isolada do H₂O₂ e à influência conjunta da dieta e do H₂O₂ (Tabela 18B).

A Figura 18B, 18C, 18D, 18E, 18F e Tabela 18A ilustram também os resultados da QL iniciada por /-BOOH.

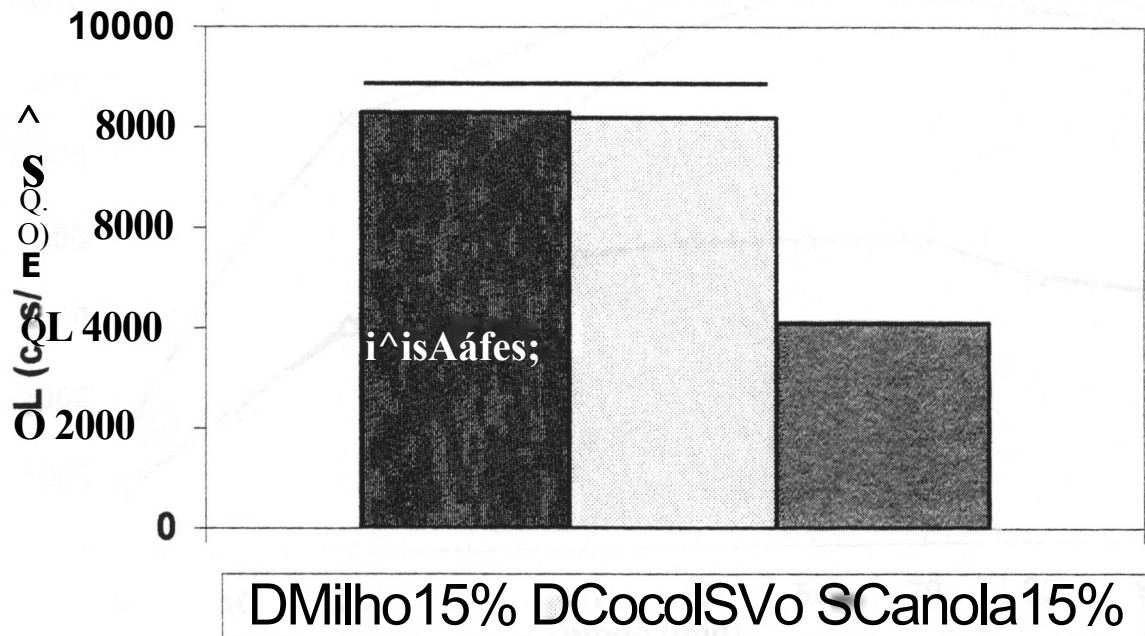


Figura 18A - QL iniciada por r-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Milho15%: n= 12; grupo Cocol5%: n= 18; grupo Canola 5%; n= 15. OBS: A barra horizontal indica equivalência estatística.

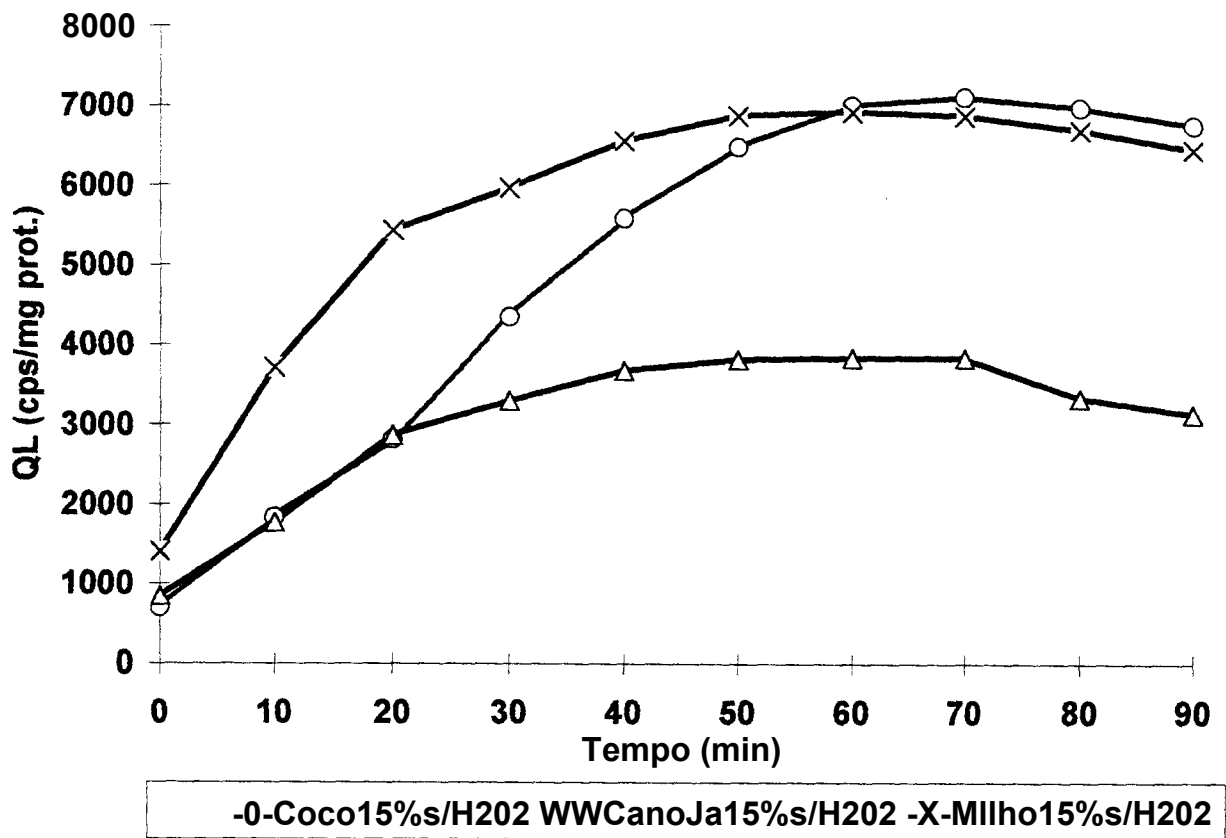


Figura 18B - Perfil da cinética da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Cocol5%/H₂O₂; n= 6; grupo Canolal5%/H₂O₂: n= 8; grupo Milho15%/H₂O₂: n= 6.

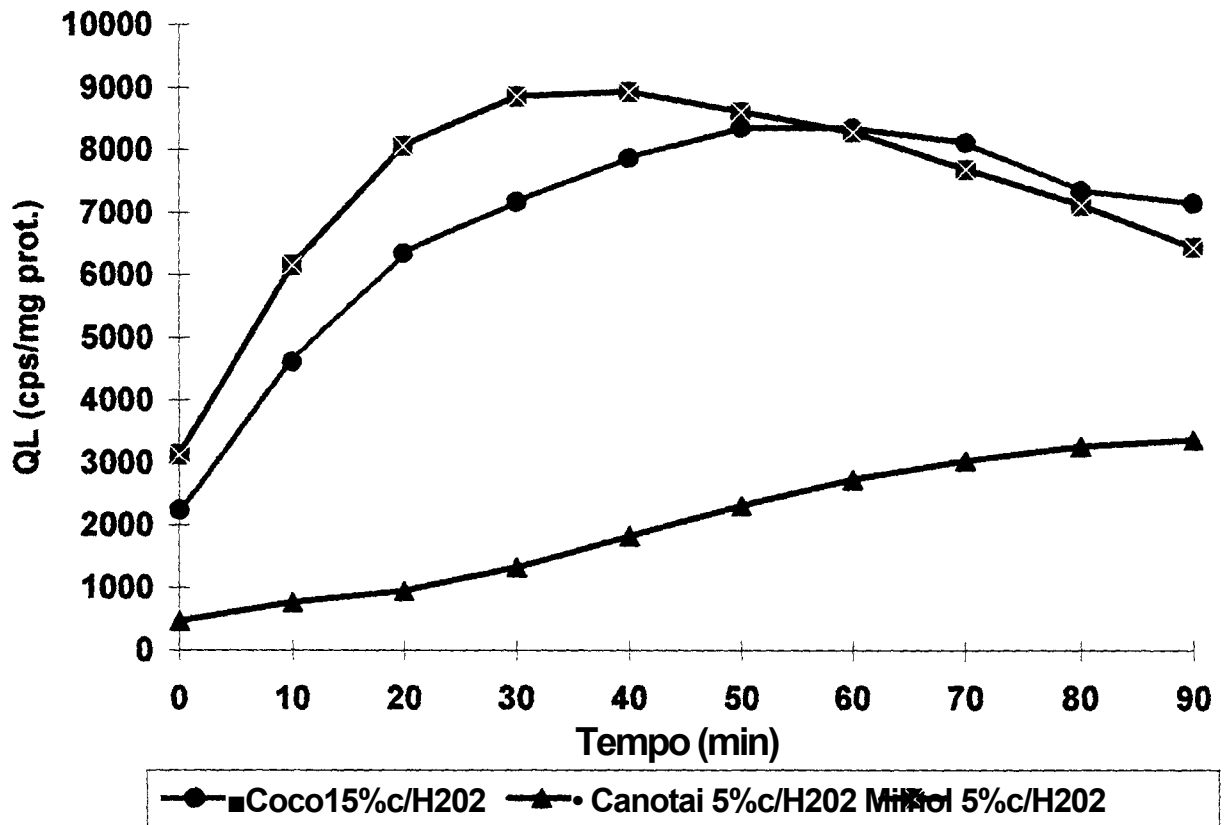


Figura 18C - Perfil da cinética da QL iniciada por r-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, através da perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Cocol5%/H₂O₂: n= 12; grupo Canolal5%/H₂O₂; n= 7; grupo Milhol5%/H₂O₂: n= 6.

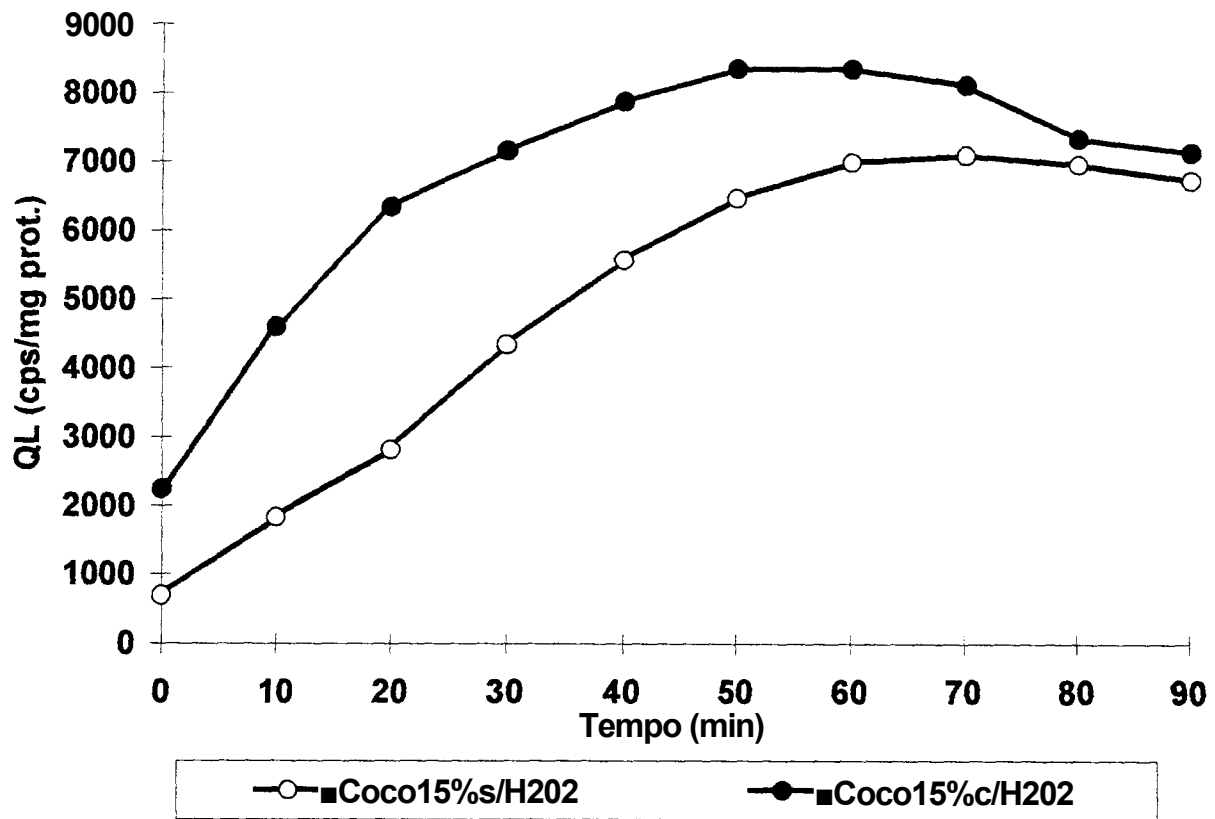


Figura 18D - Perfil da cinética da QL iniciada por i-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de gordura de coco durante 42 dias, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Cocol5% s/H₂O₂; n= 6; grupo Coco15% c/H₂O₂. n= 12.

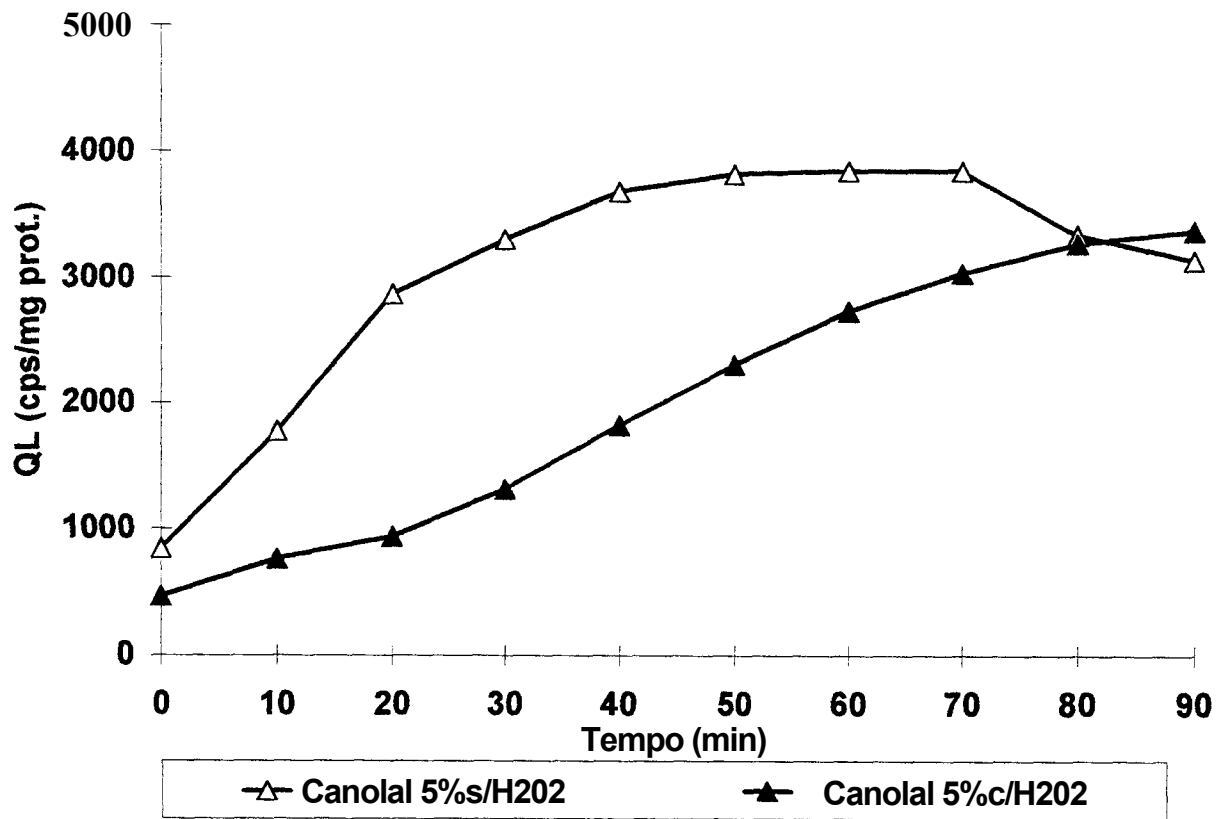


Figura 18E - Perfil da cinética da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de óleo de canola durante 42 dias, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Canola 15% s/H₂O₂: n= 8; grupo Canolal 5% c /H₂O₂: n= 7.

