

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Estrutura química dos ácidos graxos

Os lípides são classificados quimicamente como simples ou complexos dependendo da ligação que interage com os ésteres de ácidos graxos (AG). As interações simples ocorrem com vários álcoois (gorduras e ceras) e nas complexas ocorrem com outros grupos de álcoois juntamente com um ácido graxo (fosfolípidos, glicolipídios e lípidos complexos). Ainda existem os precursores e derivados de lípidos, como os AG, o glicerol, os esteróides, outros álcoois, os aldeídos graxos, os corpos cetônicos, os hidrocarbonetos, as vitaminas lipossolúveis e os hormônios (NELSON; COX, 2000; MAYES; BOTHAM, 2006)

Os AG são encontrados principalmente como ésteres nas gorduras e óleos naturais ou na forma de AG livres no plasma. São formados quimicamente por um ácido carboxílico (HO-C=O) a um extremo da cadeia e um grupo metílico (CH_3) no outro, representados pela forma RCO_2H , com cadeia hidrocarbônica de 2 a 36 átomos carbono (C), sendo essa sem duplas ligações – saturada ou contendo uma ou mais duplas ligações – insaturada. O grupo carboxila constitui a região polar e a cadeia R a região apolar da molécula (NELSON; COX, 2000; CURI et al., 2002; MAYES; BOTHAM, 2006).

Os AG saturados (AGS) possuem uma conformação linear que permite um melhor empacotamento dos mesmos, fazendo com que suas moléculas fiquem mais próximas umas das outras e, com isso, aumentando a interação entre elas (Figura 1) (CURI et al., 2002).

A conformação da molécula dos AG insaturados caracteriza-se por dobramentos rígidos em suas cadeias carbônicas, pois as duplas ligações não giram, permanecendo uma angulação de 30 graus para cada uma das duplas ligações presentes (configuração *cis*), tornando menores as interações entre as moléculas e diminuindo o seu o poder de empacotamento. Estas características químicas refletem o ponto de fusão dos AG insaturados, muito menores do que a dos (AGS) (Figura 1) (CURI et al., 2002).

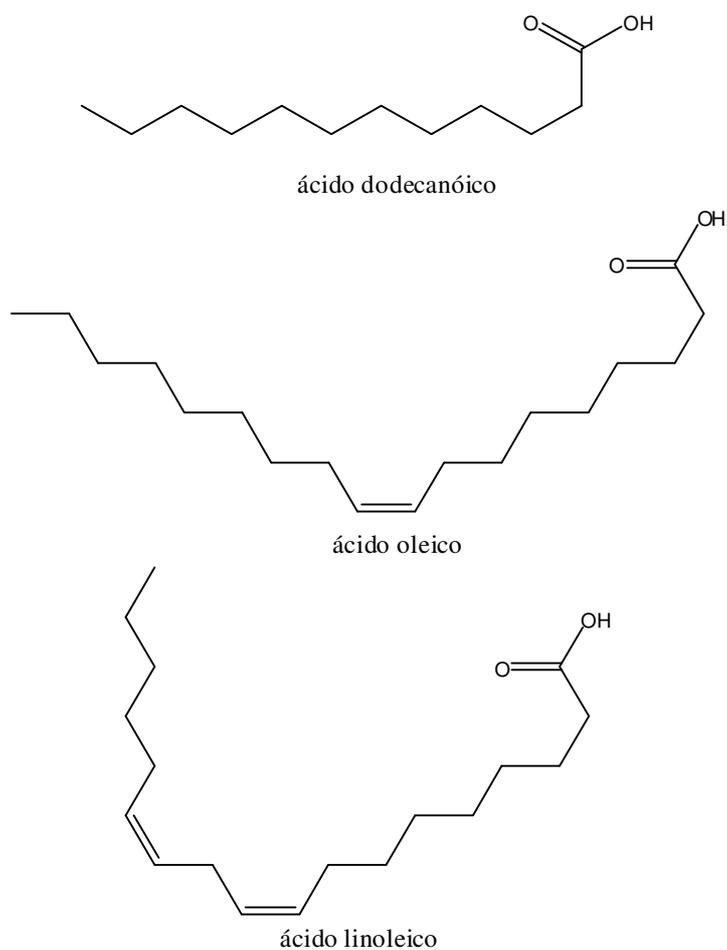


Figura 1. Estrutura química das moléculas do AG dodecanóico (AGS), AG oléico (AG monoinsaturado) e do AG linoléico (AG poliinsaturado).

Os AG são, freqüentemente, nomeados em forma abreviada de acordo com suas estruturas químicas e são classificados como AGS, ácidos graxos monoinsaturado (AGM) ou ácidos graxos poliinsaturados (AGP), dependendo do número de duplas ligações (Tabela 1).

Tabela 1 - Representação da nomenclatura comum e sistemática de alguns AG.

Nome comum (AG)	Nome sistemático	Átomos de carbono	Duplas ligações	Posições das duplas ligações *	Classe dos AGP**
Butírico	Butanóico	4	0		
Capróico	Hexanóico	6	0		
Caprílico	Octanóico	8	0		
Cáprico	Decanóico	10	0		
Láurico	Dodecanóico	12	0		
Mirístico	Tetradecanóico	14	0		
Palmítico	Hexadecanóico	16	0		
Palmitoléico	Hexadecenóico	18	1	9	ω -7
Estearico	Octadecanóico	18	0		
Oléico	Octadecenóico	18	1	9	ω -9
Linoleico	Octadecadienóico	18	2	9,12	ω -6
Linolênico	Octadecatrienóico	20	3	9,12,15	ω -3
Araquidônico	Eicosatetraenóico	20	4	5,8,11,14	ω -6
EPA ***	Eicosapentaenóico	20	5	5,8,1,14,17	ω -3
DHA ***	Docosahexanóico	22	6	4,7,10,13,16,19	ω -3

Fonte: Curi et al., (2002).

Os AGS constituem principalmente fontes alimentares de origem animal, como exemplo: leite integral, queijos amarelos, manteiga, sorvete, creme, carnes ricas em gorduras, côco, gordura hidrogenada, óleos de côco e de palma (azeite-de-dendê). A contribuição dos AG insaturados na dieta provém principalmente de fontes alimentares de origem vegetal. Os AGM compreendem óleos vegetais como o de oliva e de canola, as oleaginosas

como as nozes, a castanha-do-pará, as amêndoas, e outras fontes como o abacate e a azeitona. Os AGP na dieta são representados primordialmente pelos óleos vegetais como o de açafrão, de girassol, de soja, de milho e de linhaça, bem como em peixes de águas frias como salmão, bacalhau, arenque, atum, sardinha e cavala (MARANHÃO; MANIERO, 2007).

Após ingestão dietética lipídica ocorrem complexas etapas nas quais os lípides passam por processos químicos e então são absorvidos e metabolizados pelo organismo.

1.2. Absorção, transporte e metabolismo de lípidos

O transporte de lípidos é conceitualmente diferenciado como a via de transporte exógeno de lípidos provenientes da alimentação e a via do transporte endógeno de lípidos sintetizados no fígado (BROWN et al., 1981).

No transporte exógeno os AG dietéticos, que em sua maioria estão sob a forma de ésteres de colesterol (EC), fosfolípidos (FL) e triglicérides (TG), no processo de digestão, devido a sua característica bipolar, participam da formação das micelas de sais biliares que aumentam a superfície de contato das moléculas lipídicas à ação da lipase pancreática.

A digestão dos lípidos tem início no estômago e é catalisada pela lipase lingual e pela lipase gástrica, posteriormente no intestino delgado, onde a digestão é finalizada e ocorre a absorção. Os lípidos absorvidos são

conduzidos por meio dos vasos linfáticos e atingem a circulação sanguínea via ducto torácico (LIAO et al., 1984; ABRAMS et al., 1988; THOMSOM et al., 1989).

No estômago acontece principalmente a ação da lipase lingual, a qual atua sobre os TG hidrolisando as ligações ésteres dos AG na posição 3 da molécula glicerol e apresenta uma ação preferencial sobre os AG de cadeia média (6 a 10 átomos de carbono). Ainda no estômago é verificada a ação da lipase gástrica, que atua como a lipase lingual, e ambas, após realizada hidrólise, produzem moléculas de diacilglicérides e AG livres (LIAO et al., 1984; ABRAMS et al., 1988)

No duodeno, é verificada a ação da lipase pancreática (hidrolisa TG em 2-monoacilglicérides e AG livre), da fosfolipase A2 (hidrolisa os FL em lisofosfolípides e AG livres) e da colesterol esterase (hidrolisa EC em colesterol livre) (RAMIREZ et al., 2001).

Os AG livres e o 2-monoacilglicérides, produtos da digestão lipídica, se unem a sais biliares e FL formando as micelas biliares mistas que se difundem facilmente por meio da camada estacionária de água junto à borda em escova dos enterócitos (HOFFMANN; BORGSTROM, 1964; WILSON et al., 1971; RAMIREZ et al., 2001), na qual são absorvidos via proteínas transportadoras de AG intestinais (IFABP) (STAHL et al., 1999).

Os AGS com 6 a 12 átomos de carbono (C) são denominados AG de cadeia média, encontrados principalmente na gordura de côco. Os TG ricos em AG de cadeia média sofrem hidrólise por ação da lipase pancreática,

sendo absorvidos no duodeno mais rapidamente do que os de cadeia longa (RAMIREZ et al., 2001).

Após absorção, os AG de cadeia média e curta têm seu transporte facilitado no plasma, por uma ligação à albumina e, pela via porta, alcançam o fígado rapidamente. Por outro lado, os AG de cadeia longa seguem uma via metabólica distinta, sendo obrigatoriamente reesterificados nos enterócitos, para formar TG e outros ésteres. Esses lípides são incorporados ao colesterol dietético e a apolipoproteína B-48, sintetizada nos enterócitos, para então formar a lipoproteína quilomícron (Qm) (LARRY et al., 1990; RAMIREZ et al., 2001; DEVLIN, 2002).

Uma fração do colesterol dietético encontra-se em sua forma esterificada e é hidrolisado pela ação da colesterol esterase presente no suco pancreático, liberando AG e colesterol livre (CL). Englobado nas micelas mistas, o CL difunde-se para as células epiteliais da mucosa. A partir de uma proteína transportadora, Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1), presente na porção apical do enterócito, o colesterol é internalizado (ALTMANN et al., 2004). O esteróide é então reconvertido a EC intracelularmente e incorporados às moléculas de Qm (HUSSAIN, 2000).

As lipoproteínas permitem que o transporte de lípidos ocorra na corrente sanguínea. São caracterizadas pela sua forma esférica e são compostas por núcleo lipídico hidrofóbico, constituído, principalmente, por EC e TG, envolto por uma monocamada hidrofílica composta por FL, CL e proteínas (EISENBERG; LEVY, 1975). Esses componentes protéicos são

denominados apolipoproteínas (Apo) e associam-se à lipoproteína por interações não covalentes (SCHAEFFER et al., 1978).

As apolipoproteínas (Apo) desempenham importante papel na solubilização e estabilização estrutural das lipoproteínas, modulam o metabolismo lipoprotéico ao atuarem como ativadores e bloqueadores enzimáticos e, por fim, mediam a captação celular das lipoproteínas por receptores específicos. A classificação das Apo é feita de acordo com uma nomenclatura alfa numérica: apo A-I, A-II e A-IV, apo B-100 e B-48, apo C-I, C-II e C-III, apo D, apo E e apo (a) (SCHAEFFER et al., 1978).

As lipoproteínas se diferem quanto à composição (diferenças quantitativas e qualitativas dos lipídios e apo), tamanho e mobilidade eletroforética. A sua classificação pode ser feita por ultracentrifugação em gradiente de densidade, ou de acordo com a sua migração eletroforética em acetato de celulose ou gel de agarose (LEE; ALOUPOVIC, 1970; CHAPMAN et al., 1981). As quatro maiores classes de lipoproteínas plasmáticas são: Qm, lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de densidade baixa (LDL) e lipoproteína de densidade alta (HDL). Existem duas menores classes de lipoproteínas que são: lipoproteína de densidade intermediária (IDL) e lipoproteína (a) (SCARTEZINI *et al*, 2003).

Os Qm, compostos de TG, FL, colesterol e proteínas (apoA-I, apoA-IV, apoB- 48), são transportados na via linfática, e liberados na corrente sangüínea pelo ducto torácico. Na circulação, passam por um processo dinâmico de troca de elementos de superfície com outras lipoproteínas plasmáticas, principalmente com as HDL, os Qm adquirem apoC-II, C-III, E e

colesterol. A apoC-II ativa a enzima lipase lipoprotéica (LLP), localizada nas células endoteliais, que hidrolisa os TG dos Qm e libera AG livres que serão armazenados no tecido adiposo ou utilizados como fonte energética pelo tecido muscular (GOLDMAN; BRAUNWALD, 2000; HUSSAIN, 2000; DEVLIN, 2002). Juntamente com a perda de TG, ocorre diminuição dos componentes de superfície: o FL, o CL e as apos, que são transferidos para a HDL ou dão origem à partículas precursoras desta lipoproteína (EISENBERG, 1984; WANG; BRIGGS, 2004). O Qm transfere TG para a HDL e recebe EC via proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) (LEWIS; RADER, 2005). Esta transferência de lípidos é parte de um mecanismo complexo denominado transporte reverso de colesterol. Após este processo de hidrólise, as partículas apresentam-se em menor tamanho, com quantidade relativamente maiores de EC e enriquecidas de apoE, chamadas de remanescentes de Qm (GOLDMAN; BRAUNWALD, 2000), as quais são removidas da circulação pela interação entre a apo E e o receptor celular específico localizado principalmente nas células hepáticas, o “LDL-receptor related protein” (LRP) (GOLDMAN; BRAUNWALD, 2000; HUSSAIN et al., 2000).

Após a captação hepática, o remanescente de Qm é degradado e libera AG, glicérol, aminoácidos e colesterol. Este último pode ser excretado na bile na forma de ácidos biliares ou pode ser utilizado para a síntese de membranas ou ainda pode integrar as lipoproteínas produzidas e secretadas pelos hepatócitos (HAVEL; HAMILTON, 1988b; HAVEL; HAMILTON, 2004a).