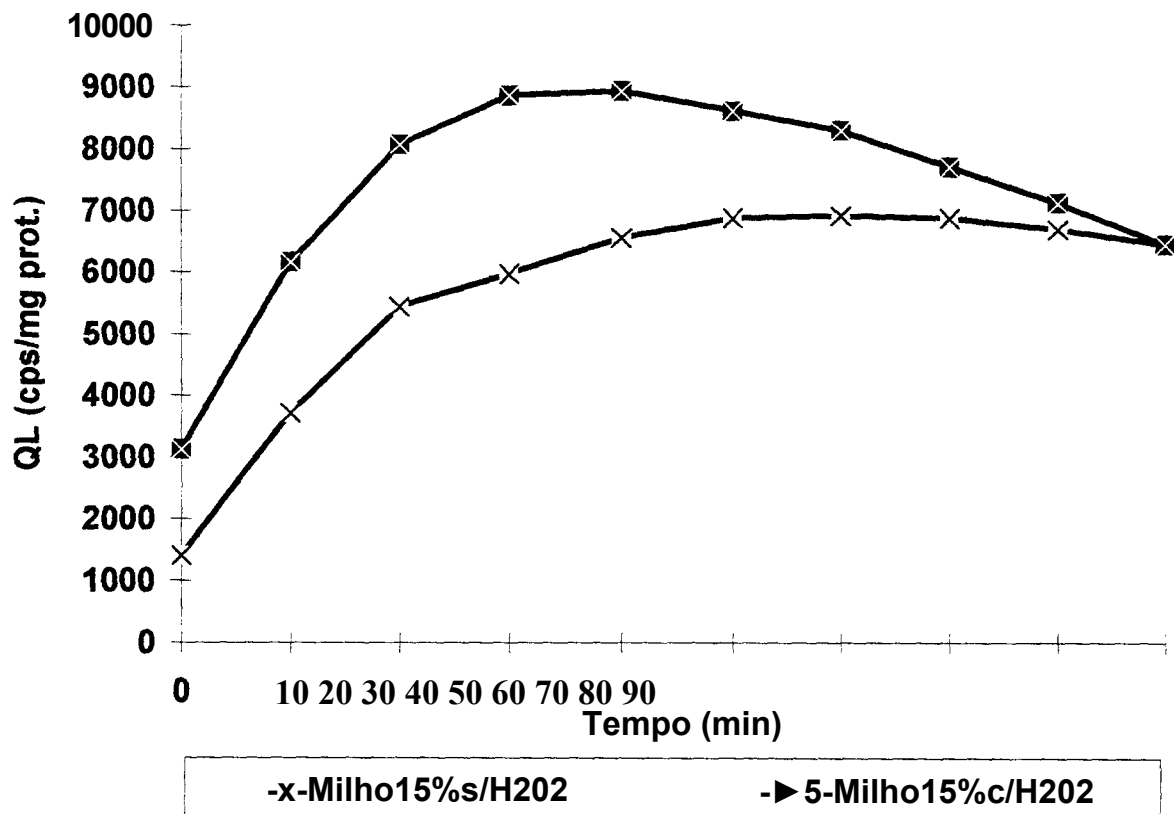


Figura 18F - Perfil da cinética da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg prot.) em homogeneizados cardíacos dos grupos alimentados com dietas a 15g% de óleo de milho durante 42 dias, sem e com perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Milho 15%s/H₂O₂; n= 6; grupo Milho 15%c/H₂O₂; n= 6,

Tabela 18A - Medidas da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) em homogeneizados de corações de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

QUIMELUMINESCÊNCL [^]		
(cps/mg prot.)		
Grupos experimentais	Sem H ₂ O ₂	Com H ₂ O ₂
Côcol5%	7254 ± 824 (n=6)	9105 ± 614 (n=12)
Canolal 5%	4642 ± 652 (n=8)	3566 ± 188 (n=7)
Milhol5%	7586 ± 635 (n=6)	8991 ± 1088 (n=6)

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 18B - Resultados da QL iniciada por í-BOOH pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Dieta	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
F= 22,5780 (p< 0,0000)	F= 1,5230 (n-1)	F= 2,5320 (n-1)

Tabela 18C - Comparações individuais da QL iniciada por í-BOOH (cps/mg de prot.) pelo Teste de Tukey-DHS (p<0,05), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Dieta	
Grupos	Média (n)
Milho	8289(12)
Coco	8180(18)
Canola	4104 (15)

OBS; As barras verticais indicam equivalência estatística.

3.2.4. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, no efeito do H₂O₂ sobre a frequência cardíaca (FC).

Os três diferentes tipos de gordura a 15g% na dieta influenciaram de forma significativa na FC no 8^o e 10^o minuto de perfusão (Tabela 19B). No 8^o minuto de perfusão, ocorria uma maior FC no grupo canola do que no grupo coco e milho; estes, por sua vez, eram significativamente semelhantes. No 10^o minuto, o grupo canola apresentou maior frequência apenas comparado ao grupo coco; o grupo alimentado com óleo de milho era significativamente semelhante ao grupo coco e canola (Figura 19A; Tabela 19C).

Ao comparar os grupos sem H₂O₂ (controle) e com H₂O₂, observou-se que, após o 8^o minuto, a perfusão com H₂O₂ provocou uma diminuição significativamente progressiva da FC (Figura 19B; Tabelas 19B e 19C).

Não observamos diferenças significativas quando comparamos as diferentes dietas a 15g% e sua interação com a perfusão de H₂O₂ (Tabela 19B).

A Tabela 19A ilustra os resultados.

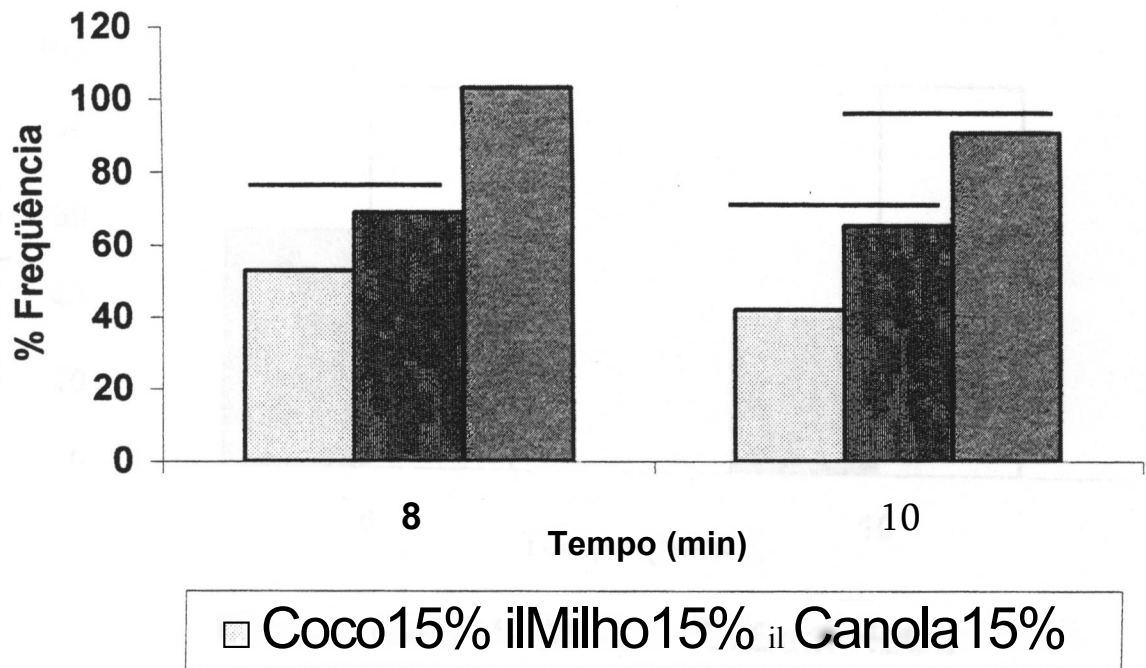


Figura 19A - Variação percentual da frequência cardíaca (FC) do 8^o ao 10^o minuto do estudo de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias. Os valores estão expressos como média. Grupo Cocol5%: n= 11; grupo Milhol5%; n= 12; grupo Canolal5%; n= 14. OBS; As barras horizontais indicam equivalência estatística.

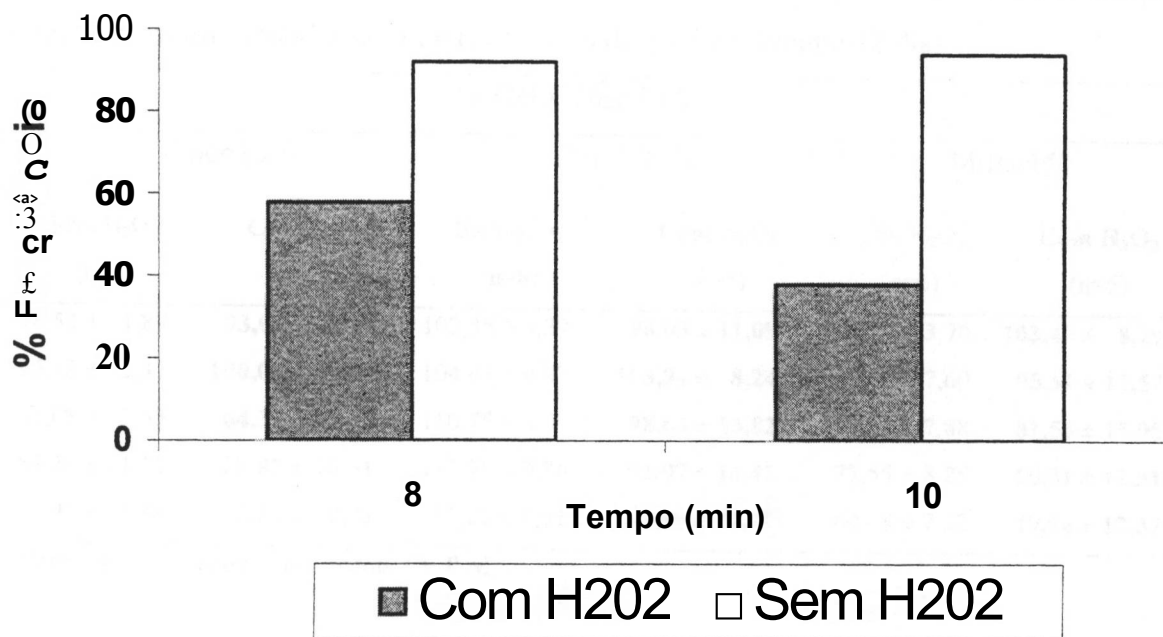


Figura 19B - Variação percentual da frequência cardíaca (FC) do 8^o ao 10^o minuto do estudo de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂; n= 18; grupo sem H₂O₂; n= 19.

Tabela 19A - Medidas das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

% FREQUÊNCIA						
Tempo (min)	Coco 15%		Canola 15%		Milho 15%	
	Sem H ₂ O ₂ (n=5)	Com H ₂ O ₂ (n=6)	Sem H ₂ O ₂ (n=8)	Com H ₂ O ₂ (n=6)	Sem H ₂ O ₂ (n=6)	Com H ₂ O ₂ (n=6)
2	98,53 ± 1,89	93,08 ± 6,14	102,45 ± 4,27	96,03 ± 11,09	91,69 ± 3,70	103,45 ± 8,19
4	96,73 ± 2,37	100,01 ± 4,89	104,48 ± 6,47	103,94 ± 8,24	85,47 ± 7,60	95,31 ± 12,57
6	92,08 ± 3,55	64,32 ± 13,36	110,75 ± 9,90	98,63 ± 13,82	79,18 ± 7,88	81,56 ± 15,95
8	84,66 ± 11,12	20,82 ± 16,51	113,70 ± 9,86	91,97 ± 16,41	77,55 ± 8,25	60,31 ± 12,51
10	83,92 ± 11,84	0,22 ± 0,22	117,02 ± 9,91	63,34 ± 14,70	80,48 ± 7,20	49,96 ± 12,37

Os valores estão expressos como média ± E.P.M..

Tabela 19B - Resultados das percentagens da frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Tempo (min.)	Dieta	H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂
2	F= 0,1275 (n-1)	F= 0,0000 (n-1)	F= 1,1300 (n-1)
4	F= 1,5037 (n-1)	F= 0,3910 (n-1)	F= 0,2140 (n-1)
6	F= 3,0854 (n-1)	F= 1,5797 (n-1)	F= 0,7222 (n-1)
8	F= 7,9596 (p< 0,0016)	F= 10,3781 (p< 0,0030)	F= 1,8376 (n-1)
10	F= 10,0517 (p< 0,0004)	F= 40,3367 (p< 0,0000)	F= 2,8737 (n-1)

Tabela 19C - Comparações individuais das percentagens de frequência cardíaca (FC) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Tempo	Dieta		H ₂ O ₂	
Min	Grupos	Média (n)	Grupos	Média (n)
8	Coco	52,74(11)	Com	57,70 (18)
	Milho	68,93 (12)	Sem	91,97(19)
	Canola	102,83 (14)		
10	Coco	42,07(11)	Com	37,84 (18)
	Milho	65,22(12)	Sem	93,80(19)
	Canola	90,18(14)		

OBS; As barras verticais indicam equivalência estatística.

3.2.5. Influência das dietas com gordura de coco, óleo de canola e óleo de milho a 15g%, no efeito do H₂O₂ sobre a pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP).

Os três diferentes tipos de gordura a 15g% na dieta não influenciaram de forma significativa na AP em qualquer tempo do estudo (Tabela 20B).

Observou-se que ocorre um aumento significativo da AP no 2º minuto quando os corações são submetidos à perfusão com H₂O₂. A partir do 4º minuto os corações perfundidos com H₂O₂ apresentam uma diminuição significativamente progressiva da AP (Figura 20A; Tabelas 20B e 20C).