O transporte endógeno dos AG, sob a forma livre ou esterificada, é realizado por lipoproteínas, albumina e outras proteínas transportadoras de ácidos graxos.

Os AG na forma livre oriundo do tecido adiposo são transportados no plasma principalmente pela albumina, enquanto os ácidos graxos na forma esterificada (TG, EC, FL e outros), provenientes principalmente do fígado, são transportados pelas VLDL e, em menor proporção, LDL e HDL (SPECTOR, 1984; RAMIREZ et al., 2001).

No início do transporte endógeno de lípidos é verificada a formação das VLDL nos hepatócitos, as quais contêm principalmente TG e as ApoB100, ApoE e ApoC. Sua principal função é transportar TG e colesterol para os tecidos periféricos (BACHORICK et al., 1999; BIGGERSTAFF, WOOTEN; 2004). Logo após sua secreção na circulação, a VLDL entra em contato com outras lipoproteínas e por meio de colisões, principalmente com a HDL, adquire maiores quantidades de apo E, C-II e C-III (HAVEL; HAMILTON, 1988b). Assim como no metabolismo do Qm, a apo C-II atua como co-fator de ativação da LLP (KRAUSS et al., 1973; KWITEROVICH, 2000).

A LLP ativada hidrolisa os TG da VLDL e forma a partícula remanescente de menor diâmetro e maior densidade, as IDL. A diminuição do diâmetro da VLDL pela ação da LLP, resulta no excesso de lípidos na sua superfície. O colesterol e os FL da superfície da VLDL são então transferidos para a HDL ou dão origem a partículas precursoras desta lipoproteína (EISENBERG, 1984; WANG; BRIGGS, 2004). Esse processo confere à

VLDL meia-vida plasmática de duas a quatro horas (EISENBERG; LEVY, 1975; BACHORICK et al., 1999).

Grande parte das IDL é captada no fígado pelos receptores de LDL (LDLr). O restante das partículas de IDL sofre ação da enzima lipase hepática (LH), que hidrolisa TG e FL, e resulta em partículas de menor densidade e maior conteúdo de colesterol, as LDL.

Estas, assim como as IDL, são retiradas da circulação pelos receptores de LDL (LDL-r) existentes em vários órgãos e tecidos corpóreos, principalmente no fígado. A LDL corresponde a 50% do total das lipoproteínas plasmáticas, sendo que a maior parte de seu colesterol encontra-se na forma esterificada, que perfaz 50% da partícula (HAVEL, 1984; BACHORICK et al., 1999).

A LDL ao se ligar aos LDL-r é internalizada e conduzida aos lisossomos para degradação. Os receptores retornam para a superfície celular para se ligarem a outras partículas de LDL. O colesterol liberado da LDL exerce ações regulatórias como aumento da atividade da acil-colesterol-acil transferase (ACAT) para esterificação do colesterol; diminuição da atividade da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzimaA (HMGCoA) redutase, responsável pela biossíntese de colesterol endógeno; e diminuição da síntese de receptores celulares para LDL, aumentando assim a sua concentração plasmática (BROWN; GOLDSTEIN, 1986).

1.3. Metabolismo da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) e suas propriedades antiaterogênicas

As HDL são lipoproteínas ricas em apo AI, FL e CL e são formadas principalmente no fígado, como HDL nascentes que apresentam forma discóide. (BACHORICK et al.,1999; KWITEROVICH, 2000; BARTER et al., 2003). Dependendo do seu conteúdo lipídico, da quantidade de proteínas e, conseqüentemente, do seu tamanho, a HDL pode ser dividida em quatro subclasses: HDL1, HDL2, HDL3 e HDL4, sendo que, as populações de HDL2 e a HDL3 estão presentes em maior concentração no plasma (EISENBERG, 1984). As HDL2 e HDL3 podem ainda ser subdividas em subfrações por ordem decrescente de tamanho: HDL2b (diâmetro médio de 10,6nm), HDL2a (9,2nm), HDL3a (8,4nm), HDL3b (8,0nm) e HDL3c (7,6nm) (RADER, 2002; BARTER et al., 2003). As populações HDL2 e HDL3 podem ainda ser divididas segundo a presença da apo A-I e A-II, neste caso a HDL2 é composta principalmente por uma população que possui apo A-I e não possui apo A-II (HDL-A-I) enquanto a HDL3 é composta principalmente por uma população que possui apo A-I e apo A-II (HDL- AI/A-II) (WANG, BRIGGS, 2004).

A HDL é uma lipoproteína que está em constante remodelamento no plasma. Apolipoproteínas na forma livre ou complexada com pequenas quantidades de lípidos são os precursores da HDL. A apo AI produzida pelo fígado e pelo intestino ou ainda, proveniente do catabolismo das lipoproteínas ricas em TG, uma vez presente no plasma é lipidada, na qual

ocorre a remoção de FL e colesterol de tecidos hepáticos e extra-hepáticos, num processo facilitado pelo transportador de membrana “ATP-binding cassette transporter A1” (ABCA1) que tem como resultado a formação da HDL discóide (pré- β -HDL), constituída em apolipoproteína, FL e uma menor quantidade de CL (BARTER et al., 2003; WANG; BRIGGS, 2004). Outras apolipoproteínas, como a apo A-II, A-IV e apo E, quando presentes no plasma, também sofrem lipidação por serem capazes de causar efluxo celular de FL e colesterol e podem dar origem a pré- β -HDL via proteínas transportadoras (ECKARDSTEIN et al., 2001; BARTER et al., 2003).

O efluxo celular de lípidos é dependente da interação física entre a partícula receptora e a membrana celular, onde o transportador ABCA1 tem um papel essencial: o de modificar a distribuição lipídica da membrana celular e, conseqüentemente, facilitar a interação entre a apolipoproteína (principalmente a apo A-I) e a superfície celular (WANG; BRIGGS, 2004). Esse transportador tem afinidade elevada pela apo A-I e existem fortes indícios de que o efluxo celular de FL preceda o efluxo de colesterol, pois a complexo apo A-I-fosfolípido é um melhor receptor de colesterol, quando comparado a apo A-I livre (WANG; BRIGGS, 2004). A HDL na forma discoidal também pode ser originada a partir dos constituintes de superfície das lipoproteínas ricas em TG que, ao sofrer ação da LLP, liberam vesículas contendo apolipoproteína e FL, acrescidos ou não de quantidades pequenas de colesterol (BARTER et al., 2003).

A pré- β -HDL continua a receber lípidos via ABCA1, mas adquire também quantidades extras de colesterol de outras lipoproteínas que contém

apoB (VLDL, IDL e LDL) e de membranas celulares por processo de difusão passiva que parece não ser dependente do transportador ABCA1 (BARTER et al., 2003). A HDL na forma discoidal é um substrato excelente para a lecitina-colesterol-acil-transferase (LCAT), uma enzima sintetizada e secretada principalmente pelo fígado, presente na circulação e que se liga a superfície das lipoproteínas, inclusive a da HDL, cuja função é converter colesterol e lecitinas (fosfatidilcolinas) em EC (SCHAEFER et al., 1982; EISENBERG, 1984; WANG; BRIGGS, 2004).

A esterificação do colesterol pela LCAT ocorre com a transferência de um AG da posição-2 da lecitina para o grupo hidroxila da molécula de colesterol (LEWIS, 2006). A LCAT é ativada pelas apolipoproteínas apo A-I, A-IV apo E, e apo C-I, e uma vez ativada, a LCAT esterifica o colesterol recebido pela pré- β -HDL (WANG; BRIGGS, 2004). O resultado da ação da LCAT é a formação de um núcleo hidrofóbico na pré- β -HDL, constituído de EC, que transforma a HDL discóide em uma forma esférica, madura, a HDL3 (WANG; BRIGGS, 2004).

A HDL3 continua a receber colesterol e FLs de membranas celulares, mas agora num processo mediado pelo receptor scavenger classe B tipo I (SR-BI), presente principalmente na glândula adrenal, no fígado e nos monócitos, ou por difusão, ambos os processos distintos daquele mediado pelo ABCA1 (WANG; BRIGGS, 2004). Neste processo existe uma interação dos componentes lipídicos da HDL, principalmente FL, com a superfície celular, favorecendo a difusão de colesterol através do receptor SR-BI. (SCARTEZINI et al., 2003). A HDL3 também recebe colesterol e FL,

provenientes da lipólise dos Qm e da VLDL pela LLP, num processo facilitado pela proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP). Assim como ocorre com a pré- β -HDL, o colesterol recebido sofre ação da LCAT, é transformado em EC e, devido a sua hidrofobicidade, deixa a superfície da lipoproteína e passa a ocupar o núcleo, transformando a HDL3 em uma partícula maior, a HDL2 (ECKARDSTEIN et al., 2001).

A HDL2 realiza trocas de EC e TG, com as demais lipoproteínas (Qm, VLDL, IDL e LDL), num processo mediado pela CETP, uma glicoproteína hidrofóbica, produzida pelo fígado e que está presente no plasma em associação com as lipoproteínas (LEWIS, 2006). O EC é transferido, por meio da CETP, da HDL2 para as demais lipoproteínas ricas em TG. Essas lipoproteínas, por sua vez transferem TG para a HDL2. A extensão da transferência depende da concentração de cada componente lipídico na lipoproteína doadora (GLOMSET, 1970; MARCEL et al., 1980; EISEMBERG et al., 1984). O TG recebido pela HDL2 é o substrato para a enzima LH, presente nos hepatócitos e nas células endoteliais hepáticas. A LH é responsável pela lipólise de TG e FL, é modulada pelas apolipoproteínas, sendo a apo E a ativadora desta enzima (WANG; BRIGGS, 2004). Uma outra enzima lipolítica, a lipase endotelial (LE), sintetizada pelo endotélio e presente na sua superfície também regula o remodelamento da HDL2, mas com atividade de hidrólise principalmente de FL (WANG; BRIGGS, 2004; LEWIS, 2006). A ação da LH resulta em conversão da HDL2 em HDL3, que retoma o ciclo de remoção tecidual do colesterol ou continua a sofrer degradação dos seus constituintes. A

magnitude do efeito da lipase depende da composição da HDL (LEWIS, 2006). Após a lipólise da HDL2 pelas LH e LE o colesterol dessa partícula é removido pelos receptores SR-BI, responsáveis pela captação seletiva do colesterol da HDL no fígado. A HDL2 se liga ao SR-BI com alta afinidade, resultando na transferência seletiva do CE do núcleo da HDL para compartimentos intracelulares, sem que ocorra a degradação das apolipoproteínas (WANG; BRIGGS, 2004).

A ligação da HDL com o receptor SR-BI parece ser facilitada pela ação da LH (ECKARDSTEIN et al., 2001). Esse conjunto de ações das lipases e do receptor SR-BI resulta no remodelamento da HDL2 que origina partículas menores, como a pré- β -HDL ou ainda a apo A-I na forma livre ou a apo A-I pobre em lípidos, que servem como receptores de lípidos e novamente iniciam a formação de partículas de HDL. A apo A-I pode ainda ser filtrada pelos rins e removida do plasma (EISENBERG, 1984; ECKARDSTEIN et al., 2001; LEWIS, 2006).

O clearance da HDL pode ocorrer por duas vias: via captação seletiva do seu conteúdo lipídico, como exposto anteriormente ou via endocitose com a captação e subsequente degradação da partícula inteira. Neste caso o enriquecimento da HDL com EC leva a formação de partículas maiores com alto conteúdo de colesterol e apo E, a HDL1, que podem ser captadas pelo fígado por meio de receptores celulares específicos que reconhecem a apo E (receptor B/E).

Desta forma, direta ou indiretamente, a HDL é responsável pelo transporte reverso do colesterol, um dos mais importantes fatores de

proteção na aterosclerose. No qual, o colesterol é retirado dos tecidos periféricos e levado para o fígado, onde pode ser reaproveitado, interagindo com outras vias metabólicas e utilizado para produção de sais biliares ou ainda ser excretado (LEITER, 2000; BALLANTYNE et al., 2001 e ASZTALOS; SCHAEFER, 2003; SCARTEZINI et al., 2003).

Além de participar do transporte reverso do colesterol, esta lipoproteína possui propriedades antioxidantes, antiinflamatórias e anticoagulantes que podem contribuir substancialmente ao paradigma dos mecanismos preventivos da aterosclerose (SHAH et al., 2001; TOMÁS et al., 2004; MOVVA; RADER, 2008; RYE et al., 2008).

A HDL impede modificações oxidativas da LDL e, conseqüentemente, inibe a captação da LDL pelos macrófagos. Ao prevenir a oxidação, a HDL também protege o endotélio dos efeitos citotóxicos da LDL-oxidada e da migração e adesão de monócitos, ambos induzidos pela LDL-oxidada (BARTER et al., 2003).

O principal mecanismo pelo qual a HDL diminui o acúmulo de peróxidos lipídicos é pela hidrólise enzimática dos hidroperóxidos dos fosfolípidos (DURRINGTON et al., 2001). A paroxonase 1 (PON1), uma enzima produzida pelo fígado e que circula em associação com a HDL, inibe a ligação de peróxidos lipídicos na LDL e também na HDL, com conseqüente limitação do desenvolvimento da aterosclerose (COSTA et al., 2005). Para exercer seu efeito antioxidante, é necessário que haja interação entre a PON1 e os lipídeos oxidados, o que pode ocorrer de duas formas: a atividade antioxidante da PON1 mediada por difusão durante a interação

entre LDL e HDL e a mais provável consiste na transferência dos lipídeos oxidados da LDL para a HDL e posterior ação da PON1 (JAMES; DEAKIN, 2004).

Além da PON1, a HDL possui uma grande variedade de mecanismos de defesa antioxidantes, dentre eles: a PON 3, que assim como a PON1 faz parte da família das paroxonases, a apo A-I capaz de remover lípidos oxidados da LDL para a HDL, a LCAT e a CETP, capazes de transferir lípidos oxidados da LDL para a HDL (JAMES; DEAKIN, 2004).