Observaram-se diferenças significativas quanto à AP, ao serem comparadas as diferentes dietas e sua interação com a perfusão de H₂O₂ a partir do 4º minuto (Tabela 20B). Os corações perfundidos com H₂O₂ do grupo alimentado com gordura de coco a 15g% apresentaram a menor AP no 4º minuto, comparados aos corações com H₂O₂ do grupo alimentado com óleo de canola e também com os grupos perfundidos apenas com Tyrode, porém não apresentaram diferenças

significativas em relação aos corações perfundidos com H₂O₂, alimentados com óleo de milho. O grupo milho 15%*c*/H₂O₂, por sua vez, além de não apresentar diferenças significativas com o grupo Coco15%*c*/H₂O₂, também não denotou diferenças significativas com os grupos canola15%*c*/H₂O₂ e canola 5%*s*/H₂O₂. Os corações perfundidos com H₂O₂, do grupo canola e todos os grupos sem H₂O₂, apresentaram semelhanças estatísticas entre si. No 6^o minuto todos os grupos perfundidos com H₂O₂ apresentaram diminuição significativa da AP se comparados aos corações sem H₂O₂ dos grupos coco e milho (portanto os maiores valores de AP); porém, os grupos canola sem e com H₂O₂ foram estatisticamente semelhantes. No 8^o e 10^o minuto, os grupos com H₂O₂ (semelhantes estatisticamente entre si) apresentaram valores significativamente menores de AP do que os grupos sem perfusão de H₂O₂ (semelhantes estatisticamente entre si) (Figura 20B; Tabela 20C).

A Tabela 20A ilustra os resultados.

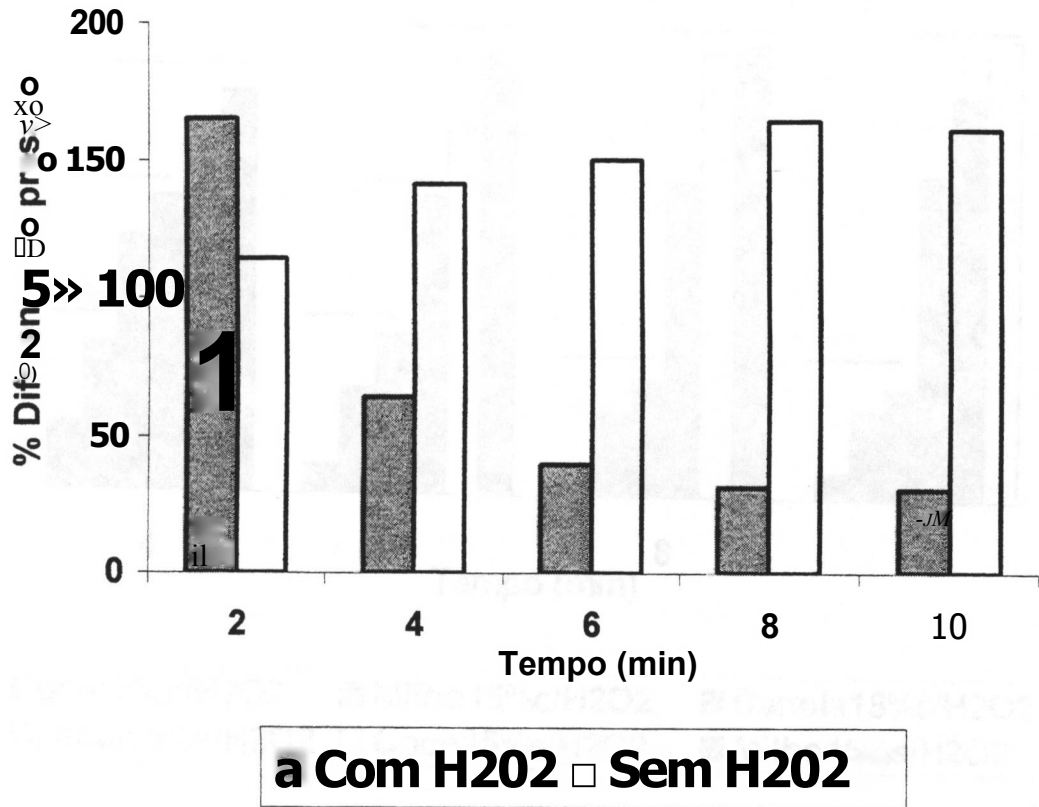


Figura 20A - Variação percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) do 2^o ao 10^o minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo com H₂O₂: n= 18; grupo sem H₂O₂; n= 19.

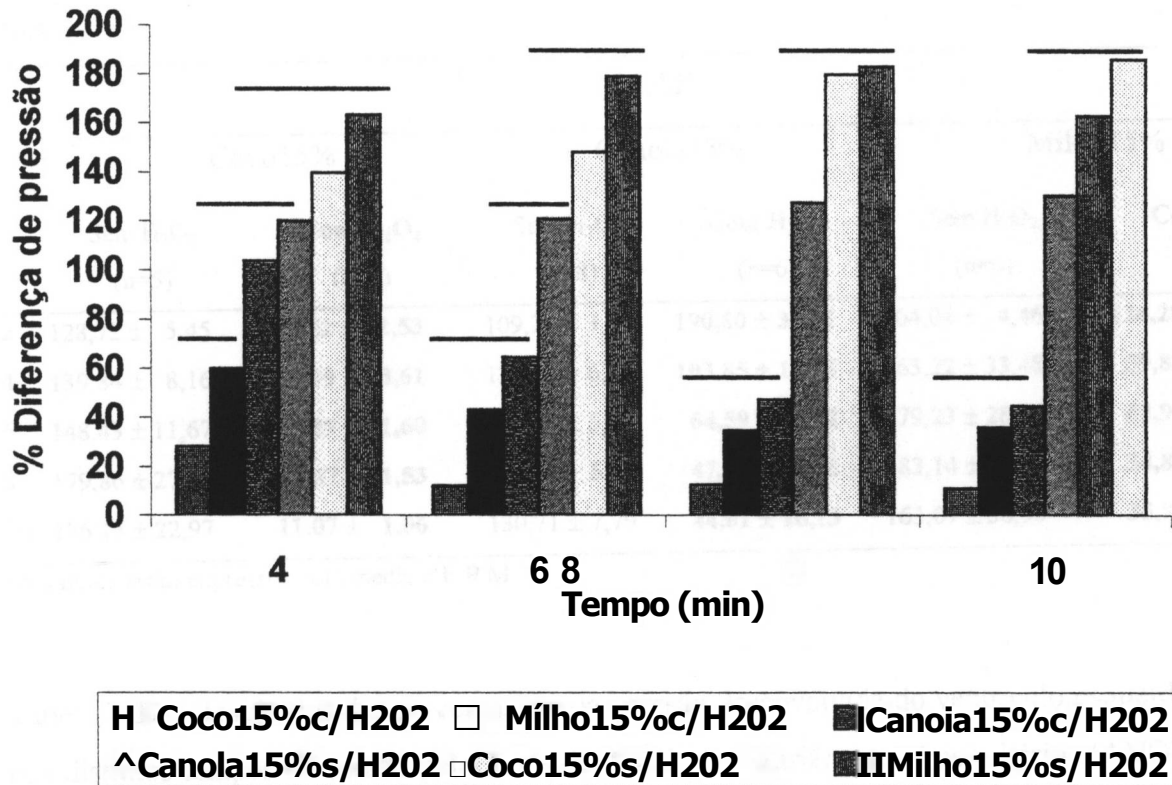


Figura 20B - Variação percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) do 4^o ao 10^o minuto do estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gorduras de coco, canola e milho durante 42 dias, com e sem perfusão de H₂O₂. Os valores estão expressos como média. Grupo Coco15%c/H2O2; n= 6; grupo Milho15%c/H2O2: n= 6; grupo Canola15%c/H2O2: n=6; grupo Canola15%os/H2O2: n= 8; grupo Cocol5%os/H2O2; n= 5; grupo Milho 15%os/H2O2: n= 6. OBS; As barras horizontais indicam equivalência estatística.

Tabela 20A - Medidas das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo, de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura durante 42 dias.

%AP						
Tempo (min)	Coco 15%		Canola 15%		Milho 15%	
	Sem H2O2 (n=5)	Coin H2O2 (n=6)	Sem H2O2 (n=8)	Com H2O2 (n=6)	Sem H2O2 (n=6)	Com H2O2 (n=6)
2	128,72 ± 5,45	178,52 ± 122,53	109,38 ± 13,20	190,60 ± 30,81	104,04 ± 4,46	126,28 ± 33,86
4	139,84 ± 8,16	28,09 ± 3,61	120,04 ± 6,40	103,85 ± 113,98	163,22 ± 33,48	59,89 ± 7,98
6	148,43 ± 111,67	11,89 ± 1,60	121,15 ± 15,29	64,59 ± 19,12	179,23 ± 128,81	42,98 ± 11,02
8	179,86 ± 27,39	12,57 ± 1,53	127,71 ± 15,35	47,27 ± 115,95	183,14 ± 117,61	34,82 ± 12,01
10	186,15 ± 122,97	11,07 ± 1,06	130,71 ± 17,79	44,61 ± 116,13	163,07 ± 130,93	35,94 ± 113,75

Os valores estão expressos com média ± E.P.M.

Tabela 20B - Resultados das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Análise de Variância a dois critérios (ANOVA 2), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Tempo (min.)	Dieta	H2O2	Interações dieta/ H2O2
2	F= 2,0945 (n-1)	F= 9,1924 (p< 0,0049)	F= 1,0857 (n-1)
4	F= 2,0201 (n-1)	F= 36,8180 (p< 0,0000)	F= 6,1161 (p< 0,0058)
6	F= 1,9697 (n-1)	F= 77,2791 (p< 0,0000)	F= 4,8277 (p< 0,0150)
8	F= 1,2126 (n-1)	F= 129,2412 (p< 0,0000)	F= 5,3931 (p< 0,0098)
10	F= 0,3102 (n-1)	F= 83,9414 (p< 0,0000)	F= 3,3209 (p< 0,0493)

Tabela 20C - Comparações individuais das percentagens da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (AP) nos distintos tempos de estudo pelo Teste de Tukey-DHS ($p < 0,05$), de ratos alimentados com dietas a 15g% de gordura.

Tempo		H ₂ O ₂	Interações dieta/ H ₂ O ₂	
Min	Grupos	Média (n)	Grupos	Média (n)
2	Com	165,13(18)		
	Sem	114,05(19)		
4	Com	63,94(18)	COCO15% <i>c</i> /H2O2	28,09 (6)
	Sem	141,04(19)	Milho 15% <i>c</i> /H2O2	59,89 (6)
			Canola 1 <i>SVociRiOi</i>	103,85(6)
			Canolal 5% <i>s</i> /H2O2	120,04 (8)
			COCO15% <i>s</i> /H2O2	139,84 (5)
			Milhol5% <i>s</i> /H2O2	163,22 (6)
6	Com	39,82(18)	COCO15% <i>c</i> /H2O2	11,89 (6)
	Sem	149,60 (19)	Milho 15% <i>c</i> /H2O2	42,98 (6)
			Canola 1 <i>SVociHiOi</i>	64,59 (6)
			Canolal 5% <i>s</i> /H2O2	121,15(8)
			COCO15% <i>s</i> /H2O2	148,43 (5)
			Milho 15% <i>s</i> /H2O2	179,23 (6)
8	Com	31,55(18)	COCO15% <i>c</i> /H2O2	12,57(6)
	Sem	163,57(19)	Milhol5% <i>c</i> /H2O2	34,82 (6)
			Canola 15% <i>c</i> /H2O2	47,27(6)
			Canola 15% <i>s</i> /H2O2	127,71 (8)
			COCO15% <i>s</i> /H2O2	179,86 (5)
			Milho 15% <i>s</i> /H2O2	183,14(6)

10	Com	30,54 (18)	Coco15%C/H202	11,07(6)	
	Sem	159,98(19)	Milho 15%C/H202	35,94 (6)	
			Canola 1 5%C/H202	44,61 (6)	
			Canola 15%S/H202	130,71 (8)	
			Milhol 5%S/H202	163,07 (6)	
			Coco15%S/H202	186,15(5)	

OBS; Os espaços vazios e as barras verticais indicam equivalência estatística.

4. DISCUSSÃO

o metabolismo oxidativo dos ácidos graxos polinsaturados (AGP) é importante por cumprir papéis essenciais na membrana celular, no metabolismo energético e na geração dos eicosanóides, como as prostaglandinas (PGs), tromboxanas (TXs), leucotrienos (LTs) e lipoxigenases (LXs). Entretanto, a peroxidação dos AGP podem levar à formação de produtos que são nocivos, potencialmente destrutivos do tecido, e podem estar associados à progressão de uma variedade de doenças (CUNNANE, 1994). Estudos sugerem que os AGP da série ômega 3 (n-3), presentes nos peixes e nos óleos de peixe, podem ter influencia benéfica nas doenças vasculares. Um dos mais importantes mecanismos da relação inversa entre os óleos de peixe ou entre os AGP (n-3) e as doenças cardiovasculares é o efeito dos n-3 sobre o metabolismo dos eicosanóides, resultando maior vasodilatação, reduzindo a pressão sanguínea (SALONEN, 1991).

As mudanças na formação de eicosanóides, pela alteração das taxas de AGP (n-6) (ômega 6) e (n-3) na dieta, têm sido objeto de interesse desde décadas passadas. Estas alterações têm sido sugeridas como tratamento de doenças envolvendo inflamação crônica (CUNNANE, 1994).

A partir de 1964, os ácidos polienóicos foram identificados como sendo os precursores dos eicosanóides. Estes ácidos eram o homo- γ -linolênico, ácido araquidônico (AA) e os eicosapentaenóicos (EPA), que contêm 3,4 e 5 duplas ligações, respectivamente. O AA é o mais abundante destes ácidos polienóicos e é encontrado em todas as membranas celulares, onde é esterificado em duas posições nos fosfolipídios. É prontamente liberado dos fosfolipídios sob estimulação das fosfolipase A2 e fosfolipase C. O AA é reciclado ou submetido à oxigenação. Uma vez livre, se não for reciclado, é rapidamente metabolizado através de 3 vias, denominadas; citocromo P-450 monoxigenase, lipoxigenase e cicloxigenase. Produtos formados através da via

da cicloxigenase são os prostanóides, denominados PGI₂ (prostaciclina), prostaglandinas E₂ (PGE₂), D₂ (PGD₂), F₂ (PGF₂) e tromboxanas A₂ (TXA₂). A via da lipoxigenase produz os LTs e diferentes tipos de ácidos hidroxi-eicosatetraenóico (5, 8, 12 e 15 HETEs) (Figura VII). Ambas as vias produzem O₂" (FOEGH et al., 1990).