Outra proteção ao processo aterosclerótico provém da capacidade da HDL em reduzir a expressão das moléculas de adesão “vascular cell adhesion molecule-1” (VCAM-1), “intracellular adhesion molecule-1” (ICAM-1) e da E selectina, induzidas pelas citocinas nos processos inflamatórios. Essa propriedade antiinflamatória da HDL é bastante influenciada pela composição de FL da partícula (BARTER et al., 2003). A HDL também modula a função endotelial por promover um aumento na produção de óxido nítrico (NO) por ativar a enzima NO sintetase, além de desempenhar função antitrombogênica por inibir a agregação plaquetária (RADER, 2002; SVIRIDOV; NESTEL, 2002; BARTER et al., 2003).

Os efeitos protetores da HDL relacionados às doenças cardiovasculares têm sido documentados em inúmeros estudos epidemiológicos (MILLER; MILLER, 1975), prospectivos (GORDON et al., 1989; BARTER et al., 2007) bem como em animais de experimentação (BELALCAZAR et al., 2003; MOREHOUSE et al., 2007), nos quais

constataram uma inversa correlação entre a concentração de HDL e os índices de doença arterial coronária (DAC) (TAILLEUX, 2001).

1.4. Ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados da dieta e suas influências no metabolismo lipídico

A composição lipídica das lipoproteínas reflete o conteúdo de AG da dieta. A influência dos AG na lipemia e aterogênese varia conforme o grau de saturação, de oxidação e suas proporções na dieta.

Dietas contendo elevadas concentrações de gorduras saturadas aumentam as concentrações de colesterol total (CT) e de colesterol da lipoproteína de densidade baixa (LDL-C), estando diretamente implicadas na alta incidência de doença arterial coronária em vários países do ocidente, inclusive o Brasil (CURI et al., 2002).

Os ácidos graxos saturados tendem a elevar as concentrações de LDL-C pela supressão do LDL-r e diminuição do “clearance” plasmático destas partículas. Além disso, em função de sua estrutura química retilínea, os AGS facilitam a entrada de colesterol nas membranas das partículas de LDL, contribuindo para o aumento das concentrações de LDL-C. Os efeitos dos AG parecem estar limitados ao comprimento de cadeia entre 10 a 18 C, sendo o mirístico (C14:0) e o palmítico (C16:0) mais aterogênicos (SPADAY et al., 1999; PEHOWICH et al., 2000).

O ácido graxo láurico (C12:0) é o principal componente do óleo de côco, que contém aproximadamente 90% de AGS. Sugere-se que o AG saturado deste óleo é prejudicial à saúde, principalmente em relação às doenças cardíacas. No entanto, fazem-se necessários mais estudos esclarecedores sobre seus efeitos, pois a sua composição de AG de cadeia média desencadeiam um metabolismo diferente dos AGS de origem animal, por não serem degradados e reesterificados, e assim utilizados para produção de energia (AMARASIRI; DISSANAYAKE, 2006).

Estudo verificou que os AG láurico, mirístico e palmítico aumentaram as concentrações de LDL-C comparado a uma dieta rica em AG esteárico em hamsters, possivelmente pela diminuição da atividade dos receptores B/E e o aumento na produção da LDL (WOOLLETT et al., 1992). Fernandez et al. (2005) sugerem que os AG dietéticos podem influenciar no número de receptores relacionados à captação de partículas de LDL, por afetarem a síntese dos LDL-r.

A substituição dos AGS da dieta por AGM, particularmente o ácido oléico, apresenta um efeito protetor no desenvolvimento de DAC. Dietas ricas em AGM reduzem as concentrações plasmáticas de LDL-C, LDL oxidada e a proliferação de células musculares lisas (MATA, et al., 1997), sem modificar as concentrações de HDL-C. A redução do colesterol de LDL dá-se provavelmente pelo aumento na expressão dos LDL-r, o que aumenta a remoção plasmática da lipoproteína. Os AGM são também menos susceptíveis à oxidação por radicais livres do que os AGP, devido ao menor

número de duplas ligações na sua estrutura química (GRUNDY, 1987; BONANOME et al., 1992).

Dietas ricas em AGP inibem a transcrição dos genes lipogênicos pela supressão da transcrição do gene da proteína de ligação reguladora do esterol (SREBP-1) ou pela redução da maturação da proteína SREBP-1, em consequência reduzindo os AGM, TG e EC no plasma e no fígado de hamsters. No fígado, a inibição da expressão de SREBP-1c é maior em hamsters que receberam dietas ricas em AGP comparado aos que receberam AGS ou AGM (FIELD et al., 2003).

Mattson & Grundy (1985) verificaram que dieta rica em AGP diminuiu a concentração de LDL-C que está relacionada com outros dois mecanismos, redistribuição de colesterol entre o plasma e o tecido e um aumento dos LDL-r.

Os AGP da dieta são representados principalmente pelos AG linoléico, AG araquidônico (ω -6), AG linolênico, AG eicosapentaenóico e AG docosahexaenóico (ω -3) (FULLER; JIALAL, 1994). A substituição dos AGS da dieta por AGP apresenta efeito protetor semelhante à substituição dos AGS por AGM, resultando na redução do LDL-C (DE CATERINA et al., 1994). Assim como os AGM, a ingestão de AGP ω -3 diminui a susceptibilidade à oxidação das LDL plasmáticas (KRATZ et al., 2002). Entretanto, a suplementação de AGP pode reduzir as concentrações de HDL circulantes, possivelmente pela inibição da síntese de apo A-I (PEDERSEN et al., 1999).

Os AGP ω -3 promovem a diminuição das concentrações de TG plasmáticos pela redução de síntese de TG e secreção hepática de VLDL (SPADY et al., 1999).

Muitos estudos têm demonstrado o efeito de gordura dietética na regulação da CETP (GROENER et al., 1991; KURUSHIMA et al., 1995; HAYASHI et al., 1995; KURUSHIMA; JANSEN et al., 2000; FUSEGAWA et al., 2001; CHANG; SNOOK, 2001; GUPTA et al.; 2003). Alguns estudos demonstraram que AGS aumentam a atividade da CETP, contudo os efeitos dos AG insaturados sobre a atividade da CETP foram controversos. Estudos mostraram que os AGM reduzem (GROENER et al., 1991; KURUSHIMA et al., 1995; JANSEN et al., 2000; CHEEMA et al., 2005), aumentam (KHOSLA et al., 1997; GUPTA et al.; 2003) ou não alteram a atividade da CETP (CHANG; SNOOK, 2001). Já em relação aos efeitos dos AG dietéticos sobre atividade da PLTP, a literatura dispõe de poucos estudos, sendo eles inconclusivos (LAGROST et al., 1999; TERPSTRA et al., 2000).

1.5. Nanoemulsões lipídicas artificiais

A partir dos estudos das características físico-químicas das lipoproteínas plasmáticas, foram desenvolvidos modelos de nanoemulsões, semelhantes tanto aos Qm quanto a LDL, que são utilizadas no estudo do

metabolismo das lipoproteínas (GISBURG et al., 1982; MILLER; SMALL, 1983A; MILLER; SMALL, 1983B).

Em 1987, foram iniciados estudos que visavam reproduzir o metabolismo da LDL por meio da utilização de uma nanoemulsão lipídica artificial rica em colesterol (MARANHÃO et al., 1993). A nanoemulsão lipídica artificial não possui proteína, mas ao ser injetada na circulação plasmática, em contato com as lipoproteínas naturais, adquire a apo E. Desse modo, a lipoproteína artificial é reconhecida e captada pelos receptores da LDL, os quais reconhecem tanto a apo B quanto a apo E (MARANHÃO et al., 1993).

Estudos de competição em linfócitos mostraram que a LDL compete com nanoemulsão lipídica artificial pela captação celular, comprovando que a remoção de ambas se dá pelo mesmo receptor específico (MARANHÃO et al., 1997). No entanto, a nanoemulsão lipídica artificial tem mais afinidade pelos receptores de LDL do que a própria LDL (HIRATA et al., 1999). Isto acontece porque o meio ligante ao receptor utilizado pela nanoemulsão lipídica artificial é a apo E, que tem mais afinidade pelo receptor do que a apo B-100 da LDL.

Em outras experiências, a nanoemulsão lipídica artificial foi injetada em indivíduos normolipidêmicos e em portadores de hipercolesterolemia (MARANHÃO et al., 1997). Nesta situação, o defeito básico consiste nos receptores B/E, o que resulta na captação deficiente da LDL e seu acúmulo no plasma (RIDKER et al., 2001). Nesses pacientes, a nanoemulsão lipídica artificial foi removida muito lentamente da circulação, confirmando o

comportamento esperado. Além disso, em pacientes com leucemia mielocítica aguda, condição na qual a expressão dos receptores de LDL está muito aumentada (HO et al., 1978), a remoção da nanoemulsão lipídica artificial também está aumentada (MARANHÃO et al., 1994).

Santos et al. (2003) demonstraram que pacientes normolipidêmicos portadores de DAC não apresentavam diferença na remoção plasmática dos ésteres de colesterol da nanoemulsão lipídica artificial quando comparados a indivíduos-controle sadios. No entanto, a forma livre do colesterol era removida do plasma mais rapidamente nos pacientes com DAC do que nos controles. Na seqüência desses experimentos (COUTO et al., 2007), injetou-se a nanoemulsão lipídica artificial marcada com CL e EC radioativos em pacientes com DAC que seriam submetidos à cirurgia de revascularização. Observou-se que o CL da nanoemulsão lipídica artificial era removido mais rapidamente da circulação que o EC, assim como uma maior deposição do CL em fragmentos de vasos descartados durante a cirurgia comparando-se à do EC.

Todos esses resultados mostram a utilidade desta nanoemulsão como um modelo de estudo para mimetizar o metabolismo da LDL.

Outra característica importante das emulsões é que se pode variar a sua composição (MARANHÃO et al., 1986) e, desta forma, permite estudar outros aspectos do metabolismo lipídico como a esterificação do CL, a atividade de proteínas de transferência, o efeito de drogas hipolipemiantes e mecanismos de captação vascular. Portanto, viu-se a possibilidade de utilizar a nanoemulsão lipídica artificial como modelo de lipoproteína doadora

de lípidos. Lo Prete; Maranhão (2007) padronizaram um prático método “in vitro” capaz de quantificar a habilidade simultânea da HDL em receber seus principais constituintes lipídicos: FL, CL, EC e TG.

Este método foi utilizado com o intuito de estudar uma das vias do transporte reverso do colesterol em diversas condições fisiopatológicas como: após o transplante cardíaco, DAC com e sem tratamento de estatinas, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) com e sem microalbuminúria, síndrome metabólica, síndrome do ovário policístico, síndrome da imunodeficiência adquirida, mulheres pré e pós-menopausa, jovens saudáveis, idosos, e após intervenção dietética (PUK, 2007; LO PRETE, 2007; FEITOSA-FILHO, 2007; SEYDELL, 2007; SILVA, 2007; ROCHA, 2007; DAMINELLI et al., 2008; GIRIBELA, 2007; AZEVEDO, 2007; STRUNZ et al., 2008).

2. JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

Estudos recentes têm enfatizado aspectos não ligados simplesmente à concentração plasmática das lipoproteínas. No que diz respeito a HDL, análises qualitativas da lipoproteína, como capacidade de causar efluxo de colesterol, propriedades anti-oxidantes e anti-inflamatórias vêm sendo estudadas (LAMARCHE et al., 1999; LIRA et al., 2000; ASZTALOS et al., 2000; SVIRIDOV et al., 2002; UINT et al., 2003; KONTUSH, CHAPMAN, 2006).

Referente aos aspectos qualitativos da HDL, destaca-se sua capacidade de receber colesterol livre como o mais importante por estar diretamente relacionada com uma de suas principais ações protetoras, ou seja, a habilidade de promover transporte reverso do colesterol. Esta ação, certamente depende da lipoproteína receber o CL e esterificá-lo. No entanto, embora haja na literatura um grande número de trabalhos que relatem a concentração das lipoproteínas plasmáticas de indivíduos submetidos a diferentes dietas, pouco se sabe atualmente sobre os efeitos das dietas ricas em AGS, AGM ou AGP sobre propriedades funcionais da HDL.

Face ao exposto acima, no presente trabalho foi utilizada uma metodologia capaz de quantificar a habilidade simultânea da HDL em receber CL, EC, FL e TG (LO PRETE, 2007) para estudar o efeito de diferentes suplementações dietéticas sobre esta característica funcional da HDL. Para tanto, foram utilizados hamsters como modelo animal para o

estudo do efeito da suplementação isocalórica de óleos dietéticos. A escolha se deve ao fato de que, ao contrário do coelho, do rato ou do camundongo, o hamster apresenta o metabolismo e transporte plasmático de lípidos semelhantes ao dos seres humanos, desenvolvendo também processos de aterogênese que são semelhantes em termos de morfologia e fisiopatologia (SABLE-AMPLIS, 1981; SINGHAD et al., 1983; SPADY et al., 1983; SPADY et al., 1986; BERRY-LORTSCH; NISTOR et al., 1987; JACKSON et al., 1989; ONTKO et al., 1990; KOWALA et al., 1991; BISHOP, 1992; GROOT et al., 1992; CHAPMAN; GOULINET, 1993; TSUTSUMI et al., 2001)

Tendo em vista que o hábito alimentar e os esforços para controlar os fatores envolvidos no desenvolvimento de aterosclerose ou DAC podem resultar em prevenção e melhora na qualidade de vida, o estudo do circuito do transporte reverso do colesterol após suplementação dietética com diferentes AG pode ser de grande valia.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Comparar, em hamster, o efeito da suplementação isocalórica de diferentes óleos ricos em ácidos graxos saturado, monoinsaturado ou poliinsaturado sobre alguns aspectos funcionais da HDL. Dentre eles, a capacidade em receber simultaneamente colesterol livre, éster de colesterol, fosfolípidos e triglicérides, a função anti-oxidante, e a atividade das proteínas de transferência de éster de colesterol e fosfolípidos, bem como a composição em ácidos graxos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados 84 hamsters “Golden Syrian” machos adultos, pesando em média 154 ± 18 g (média \pm desvio padrão), mantidos em gaiolas climatizadas (20-22°C), com ciclo claro: escuro 12:12h, no Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Inicialmente, os animais consumiram ração comercial usual (Nuvilab®), por sete dias para adaptação às condições ambientais do biotério. Após esse período os animais foram divididos em 3 grupos e passaram a receber, além da ração comercial usual, suplementação dietética de óleos vegetais administrada diariamente por gavagem durante 30 dias (Figura 2):

- Grupo ácido graxo saturado (AGS), constituído de 28 animais, foi mantido sob ração comercial usual e suplementação de 0,75 mL de óleo de côco.
- Grupo ácido graxo monoinsaturado (AGM), constituído de 29 animais, foi mantido sob ração comercial usual e suplementação de 0,75 mL de óleo de oliva.