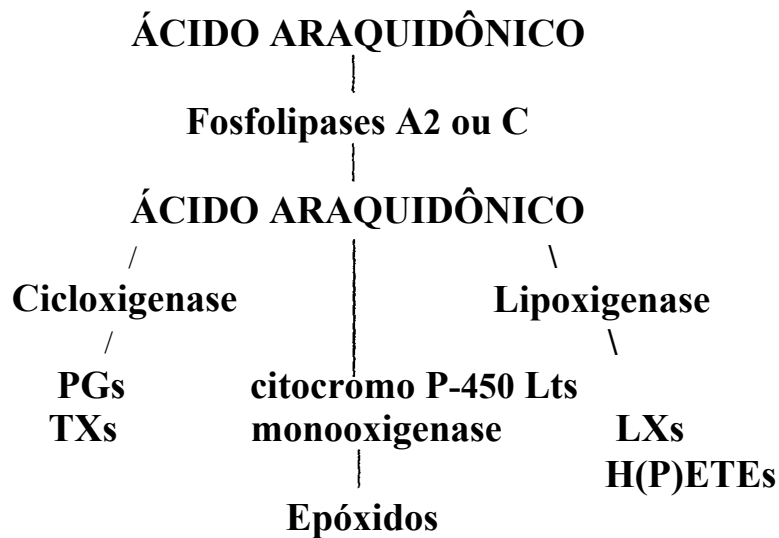


Figura VII - Vias metabólicas do ácido araquidônico. PGs, prostaglandinas; TXs, tomboxanas; Lts, leucotrienos; LXs, lipoxigenases; H(P)ETEs, ácidos hidroxi(peroxi)eicosatetraenóicos (FOEGH et al., 1990).

O O₂' " formado pela conversão da prostaglandina G₂ (PGG₂) para prostaglandina H₂ (PGH₂) foi considerado por Kuehl et al., em 1977, estar envolvido na inflamação (Figura VIII). A 3^a via é a citocromo P-450 monooxigenase na qual são formados epóxidos biologicamente ativos. Os produtos desta via importante são comumente identificados e caracterizados biologicamente como seus produtos hidróxi (Figura VII) (FOEGH et al., 1990).

O fator de ativação plaquetária (PAF) também tem sido relacionado ao metabolismo do AA. O PAF não é um eicosanóide, mas ele estimula a liberação do AA. O PAF e os eicosanóides constituem os maiores mediadores lipídicos na resposta inflamatória imune. Os maiores efeitos dos eicosanóides e do PAF são; (1) A PGI₂, PGE₂ e PGD₂ inibem a resposta inflamatória, são vasodilatadores e inibem a agregação plaquetária; (2) A PGF₂ não tem papel na resposta inflamatória, mas é um vasoconstrictor, embora não seja potente como a TXA₂; (3) A TXA₂, o PAF, o leucotrieno B₄ e o peptídeo leucotrieno C₄ e D₄, todos aumentam a resposta inflamatória;

(4) A TXA₂ não é somente um potente vasoconstrictor, mas também uma substância poderosa na agregação plaquetária; (5) O PAF e os leucotrienos aumentam a permeabilidade vascular e ambos são vasodilatadores ou vasoconstrictores, dependendo do tipo de vaso (FOEGH et al., 1990).

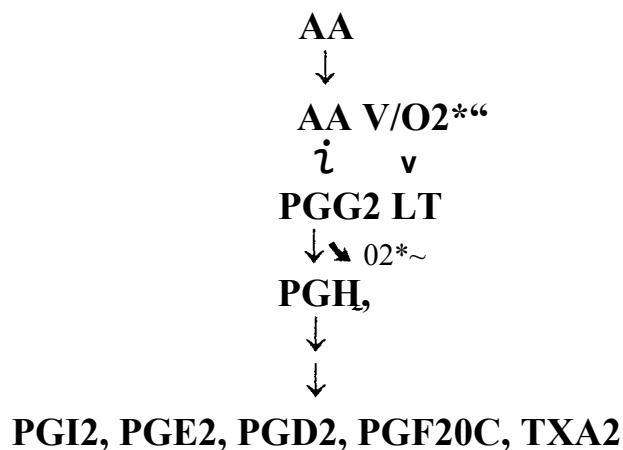


Figura VIII- Formação do radical livre de oxigênio nas vias da cicloxigenase e lipoxigenase do metabolismo do AA (FOEGH et al., 1990).

Dietas enriquecidas com ácidos graxos insaturados (AGI) têm sido indicadas, primariamente, para obter efeitos benéficos nas doenças cardiovasculares (WALSH, 1998). Estudos epidemiológicos têm mostrado uma prevalência muito menor de aterosclerose e doença coronariana em esquimós da Groenlândia e na população ártica do que na população ocidental. Tem sido sugerido que a composição de alimentos consumidos pelas diferentes populações pode ser responsável pelas diferenças na prevalência destas doenças (FOEGH et al., 1990; MEHTA et al., 1987). O principal alimento consumido pela população ártica é o peixe de água fria e profunda; entre os peixes mais populares estão o salmão, a sardinha e o atum (LEVINE, 1997). A carne vermelha e laticínios correspondem apenas a uma pequena porção da dieta total destes povos. Em contraste, os principais constituintes dietéticos das populações ocidentais são as carnes vermelhas e os laticínios (MEHTA et al., 1987).

Um dos mecanismos sugeridos para o efeito benéfico do EPA seria dado em função dos diferentes prostanóides formados a partir deste substrato quando comparados aos derivados do AA (LEE et al., 1992). O EPA produz PGI₃ e TXA₃. A TXA₃ é biologicamente inativa, diferente da TXA₂, que é uma substância com potente efeito de agregação plaquetária e vasoconstrictora.

enquanto a PGI₃ atua como a PGI₂ na prevenção da agregação plaquetária e causa vasodilatação (Figura IX) (FOEGH et al, 1990). Porém, há autores que não concordam com tal afirmação e demonstraram que a PGI₃ tem propriedades antiagregantes e vasodilatadoras menos potentes do que a PGI₂ (KNAPP et al., 1986).

DIETA

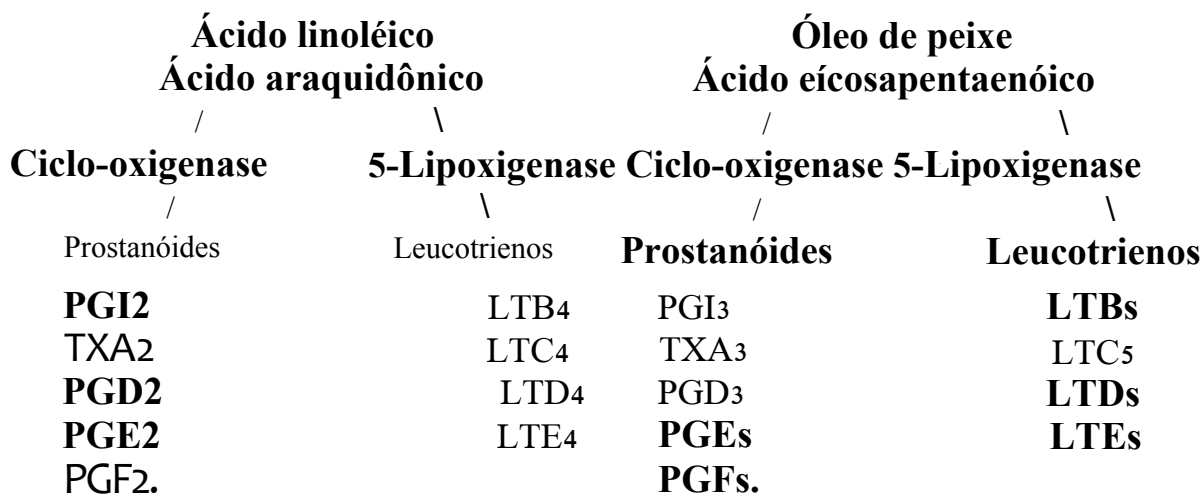


Figura IX- Ácido araquidônico e ácido eicosapentaenóico (FOEGH et al, 1990).

Em estudos de suplementação dietética com óleo de peixe em voluntários normais, tem sido geralmente relatado pequeno ou nenhum efeito sobre a função plaquetária. A conclusão de muitos estudos é que maiores doses de EPA (10g/dia) são necessárias para afetar a formação de TXs e PGI₂ e menores doses (1 g/dia) não afetam a síntese de TXs ou a função plaquetária (KNAPP et al., 1986).

Entretanto, o efeito a longo prazo, nestes pacientes que consomem óleo de peixe, é uma elevação concomitante de LDL colesterol. Além disso, ocorre um aumento de AGI na membrana celular e de LDL colesterol, podendo elevar a peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica pode aumentar a incidência de aterosclerose bem como de processos carcinogênicos (FOEGH et al., 1990).

Uma alternativa é o consumo de gordura saturada (AGS), que tem menor potencial de oxidação, mas, por outro lado, a sua ingestão está sendo reduzida devido ao seu efeito hipercolesterolêmico e aterogênico. Outra alternativa são os óleos vegetais hidrogenados. Este processo aperfeiçoa funcionalmente as gorduras e reduz os AGP, diminuindo, portanto, a

formação de radicais livres (RL) e a oxidação de lipídios. Entretanto, a hidrogenação também produz aumento dos ácidos graxos (AG) *trans* quando comparados a sua forma *cis*. Tem sido sugerido que os AG *trans* podem ter efeitos prejudiciais à saúde, sendo que este fato ainda exige comprovação (FINLEY & OTTERBURN, 1993).

No passado, as recomendações dietéticas sugeriam a substituição dos AGS excedentes por AGP. Mas a substituição por ácidos graxos monoinsaturados (AGM) pode também baixar os níveis de LDL colesterol (MATA et al, 1996). Observa-se que, populações que consomem grandes quantidades de óleo de oliva (rico em AGM), apresentam nível de lipoperoxidação (LPO) plasmático reduzido e baixa incidência de doença isquêmica do coração, apesar de que isto possa ser explicado também pelo alto consumo de vitamina E e P-caroteno, através da elevada ingestão de óleo de oliva e tomate fresco, respectivamente (PARFITT et al., 1994).

Portanto, os fatores dietéticos podem alterar o metabolismo do organismo vivo, inclusive observa-se que, a quantidade de gordura e a composição de AG da dieta, afetam os constituintes da membrana celular num curto espaço de tempo (GOWER, 1988). No nosso estudo, as mudanças na composição dos AG do tecido hepático foram diretamente relacionadas as suas respectivas fontes alimentares em AG (Figuras 2 e 12; Tabelas 2 e 12); o mesmo não ocorreu com o tecido cardíaco, apesar de ter havido uma tendência semelhante do perfil de AG observado no fígado (Figuras 3 e 13; Tabelas 3 e 13). Estudos concluem que a composição em AG da dieta modificam sensivelmente a composição dos AG dos tecidos, como fígado (HAMMER & WILLS, 1978), intestino (TURINI et al., 1991), ossos (WATKINS et al., 1996) e também o coração (SKÚLADÓTTIR et al., 1994).

O óleo de canola é uma importante fonte alimentar de AGM (53%), apresentando quantidades moderadas de AGP (22% de ácido linoléico, C_{18:2} e 10% de ácido alfa-linolênico, C_{18:3}) e pequena quantidade de AGS (7%) (LINSCHER & VERGROESEN, 1994). É importante ressaltar que as dietas com óleo de canola provocaram maior aumento de AGM totais e ácido oléico no fígado de ratos (Figuras 2 e 12, Tabelas 2 e 12).

O óleo de milho é importante fonte alimentar de C_{18:2} (55%), apresentando quantidades moderadas de AGM (25%) e pequenas quantidades AGS (13%) e AGP do tipo C_{18:3} (traços)

(LINSCHER & VERGROESEN, 1994). As dietas com óleo de milho provocaram maior aumento de AGP totais e Cig[^] no fígado de ratos (Figuras 2 e 12, Tabelas 2 e 12).

A gordura de coco é importante fonte alimentar de AGS (88%), apresentando pequenas quantidades de AGP (2% de Cig:a) e AGM (6%) (LINSCHER & VERGROESEN, 1994). As dietas com gordura de coco resultaram em maior aumento de AGS totais no fígado de ratos (Figuras 2 e 12, Tabelas 2 e 12).

Em dietas para humanos com 30% de gordura total, variando de 3 a 15% de AGP durante 80 dias, o conteúdo de ácido palmítico, esteárico, oléico, hnooléico e araquidônico das hemácias não foi modificado (FRAGA et al., 1990). Esses AG são os que se apresentam em maior concentração no tecido, tanto no fígado (Tabelas 2 e 12), como no coração (Tabelas 3 e 13).

A gordura de coco, como dito anteriormente, apresenta pequenas quantidades de AGP (2% de Ci8;2) (LINSCHER & VERGROESEN, 1994). Este tipo de gordura apresenta quantidades insuficientes de Cisa e C183. Estes são chamados de ácidos graxos essenciais (AGE), portanto, não podem ser sintetizados pelas células dos mamíferos, devendo ser ingeridos em quantidades adequadas na alimentação, a fim de promoverem o crescimento e desenvolvimento normal do organismo (SANTOS, 1998). A dieta a 8g% de gordura de coco não proporcionou aumento de peso corporal equivalente às demais dietas a 8g% (Figura 1 e Tabela 1A). Isto pode ser próprio das quantidades insuficientes de AGE (Cigi e Ci8:3) da gordura de coco, o que pode ser comprovado pela baixa incorporação destes AG no tecido hepático (7,96±0,19 e 0,00±0,00, respectivamente) (Tabela 2). O AGE Cig:2 do fígado do grupo coco a 15g% foi maior (10,77±3,30) (Tabela 12) do que o grupo coco 8g% (7,96±0,19) (Tabela 2). Além disso, a incorporação de Ci8;2 no fígado do grupo coco a 15g% (10,77±3,30) foi estatisticamente semelhante ao grupo canola a 15g% (15,66±0,24) (Tabela 12), proporcionando maior fonte de AGE para o organismo, não influenciando no peso corporal, neste nível lipídico (Figura 11, Tabela 11 A). Em estudo com humanos adultos, os tipos de gordura alimentar não influenciaram no peso corporal em dietas a 35% da energia total de gordura (rica em AGS, AGM, AGP (n-6) ou AGP (n-3)) (MATA et al., 1996), considerada pela Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição uma dieta rica em gordura. As recomendações normais para a população brasileira são de 20 a 25% da energia total da dieta (VANNUCCHI et al., 1990). Mesmo a dieta

rica em AGS, que apresentou baixos níveis de Cig:2, não comprometeu o peso corporal em indivíduos adultos, uma vez que foi observada boa incorporação deste AG na LDL (MATA et al., 1996). Mounié e colaboradores (1986), em experimento com ratos pesando 120g, alimentados durante 40 dias, não observaram diferenças de peso corporal final entre os grupos que ingeriram óleos de coco e milho a 6g%. Cabe salientar que, em nosso estudo, os organismos são jovens (ratos recém-desmamados, com peso inicial de 40 a 50g), o que proporciona maiores possibilidades de alterações nutricionais por deficiências de nutrientes essenciais.

O óleo de canola, nos dois níveis lipídicos das dietas, provocou hipertrofia hepática (Tabelas IB e IIB). É possível que isto se deva à presença de ácido erúcico ($\epsilon 22:1$, n-9) nestes tipos de óleos derivados da colza. Alguns autores observaram alterações estruturais (dilatação do lúmen, perda de microvilosidades nos canalículos biliares, cristas mitocondriais fortemente aderidas, elevado número de peroxissomas) no fígado de animais alimentados com óleo de colza com baixo teor de ácido erúcico (0,4%) (CULLEN et al., 1996).

Através do teste do TEARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) não foram detectadas alterações na LPO do fígado nas diferentes dietas estudadas (Figuras 4 e 14; Tabelas 4 e 14). Muitos trabalhos têm demonstrado que produtos de oxidação derivados do sistema linoléico produzem pequena quantidade de malonaldeído (MDA), detectado pelo teste de TBARS que é um método pouco sensível para quantificação do grau de oxidação de lipídios (PRYOR et al., 1976; FRANKEL & NEFF, 1983).