- Grupo ácido graxo poliinsaturado (AGP), constituído de 27 animais, foi mantido sob ração comercial usual e suplementação de 0,75 mL de óleo de soja.

O consumo da ração comercial usual (Nuvilab Inc., Paraná, BR) e o da água foram mantidos *ad libitum*.

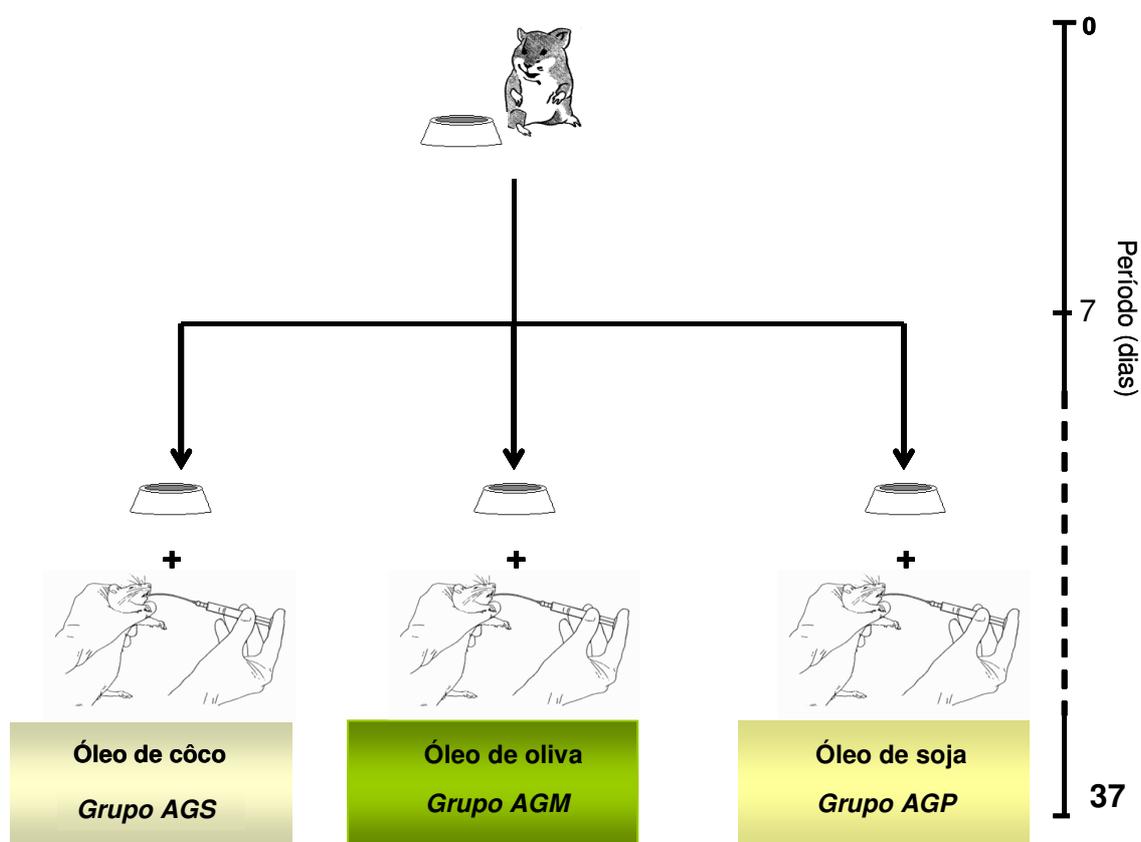


Figura 2 - Protocolo experimental.

Após este período, os hamsters foram anestesiados com injeção intraperitoneal de ketamina (12%) e xilazina (2%) e sacrificados com punção cardíaca.

4.2. Composição química da dieta

A composição bromatológica de carboidratos, proteínas, lípides, fibra bruta e resíduo mineral fixo da ração comercial usual (Tabela 2) e a composição em ácidos graxos do óleo de coco, oliva e soja (Tabela 3, Figura 3), administrados diariamente por gavagem aos hamsters durante o período experimental, foram determinadas pelo Laboratório de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz.

Tabela 2 - Composição bromatológica da ração comercial usual consumida pelos hamsters

Ingredientes	Quantidade (g/100g)
Valor calórico total (kcal)	324
Carboidratos	49,13
Proteínas	22,21
Lípides	4,29
Fibra bruta	5,81
Resíduo mineral fixo	7,90

Fonte: Análise realizada pelo Instituto Adolfo Lutz (2007).

Tabela 3 - Composição em ácidos graxos dos óleos vegetais.

Ácidos Graxos (% p/p ésteres metílicos)	Óleos		
	Côco	Oliva	Soja
Ácido Caprótico (6:0)	0,4	—	—
Ácido Caprílico (8:0)	4,6	—	—
Ácido Decanóico (10:0)	3,8	—	—
Ácido Láurico (12:0)	48,8	—	—
Ácido Mirístico (14:0)	15,3	—	—
Ácido Palmítico (16:0)	7,9	12,3	11,8
Ácido Esteárico (18:0)	2,1	3,3	3,2
Ácido Araquídico (20:0)	0,1	0,4	0,3
Ácido Behênico (22:0)	—	0,1	0,4
Ácido Lignocérico (24:0)	—	< ,01	0,1
Σ AGS	83.0	16.1	15.8
Ácido Palmitoléico (16:1 cis9)	—	0,9	0,9
Ácido Oléico (18:1 cis9)	14,7	71,6	20,7
Ácido Vacênico (18:1 cis 11)	0,1	2,0	1,5
Ácido Eicosaenóico (20:1 cis 11)	0,1	0,2	0,2
18:1 trans	—	< 0,05	—
Σ AGM	14.8	74.7	23.3
Ácido Linoléico (18:2 cis 9,12)	2,2	8,0	54,6
Ácido Linolênico (18:3 cis 9, 12, 15)	—	0,6	5,9
18:2 + 18:3 trans	—	< 0,05	—
Σ AGP	2.2	8.6	60.5

Fonte: Análise realizada pelo Instituto Adolfo Lutz (2007).

4.3. Avaliação do peso corporal dos animais e consumo de ração

Os animais foram pesados duas vezes por semana para acompanhamento de variações ponderais entre os grupos durante os 30 dias de suplementação. A avaliação de possíveis diferenças entre os grupos foram analisadas pelas médias de peso inicial e final.

O consumo de ração também foi avaliado duas vezes por semana, pesando-se o resíduo de ração. Os resultados foram expressos em gramas de ração consumida/hamster/dia.

4.4. Determinação do perfil lipídico

O perfil lipídico sérico dos hamsters foi determinado após 30 dias de suplementação dietética de óleos vegetais administrada diariamente por gavagem. As amostras de sangue venoso foram coletadas após jejum de 12h e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos a 4°C para separação do soro.

Os triglicérides (TG) e colesterol total (CT) foram determinados pelo método enzimático Triglicérides GPO-ANA e Colesterol Liquiform Labtest (Minas Gerais, BR), respectivamente, e pelo sistema de medida colorimétrica (Life Science UV/Vis Spectrophotometer, DU[®]530, Beckman). O colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) foi determinado pelo mesmo método utilizado para o CT, após precipitação das VLDL e LDL

segundo Burnstein *et al.* (1970). O colesterol não HDL (nHDL-c) foi obtido pela diferença entre o CT e o HDL -c

Para controle interno de qualidade, foi utilizada a preparação estabilizada Qualitrol 1 da Labtest Diagnostica S. A (Minas Gerais, BR).

O colesterol livre (CL) foi determinado pelo método enzimático Colesterol Livre COD-DAOS Wako Chemicals USA, Inc. (Virginia, USA) e pelo sistema de medida colorimétrica (Life Science UV/Vis Spectrophotometer, DU[®]530, Beckman).

A concentração de éster de colesterol foi obtida pela diferença entre a concentração de CT e a de CL

4.5. Análise dos ésteres metílicos dos ácidos graxos

Os ácidos graxos do plasma total e da fração HDL foram analisados em cromatógrafo a gás GC 17A SHIMADZU/CLASS GC-10 (Kyoto, Japão). A fração HDL foi separada por precipitação de lipoproteínas contendo apo B (sulfato de dextran 0,2%/ MgCl₂ 3M, v/v). A mistura foi agitada por 30 segundos e posteriormente centrifugada por 10 minutos a 3.000 rpm. Os lípides da HDL e do plasma adicionados do padrão interno (ácido margárico, C17:0) foram extraídos por meio do método de FOLCH *et al.* (1957). Uma alíquota do extrato de lípides foi então esterificada segundo a metodologia descrita no método da AOCS Ce 2-66 (2004).

Os ésteres metílicos foram ressuspensos e analisados em coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (Biscyanopropil polysiloxane,

Supelco Park, Bellefonte, USA) de 100 m comprimento e 0.25 mm de diâmetro interno. A programação de temperatura da coluna foi 140°C por 5 minutos e então aquecimento a 4°C/min até 240°C, permanecendo nesta temperatura por 20 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 250°C e do detector de 260°C. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 20 cm/s, a 175°C. A identificação dos ácidos graxos foi por meio da comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos das amostras com a mistura padrão Sigma ® 189 -19, contendo 24 componentes do C4 ao C24. Os teores de ácidos graxos foram expressos em mg/dL.

4.6. Determinação da atividade da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) e da proteína de transferência de fosfolípide (PLTP)

A atividade da CETP e da PLTP dos hamsters foi determinada após 30 dias de suplementação dietética de óleos vegetais. As amostras de sangue venoso foram coletadas após jejum de 12h e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos a 4°C para separação do soro. Os kits para determinação da atividade da CETP e da PLTP foram adquiridos da BioVision (Califórnia, USA). A atividade da CETP ou PLTP foi medida pela transferência dos lípidos neutros fluorescentes de uma molécula doadora para uma molécula aceptora. A fluorescência foi quantificada utilizando-se um leitor de fluorescência de placa em excitação de 456 nm e emissão de

535 nm (Spectramax, M5, Molecular Devices). Os resultados foram expressos em pmoles de lípidos neutro transferido por μL de amostra por hora ($\text{pmol}/\mu\text{L}/\text{h}$).

A análise das atividades da CETP e PLTP foi conduzida no mesmo dia para diminuir a variabilidade do ensaio.

4.7. Determinação da atividade da paroxonase 1 (PON1)

Amostras de sangue dos hamsters foram coletadas, após jejum de 12 h, em tubo seco e o soro foi obtido após 10 minutos de centrifugação, a 3.000 rpm, em centrífuga Sorval RT7. A atividade da PON1 foi medida pela adição de 500 μL de tampão Tris-HCl 0.1M e pH 8.05, contendo 2 mmol/L de CaCl_2 e 1.1 mmol/L de paraoxon Sigma Chemical Co. a 25 μL de soro. A amostra foi, então, distribuída em placa de 96 poços fundo chato, 200 μL por poço (em duplicata). A leitura foi feita em “Leitor de Microplacas” (Microplate Reader, Benchmark, Bio-RAD) com comprimento de onda de 405 nm e temperatura de 37°C. Para o cálculo da atividade, foram feitas 6 leituras em intervalos de um minuto cada. Os resultados foram expressos em $\text{nmol min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ (MACKNESS et al., 1991). O resultado foi obtido multiplicando-se a média da variação das absorbâncias pelo fator descrito abaixo:

Cálculo do Fator:

$$FATOR = \frac{VTR(mL)}{\epsilon_{405} \times VA(mL) \times E(cm)}$$

onde,

VTR (volume total da reação) = 525 μL (500 μL solução + 25 μL soro)

$\epsilon_{405} = 18050 \text{ L M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (SENTI et al. , 2003; AGACHAN et al., 2004)

VA (volume da amostra) = 25 μL

E (espessura do poço da placa) = 1 cm

Substituindo os valores e ajustando para as unidades internacionais temos:

Fator = 1163,43 nmol mL^{-1}

Cálculo da Atividade:

Atividade da Paraoxonase = Fator x $\Delta\text{abs}/\text{min}$ = 1163,43 x Δabs
 $\text{nmol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$,

onde,

Δabs = é média da variação das absorbâncias medidas a cada 1 minuto.

4.8. Preparo da nanoemulsão lipídica artificial

A nanoemulsão foi preparada segundo a técnica descrita por GISBURG et al. (1982) modificada por MARANHAO et al. (1993).

Foram pipetados em dois frascos de vidro 40 mg de fosfatidilcolina, 20 mg de colesterol oleato, 1 mg de trioleína e 0,5 mg de colesterol livre (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), dissolvidos em clorofórmio-metanol (2:1 v/v). Posteriormente, foram adicionados às misturas de lípidos os radioisótopos [^3H] colesterol oleato ($^3\text{H-EC}$) e [^{14}C] fosfatidilcolina ($^{14}\text{C-FL}$) ou [^3H] trioleato de glicerol ($^3\text{H-TG}$) e [^{14}C] colesterol ($^{14}\text{C-CL}$) (Amersham International (Buckinghamshire, UK). Em seguida, cada mistura de lípidos foi seca sob fluxo de nitrogênio, em banho de água (37°C) e mantida em dessecador a vácuo, por 16 horas, a 4°C , para a remoção total dos solventes residuais. Ao final desse tempo, se adicionou 10 mL de tampão TRIS-HCl 0,01 M, pH 8,0 às misturas dessecadas. Em seguida, as suspensões de lípidos foram emulsificadas por irradiação ultrassônica durante 3 horas, sob atmosfera de nitrogênio, com temperatura variando entre 51 e 55°C , na qual os componentes estão em estado de transição cristal-liquído, controlada por termômetro digital inserido diretamente nos frascos de vidro. A irradiação ultrassônica foi realizada com uma potência de 125 watts, em modo contínuo de operação por um sonicador 450 (Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, CT, USA), equipado com ponta de titânio de 1 cm de diâmetro.