Para a análise da LPO, utilizou-se, também, a quimiluminescência (QL) iniciada por *tert*-butil (*t*-BOOH). Este hidroperóxido é muito utilizado em modelo de desordem oxidativa de membranas celulares (RICE-EVANS et al., 1985; FRAGA et al., 1990). A QL induzida por *t*-BOOH no fígado de ratos alimentados com dietas ricas em AGS, apresentou maior nível quando comparada às dietas ricas em AGM (8g% e 15g%) (Figuras 5 e 15, Tabelas 5 e 15). Porém, a QL induzida por *t*-BOOH na dieta normolipídica (8g%) rica em AGP (n-6) foi similar à dieta rica em AGM, o que não ocorreu com a dieta hiperlipídica (15g%) rica em AGP (n-6), a qual apresentou maior nível de QL hepática (Figuras 5 e 15, Tabelas 5 e 15). Em pesquisa feita com HDL plasmática após uma dieta hiperlipídica (37% de energia de lipídios em relação à energia total) rica em ácido linoléico, mostrou-se significativo aumento de ácido linoléico nos fosfolipídios em

relação às lipoproteínas isoladas após a dieta rica em ácido oléico. A HDL, isolada após a dieta rica em ácido linoléico, apresentou valores mais altos de TBARS do que a HDL obtida após dieta rica em ácido oléico, tanto em HDL nativa como oxidada por cobre (SOLÀ et al., 1997).

Quando comparamos a dieta a 8g%, com gordura de coco e óleo de milho, observamos que o grupo milho apresentou a menor concentração de QL hepática (Figura 5 e Tabela 5). A situação se inverte, quando a dieta é a 15g%, onde o grupo milho apresenta maior concentração de QL do que o grupo coco (Figura 15, Tabela 15). Portanto, a dieta normolipídica rica em AGP (n-6), apresentou benefícios contra a LPO hepática, porém a dieta hiperlipídica produz efeito contrário (LPO medida pela técnica da QL). Portanto, a quantidade de insaturações da gordura da dieta a 8g% de óleo de milho não aumentou a LPO, mas o fez na dieta a 15g%. Apesar desta constatação na alteração da QL no fígado de ratos, os benefícios ou malefícios das gorduras em estudo sobre a LPO no fígado, necessitam de duas ou mais técnicas que comprovem o efeito com segurança (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

Observa-se aumento do ácido linoléico (C18:2) nas lipoproteínas sangüíneas com dietas ricas em AGP, tanto (n-3) como (n-6), quando comparadas com dietas ricas em AGS e/ou AGM (MATA et al.; 1996, SOLÀ et al., 1997). As dietas a 8g% e 15g% de óleo de milho apresentaram maiores níveis de AGP totais, C18:2 e C20:4 no fígado, quando comparadas aos outros grupos experimentais (Figuras 2 e 12, Tabelas 2 e 12). O AA é um dos mais abundantes AG encontrados na célula hepática (Tabelas 2 e 12). Quando liberado das membranas celulares, serve de substrato para metabolizar compostos das vias da cicloxigenase e lipoxigenase, nas quais se formam espécies ativas de oxigênio (EAO) (Figura VIII) (FOEGH et al., 1990). Observamos que os níveis de AA do fígado são significativamente maiores nas dietas a 15g% de gordura de coco e óleo de milho, quando comparados à dieta com óleo de canola 15g% (Tabela 12). O mesmo ocorre com o nível de QL induzida por r-BOOH (Figura 15 e Tabela 15). Verifica-se também que a dieta a 15g% de óleo de milho também apresenta o maior nível de C18:2 no fígado (Tabela 12). O C18:2 especificamente pode ser citotóxico, podendo se acumular nas células endoteliais. Isto se deve à incapacidade das células endoteliais de sintetizar quantidades significativas de AA a partir da C18:2, já que a atividade da delta 6- dessaturase é muito baixa comparada com as atividades das elongases, delta 5 e delta 9- dessaturases (Figura V) (SPECTOR et al., 1981). Apesar de a dieta a 8g% de óleo de milho apresentar os maiores níveis de C18:2 e C20:4 no fígado

(Tabela 2), não provocou o maior nível de QL induzida por r-BOOH (Figura 5 e Tabela 5). Porém, devemos observar que a quantidade de C18:2 do grupo milho a 8g% é significativamente menor do que a do grupo milho a 15g% ($15,05 \pm 0,20$ vs $21,44 \pm 1,29$ / Teste t Student $p < 0,001$), apesar de que a quantidade de C20:4 foi significativamente maior no grupo milho a 8g% do que a 15g% ($26,14 \pm 0,60$ vs $22,00 \pm 0,94$ / Teste t Student $p < 0,006$). Esta diferença não foi tão significativa como a encontrada para C18:2 (análise não demonstrada nos resultados) (Tabelas 2 e 12). Portanto, o aumento da QL iniciada por r-BOOH da dieta a 15g% de óleo de milho, possivelmente, deve-se ao seu conteúdo de C18:2.

Isto também pode ser explicado pela maior relação entre o ácido linoléico/ácido oléico do grupo milho (1,43) do que o grupo canola (0,54) a 15g%. Não foram observadas diferenças quanto à QL iniciada por r-BOOH entre os grupos milho e canola a 8g%, apesar de apresentarem uma relação entre o ácido linoléico/ácido oléico relativamente semelhante à dieta a 15g% (1,26 e 0,55, respectivamente). Porém, houve menor incorporação de ácido linoléico no grupo alimentado com óleo de milho a 8g% ($15,05 \pm 0,20$) comparado ao alimentado com óleo de milho a 15g% ($21,44 \pm 1,29$) e menor incorporação de ácido oléico no grupo alimentado com óleo de canola a 8g% ($22,45 \pm 0,62$) comparado ao alimentado com óleo de canola a 15g% ($28,98 \pm 0,59$) (Tabelas 2 e 12). Portanto, o maior nível de ácido linoléico no grupo milho aumenta sua suscetibilidade à LPO e o maior nível de ácido oléico no grupo canola aumenta a proteção contra o estresse oxidativo.

Em estudos com células endoteliais incubadas com LDL isoladas de humanos tratados com dieta rica em AGM, foram observados níveis mais baixos de adesão de monócitos. Ao contrário, a LDL obtida após dieta com AGP (n-3), induziu maior adesão de monócitos. Não houve diferenças entre AGM e AGP (n-6). Os dados mostram associação negativa entre o percentual de adesão de monócitos nas células endoteliais e o conteúdo de C18:1 na composição dos fosfolípidios da LDL. Ao contrário, associação positiva foi observada para o conteúdo de C18:2 na mesma composição. A relação inversa tem sido observada entre a razão AGM/AGP dos fosfolípidios e colesterol e grau de adesão de monócitos (MATA et al, 1996).

Os AGP e os peróxidos da dieta aumentam a concentração de peróxidos no organismo, sugerindo que os peróxidos da dieta são importantes fontes de substâncias oxidativas para o

organismo, como observado com relação às lipoproteínas séricas (STAPRÃNS et al, 1993a; STAPRÃNS et al., 1993b). Em nosso laboratório, foi induzido estresse oxidativo através da perfusão cardíaca com H₂O₂ e observada contratura cardíaca, aumento de TBARS e de QL (como indicadores do aumento da LPO) (BAUERMANN, 1995; BELLÓ-KLEIN, 1993, BRUNETO, 1995; MIRANDA, 1997; OLIVEIRA, 1993). O mesmo foi observado em nosso estudo; indução de contratura cardíaca (Figuras 6B, 6C, 16B e 16C; Tabelas 6A, 6B, 6C, 16A, 16B e 16C) e aumento de TBARS (Figuras 7B e 17B; Tabelas 7A, 7B, 7C, 17A, 17B e 17B). Fraga e colaboradores (1990) também observaram aumento do TBARS dependente da quantidade de um indutor de estresse oxidativo, o /-BOOH. Porém, não observamos aumento significativo da QL induzida por /-BOOH em corações perfundidos com H₂O₂. Isto pode ser próprio do possível declínio de substratos (AGI) durante a perfusão cardíaca prévia com H₂O₂ (Figuras 8B, 8E, 8F, 8G, 18D, 18E e 18F; Tabelas 8A, 8B, 8C, 18A e 18B). Esta hipótese pode ser reforçada, considerando que a dieta a 8g% causou inclusive diminuição significativa da QL induzida por /-BOOH após perfusão com H₂O₂ (Tabelas 8B e 8C). A dieta com maior conteúdo de lipídios (mais substratos para a LPO), não apresentou diferenças significativas entre os grupos sem e com H₂O₂ (Tabela 18B). Este fenômeno já tinha sido observado em nosso laboratório, quando a perfusão cardíaca, como neste trabalho, foi feita a fluxo constante (MIRANDA, 1997, comunicação pessoal).

Os corações de ratos alimentados com óleo de canola mostraram-se resistentes à LPO, observada pelo menor nível de TBARS. A dieta rica em AGP (n-6) (óleo de miUio) não diferiu significativamente da dieta rica em AGS (gordura de coco) a 8g% em termos de TBARS. Nas dietas a 15g%, o grupo tratado com AGP (n-6) apresentou níveis semelhantes de TBARS quando comparado tanto ao grupo coco quanto ao canola (Figuras 7A e 17A; Tabelas 7C e 17C).

Alguns autores informam que em condições oxidativas intensas, a produção de TBARS está relacionada à quantidade de AA. Em condições de baixa oxidação, as defesas antioxidantes são capazes de superar o estresse oxidativo, mas quando a exposição for grande, as defesas antioxidantes são insuficientes, e a peroxidação fica dependente do substrato de AGP (FRAGA et al., 1990). Apesar de o grupo canola apresentar o menor nível de AA no coração, esta diferença não foi significativa em nosso estudo (Tabela 3 e 13).

O óleo de canola (dieta a 8g% e 15g%) também protegeu o coração contra a LPO, quando observamos a QL iniciada por r-BOOH como parâmetro. O grupo que consumiu gordura de coco, na dieta 8g% apresentou o mesmo nível de QL dos grupos canola e milho, porém quando aumentou-se a quantidade de gordura de coco (dieta a 15g%), a QL equivaleu-se apenas ao nível do grupo que ingeriu óleo de milho (15g%) (Figura 8A e 18; Tabelas 8C e 18C).

Ao analisarmos as TBARS e a QL iniciada por r-BOOH no coração, conjuntamente, observamos que os animais tratados com óleo de canola apresentam menores níveis de LPO (8g% e 15g%).

O grupo coco 8g% apresentou maior contratatura cardíaca e o grupo canola 8g% e milho 8g% as menores apenas no 8^o minuto de perfusão (Figura 6A; Tabela 6C). No 10^o minuto de perfusão, os grupos canola e milho atingem o mesmo nível de contratatura observado no grupo coco. Estes dados mostram que o tratamento com óleo de canola e milho a 8g% aumentam o tempo de latência, ou seja, retardam o surgimento da contratatura induzida pelo H₂O₂. Na dieta a 15g%, o grupo que ingeriu gordura de coco apresentou menor resistência oxidativa, portanto, maior contratatura cardíaca; já, a partir do 4^o minuto de perfusão até o 10^o minuto, o óleo de canola apresentou a menor contratatura cardíaca, porém, em nenhum momento, foi diferente do óleo de milho. Isto sugere que as dietas a 15g% de óleos de canola e milho aumentam a resistência à contratatura cardíaca induzida por 10 minutos de perfusão com H₂O₂ (Figura 16A; Tabela 16C). Além disso, houve significativa interação da dieta com o H₂O₂. Os corações perfundidos com H₂O₂ dos ratos alimentados com gordura de coco, apresentaram a maior contratatura; o grupo a 8g%, no 8^o minuto (Figura 6C; Tabela 6C) e o grupo 15g% do 4^o ao 10^o minuto de perfusão. Ao final do 10^o minuto de perfusão, o grupo canola 15g%/H₂O₂ apresentou menor contratatura cardíaca que o grupo coco 15g%/H₂O₂ e igualdade estatística com o grupo milho 15g%/H₂O₂ e com um grupo sem H₂O₂ (coco 15g%/H₂O₂). Sugere-se que os óleos de canola e milho resistem à contratatura cardíaca induzida pelo H₂O₂, e o óleo de canola, neste caso, apresenta ainda maior resistência, uma vez que apresentou igualdade estatística com os corações do grupo alimentado com gordura de coco que não foram perfundidos com H₂O₂ (Figura 16C; Tabela 16C). Estes dados confirmam o envolvimento da LPO no processo de contratatura, uma vez que o grupo que apresenta menor LPO é também aquele em que as contrataturas são menores.

Estes resultados vão de encontro aos obtidos por Mata e colaboradores em 1996, observaram que dieta rica em AGM aumenta o tempo de latência, ou seja, aumenta a resistência à oxidação da LDL, quando comparada com dietas ricas em AGS, AGP (n-6) e AGP (n-3); estas por sua vez, não apresentaram diferenças significativas entre si.

Apesar dos danos oxidativos estarem diretamente relacionados ao aumento do número de insaturações dos AG corporais, seja de membranas plasmáticas (HAEGELE et al, 1994) ou de partículas de lipoproteínas sanguíneas (SARKKINEN et al., 1993), as dietas ricas em gordura saturada têm papel reconhecido no aumento do colesterol sanguíneo e no risco de doenças do coração (WALSH, 1998). A hipercolesterolemia aterosclerótica induzida por dieta em coelhos está associada ao aumento da QL dos leucócitos polimorfonucleares e aos níveis de MDA do tecido aórtico (PRASAD & KALRA, 1993).

Recentes pesquisas mostram aumento da resistência à modificação oxidativa associada com o consumo de dietas ricas em AGM (MATA et al, **1996**), evidenciando, mais especificamente, que dietas enriquecidas com ácido oléico, além de diminuir a LDL colesterol, podem ser antiaterogênicas por produzirem LDLs altamente resistentes às modificações oxidativas (PARTHASARATHY et al., **1990b**). Em outros estudos feitos com LDL humana, foi observado que dietas ricas em AGS e AGM mostram níveis semelhantes de TBARS. Estes níveis foram menores do que dietas com AGP (n-6) e AGP (n-3). Os níveis de dienos conjugados (nmoles/ mg de proteína de LDL) foram mais baixos nos sujeitos que consumiam dieta rica em AGM, comparados com sujeitos que consumiam dietas ricas em AGP (n-6) e AGP (n-3). Os níveis de dienos conjugados durante a dieta com AGS não foram significativamente diferentes dos AGM e AGP(n-6), mas foram mais baixos do que aqueles determinados pelo AGP(n-3) (MATA et al., **1996**).

Solà e colaboradores (1997) em experimento com HDL observaram que homens que ingeriram dieta rica em ácido linoléico apresentaram maior nível de TBARS em HDL do que homens que ingeriram dietas ricas em ácido oléico. Estes resultados suportam a idéia de que a presença de mais ácido linoléico, que apresenta posições bis-alílicas, produz substancial LPO da HDL. Em comparação, a HDL rica em ácido oléico, que não apresenta posição bis-alílica, ou seja, tem dupla ligação isolada, tem maior resistência à peroxidação (WAGNER et al., 1994).