Ao término da irradiação ultrassônica as duas nanoemulsões foram purificadas por ultracentrifugação (Ultracentrífuga Sorvall, modelo OTD Comb, Wilmington, EUA) equipada com rotor TH 641, durante 30 minutos, a 35.000 rpm, a 4°C . O sobrenadante das soluções (1,0 mL), contendo partículas que flutam em densidade 1,006 g/ml, foram descartados. O

volume restante foi submetido a nova ultracentrifugação a 35.000 rpm, durante 2 horas, a 4°C, após adição de brometo de potássio sólido (KBr), para ajustar a densidade em 1,210 g/mL. Do sobrenadante foram removidos 2,0 mL, os quais continham a fração das partículas de tamanho e composição desejados. O KBr foi removido por diálise, contra 2 trocas de 1000 volumes tampão tris HCl 0,01 M, pH 8. Finalmente, as emulsões foram esterilizadas por filtração em membrana Milipore® (0,22µ de porosidade) sob fluxo laminar e armazenadas a 4°C por no máximo quinze dias.

4.9. Ensaio da transferência de colesterol, éster de colesterol, fosfolípidos e triglicérides da nanoemulsão lipídica artificial para a HDL

Amostras de sangue dos hamsters foram coletadas, após jejum de 12 horas, em EDTA (1,5 g/L) e o plasma foi obtido após 10 minutos de centrifugação, a 3.000 rpm, em centrífuga Sorval RT7. Foi incubado 50 µL da nanoemulsão lipídica artificial marcada radioativamente com ³H-EC e ¹⁴C-FL ou ³H-TG e ¹⁴C-CL com 200 µL de plasma por 60 minutos, a 37°C, em agitador orbital Gyromax 706R, sob agitação de 40 rpm. Após a incubação, foram adicionados à mistura 250 µL de reagente de precipitação de lipoproteínas contendo apo B (Sulfato de Dextran 0,2% e Cloreto de Magnésio a 0,3 M, v/v). A mistura foi agitada em vortex por 30 segundos e posteriormente centrifugada por 10 minutos a 3.000 rpm. Alíquotas de 250 µL do sobrenadante, contendo a HDL, foram pipetadas em frascos de cintilação. Foram acrescentados a esses frascos, 5,0 mL de solução

cintiladora Ultima Gold (PerkinElmer, Boston, USA) e, finalmente, a radioatividade presente nas amostras foi quantificada em contador Beta (Liquid Scintillation Analyzer, Packard 1600 TR, Palo Alto, CA) com a utilização do software Plus Vers. 5.01 da Diamond Computers, para determinação das contagens de ^{14}C e ^3H das amostras.

O branco para este experimento consiste da mistura de 200 μL de solução tampão TRIS-HCL e 50 μL da nanoemulsão lipídica artificial, incubada e precipitada nas mesmas condições descritas acima. O valor da radioatividade total presente na amostra foi determinado pela incubação de 200 μL de plasma com 50 μL da nanoemulsão lipídica artificial, seguida de incubação, porém sem adição de reagente de precipitação. A quantificação dos lipídeos transferidos da nanoemulsão lipídica artificial para a HDL foi expressa como porcentagem (%) em relação à radioatividade total incubada.

4.10. Análise estatística

Os dados foram tabelados como média \pm desvio padrão ($M \pm DP$). As diferenças entre os dados obtidos de transferência de lípidos, parâmetros bioquímicos, e composição em ácidos graxos do plasma e da fração HDL dos hamsters dos grupos AGS, AGM e AGP foram avaliadas pela análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis (não paramétrico), seguida do teste de

comparações múltiplas de Dunns (GraphPad Prism v3.02 ou INSTAT V3.06, GraphPad Software, San Diego, CA).

As diferenças entre o peso corporal inicial e o final nos grupos AGS, AGM ou AGP foram avaliadas pelo teste de Wilcoxon bicaudal (teste não-paramétrico pareado). As diferenças entre o peso corporal inicial e o peso final, assim como o consumo de ração entre os grupos foram avaliados pela análise de variância, teste de Kruskal-Wallis (teste não-paramétrico), seguida do teste de comparações múltiplas de Dunns (GraphPad Prism v3.02, GraphPad Software, San Diego, CA).

A probabilidade de significância considerada foi de $p < 0,05$ em todas as comparações efetuadas.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Peso corporal e consumo de ração

A figura 3 mostra a variação do peso corporal inicial e final dos grupos AGS, AGM e AGP. Nota-se que houve aumento de aproximadamente 2,5%, 10% e 8% no peso corporal dos animais dos grupos AGS, AGM e AGP, respectivamente, após 30 dias de suplementação.

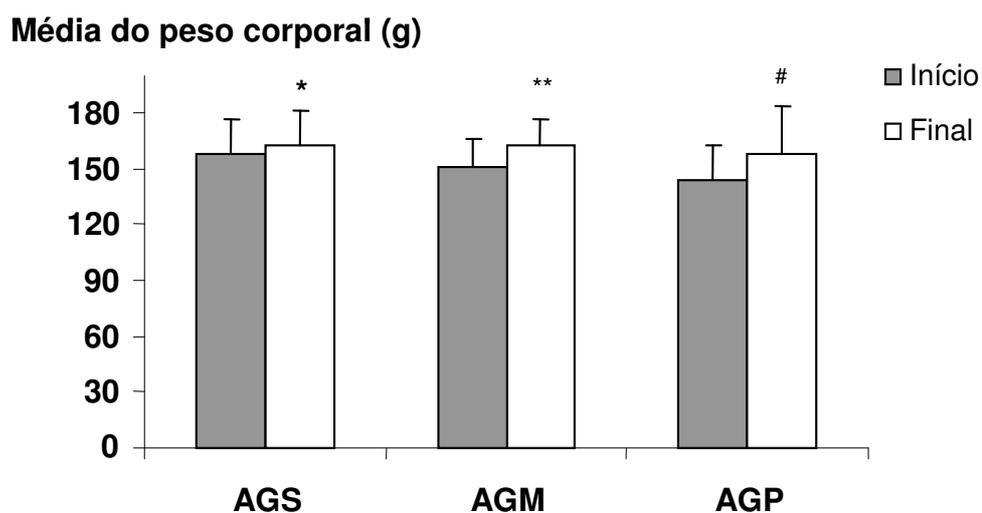


Figura 3 - Peso corporal (g) dos hamsters submetidos à suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados (AGS, n=28), monoinsaturados (AGM, n=29) e poliinsaturados (AGP, n=27), durante 30 dias. Resultados expressos em média \pm DP, teste de comparação múltipla de Dunns, após teste de Kruskal-Wallis.

* $p < 0,05$ vs AGS Início; ** $p < 0,05$ vs AGM Início; # $p < 0,05$ vs AGP Início.

A figura 4 mostra o consumo de ração dos hamsters que receberam suplementação de óleos ricos em AGS, AGM ou AGP durante 30 dias. O

consumo médio diário de ração foi de 9 ± 2 g, 8 ± 1 g e 10 ± 2 g respectivamente. Não houve diferenças no consumo da ração entre os grupos durante este período ($p= 0,6748$).

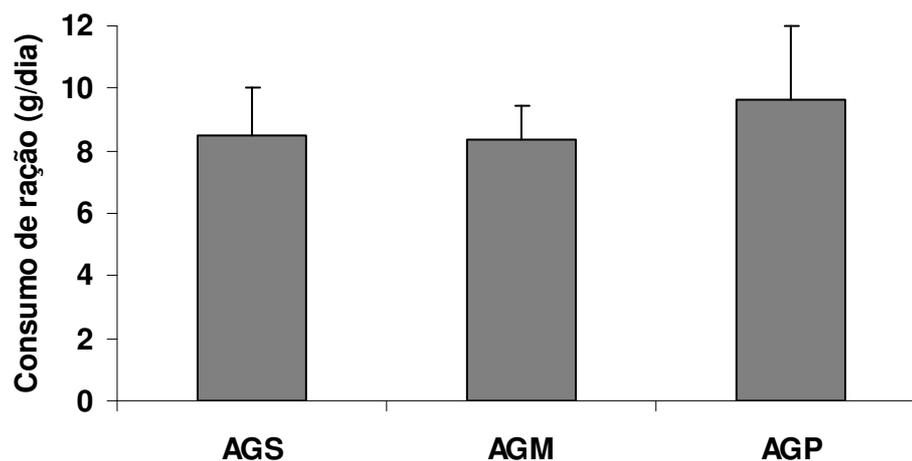


Figura 4 – Média de consumo de ração (g/dia) dos hamsters submetidos à suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados (AGS, $n=28$), monoinsaturados (AGM, $n=29$) e poliinsaturados (AGP, $n=27$), durante 30 dias. Resultados expressos em média \pm DP.

5.2. Perfil lipídico

A tabela 4 mostra os valores da concentração sérica de CT, CL, EC, nHDL-C, HDL-C e TG (mg/dL) dos grupos AGS, AGM e AGP após 30 dias de suplementação. Não houve diferenças nas concentrações séricas de CL, nHDL-C e HDL-C entre os três grupos.

A concentração sérica de CT do grupo AGP foi aproximadamente 12% menor do que no grupo AGS e AGM. No grupo AGP, as concentrações séricas de CE e TG foram aproximadamente 15,5% e 30%, respectivamente, menores do que no grupo AGS e AGM.

Tabela 4 - Perfil lipídico dos hamsters submetidos à suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados, durante 30 dias.

Perfil lipídico	AGS (n=28)	AGM (n=29)	AGP (n=27)	p
Colesterol (mg/dL)				
Total	101 ± 13	101 ± 14	89 ± 12 •	0,002
Livre	18 ± 11	16 ± 9	14 ± 12	0,721
Éster	87 ± 8	86 ± 8	73 ± 11 •	0,009
nHDL	51 ± 13	54 ± 18	47 ± 20	0,189
HDL	50 ± 14	47 ± 17	41 ± 14	0,064
Triglicérides (mg/dL)	83 ± 19	87 ± 27	59 ± 23 •	0,001

Abreviaturas: AGS – Ácidos Graxos Saturados; AGM – Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGP – Ácidos Graxos Poliinsaturados; HDL – Lipoproteína de alta densidade; nHDL – (CT-HDL). Resultados expressos em média ± DP, p < 0,05, teste de comparação múltipla de Dunns, após teste de Kruskal-Wallis. • p < 0,05 vs AGS e AGM.

5.3. Perfil dos ácidos graxos do plasma e da fração HDL

A tabela 5 mostra o perfil dos ácidos graxos do plasma total e da fração HDL de hamsters submetidos à suplementação isocalórica de óleos ricos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados, durante 30 dias. Quanto a composição de ácidos graxos do plasma total, constatou-se uma maior concentração (aproximadamente de duas vezes) do ácido graxo oléico (18:1) nos grupos AGS e AGM comparado ao grupo AGP. Já na fração HDL não houve diferença, entre os grupos suplementados, quanto à composição em ácidos graxos, o mesmo foi observado ao analisarmos a somatória da composição em ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados do plasma total e da fração HDL.

Tabela 5. Perfil dos ácidos graxos no plasma total (n=4) e da fração HDL (n=3) de hamsters submetidos à suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados, durante 30 dias.

Ácidos Graxos	Suplementação					
	Grupo AGS (mg/dL)		Grupo AGM (mg/dL)		Grupo AGP (mg/dL)	
	Plasma total	Fração HDL	Plasma total	Fração HDL	Plasma total	Fração HDL
14:0	2,2 ± 1,0	ND	1,1 ± 0,7	ND	1,0 ± 0,1	ND
16:0	57,2 ± 8,3	16,8 ± 3,0	43,9 ± 12,7	17,4 ± 2,8	40,7 ± 6,7	17,7 ± 1,4
18:0	27,9 ± 5,4	7,9 ± 0,3	21,8 ± 4,6	9,2 ± 2,4	20,8 ± 5,5	10,5 ± 3,7
Σ AGS	84,0 ± 14,7	24,7 ± 3,3	66,8 ± 18,0	26,6 ± 5,2	62,5 ± 12,3	28,2 ± 5,1
16:1	3,4 ± 3,3	ND	4,1 ± 4,1	ND	1,4 ± 0,4	ND
18:1 cis9	48,0 ± 8,0	10,1 ± 2,8	57,2 ± 24,1	12,4 ± 2,6	27,7 ± 4,5 [#]	12,6 ± 6,5
Σ AGM	51,4 ± 11,3	10,1 ± 2,8	61,3 ± 28,5	12,4 ± 2,6	29,1 ± 4,9	12,6 ± 6,5
18:2 cis9,12	65,8 ± 12,4	17,6 ± 1,8	66,7 ± 16,3	17,9 ± 2,0	52,6 ± 9,5	15,6 ± 1,7
18:3 cis9,12,15	2,0 ± 1,0	0,5 ± 0,3	2,3 ± 1,1	0,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,5 ± 0,4
20:4	15,8 ± 0,9	5,9 ± 1,1	18,7 ± 1,2	6,7 ± 1,2	17,1 ± 2,7	6,3 ± 1,5
Σ AGP	83,6 ± 14,3	24,0 ± 3,2	87,7 ± 18,6	25,2 ± 3,4	71,3 ± 12,4	22,4 ± 3,6

Abreviaturas: AGS – Ácidos Graxos Saturados; AGM – Ácidos Graxos Monoinsaturados, AGP – Ácidos Graxos Poliinsaturados; ND – Não detectado. Resultados expressos em média ± DP, p < 0,05, teste de comparação múltipla de Dunns, após teste de Kruskal-Wallis. [#]p < 0,05 vs SFA e MUFA.

5.4. Atividade da CETP e da PLTP

A tabela 6 mostra os valores das atividades da CETP e da PLTP em hamsters após a suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados.

Na tabela 6, verifica-se que a atividade da CETP do grupo AGM foi aproximadamente 1,5 vezes maior que a dos grupos AGS e AGP, no entanto não houve diferença na atividade da PLTP entre os grupos suplementados.

Tabela 6 – Atividade da CETP e da PLTP em hamsters após a suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados.

Parâmetros	Grupo AGS	Grupo AGM	Grupo AGP
CETP (pmol/ μ L/h)	7,5 \pm 2,7 (n=18)	10,8 \pm 3,2 * (n=18)	6,3 \pm 1,9 (n=17)
PLTP (pmol/ μ L/h)	14,3 \pm 5,9 (n=11)	18,1 \pm 9,1 (n=15)	21,9 \pm 17,3 (n=11)

Abreviaturas: AGS – Ácidos Graxos Saturados; AGP – Ácidos Graxos Poliinsaturados; AGM – Ácidos Graxos Monoinsaturados. Resultados expressos em média \pm DP, $p < 0,05$, teste de comparação múltipla de Dunns, após teste de Kruskal-Wallis. * $p < 0,05$ vs AGS e AGP.

5.5. Paroxonase 1 (PON 1) e Taxa de transferência de colesterol, éster de colesterol, triglicérides e fosfolípidos da nanoemulsão lipídica artificial para a HDL

A tabela 7 mostra os valores da atividade da PON1 e das taxas de transferência do colesterol, éster de colesterol, triglicérides e fosfolípidos de uma nanoemulsão lipídica artificial para a HDL dos hamsters submetidos à suplementação de óleos ricos em AGS, AGM ou AGP após 30 dias. Não foram observadas diferenças na atividade da PON1 entre os três grupos suplementados.

Na tabela 7, verifica-se que as taxas de transferências do $^3\text{H-EC}$ do grupo AGP foram, aproximadamente 4 vezes, maiores que as dos grupos

AGS e AGM, no entanto a taxa de transferência do ^{14}C -FL do grupo AGP foi aproximadamente 2 vezes menor que a dos grupos AGS e AGM.

Não foram constatadas diferenças entre as taxas de transferência de ^3H -TG e ^{14}C -CL quando comparados os três grupos.

Tabela 7 - Atividade da paroxonase 1 (PON1) e taxas de transferência do colesterol, éster de colesterol, triglicérides e fosfolípide de uma nanoemulsão lipídica artificial para a HDL em hamsters, após 30 dias de suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados.

Parâmetros	Grupo AGS (n=28)	Grupo AGM (n=29)	Grupo AGP (n=27)
PON 1 ($\text{nmol.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	75 ± 13	71 ± 16	71 ± 11
Transferência de Lípides (%)			
^3H -éster de colesterol	$0,65 \pm 0,34$	$0,75 \pm 0,25$	$2,89 \pm 1,35^*$
^{14}C -fosfolípide	$20,05 \pm 2,50$	$19,92 \pm 1,49$	$11,97 \pm 8,07^*$
^3H -triglicérides	$19,81 \pm 3,03$	$17,87 \pm 2,94$	$18,72 \pm 4,48$
^{14}C -colesterol	$4,82 \pm 0,74$	$4,41 \pm 0,98$	$4,98 \pm 1,54$

Abreviaturas: AGS – Ácidos Graxos Saturados; AGP – Ácidos Graxos Poliinsaturados; AGM – Ácidos Graxos Monoinsaturados. Resultados expressos em média \pm DP, $p < 0,05$, teste de comparação múltipla de Dunns, após teste de Kruskal-Wallis. * $p < 0,05$ vs AGS e AGM.

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A maioria dos estudos experimentais que avaliaram o efeito de diferentes AG dietéticos sobre o metabolismo lipídico ofereciam ração enriquecida de óleos ricos em AG (CHAPMAN; GOULINET, 1993; CUTHBERT et al, 1995; KAJIYAMA et al, 1995). No presente estudo, oferecemos aos hamsters suplementação dietética de óleos vegetais ricos em AGS, AGM ou AGP por gavagem e a ração comercial usual, caracterizando uma manobra dietética isocalórica, portanto não foram observadas diferenças no consumo diário de ração e no peso corporal entre os três grupos. O aumento no peso corporal final em relação ao inicial nos três grupos de animais suplementados sugere que a intervenção dietética não foi tóxica aos animais durante o período experimental.

No presente estudo, ao analisarmos o perfil dos ácidos graxos do plasma total e da fração HDL de hamsters, observamos que estes são compostos principalmente pelo AG palmítico (C16:0), oléico (C18:1) e linoléico (C18:2). O mesmo achado foi verificado por Hodson et al. (2008) quando analisaram a composição de AG do plasma total de 472 homens e 510 mulheres, provenientes de 9 estudos.

O pool de AG totais representa uma mistura de todas as frações de lípidos do plasma que contém ácidos graxos, i.e. FL, TG, EC e ácidos graxos não esterificados, constituintes em diferentes proporções das maiores

classes de lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL) (ERKKILA et al., 2008). Uma mudança substancial na composição de AG do plasma total poderia mostrar uma diferença nas concentrações das lipoproteínas. Em nosso estudo encontramos uma única alteração na quantidade de AG oléico no grupo AGP.

O grupo suplementado com óleo rico em AGP apresentou concentração sérica de CT menor do que os grupos suplementados com óleos ricos em AGS e AGM. Alguns pesquisadores verificaram o mesmo efeito encontrado em nosso estudo. Terpstra et al. (2000) submeteram hamsters a uma dieta usual com adicional de colesterol e enriqueceu-as com óleo de palma (AGS), milho (AGP) ou oliva (AGM) por 9 semanas, e verificou uma redução nas concentrações séricas do CT, HDL-C e nHDL-C do grupo óleo de milho em relação ao de palma e oliva. Kurushima et al. (1995b) utilizou uma dieta enriquecida em colesterol e um adicional de AG linoléico (AGP) ou AG oléico (AGM), e constatou que o AG linoléico foi mais eficiente em diminuir as concentrações séricas de CT e LDL-C quando comparado ao AG oléico.

No presente estudo, foi observado redução na concentração de TG no grupo AGP, assim como observado por outros autores (TERPSTRA et al., 2000). MacNamara (1992) e Khosla & Sundram (1996) sugeriram que a composição de AG dos TG da VLDL, que é influenciada pela composição de AG dietéticos, é determinante na conversão de VLDL em outras lipoproteínas, bem como no metabolismo de triglicérides. Sendo assim, a

produção e o *clearance* de TG podem ser alterados como resultado da quantidade e tipo de gordura da dieta. Para tanto, o autor propôs dois mecanismos que podem estar envolvidos na redução de TG: mudanças na composição da VLDL e alterações na expressão das atividades de enzimas e proteínas envolvidas no processo intravascular e catabolismo de VLDL. É sabido que o aumento da atividade da LLP reduz a concentração sérica de TG (LIU et al., 1994; ZSIGMOND et al., 1994). No entanto, não é bem esclarecido como alterações na atividade da LLP podem modular o processo de transferência de lípidos e afetar a concentração de HDL-C (CLEE et al., 1997), sendo muitas vezes não observado o aumento da concentração desta lipoproteína (LIU et al., 1994; ZSIGMOND et al., 1994).

Em hamsters é descrito que a concentração de CT é representada principalmente pela HDL-C e VLDL-C e não pela LDL-C, como em humanos. Esse resultado sugere que uma menor concentração de TG, e conseqüentemente, VLDL-C, pode explicar a menor concentração de CT encontrada no grupo AGP. Somado a isto, a diminuição de CT poderia ser também conseqüência de uma possível redução da LDL-C. Embora não tenha sido determinada a concentração de LDL-C, a menor concentração sérica de EC no grupo AGP, que representa cerca de 45 % da lipoproteína (SPADY; DIETSCHY, 1983; BURTON; CHIOU, 1989; LIU et al., 1991; GROOT et al., 1992), sugere uma redução nas concentrações de LDL-C neste grupo.

Spady e Dietschy (1988) verificaram em hamsters, que uma dieta enriquecida de colesterol e AGP promoveu a diminuição na concentração sérica de LDL-C pelo aumento de clearance hepático de LDL, em comparação com dietas enriquecidas de colesterol e AGS ou AGM. Kuo et al. (1990) verificaram que os AGS (12:0, 14:0 e 16:0) diminuem a expressão dos LDL-r, enquanto os AGP aumentam essa variável. Somado a isto, enquanto dietas enriquecidas de colesterol promovem uma supressão hepática dos LDL-r, Kurushima et al. (1995b) verificaram também em hamsters que dieta enriquecida de AGP (AG linoléico) impede de forma mais eficaz a supressão de LDL-r do que dietas enriquecidas de AGM (AG oléico). Estudos in vitro com diferentes linhagens celulares (RUMSEY et al., 1995) e estudos com hamsters (DAUMERIE et al., 1992; SPADY et al., 1993) demonstraram que os AG podem afetar o armazenamento de EC e influenciar a distribuição dos esteróis, que por sua vez podem influenciar a expressão do LDL-r, via regulação do pool de colesterol e ésteres de colesterol (FERNANDEZ; WEST, 2005). Com isso, o aumento da remoção plasmática de LDL e a diminuição da supressão hepática dos LDL-r, somados a redução da concentração sérica de EC e, possivelmente, a redução de LDL-C, poderiam também explicar a menor concentração de CT encontrada no grupo AGP.

No presente estudo, a atividade da CETP foi maior no grupo AGM em comparação aos grupos AGS e AGP. No entanto, os resultados referentes à atividade da CETP na literatura são controversos. Embora Kurushima et al. (1995a) tenham reportado atividade elevada da CETP em

hamsters submetidos à dieta rica em AGS, em relação aos que receberam dieta rica em AGP, muitos estudos demonstraram que diferentes tipos de AG dietéticos não alteravam a atividade da CETP (AHN et al., 1994; TERPSTRA et al., 2000). Em humanos, não foi verificada diferença na atividade da CETP nos indivíduos que receberam dietas contendo AGP ou AGM (LOTTENBERG et al., 1996). Groener et al. (1991) observou maior atividade da CETP em indivíduos que receberam dieta rica em AGP do que naqueles que receberam dieta rica em AGM. Essas controvérsias podem ser resultantes de variações no protocolo experimental da intervenção dietética, na qual a quantidade de gordura e a presença ou a ausência de colesterol foram ignoradas.

Em relação à atividade da PLTP, no presente estudo não houve diferença entre os grupos estudados. Em humanos, a substituição de AG palmítico (AGS) por AG láurico (AGS) numa dieta experimental foi associada com a redução na atividade da PLTP, porém quando substituído por AG oléico (AGM), o mesmo não foi observado (LAGROST et al., 1999). Terpstra et al. (2000) foram os primeiros a avaliarem em hamsters o efeito de diferentes tipos de gordura sobre a atividade da PLTP. Nesse estudo, não foi observada diferença na atividade da PLTP ao comparar uma dieta rica em óleo de palma (AGS), de oliva (AGM) ou de milho (AGP). Desse modo, não há consenso na literatura sobre a influência dos AG dietéticos na atividade da PLTP.

Dieta enriquecida em AGM está associada com menor susceptibilidade à oxidação da LDL do que AGP, pois esses apresentam um

número maior de insaturações tornando-as mais propensas a oxidação (KRIS-ETHERTON et al., 2004). A PON1 é uma esterase associada à HDL que possui uma atividade antioxidante. Esta enzima hidrolisa fosfolípidos oxidados presentes na LDL, reduzindo a oxidação destas lipoproteínas e diminuindo seus efeitos pró inflamatórios. O efeito antioxidante da HDL foi avaliado neste estudo pela medida da atividade da enzima PON1 e não foram encontradas diferenças na atividade desta enzima entre os grupos AGS, AGM e AGP. Apesar de ser importante na prevenção da oxidação dos lipídeos (DURRINGTON et al., 2001), a concentração da PON1 in vivo varia em até 40 vezes dentro da mesma população (COSTA et al., 2005) e esta variação pode ter sido o interferente para o fato de não termos encontrado diferenças entre os três grupos.

O grupo AGP apresentou maior transferência de EC da nanoemulsão lipídica artificial para a HDL. A transferência de lípidos sofre influência das proteínas de transferência, da concentração e da composição dos lípidos nas lipoproteínas doadora e receptora (GLOMSET, 1970; MARCEL et al., 1980; EISENBERG et al., 1984). Desse modo, as transferências de lípidos podem ocorrer pelo baixo gradiente de concentração de cada lipídeo (LAGROST, 1994; LIU; BAGDADE, 1995), resultando em equilíbrio desses componentes entre as partículas (LAGROST, 1994). Como no presente estudo foi observada menor concentração sérica de EC, sugerindo menor concentração deste lipídeo em todas as classes de lipoproteínas, a HDL estaria mais propensa a receber EC devido ao gradiente de concentração negativo. Embora a transferência

de EC e TG sejam ambas via CETP, pode não haver uma recíproca de intensidade de transferência entre elas (TALL, 1995; LIU; BAGDADE, 1995).

Baseado no mesmo raciocínio sobre a transferência de EC, a menor concentração de TG no grupo AGP, sugere maior atividade da LLP neste grupo, implicando em maior atividade lipolítica de FL e TG das lipoproteínas ricas em TG. Jin et al. (2002), sugerem que após a lipólise de lipoproteínas ricas em TG, os FL de superfície e as apolipoproteínas, dissociadas dessas lipoproteínas, são armazenados pela HDL. Somado a isto, estudos mostram que AGP aumentam a atividade da LLP (VASANDANI et al., 2002) resultando em maior concentração de ambos os lípidos nas partículas de HDL desses animais. Por consequência do gradiente de concentração, estas partículas teriam menor capacidade de receber FL e TG. No entanto, no presente estudo foi observado menor transferência apenas de FL no grupo AGP comparado aos grupos AGS e AGM.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

A suplementação dietética de óleo rico em ácidos graxos poliinsaturados em hamsters aumenta a capacidade da HDL em receber éster de colesterol e diminui sua capacidade em receber fosfolípidos, em comparação com os grupos de animais que receberam suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados ou monoinsaturados.