Os dados sugerem que o aumento do conteúdo de AGM na dieta, o aumento do ácido oléico e a diminuição do ácido linoléico parecem determinar a resistência a oxidação da LDL (MATA et al., 1996) e da HDL (SOLÀ et al., 1997). Reaven e Witztum (1996) concluem, em sua revisão sobre a LDL oxidada na aterogênese e o papel da dieta, que as dietas ricas em $C_{18:1}$ reduzem a suscetibilidade da LDL à oxidação, talvez como resultado das propriedades antioxidantes intrínsecas e diminuição do conteúdo de $C_{18:2}$ na LDL produzida por tal dieta.

Pesquisas mostram que o aumento da razão entre ácido linoléico/ácido oléico nas frações de LDL (BIFFANTI et al., 1994) e HDL (SOLÀ et al., 1997), aumentam as taxas de peroxidação. Esta diferença é facilmente explicada considerando que os AGP são os substratos para reações peroxidativas; os AGM não contêm nenhum grupo metilênico dentro de suas moléculas, portanto, não exibem nenhum sítio de ataque para os radicais livres (ESTERBAUER et al., 1987).

Porém, no coração, apesar do efeito protetor do óleo de canola contra os danos oxidativos, não houve maior incorporação de ácido oléico e nem menor nível de ácido linoléico neste órgão (dieta 8g% e 15g%); ao contrário, a dieta com óleo de canola 15g% resultou em maior concentração de AGP totais no coração do que a dieta com gordura de coco 15g% (Figuras 3 e 13; Tabelas 3 e 13). As pesquisas com lipoproteínas, ao contrário, mostraram maior incorporação de ácido oléico ($C_{18:1}$) nas frações de LDL (MATA et al., 1996) e HDL (SOLÀ et al., 1997) quando o organismo é alimentado previamente com dieta rica em AGM.

Importante observação quanto às dietas a 8g% e 15g% de gordura rica em AGM, é que estas dietas induzem irai aumento significativo no ácido docosahexaenóico (DHA) no coração (Tabela 3 e 13). Pesquisa com óleo de colza (rico em AGM) observou aumento nos fosfolípidios séricos de AGP (n-3) ($C_{20:5}$ e $C_{22:5}$) (GLFSTAFSSON et al., 1994). Concluiu-se, em alguns estudos, que o potencial citotóxico dos AG é dependente, mas não diretamente proporcional ao número de duplas ligações das cadeias carbonadas, por exemplo, o ácido γ -linolênico, AA e o EPA com 3, 4 e 5 duplas ligações, respectivamente, foram os três agentes citotóxicos mais efetivos, enquanto o DHA (com 6 duplas ligações) foi o menos efetivo. O ácido linoléico e α -linolênico, com 2 e 3 duplas, respectivamente, apresentaram atividade citotóxica intermediária (BEGIN et al., 1986; BEGIN & ELLS, 1987). Outros autores sugerem, ainda, que a quantidade

de gordura pode aumentar muito mais a suscetibilidade à LPO do que o tipo de gordura (MILLS et al., 1995).

Os diferentes tipos de gordura a 8g% na dieta não provocaram mudanças no comportamento da frequência cardíaca (FC) (Tabela 9B). Já nos animais alimentados com dieta a 15g% foram observadas diferenças na FC a partir do 8º minuto de perfusão (Tabela 19B). Nos animais tratados com óleo de canola (15g%) a FC inicial foi preservada ao longo da perfusão, sendo que isto não ocorreu nos outros grupos (Figura 19A; Tabela 19C), sugerindo maior resistência destes corações. Além disso, o tratamento com óleo de canola previne a bradicardia induzida pelo H₂O₂, constituindo-se num fator de proteção do miocárdio.

Os tipos de gordura da dieta a 8g% também não interferiram na pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (AP) (Tabela 10B), porém, os diferentes tipos de gordura das dietas a 15g% modificaram os efeitos do H₂O₂ sobre a AP (Tabela 20B). Observa-se que, os corações do grupo coco com H₂O₂, apresentaram menor AP a partir do 4º minuto de perfusão. É importante observar que, no 4º minuto, os grupos alimentados com óleos de canola e milho perfundidos com H₂O₂ apresentaram equivalência estatística com o grupo canola sem H₂O₂ e que, no 6º minuto, apenas o grupo canola persiste no retardo da diminuição da AP induzida pelo H₂O₂ (grupo canola15%*c*/H₂O₂, estatisticamente, semelhante ao canola15%*s*/H₂O₂). Verifica-se então, que o óleo de canola apresenta resistência à diminuição da AP induzida pelo H₂O₂. A partir do 8º minuto, o efeito do H₂O₂ acaba por prevalecer, diminuindo a interferência da dieta, sendo constatadas diferenças nos grupos sem e com H₂O₂, independente do tipo de dieta (Figura 20B; Tabela 20C).

O H₂O₂ diminuiu a FC e a AP em qualquer das dietas estudadas (Figuras 9, 10, 19B e 20A; Tabelas 9C, 10C, 19C e 20C). Uma observação importante é que os corações das dietas a 15g% perfundidos com H₂O₂, apresentaram um aumento da AP no início da perfusão (Tabela 20C).

Outro relevante fator também é a quantidade de antioxidantes da dieta, os quais também vão determinar maior ou menor estresse oxidativo, por exemplo; a deficiência de vitamina E aumenta a suscetibilidade da membrana cardíaca à peroxidação lipídica (PARAIDATHATHU et

al., 1994) e a sua inclusão na dieta pode, inclusive, proteger o miocárdio contra a injúria da reperfusão (PYKE & CHAN, 1990). Em estudos em que a única variável são os AG da dieta, com quantidade de antioxidantes iguais, é possível determinar o efeito desta única variável (FRAGA et al., 1990).

Estudos realizados em humanos hipercolesterolêmicos, observou-se diminuição do TBARS sangüíneo em indivíduos que consumiam dieta típica da American Heart Association, com baixa gordura (32/10:8:8, que indica a percentagem de energia de gordura total/ gordura saturada: monoinsaturada: poliinsaturada). O TBARS estava aumentado em dieta com baixo conteúdo de lipídios e AGP (30/12:8:3). Os níveis de LDL colesterol não foram alterados com a dieta, porém houve aumento dos tocoferóis com a dieta típica da American Heart Association. Portanto, a diminuição da LPO durante a dieta típica da American Heart Association, com níveis mais elevados de AGP, pode ser próprio do aumento de antioxidantes naturais dos alimentos (SARKKINEN et al., 1993).

Prasad e Kalra (1993) demonstraram que as lesões ateroscleróticas na aorta induzidas pela dieta podem ser efetivamente prevenidas pela ingestão de vitamina E, porém este efeito não se deve à diminuição das EAO e nem do nível de colesterol sangüíneo e sim da sua proteção contra as EAO que provocam injúria endotelial.

A importância deste trabalho se justifica quando analisamos a publicação do Ministério da Saúde, através da Coordenação de Informação e Análise de Situação (CIASS), do Centro Nacional de Epidemiologia (CENAPI) e da Fundação Nacional de Saúde (FNS) que, em 1997, publicaram o estudo da “Mortalidade Brasil - 1994”, o qual aponta as doenças do aparelho circulatório como a primeira causa de morte. Sabendo-se que as gorduras alimentares podem modificar o perfil lipidêmico e que este pode ser um fator de risco para as doenças cardiovasculares, os estudos sobre as gorduras alimentares e radicais livres devem ser priorizados, uma vez que os radicais livres também têm sido implicados em tais doenças.

Com este trabalho iniciou-se no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular - UFRGS uma nova linha de pesquisa: “Nutrição e Radicais Livres”. Novas perspectivas começam a ser traçadas. Futuramente, poderemos contribuir com a comunidade científica no entendimento de

assuntos bastante polêmicos, como o efeito da suplementação de antioxidantes e sua implicação na biodisponibilidade de outros nutrientes.

5. CONCLUSÕES

5.1. As gorduras alimentares estudadas modificaram a composição de ácidos graxos teciduais, porém as mudanças foram mais significativas no fígado. A gordura de coco, o óleo de canola e o óleo de milho aumentaram o conteúdo de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados no fígado, respectivamente.

5.2. A dieta a 8g% rica em gordura de coco interferiu no crescimento normal dos ratos jovens, possivelmente por apresentar níveis insuficientes de ácidos graxos essenciais.

5.3. O óleo de canola provocou hipertrofia hepática.

5.4. O óleo de canola protegeu o tecido hepático contra o aumento da QL iniciada por r-BOOH, possivelmente pelo seu alto conteúdo de ácido oléico (Cis 18:1). O óleo de milho apresentou benefícios apenas quando a dieta era a 8g%; quando estava a 15g% ocorreu aumento da QL iniciada por r-BOOH, possivelmente pelo alto nível hepático de ácido linoléico (Cis 18:2) e baixo em oléico (Cis 18:1). A gordura de coco aumentou a QL iniciada por r-BOOH no fígado.

5.5. O H₂O₂ causou aumento do estresse oxidativo no coração independente do tipo de gordura da dieta, avaliado pelo teste de TBARS e pela contratatura.

5.6. A exposição contínua ao H₂O₂, através da perfusão a fluxo constante, parece reduzir substancialmente os níveis de substrato para peroxidação lipídica (ácidos graxos polinsaturados), impossibilitando o aumento da emissão luminosa da QL iniciada por r-BOOH.

5.7. O óleo de canola (8g% e 15g%) aumentou a resistência do coração a peroxidação lipídica (analisada por TBARS e QL).

5.8. O tratamento com óleos de canola e milho aumentou o tempo de latência, ou seja, retardou o surgimento da contratatura cardíaca induzida pelo H₂O₂. As dietas a 15g% de óleos de canola e milho ofereceram proteção mais efetiva, uma vez que o tempo de latência foi ainda maior. Neste nível lipídico, o óleo de canola parece ser mais resistente. Os corações de animais alimentados com gordura de coco apresentaram maior contratatura.

5.9. As dietas a 15g% apresentaram maior influência na atividade mecânica do coração.

5.10. O óleo de canola, na dieta a 15g%, preservou a frequência cardíaca inicial; preveniu a bradicardia e retardou a diminuição da diferença de pressão induzida pelo H₂O₂.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, S.K.; MAHAJAN, S. «fe KESAVAN, P.C. Inhibitory effects of dietary vegetables on the in vivo clastogenicity of cyclophosphamide. *Mutat. Res.* 172(1): 51-54, 1986.
- ALOMAR, Y.; Nègre-SALVAYRE, A ; LEVADE, T.; VALDIGUIÉ, P. & SALVAYRE, R. Oxidized HDL are much less cytotoxic to lymphoblastoid cells than oxidized LDL. *Biochim. Biophys. Acta.* 1128: 163-166, 1992.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists., 14 ed., Washington; Sidney William, 1141p, 1984.
- AWASTHI, S.; SRIVATAVA, S.K.; PIPER, J.T.; SINGHAL, S.S.; CHAUBEY, M. & AWASTHI, Y. C. Curcumin protects against 4-hydroxy-2-trans-nonenal-induced cataract formation in rat lenses. *Am. J. Clin. Nutr.* 64(5): 761-766, 1996.
- BAINY, A.C.D. Estresse oxidativo induzido por xenobióticos em ratos (*Rattus rattus novergicus*) e peixe (*Oreochromis niloticus*). São Paulo: USP, 1995. 121 p. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1995.
- BARNETT, Y.A Nutrition and ageing process. *Br. J. Biomed. Sci.* 51(3): 278-287, 1994.
- BARR, D.P.; RUSS, E.M. & EDER, H.A. Protein-lipid relationship in human plasma. II. In atherosclerosis and related conditions. *Am. J. Med.* 11: 480-493, 1951.
- BARTOLI, G.M.; GLINNATTASIO, B.; PALOZZA, P. & CITTADINI, A. Superoxide dismutase depletion and lipid peroxidation in rat liver microsomal membranes: correlation with liver carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 966(2): 214-221, 1988.

- BAUERMANN, L.F. Participação de íons metais de transição no *stress* oxidativo produzido pelo peróxido de hidrogênio em coração isolado de rato. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 74p. Dissertação (mestrado em Fisiologia) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995.
- BEDWELL, S.; DEAN, R.T. & JESSUP, W. The action of defined oxygen-centred free radicals on human low-density lipoprotein. *Biochem. J.* 262: *IQI-IM*, 1989.
- BÉGIN, M.E. & ELLS, G. Effects of C18 fatty acids on breast carcinoma cells in culture vitro. *Anticancer Res.* 7: 215-218, 1987.
- BÉGIN, M.E.; ELLS, G.; DAS, U.N. & HORROBIN, D.F. Differential killing of human carcinoma cells supplemented with n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *J. N. C. I.* 77(5): 1053-1062, 1986.
- BELLÓ, A.R. & BELLÓ, A. A. Cardiac contracture induced by hydrogen peroxide. *Med. Sci. Res.* 16:1149-1150, 1988.
- BELLÓ, A.R. & BELLÓ, A. A. Indomethacin antagonizes cardiac contracture induced by hydrogen peroxide. *Med. Sci. Res.* 17: 627-628, 1989.
- BELLÓ-KLEIN, A. Ação da vitamina A e do trolox sobre o *stress* oxidativo produzido pelo peróxido de hidrogênio no miocárdio isolado de rato. Porto Alegre: UFRGS, 1993. 200 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio grande do Sul, 1993.
- BEUTLER, E. Nutritional and metabolic aspects of glutathione. *Annu. Rev. Nutr.* 9: 287-302, 1989.
- BIERENBAUM, M.L.; REICHSTEIN, R.P.; BHAGAVAN, H.N. & WATKINS, T.R. Relationship between serum lipid peroxidation products in hypercholesterolemic subjects and vitamin E status. *Biochem. Intern.* 28 (1): 57-66, 1992.
- BIFFANTI, S.; BONANOME, A.; MAIORINO, M.; URSINI, F. & PAGNAN, A. Assay of low-density lipoprotein susceptibility to oxidation by means of the free radical generator AAPH. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 4: 137-141, 1994.
- BONNEFONT-ROUSSELOT, D; GARDÉS - ALBERT, M.; DELATTRE, J. & FERRADINI, C. Oxidation of low-density lipoproteins by OH* and OH*r02* free radicals produced by gamma radiolysis. *Radiat. Res.* 134(3):271-282, 1993.

- BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; MOTT A, C.; KHALIL, A.O.; SOLA, R.; LAVILLE, A.E.; DELATTRE, J. & GARDÈS-ALBERT, M. Physicochemical changes in human high-density lipoproteins (HDL) oxidized by gamma radiolysis-generated oxyradicals. Effect on their cholesterol effluxing capacity. *Biochim. Biophys. Acta.* 1255(1): 23-30, 1995.
- BOVERIS, A; LLESUY, S.F. & FRAGA, C.G. Increased liver chemiluminescence in tumor-bearing mice. *Free Rad. Biol. Med.* 1: 131-138, 1985.
- BRADAMANTE, S.; BARENGHI, L.; GIUDICI, G.A. & VERGANI, C. Free radicals promote modifications in plasma high-density lipoprotein: nuclear magnetic resonance analysis. *Free Rad. Biol. & Med.* 12: 193-203, 1992.
- BRAWN, K. & FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases: Threat and defense. *Acta Physiol, scand.* Suppl. 492: 9-18, 1980.
- BRITTON, M.; FONG, C.; WICKENS, D. & YUDKIN, J. Diet as a source of phospholipid esterified 9,11-octadecadienoic acid in humans. *Clin. Sci.* 83(1): 97-101, 1992.
- BRUNETTO, A.F. Efeitos mecânicos, lipoperoxidação e entrada de Ca^{++} induzidos por peróxido de hidrogênio em miocárdio de rato. Porto alegre: UFRGS, 1995. 137 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio grande do Sul, 1995.
- BUEGE, J.A. & AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 52: 302-309, 1978.
- BUTTERWORTH, M.; UPSHAL, D.G.; HOBBS, M. & COHEN, G.M. Elevation of cysteine and replenishment of glutathione in rat lung slices by cysteine isopropylester and other cysteine precursors. *Biochem. Pharmacol.* 45(9): 1769-1774, 1993.
- CANDELAS, L.P.; PATEL, K.B.; STRATFORD, M.R.L. & WARDMAN, P. Free hydroxyl radicals are formed on reaction between the neutrophil-derived species superoxide anion and hypochlorous acid. *FEBS Lett.* 333(1,2): 151-153, 1993.
- CAO, G. & CHEN, J. Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. *Arch. biochem. and biophys.* 291 (1): 147-153, 1991.

- CHAKRABARTY, S.; NANDI, A; MUKHOPADHYAY, C.K. & CHATTERJEE, IB.
Protective role of ascorbic acid against lipid peroxidation and myocardial injury. *Mol. Cel. Biochem.* 114: 41-47, 1992.
- CHAMBERS, D.E.; PARKS, D.A; PATTERSON, G.; ROY, R.; McCORD, J.M.;
YOSHIDA, S.; PARMLEY, L.F. & DOWNEY, J.M. Xanthine oxidase as a source of
free radical damage in myocardium ischemia. *J. Mol. Cell. Cardiol* 17: 145-152, 1985.
- CHANCE, B.; SIES, H. & BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian
organs. *Physiol Rev.* 59(3): 527-605, 1979.
- CHEUNG, M.C.; WOLF, A.C.; LUM, K.D.; TOLLEFSON, J.H. & ALBERS, J.J.
Distribution and localization of lecithin-cholesterol acyltransferase and cholesteryl ester
transfer activity in AI containing lipoproteins. *J. Lipid Res.* 27: 1135-1144, 1986.
- CHUI, H.; HARAYAMA, K. & KIRIYAMA, S. Effects of feeding rats low protein diets
containing casein or soy protein isolate supplemented with methionine or oligo-L-
methionine. *JTVw/r* 120: 166-171, 1990.
- CHUNG, M.H.; KASAI, H.; NISHMURA, S. & YU, B.P. Protection of DNA damage by
dietary restriction. *Free Rad. Biol & med.* 12: 523-525, 1992.
- CONNER, E.M. & GRISHAM, M.B. Inflammation, free radicals, and antioxidants.
Nutrition. 12(4): 274-277, 1996.
- CROSS, C.E.; HALLIWELL, B.; BORISH, E.T.; PRYOR, W.A.; AMES, B.N.; SAUL,
R.L.; McCORD, J.M. & HARMAN, D. Oxygen radicals and human disease. *Ann
Intern. Med* 107 (4): 526-545, 1987.
- CULLEN, C.; SINGH, A. & SHAHIDI, E. Ultrastructure of liver from piglets fed Tower
rapeseed oil. *Histol Histopathol.* 11(1): 27-33, 1996.
- CUNNANE, S.C. Antioxidants, free radicals and PUFA. *Prostaglandins - Leukot. - Essent.
- Fatty-Acids.* 50(6): 363-364, 1994.
- DAS, D.K. & MAULIK, N. Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury.
Methods, enzymol. 233:601-610, 1994.
- DAS, S.K. & NAIR, R.C. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and
Lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *British. J. of Haem.* 44: 87-92,
1980.

- de GRITZ, B.G. & RAHKO, T. Diet-induced residual formation in pigs. *Gerontology*. 41 (suppl 2); 305-317, 1995.
- de GROOT, H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepato-Gastroenterol.* 41(4);328-332, 1994.
- DEL MAESTRO, R.F. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 492: 153-167, 1980.
- DI PIETRO, P. F. Efeitos de alguns integrantes da fração fibra (lignina e pectina) e fonte de fibra(FIBRAXX), em dietas ricas ou isentas de colesterol sobre os níveis séricos lipídicos de ratos. Florianópolis (SC); UFSC, 1992. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 1992.
- DIPLOCK, A.T. Dietary supplementation with antioxidants. Is there a case for exceeding the recommended dietary allowance? *Free Rad Biol. Med.* 3; 199-201,1987.
- DOLL, R. The lessons of life; keynote address to the nutrition and cancer conference. *Cancer Res.* 52; 2024s-2029s, 1992.
- DOUGHERTY, J.J. & HOEKSTRA, W.G.. Effects of vitamin E and selenium on copper-induced lipid peroxidation *in vivo* and on acute copper toxicity (41332). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 169; 201-208, 1982.
- DRAPER, H.H. & BETTGER, W. J. Role of nutrients in the cause and prevention of oxygen radical pathology. *Adv. Exp. Med. Biol.* 366; 269-289, 1994.
- ESTERBAUER, H; JÜRGENS, G. QUEHENBERGER, O & KOLLER, E. Autoxidation of human low density lipoprotein; loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J. Lipid Res.* 28; 495-509, 1987.
- EWIN, J. O lado sadio das gorduras; ácidos graxos essenciais para uma vida e uma aparência saudáveis. Tradução de Ana Beatriz Rodrigues. Rio de Janeiro; Campus, 1997. 162p. Tradução de; The fats we need to eat.
- FENTON, H.J.H. Oxidation of Tartaric Acid in presence of Iron. *J. Chem. Soc.* 65; 899-910, 1894.

- FERREIRA, R.; LLESUY, S.; MILEI, J.; SCORDO, D.; HOURQUEBIE, H; MOLTENI, L.; DE PALMA, C. & BOVERIS, A. Assessment of myocardial oxidative stress in patients after myocardial revascularization. *Am. Heart J.* 115(2): 307-312,1988.
- FINLEY, J.W. & OTTERBURN, M.S. The consequences of free radicals in foods. *Toxicol. Ind. Health.* 9(1-2):77-91, 1993.
- FOEGH, M.L.; THOMAS, G. & RAMWELL, P.W. Free radicals, arachidonic acid metabolites, and nutrition. *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 14(5 suppl): 218S-222S, 1990.
- FOLCH, J.; LEES, M. & SLOANE STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509, 1957.
- FORSYTHE III, W. A. Comparison of dietary casein or soy protein effects on plasma lipids and hormone concentrations in the Gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J. Nutr.* 116: 1165-1171,1986.
- FRAGA, C.G.; TAPPEL, A.L.; LEIBOVITZ, B.E.; KUYPERS, F.; CHIU, D.; IACONO, J.M. & KELLEY, D.S. Lability of red blood cell membranes to lipid peroxidation: Application to humans fed polyunsatiirated lipids. *Lipids.* 25 (2): 111-114,1990.
- FRANKEL, E.N. & NEFF, W.E. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products. *Biochim. Biophys. Acta.* 754: 264-270, 1983.
- GERSCHMAN, R.; GILBERT, D.L.; NYE, S.W.; DWYER, P. & FENN, W.O. Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science.* 119: 623-626, 1954.
- GEY, K.F. Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease. *Br. Med. Bull.* 49(3): 679-699, 1993.
- GEY, K.F.; BRUBACHER, G.B. & STÄHELIN, H.B. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 1368-1377, 1987.
- GIUGLIANO, D; CERIELLO, A & PAOLISSO, G. Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? *Metabolism.* 44(3): 363-368, 1995.

- GONZALEZ - FLECHA, B.; LLESUY, S. & BOVERIS, A. Hydroperoxide - initiated chemiluminescence; an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. *Free Rad. Biol. Med.* 10; 93-100, 1991.
- GOWER, J.D. A role for dietary lipids and antioxidants in the activation of carcinogens. *Free Rad. Biol. & med.* 5; 95-111, 1988.
- GUIMARÃES, A.R.P.; COSTA-ROSA, L.F.B.P.; SAFI, D.A. & CURI, R. Effect of a polyunsaturated fatty acid-rich diet on macrophage and lymphocyte metabolism of diabetic rats. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 26; 813-818, 1993.
- GUIMARÃES, A.R.P.; SITNIK, R.H.; CURI, C.M.O.N.; CURI, R. Metabolic changes in lymphoid organs as induced by fatty acids-rich diets during ageing. *Physiology & behavior.* 55 (4); 691-697, 1994.
- GUSTAFSSON, I.B.; VESSBY, B.; OHRVALL, M. & NYDAHL, M. A diet in monounsaturated rapeseed oil reduces the lipoprotein cholesterol concentration and increases the relative content of n-3 fatty acids in serum in hyperlipidemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 59(3); 667-674, 1994.
- HABER, F. & WEISS, J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc. Roy. Soc., Ser. A* 147; 332, 1934.
- HABIB, M.P.; DICKERSON, F. & MOORADIAN, A.D.. Ethane production rate in vivo is reduced with dietary restriction. *J. Appl. Physiol.* 68 (6); 2588-2590, 1990.
- HAEGELE, A.D.; BRIGGS, S.P. & THOMPSON, H.J. Antioxidant status and dietary lipid unsaturation modulate oxidative DNA damage. *Free Rad. Biol. & med.* 16; 111-115, 1994.
- HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. *Annu. Rev. Nutr.* 16; 33-50, **1996a**.
- HALLIWELL, B. Commentary; Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Rad. Res.* 25(1); 57-74, 1996^.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.C. Free radicals in biology and medicine. 2th edition. Clarendon Press. Oxford, 1989.

- HAMMER, C.T. & WELLS, E.D. The role of lipid components of the diet in the regulation of the fatty acid composition of the rat liver endoplasmic reticulum and lipid peroxidation. *Biochem. J.* 111: 585-593, 1978.
- HARMAN, D. Free radical theory of aging. *Mutat. Res.* 275(3-6); 257-266, 1992.
- HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from *in vitro*. *Lab. Pract.* 22; 475-477, 1973.
- HEARSE, D.J.; GARLICK, P.B. & HUMPHREY, S.M. Ischemic contracture of the myocardium; mechanisms and prevention. *Am. J. Cardiol.* 39; 986-993, 1977.
- HENNEKENS, C.H. Antioxidant vitamins and cancer. *Am. J. Med.* 97(suppl 3A); 2S-4S, discussion, 225-285, 1994.
- HENNIG, B.; TOBOREK, M.; McCLAIN, C.J. & DIANA, J.N. Nutritional implications in vascular endothelial cell metabolism. *J. Am. Coll. Nutr.* 15(4); 345-358, 1996.
- HONG, C-Y; WANG, C-P; HUANG, S-S & HSU; F-L. The inhibitory effect of tannins on lipid peroxidation of rat heart mitochondria. *J. Pharm. Pharmacol.* 47: 138-142, 1995.
- HORTON, J.K.; MEREDITH, M.J. & BEND, J.R. Glutathione biosynthesis from sulfur-containing amino acids in enriched populations of Clara and type II cells and macrophages freshly isolated from rabbit lung. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 240; 376-380, 1987.
- HUMPHRIES, S.E.; TALMUD, P.J.; COX, C.; SUTHERLAND, W. & MANN, J. Genetic factors affecting the consistency and magnitude of changes in plasma cholesterol in response to dietary challenge. *Q. J. Med.* 89; 671-680, 1996.
- ITO, Y.; PAGANO, R.J.; TORNHEIM, K.; BRECHER, R. & COHEN, R.A. Oxidative increases glycerinaldehyde-3-phosphate dehydrogenase mRNA levels in isolated rabbit aorta. *Am. J. Physiol.* 270(1 Pt2); H81-H87, 1996.
- JAESCHKE, H; KLEINWAECHTER, C. & WENDEL, A. The role of acrolein in allyl Alcohol-induced lipid peroxidation and liver cell damage in mice. *Biochem. Pharmacol.* 36(1); 51-57, 1987.
- JONES, D.P. in; Oxidative stress. Academic Press. San Diego, p. 151-189, 1985.

- KAPPUS, H. & DIPLOCK, A.T. Tolerance and safety of vitamin E: a toxicological position report. *Free Rad. Biol. & Med.* 13; 55-74, 1992.
- KAWAI-KOBAYASHI, K. & YOSHIDA, A. Effect of dietary ascorbic acid and vitamin E on metabolic changes in rats and guinea pigs exposed to PCB. *J. Nutr.* 116(1); 98-106, 1986.
- KNAPP, H.R.; REILLY, LAG.; ALESSANDRINI, P. & FITZGERALD, G.A. In vivo indexes of Platelet and vascular function during fish-oil administration in patients with atherosclerosis. *N. Engl. J. Med* 314(15); 937-942, 1986.
- KRZANOWSKI, J.J. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *J. Florida M. A.* 78(7); 435-438, 1991.
- KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Rad. Biol. & med.* 12; 63-81, 1992.
- KUEHL Jr, F.A.; HUMES, J.L.; EGAN, R.W.; HAM, E.A.; BEVERIDGE, G.C. & VAN ARMAN, C.G. Role of prostaglandin endoperoxide PGG₂ in inflammatory processes. *Nature.* 265 (13); 170-173, 1977.
- KUMAR, G.S. & DAS, U.N. Free radical - dependent suppression of growth of mouse myeloma cells by α -linolenic and eicosapentaenoic acids in vitro. *Cancer Letters*, 92(1); 27-38, 1995.
- KUSEWITT, D.F.; WAGNER, J.E.; DDCON, L.W. & ANDERSON, P.A. Fatal myocarditis in mice fed rancid purified feed. *Lab. Anim. Sci.* 34 (1); 70-74, 1984.
- LANGENDORFF, O. Untersuchungen am uberlebenden saugtierherzen. *Fliegers Arch. Ges Physiol.* 61; 291-332, 1895.
- LARANJINHA, J.A.N.; ALMEIDA, L.M. & MADEIRA, V.M.C. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals; antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 48(3); 487-494, 1994.
- LEE, L.; WEBB, R.C. & PITT, B. Eicosapentaenoic acid inhibits endothelium - dependent relaxation to acetylcholine in guinea pig coronary resistance vessels (43455). *Proc. Soc. Exp. Biol, med* 200(4); 466-471, 1992.

- LEVINE, B.S. About DHA (most frequently asked questions about docosahexaenoic acid). *Nutrition Today*. 32(6); 248-250, 1997.
- LINSCHEEER, W.G. & VERGROESEN, A.J. Lipid. In; SHILS, M.E.; OLSON, J.A. & SHDCE, M. *Modern Nutrition in health and disease*. USA; Lea & Febige, 1994. P. 47-88.
- LLESUY, S.F.; MILEL J.; GONZALEZ-FLECHA, B.S. & BOVERIS, A. Myocardial damage induced by doxorubicins; hydroperoxide-initiated chemiluminescence and morphology. *Free Rad. Biol. & med* 8; 259-264, 1990.
- LLESUY, S.F.; MILEI, J.; MOLINA, H.; BOVERIS, A. & MILEI, S. Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. *Tumori*. 71; 241-249, 1985.
- LOFT, S. & POULSEN, H.E. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J. Mol. Med* 74(6); 297-312, 1996.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, M. J.; FARR, A. L. & RANDALL, R. J. Protein measurement with the foline reagent. *J. Biol. Chem.* 193; 265, 1951.
- MACHLIN, L. J. & BENDICH, A. Free radical tissue damage; protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1; 441-445, 1987.
- MATA, P; ALONSO, R.; LOPEZ-FARRE, A; ORDOVAS, J.M.; LAHOZ, C.; GARCES, C.; CAMELO, C.; CODOCEO, R.; BLAZQUEZ, E. & de OYA, M. de. Effect of dietary fat saturation on LDL oxidation and monocyte adhesion to human endothelial cells in vitro. *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* 16(11); 1347-1355, 1996.
- MATHIESEN, L.; MALTERUD, K.E. & SUND, R.B. Antioxidant activity of fruit exudate and c-methylated dihydrochalcones from *Myrica gale*. *Planta Med.* 61(6); 515-518, 1995.
- McCORD, J.M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Engl. J. Med.* 312(3); 159-163, 1985.
- McCORD, J.M. & FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 244 (22); 6049-6055, 1969.

- MEHTA, J.; LOPEZ, L.M. & WARGOVICH, T. Eicosapentaenoic acid; Its relevance in atherosclerosis and coronary artery disease. *AmJ. Cardiol.* 59(1); 155-159, 1987.
- MENEGHESn, R. A toxicidade do oxigênio. *Ciência Hoje* 5 (6); 57-62, 1987.
- MILLS, G.C. Glutathione peroxidase and the destruction of hydrogen peroxide in animal tissues. *Jrc/z. Biochem. Biophys.* 86; 1-5, 1960.
- MILLS, D.E.; MURTHY, M. & GALEY, W.R. Dietary fatty acids, membrane transport and oxidative sensitivity in human erythrocytes. *Lipids.* 30(7); 657-663, 1995.
- MIRANDA, M.F.S. Função tireoidiana e estresse oxidativo induzido pelo peróxido de hidrogênio em coração isolado de rato. Porto Alegre: UFRGS, 1997. 13 Ip. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997.
- MISRA, H.P. & FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 247 (10); 3170-3175, 1972.
- MORENO, F.S.; RIZZI, M.B.S.L.; DAGLI, M.L.Z. & PENTEADO, M.V.C. Inhibitory effects of β -carotene on preneoplastic lesions induced in Wistar rats by the resistant hepatocyte model. *Carcinogenesis.* 12 (10): 1817-1822, 1991.
- MORLEY, J.E. The resurgence of free radicals. *J. A. G. S.* 40(12); 1285-1287, 1992.
- MORTALIDADE BRASIL -1994. Brasília; CENEPI, Fundação Nacional de Saúde, 1997. 520p.
- MOUNIÉ, J.; FAYE, B.; MAGDALOU, J.; GOUDONNET, H.; TRUCHOT, R. & SIEST, G. Modulation of UDPGIucuronosyltransferase activity in rats by dietary lipids. *J. Nutr.* 116; 2034-2043, 1986.
- NOGUCHI, N.; GOTOH, N. & NIKI, E. Dynamics of oxidation of low density lipoprotein induced by free radicals. *Biochim. Biophys. Acta.* 1168(3); 348-357, 1993.
- OHARA, Y.; PETERSON, T.E. & HARRISON, D.G. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J.Clin. Invest.* 91: 2546-2551, 1993.

- OJIMA, F.; SAKAMOTO, H.; ISHIGURO, Y. & TERAQ, J. Consumption of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *FreeRad. Biol. Med.* 15; 377-384, 1993.
- OLIVEIRA, A.R. Efeitos de estresse oxidativo em corações isolados de ratos sedentários e treinados. Porto Alegre; UFRGS, 1993. IOOp. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1993.
- OTEIZA, P.I.; OLIN, K.L.; FRAGA, C.G. & KEEN, C.L. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J.Nutr.* 125; 823-829,1995.
- PALOZZA, P.; MOUALLA, S. & KRINSKY, N.I. Effects of P-carotene and a-tocopherol on radical-initiated peroxidation of microsomes. *Free Rad. Biol. & Med.* 13; 127-136, 1992.
- PAOLISSO, G.; GAMBARDELLA, A.; GIUGLIANO, D.; GALZERANO, D.; AMATO, L.; VOLPE, C.; BALBI, V.; VARRICCHIO, M. & D'ONOFRIO, F. Chronic intake of pharmacological doses of vitamin E might be usefiil in the therapy of elderly patients with coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 61; 848-852, 1995.
- PARAIDATHATHU, T.; PALAMANDA, J. & KEHRER, J.P. Modulation of rat heart mitochondrial function and the production of reactive oxygen by vitamin E deficiency. *Toxicology.* 90(1-2);103-114, 1994.
- PARFITT, V.J.; RUBBA, P; BOLTON, C; MAROTTA, G.; HARTOG, M. & MANCINI, M. A comparison of antioxidant status and free radical peroxidation of plasma lipoproteins in healthy young persons firm Naples and Bristol. *Eur. Heart J.* 15(7): 871-876, 1994.
- PARTHASARATHY, S.; BARNETT, J. & FONG, L.G. High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochim. Biophys. Acta.* 1044: 275-283, 1990a-
- PARTHASARATHY, S; KHOO, J.C.; MILLER, E.; BARNETT, J.; WITZTUM, J.L. & STEINBERG, D. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification; implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad Sci. USA.* 87; 3894-3898, 1990b.
- PECKENPAUGH, N.J. & POLEMAN, C.M. Nutrition: essentials and diet therapy. 7th ed. USA: W. B. Saunders Company, 1995. 626p.

- PETTY, M.A.; LUKOVIC, L.; GRISAR, J.M.; DOW, J.; BOLKENIUS, F.N. & DE JONG, W. Myocardial protection by a cardioselective free radical scavenger. *Eur. J. Pharmacol.* 255: 215-222, 1994.
- PIPER, B. Diet and nutrition: A guide for students and practitioners. 1th. ed. London: Chapman & Hall, 1996. 425p.
- PLUMB, G.W.; LAMBERT, N.; CHAMBERS, S.J.; WANIGATUNGA, S.; HEANEY, R.K.; PLUMB, J.A.; ARUOMA, O.I.; HALLIWELL, B.; MILLER, N.J. & WILLIAMSON, G. Are whole extracts and purified glucosinolates from cruciferous vegetables antioxidants? *Free Rad. Res.* 25(1): 75-86, 1996.
- PÓVOA, Jr. H; ANDRADE, C.C.; CÂMARA, M.; GAMMARO, R.; SANTOS, C. & OLIVEIRA, L.A. Ginkgo biloba e radicais livres em camundongo. *F. méd.* 106 (4): 149-150, 1993.
- PRASAD, K. & KALRA, J. Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: effect of vitamin E. *Am. Heart J.* 125(4): 958-973, 1993.
- PRYOR, W.A.; STANLEY, J.P. & BLAIR, E. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: **n.** A suggested mechanism for the formation of TBA - reactive materials from prostaglandin - like endoperoxides. *Lipids.* 11(5): 370-379, 1976.
- PYKE, D-D. & CHAN, A.C. Effects of vitamin E on prostacyclin release and lipid composition of the ischemic rat heart. *Arch. Biochem. Biophys.* 277(2): 429-433, 1990.
- RAO, G.; XL[^] E.; NADAKAVUKAREN, M.J. & RICHARDSON, A. Effect of dietary restriction on age-dependent changes in the expression of antioxidant enzymes in rat liver. *J. Nutr.* 120(6): 602-609, 1990.
- REAVEN, P.D. & WITZTUM, J.L. Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Annu Rev. Nutr.* 16: 51-71, 1996.
- REDDY, V.K.; KUMAR, C.T.; PRASAD, M. & REDDANNA, R. Exercise-induced oxidant stress in the lung tissue: role of dietary supplementation of vitamin E and selenium. *Biochem. Int.* 26 (5): 863-871, 1992.
- REID, M.E. & MICKELSEN, O. Nutritional studies with the guinea pig VIII. Effect of different proteins, with and without amino acid supplements, on growth. *J. Nutr.* 80: 25-32, 1963.

- RICE-EVANS, C.; BAYSAL, E.; PASHBY, D. P. & HOCHSTEIN, P. /-Butyl hydroperoxide-induced perturbations of human erythrocytes as a model for oxidant stress. *Biochim. Biophys. Acta.* 815; 426-432, 1985.
- RICHTER, C. & FREI, B. Ca²⁺ release from mitochondria induced by prooxidants. *Free Rad. Biol. & Med* 4; 365-375, 1988.
- ROBERT, L. Aging of the vascular wall and atherogenesis; role of the elastin-laminin *TQC&pior. Atherosclerosis.* 123(1-2); 169-179, 1996.
- SALONEN, J.T. Dietary fats, antioxidants and blood pressxire. *Ann. Med.* 23(3); 295-298, 1991.
- SANTOS, T. M.** Lipídeos. In; **DLiTRA-DE-OLrVEIRA, J.E. & MARCHINI, J. S.** *Ciências nutricionais.* São Paulo; Sarvier, 1998. p. 86-97.
- SARKKINEN, E.S.; LTUSITUPA, M.I.J.; NYSSÖNEN, K.; PARVIAINEN, M. PENTTILÄ, I. & SALONEN, J.T. Effects of two low-fat diets, high and low in polyunsaturated fatty acids, on plasma lipid peroxides and serum vitamin E levels in iiree-living hypercholesterolaemic men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 47(9); 623-630,1993.
- SINGH, V.N. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* 122; 760-765,1992.
- SINGH, R. B.; WAZ, M.A.; AGARWAL, P.; BEGOM, R. & RASTOGI, S.S. Effect of antioxidant-rich foods on plasma ascorbic acid, cardiac enzyme, and lipid peroxide levels in patients hospitalized with acute myocardial infarction. *J. Am. Diet. Assoc.* 95: 775-780, 1995.
- SKÚLADÓTTIR, G. V.; SHI-HUA, D.; BRODIE, A. E.; REED, D.J. & WANDER, R.C. Effects of dietary oils and methyl ethyl ketone peroxide on in vivo lipid peroxidation and antioxidants in rat heart and liver. *Lipids.* 29 (5); 351-357,1994.
- SOLÀ, R.; LA VILLE, A.E.; RICHARD, J.L.; MOTTA, C.; BARGALLÓ, M.T.; GIRONA, J.; MASANA, L. & JACOTOT, B. Oleic acid rich diet protects against the oxidative modification of high density lipoprotein. *Free Radic. Biol. Med.* 22(6); 1037-1045, 1997.
- SOUTHOURN, P.A. & POWIS, G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin. Proc.* 63; 381-389, 1988.

- SPECTOR, A.A.; KADUCE, T.L.; HOAK, J.C. & FRY, G.L. Utilization of arachidonic and linoleic acids by cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 68: 1003-1011, 1981.
- STADTMAN, T.C. Specific occurrence of selenium in enzymes and amino acid tRNAs. *FASEBJ.* 1: 375,1987.
- STAPRĀNS, I; PAN, X.-M.; MILLER, M. & RAPP, J. H. Effect of dietary lipid peroxides on metabolism of serum chylomicrons in rats. *Am. J. Physiol.* **264 (3 Pt 1): G561-G568, 1993a.**
- STAPRĀNS, I.; RAPP,J.H.; PAN,X.-M. & FEINGOLD, K.R.. The effect of oxidized lipids in the diet on serum lipoprotein peroxides in control and diabetic rats. *J. Clin. Invest.* 92 (2): **638-643,1993b.**
- STEINBRECHER, U.P.; ZHANG, H. & LOUGHEED, M. Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. *Free Rad. Biol. & Med.* 9: 155-168, 1990.
- STEWART-PHILLIPS, J.L.; LOUGH, J. & PHILLIPS, N.C. The effect of a high- fat diet on murine macrophage activity. *Int. J. Immunopharmacol.* 13 (4): 325-332, 1991.
- TAGESSON, C.; KALLBERG, M.; KLINTENBERG, C. & STARKHAMMAR, H. Determination of urinary 8-hidroxydeoxyguanosine by automated coupled-column high performance liquid chromatography: a powerful technique for assaying in vivo oxidative DNA damage in cancer patients. *Eur. J. Cancer.* 31 A: 934-940,1995.
- TAILLEUX, A. & FRUCHART, J.C. HDL heterogeneity and atherosclerosis. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 33(3): 163-201, 1996.
- TURINI, M.E.; THOMSON, A.B.R. & CLANDININ, M.T. Lipid composition and peroxide levels of mucosal cells in the rat large intestine in relation to dietary fat. *Lipid.* 26 (6): 431-440,1991.
- VANNUCCHI, H.; MENEZES, E. W. CAMPANA, A. O. & LAJOLO, F. M. Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas a população brasileira. *Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN)*. Ribeirão Preto, Legis Suma Ltda, 1990. 156p. v.2.
- VOEGELI, R.; MEIER, J.; DOPPLER, S. & RIES, P. Defesa contra espécies reativas de oxigênio-modelos “in vitro”. *Cosmetics & Toiletries (Edição em Português)*. 4: 49-55, 1992.

- WAGNER, B.A.; BUETTNER, G.R. & BURNS, C.P. Free radical - mediated lipid peroxidation in cells; Oxidizability is a function of cell lipid Aw-allylic hydrogen content. *Biochemistry*. 33; 4449-4453, 1994.
- WALSH, J. Low fat, no fat, some fat... hight fat? Type of fat, not amoimt, may be key. *Environ. Nutr.* 21(4); 1-4, 1998.
- WANG, H.; ZHAN, R.; HUNTER, F.; DU, J. & BLACK, D. Effect of acute feeding of diets of varying fatty acid composition on intestinal apolipoprotein expression in the newborn swine. *Pediatr. Res.* 39(6); 1078-1084, 1996.
- WARD, J. Free radicals, antioxidants and preventive geriatrics. *Aust. Fam. Physican.* 23(7); 1297-1301, 1305, 1994.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.-L.; ALLEN, K.G.D. & SEIFERT, M.F. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturates and acetylsalicylic acid alter ex vivo PGE2 biosynthesis, tissue IGF-I levels, and bone morphometry in chicks. *J. Bone Miner. Res.* 11(9); 1321-1322, 1996.
- WELSCH, C.W. Review of the effects of dietary fat on experimental mammary gland tumorigenesis; role of lipid peroxidation. *FreeRad. Med.* 18(4); 757-773, 1995.
- WERNIS, S.W. & LUCCHESI, B.R. Free radicals and ischemic tissue injury. *T/PS.* 11; 161-166, 1990.
- WILSON, V.L.; TAFFE, B.G.; SHIELDS, P.G.; POWEY, A.C. & HARRIS, C.C. Detection and quantification of 8-hydroxydeoxyguanosine adducts in peripheral blood of people exposed to ionizing radition. *Environ. Health Perspec.* 99: 261-263, 1993.
- WITT, E. H.; REZNICK, A. Z.; VIGUIE, C. A.; STARKE-REED, P. & PACKER, L. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J. Nutr.* 122; 766-773, 1992.