A suplementação dietética de óleo rico em ácidos graxos monoinsaturados em hamsters aumenta a atividade da proteína de transferência de éster de colesterol, quando comparado com os grupos de animais que receberam suplementação de óleos ricos em ácidos graxos saturados ou poliinsaturados

Outros aspectos, como a atividade antioxidante e a composição em ácidos graxos da HDL não foram influenciadas pela suplementação dietética, no entanto esta manobra dietética é capaz de influenciar a funcionalidade da partícula HDL, e nos fornece subsídios para o entendimento do efeito da dieta nos mecanismos relacionados ao metabolismo lipídico dos hamsters.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, C.K.; HAMOSH, M.; LEE, T.C.; ANSHER, A.F.; COLEN, M.J. et al. Gastric lipase: localization in the human stomach. **Gastroenterol.**, v.95, p.1460-1464, 1988.

AGACHAN, B.; YILMAZ, H.; KARAALI, Z.; ISBIR, T.- Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. **Cell. Biochem. Funct.**, v. 22(3), p. 163-8, 2004.

AHN, Y.S.; SMITH, D.; OSADA, J.; LI, Z.; SCHAEFER, E.J.; ORDOVAS, J.M. Dietary fat saturation affects apolipoprotein gene expression and high density lipoprotein size distribution in Golden Syrian hamster. **Journal of Nutrition**, v.124, p.2147-2155, 1994.

ALTMANN, S. W.; DAVIS JR, H. R.; ZHU, L.; YAO, X.; HOOS, L. M.; TETZLOFF, G.; IYER, S. P. N.; MAGUIRE, M.; GOLOVKO, A.; ZENG, M.; WANG, L.; MURGOLO, N.; GRAZIANO, M. P. Niemann-Pick c1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. **Science**, v.303, p.1201-1204, 2004.

AMARASIRI, W.A.; DISSANAYAKE, A.S. Coconut fats. **Ceylon Med J**, v. 51(2), p.47-51, 2006.

ASZTALOS, B. F.; SCHAEFER E.J. High-Density Lipoprotein Subpopulations in Pathologic Conditions. **The American Journal of Cardiology**, v.91, p.12E-17E, 2003.

ASZTALOS, B.F.; ROHEIM, P.S.; MILANI, R.L.; LEFEVRE, M.; McNAMARA, J.R.; HORVATH, K.V.; SCHAEFER, E.J. Distribution of apo A-I-containing HDL subpopulations in patients with coronary heart disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v.20, p. 2670-76, 2000.

AZEVEDO, C. H. M. **Transferência para HDL de colesterol livre e outros lípidos em diferentes faixas etárias: um estudo in vitro utilizando uma lipoproteína artificial.** 2007. Tese (Doutorado em Farmácia (Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

BACHORIK, P.S.; RIFKIND, B.M.; KWITEROVICH, P.O. Lipídeos e dislipoproteinemias. *In*: HENRY J.B., **Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais.** 2ed. São Paulo, Manole, 1999.

BALLANTYNE, C.M.; OLSSON, A.G.; COOK, T.J.; MERCURI, M.F.; PEDERSEN, T.R.; KJEKSHUS, J. Influence of low high-density lipoprotein cholesterol and elevated triglyceride on coronary heart disease events and response to simvastatin therapy in 4S. **Circulation**, v.104, p.3046-3051, 2001.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A.; HOBBS, R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis**, v.168, p. 195-211, 2003.

BARTER, P.A.M.; GOTTO, J.C.; LAROSA, J.; MARONI, M.; SZAREK, S.M.;GRUNDY, J.J.; et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. **N Engl J Med**, v.357, p.1301-1310, 2007.

BELALCAZAR, L.M. ; MERCHED, A.; CARR, B.; OKA, K.; CHEN, K.H.; PASTORE, L.; BEAUDET, A.; CHAN, L. Long-term stable expression of human apolipoprotein A-I mediated by helper-dependent adenovirus gene transfer inhibits atherosclerosis progression and remodels atherosclerotic plaques in a mouse model of familial hypercholesterolemia. **Circulation**, v. 107, p. 2726-2732, 2003.

BERRY-LORTSCH, E.; SABLE-AMPLIS, R. Reduced bile salt secretion in hamster with spontaneous high liver cholesterol. **Comp Biochem Physiol.**, v.69, p.243-247, 1981.

BIGGERSTAFF, K.D.; WOOTEN, J.S. Understanding lipoproteins as transporters of cholesterol and other lipids. **Adv Physiol Educ**, v. 28, p. 105-106, 2004.

BISHOP, R. W. Structure of the hamster low density lipoprotein receptor gene. **J Lipid Res.**, v.33, p.549-557, 1992.

BONANOME, A.; PAGNAN, A.; BIFFANTI, S.; OPPORTUNO, A.; SORGATO, F.; DORELLA, M.; MAIORINO, M., URSINI, F. Effect of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidative modification. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v.12, p.529-33, 1992.

BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**, v. 232, p. 34-47, 1986.

BROWN, M.S.; KOVANEN, P.T.; GOLDSTEIN, J.L. Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors. **Science**, v. 212, p.628- 35, 1981.

BRUCE, C.; CHOUINARD, R.A.; TALL, A.R. Plasma lipid transfer proteins, high-density lipoproteins, and reverse cholesterol transport. **Annu Rev Nutr.**, v. 18, p.297-330, 1998.

BURTON, P.M.; CHIOU, M.Y. Isolation, characterization and quantification of apolipoproteínas A-I and B of the Golden Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) and modification of their levels by dietary cholesterol. **Comp Biochem Physiol.**, v.92, p.667-673, 1989.

CHANG, C., AND J. T. SNOOK. The cholesterolaemic effects of dietary fats in cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. **Brit. J. Nutr.**, v.85, p. 643-648, 2001.

CHAPMAN, M.J.; GOLDSTEIN, S.; LAGRANGE, D.; LAPLAUD, P.M. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. **J. Lipid Res.**, v.22, p.260-266, 1981.

CHAPMAN, M.J.; GOULINET, S. Plasma lipoproteins in the golden Syrian hamster: heterogeneity of apo B and apo A1 containing particles. **J Lipid Res.**, v.34, p.943-959, 1993.

CHEEMA, S.K.; AGARWAL-MAWAL, A.; MURRAY, C.M.; TUCKER, S. Lack of Stimulation of Cholesterol Ester Transfer Protein by Cholesterol in the Presence of a Diet High in Monounsaturated Fatty Acids. **J Lipid Research**, v.46, p.2356-2366, 2005.

CLEE, S.M.; ZHANG, H.; BISSADA, N.; MIAO, L.; EHRENBORG, E. et al. Relationship between lipoprotein lipase and high density lipoprotein cholesterol in mice: modulation by cholesteryl ester transfer protein and dietary status. **J Lip Research**, v.38, p.2079-2089, 1997.

COSTA, L.G.; VITALONE, A.; COLE, T.B.; FURLONG, C.E. Modulation of paraoxonase (pon1) activity. **Biochemical Pharmacology**, v.69, p.541-50, 2005.

COUTO, R. D.; DALAN, L. A. O.; LISBOA, L. A. F.; MESQUITA, C. H.; VINAGRE, C. G. C.; MARANHÃO, R. C. Deposition of free cholesterol in the blood vessels of patients with coronary artery disease: a possible novel mechanism for atherogenesis, **Lipids**, v.42, p.411-418, 2007.

CURI, R; SOLIS, V.S.; GRAZIOLA, F. Estrutura química e classificação dos ácidos graxos in: CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C.K.; PROCOPIO, J. (org). **ENTENDENDO A GORDURA: OS ÁCIDOS GRAXOS**. São Paulo: Editora Manole, 1^a ed, 2002.

CUTHBERT, J.A.; HORTON, J.D.; SPADY, D.K. Regulatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on hepatic LDL uptake in the hamster and rat. **J Lipid Res.**, v.36, p.1009-1020, 1995.

DAMINELLI, E.N.; SPADA, C.; TREITINGER, A.; OLIVEIRA, T.V.; LATRILHA, M.C.; MARANHÃO, R.C. Alterations in lipid transfer to High-Density Lipoprotein (HDL) and activity of paraoxonase-1 in HIV⁺ patients. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.50(4), p.223-227, 2008.

DAUMERIE, C.M.; WOOLLETT, L.A.; DIETSCHY, J.M. Fatty acids regulate hepatic low density lipoprotein receptor activity through redistribution of intracellular cholesterol pools. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.89, p.0797-801, 1992.

DE CATERINA, R.; CYBULSKY, M.I.; CLINTON, S.K.; GIMBRONE, M.A.; LIBBY, P. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine induced expression of proatherogenic and proinflammatory protein in human endothelial cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v.14, p.1829-36, 1994.

DEVLIN, T.M. **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations**. 5 ed. New York: Wiley-Liss Publication, 2002.

DURRINGTON, P.N.; MACKNESS, B.; MACKNESS, M.I. Paraoxonase and atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 21, p. 473- 80, 2001.

ECKARDSTEIN, A.V.; NOFER, J.R.; ASSMANN G. High density lipoproteins and arteriosclerosis: Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.21, p. 13-27, 2001.

EISENBERG, S. High density lipoprotein metabolism. **J. Lipid Res.**, v.25, p. 1017-1058, 1984.

EISENBERG, S.; LEVY, R.I. Lipoprotein metabolism. **Adv. Lipid Res.**, v. 13, p. 1-89, 1975.

ERKKILÄ, A.; DE MELLO, V.D.; RISÉRUS, U.; LAAKSONEN, D.E. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. **Prog Lipid Res**, v.47(3), p.172-87, 2008.

FEITOSA FILHO, G. S. **Transferências de lípidos para HDL em pacientes diabéticos tipo 2: efeito da presença da microalbuminúria e do tratamento com estatina e insulina**. 2008. 46f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FERNANDEZ, M.L.; WEST, K.L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. **J Nutr**, v.135(9), p.2075-8, 2005.

FIELD, F.J.; BORN, E.; MATHUR, S.N. Fatty acid flux suppresses fatty acid synthesis in hamster intestine independently of SREBP-1 expression. **J Lipid Res**, v. 44(6), p.1199-208. 2003.

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**, v.226(1), p.497-509, 1957.

FORRESTER, J.S.; MAKKAR, R.; SHAH, P.K. Increasing high-density lipoprotein cholesterol in dyslipidemia by cholesteryl ester transfer protein inhibition: an update for clinicians. **Circulation**, v. 111, p.1847-54, 2005.

FULLER, J. C., JIALAL, I. Effects of antioxidants and fatty acids on low-density-lipoprotein oxidation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, p.1010-13, 1994.

FUSEGAWA, Y., K. L. KELLEY, J. K. SAWYER, R. N. SHAH, AND L. L. RUDEL. Influence of dietary fatty acid composition on the relationship between CETP activity and plasma lipoproteins in monkeys. **J Lipid Res.**, v.42, p.1849-1857, 2001.

GINSBURG, G.S.; SMALL, D.M.; ATKINSON, D. Microemulsions of phospholipids and cholesterol esters. Protein-free models of lowdensity lipoprotein. **J. Biol. Chem.**, v.257, p.8216-8227, 1982.

GIRIBELA, A. H. G. **Avaliação da influência da menopausa no tamanho das partículas de HDL e na sua capacidade de receber lipídios de uma nanoemulsão semelhante a LDL**. 2007. 65f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

GLOMSET, J.A. Physiological role of lecithin-cholesterol acyltransferase. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.23, p.1129-36, 1970.

GOLDMAN, L.; BRAUNWALD, E. **Cardiologia na clínica geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., p. 425-447, 2000.

GORDON, D.J., PROBSTFIELD, J.L.; GARRISON, R.J., et al. High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: Four prospective American studies. **Circulation**, v. 79, p. 8-20, 1989.

GROENER, J.E., E.M. VAN RAMSHORST, M.B. KATAN, R. P. MANSINK, AND A. VAN TOL.. Diet induced alteration in the activity of plasma lipid transfer protein in normolipidemic human subjects. **Atherosclerosis**, v.87, p.221-226, 1991.

GROOT, P.H.E.; PEARCE, N.J.; SUCKLING, K.E.; EISENBERG, S. Effects of cholestyramine on lipoprotein levels and metabolism in Syrian hamsters. **Biochim Biophys Acta**, v.1123, p. 76-84, 1992.

GRUNDY, S.M. Monounsaturated fatty acids, plasma cholesterol, and coronary heart disease. **Am J Clin Nutr.**, v.45, p.1168-1675, 1987.

GUPTA, S. V., N. YAMADA, T. V. FUNGWE, AND P. KHOSLA. Replacing 40% of dietary animal fat with vegetable oil is associated with lower HDL cholesterol and higher cholesterol ester transfer protein in Cynomolgus monkeys fed sufficient linoleic acid. **J. Nutr.**, v.133, p.2600-2606, 2003.

HAVEL, R.J. The formation of LDL: mechanisms and regulation. **J. Lipid Res.**, v.25, p. 1570-76, 1984.

HAVEL, R.J.; HAMILTON, R.L. Hepatic catabolism of remnant lipoproteins: where the action is. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 24(2), p. 213-215, 2004a.

HAVEL, R.J.; HAMILTON, R.L. Hepatocytic lipoprotein receptors and intracellular lipoprotein catabolism. **Hepatology**, v. 8, p. 1689-1704, 1988b.
HIRATA, R. D. C.; HIRATA, M. H.; MESQUITA, C. H.; CESAR, T. B.; MARANHÃO, R.C. Effects of apolipoprotein B-100 on the metabolism of a lipid microemulsion model in rats. **Biochim. Biophys Acta**, v.1437, p.53-62, 1999.

HO, Y. K.; SMITH, R. G.; BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Low-density lipoprotein (LDL) receptor activity in human acute myelogenous leukemia cells. **Blood**, v.52, p.1099-1114, 1978.

HODSON, L.; SKEAFF, C.M.; FIELDING, B.A. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. **Prog Lipid Res**, v.47(5), p.348-80, 2008.

HOFFMANN, A.F.; BORGSTROM, B. The intraluminal phase of fat digestion in man: the lipid content of the micellar and oil phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption. **Clin Invest.**, v.43, p.247-257, 1964.

HUSSAIN, M.M. A proposed model for the assembly of chylomicrons. **Atherosclerosis**, v.148, p.1-15, 2000.

JACKSON, B.; GEE, A.N.; MARTINEZ-CAYUELA, M.; SUCKLING, K. E. The saturated-fat-fed hamster as a model of atherosclerosis. **Biochim.**, v.17, 1989.

JAMES, R.W.; DEAKIN, S.P. The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 37, p.1986-94, 2004.

JANSEN, S., J. LOPEZ-MIRANDA, P. CASTRO, F. LOPEZ-SEGURA, C. MARIN, J. M. ORDOVAS, E. PAZ, J. JIMENEZ-PEREPEREZ, F. FUENTES, AND F. PEREZ-JIMENEZ. Low-fat and high-monounsaturated fatty acid diets decrease plasma cholesterol ester transfer protein concentrations in young, healthy, normolipemic men. **Am J Clin Nutr.**, v.72, p.36-41, 2000.

JIN, W.; MARCHADIER, D.; RADER, D.J. Lipases and HDL metabolism. **Trends Endocrinol Metab**, v.3(4), p.174-8, 2002.

KAJIYAMA, G.; KAMBE, M.; TOYOTA, Y. et al. Comparison of hypocholesterolemic effects induced by dietary linoleic acid and oleic acid in hamsters. **Atherosclerosis**, v.114, p. 213-221, 1995.

KHOSLA, P., T. HAJRI, A. PRONCZUK, AND K. C. HAYES. Replacing dietary palmitic acid with elaidic acid (t-C18:1 delta9) depresses HDL and increases CETP activity in cebus monkeys. **J. Nutr.**, v.127, p.531S-536S, 1997.

KONTUSH, A.; CHAPMAN, M.J. Antiatherogenic small, dense HDL-guardian angel of arterial wall? **Nature**, v.3(3), p.144-53, 2006.

KOTAKE, H.; SEKIKAWA, A.; YOSHIHISA, T.; ISHIGAKI, Y.; OIKAWA, O. Effect of HMG-CoA reductase inhibitor on plasma cholesteryl ester transfer protein activity in primary hypercholesterolemia: comparison among CETP/TaqIB genotype subgroups. **J Atheros Thromb.**, v.9, p.207-12, 2002.

KOWALA, M.C.; NUNARI, J.J.; DURHAM, S.K.; NICOLOSI, R.J. Doxazosin and cholestyramine similarly decrease fatty streak formation in the aortic arch of hyperlipidemic hamster. **Atherosclerosis**, v. 91, p.35-49, 1991.

KRATZ M, CULLEN P, KANNENBERG F, KASSNER A, FOBKER M, ABUJA PM, ASSMANN G, WAHRBURG U. Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein. **Eur J Clin Nutr**, v.56(1), p.72-81, 2002.

KRAUSS, R.M.; HERBERT, P.N.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Further observations on the activation and inhibition of lipoprotein lipase by apolipoproteins. **Circ. Res.**, New York, v.33, p.403-11, 1973.

KRIS-ETHERTON, P.M.; HECKER, K.D.; BINKOSKI, A.E. Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health, **Nutrition Reviews**, v.62, p.414-426, 2004.

KUO, P.; WEINFELD, M.; LOSCALZO, J. Effect of membrane fatty acyl composition on LDL metabolism in Hep G2 hepatocytes. **Biochemistry**, v.29, p.6626–32, 1990.

KURUSHIMA, H., K. HAYASHI, T. SHINGU, Y. KUGA, H. OHTANI, Y. OKURA, K. TANAKA, Y. YASUNOBU, K. NOMURA, AND G. KAJIYAMA. Opposite effects on cholesterol metabolism and their mechanisms induced by dietary oleic acid and palmitic acid in hamsters. **Biochim Biophys Acta**, v.1258, p.251-256, 1995a.

KURUSHIMA, H., K. HAYASHI, Y. TOYOTA, M. KAMBE, AND G. KAJIYAMA. Comparison of hypocholesterolemic effects induced by dietary linoleic acid and oleic acid in hamsters. **Atherosclerosis**, v.14, p.213-221, 1995b.

KWITEROVICH JR., P.O. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides:a current review. **Am. J. Cardiol.**, v.86, 2000.

LAGROST L.; MENSINK, R.P.; GANGREMONT, V. G.; TEMME, E.H.M.; DESRUMAUX, C. et al. Variations in serum cholesteryl ester transfer and phospholipids transfer activities in health women and men consuming diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids. **Atherosclerosis**, v.142, p.395-402, 1999.

LAGROST, L. Regulation of cholesterol esterase transfer protein (CETP) activity: review of in vitro and in vivo studies. **Biochim Biophys Acta**, v1215, p.209-236, 1994.

LAMARCHE, B.; RASHID, S.; LEWIS, G.F. HDL metabolism in hypertriglyceridemic states: an overview. **Clinica Chimica Acta**, v. 286, p.145-61, 1999.

LARRY, L.S.; HILL, J.o.; PETERS, J.C.; GREENE, H.L. Medium-chain fatty acids: evidence for incorporation into chylomicron triglycerides in human. **Am J Nutr.**, v.52, p. 834-836, 1990.

LEAF, D.A. The effect of physical exercise on reverse cholesterol transport. **Metabolism**, v.52, p.950-957, 2003.

LEE, D.M.; ALAUPOVIC, P. Studies of the composition and structure of plasma lipoproteins. Isolation, composition, and immunochemical characterization of low density lipoprotein subfractions of human plasma. **Biochemistry**, v.9, p.2244-2252, 1970.

LEITER, L.A. Low density lipoprotein cholesterol: is lower better? **Canadian Journal of Cardiology**, v.16, p.20 -22, 2000.

LEON, A. S., RICE T, MANDEL S, ET AL. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: The Heritage Family Study. **Metabolism**, v.49, p.513-520, 2000.

LEON, A.S., SANCHEZ, A.O. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary interventions. **Med Sci Sports Exerc.**, v. 33, p.502-515, 2001.

LEWIS, G.F. Determinants of plasma HDL concentrations and reverse Cholesterol transport. **Curr Opin Cardiol.**, v. 21(4), p. 345-52, 2006.

LEWIS, G.F.; RADER, D.J. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport..**Circ Res.**, v. 96(12), p. 1221-1232, 2005.

LIAO, T.H.; HAMOSH, P.; HAMOSH, M. Fat digestion by lingual lipase: mechanism of lipolysis in the stomach and upper small intestine. **Pediatr Res.**, v.18, p.402-409, 1984.

LIRA, M.G.; MOTTES, M.; PIGNATTI, PF.; MEDICA, I.; UZIEL, G.; CAPPA, M.; BERTINI, E.; RIZZUTO, N.; SALVIATI A. Detection of mutations in the ALD gene (ABCD1) in seven Italian families: description of four novel mutations. **Hum Mutat.**, v. 16, p.271, 2000.

LIU, G.L.; FAN, M.L.; REDINGER, R.N. The association of hepatic apoprotein and lipid metabolism in hamsters and rats. **Comp Biochem Physiol.**, v.99, p.223-228, 1991.

LIU, X.Q.; BAGDADE, J.D. Neutral lipid mass transfer among lipoproteins in plasma from normolipidemic subjects is not an equimolar heteroexchange. **J Lipid Res.**, v.36, p.2574-2579, 1995.

LO PRETE, A. C. **Transferência simultânea de lipídeos de um modelo artificial de lipoproteína para lipoproteína de alta densidade (HDL)**. 2007. 2007. Tese (Doutorado em Farmácia (Análises Clínicas)) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

LOTTENBERG, A.M.; NUNES, V.S.; LOTTENBERG, S.A.; SHIMABUKURO, A.F.; CARRILHO, A.J. ET AL. Plasma cholesteryl ester synthesis, cholesteryl ester transfer protein concentration and activity in hypercholesterolemic women: effects of the degree of saturation of dietary fatty acids in the fasting and postprandial states. **Atherosclerosis**, v.126, p.265-275, 1996.

MACKNESS MI, HARTY D, BHATNAGAR D, WINOCOUR PH, ARROL S, ISHOLA M, DURRINGTON PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. **Atherosclerosis**, v.86, p.193-9, 1991.

MARANHÃO, R. C.; CESAR, T. B.; PEDROSO-MARIANI, S. R.; HIRATA, M. H.; MESQUITA, C. H. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling low-density lipoprotein. **Lipids**, v.28, p.691-696, 1993.

MARANHÃO, R. C.; GARICOCHEA, B.; SILVA, E. L.; DORLHIAC-LLACER, P.; CADENA, S. M. S.; COELHO, I. J. C.; MENEGHETTI, J. C.; PILEGGI, F. J. C.; CHAMONE, A. F. Plasma kinetics and biodistribution of a lipid emulsion resembling low-density lipoprotein in patients with acute leukemia. **Cancer Res.**, v.54, p.4660- 4666, 1994.

MARANHAO, R. C.; MANIERO, F. Síndrome Metabólica - Síndrome de Resistência à Insulina ou Síndrome X in: ANGELIS, R.C.; TIRAPEGUI, J. (Org.). **FISIOLOGIA DA NUTRIÇÃO HUMANA – ASPECTOS BÁSICOS, APLICADOS E FUNCIONAIS**. São Paulo: Editora Atheneu, 1^a ed, 2007.

MARANHÃO, R. C.; TERCYAK, A. M.; REDGRAVE, T. G. Effects of cholesterol content on the metabolism of protein-free emulsion models of lipoproteins. **Biochim. Biophys Acta**, v.875, p.247-55, 1986.

MARANHÃO, R. C.; FERES, M. C.; MARTINS, M. T.; MESQUITA, C. H., TOFFOLETTO, O.; VINAGRE, C. G. C.; GIANINNI, S. D.; PILEGGI, F. Plasma kinetic behavior in hyperlipidemic subjects of a lipidic microemulsion that binds to LDL receptors. **Lipids**, v.32, p.627-633, 1997.

MARCEL, Y.L.; VEZINA, C.; TENG, B.; SNIDERMAN, A. Transfer of cholesterol esters between human high density lipoproteins and triglyceride-rich lipoproteins controlled by a plasma protein factor. **Atherosclerosis**, v. 35, p.127-33, 1980.

MATA, P.; VARELA, O.; ALONSO, R.; LAHOZ, C.; OYA, M.; BADIMON, L. Mounsaturated and polyunsaturated n-6 fatty acid enriched diets, modify LDL oxidation and decrease human coronary smooth muscle cell DNA synthesis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v.17, p.2088-2095, 1997.

MATTSON, F.H.; GRUNDY, S.M. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. **J Lipid Res**, v.26(2):194-202, 1985.

MAYES, P.A.; BOTHAM, K.M. Lipídeos de importância fisiológica in: MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. (org).

HARPER: BIOQUÍMICA ILUSTRADA. São Paulo: Editora Atheneu, 26^a ed, 2006.

MCNAMARA, D.J. Dietary fatty acids, lipoproteins, and cardiovascular disease. **Adv Food Nutr Res.**, v.36, p.253-351, 1992.

MILLER, G.J.; MILLER, N.E. Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. **Lancet**, v.1, p.16-9, 1975.

MILLER, K. W.; SMALL, D. M. Surface to core and interparticle equilibrium distribution of triglyceride-rich lipoprotein lipids. **J. Biol. Chem.**, v.258, p.13772- 13784, 1983a.

MILLER, K. W.; SMALL, D. M. Triolein-cholesteryl oleate-cholesterol-lecithin emulsions, structural models of triglyceride-rich lipoproteins. **Biochemistry**, v.22, p.443-451, 1983b.

MOREHOUSE, L.A.; SUGARMAN, E.D.; BOURASSA, P.A.; SAND, T.M.; ZIMETTI, F.; GAO, F.; ROTHBLAT, G.H.; MILICI, A. J. Inhibition of CETP activity by torcetrapib reduces susceptibility to diet-induced atherosclerosis in New Zealand White rabbits. **J Lipid Res**, v.48, p.1263-1272, 2007.

MOVVA, R.; RADER, D.J. Laboratory Assessment of HDL Heterogeneity and Function. **Clinical Chemistry**, v. 54, p. 5788–800, 2008.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **LEHNINGER: PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY.** New York: Worth Publishers, 3^a ed, 2000)

NICHOLLS, S.J.; TUZCU, E.M.; SIPAHI, I.; GRASSO, A.W.; SCHOENHAGEN, P.; HU, T.; WOLSKI, K.; CROWE, T.; DESAI, MY.; HAZEN, S.L.; KAPADIA, S.R.; NISSEN, S.E. Statins, high density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. **JAMA**, v. 297, p.499-508, 2007.

NISTOR, A.; BULLA, A.; FILIP, D.A.; RADU, A. The hyperlipidemic hamster as a model of experimental atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v.68, p.159-173, 1987.

ONTKO, J. A.; CHENG, Q.; YAMAMOTO, M. Metabolic factors underlying high serum triglycerides in the normal hamster. **J. Lipid Res.**, v.1, p.1983-1992, 1990.

PEDERSEN, A.; MARCKMANN, P.; SANDSTROM, B. Postprandial lipoprotein glucose and insulin responses after two consecutive meals containing rapeseed oil, sunflower oil or palm oil with or without glucose at the first meal. **Br J Nut.**, v.87, p. 97-104, 1999.

PEHOWICH, D.J.; GOMES, A.V.; BARNES, J.A. Fatty acid composition and possible health effects of coconut constituents. **West Indian Med J.**v. 49(2), p.128-33, 2000.

PUCK, C. G. **Tamanho da HDL e capacidade em receber colesterol, éster de colesterol, fosfolípidos e triglicérides de uma lipoproteína artificial (LDE): estudo em pacientes com transplante cardíaco em tratamento.** 2007. 110f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

RADER, D.J. High-density lipoprotein and atherosclerosis. **Am. J. Cardiol.**, v. 90, p. 62-70, 2002.

RAMIREZ, M.; AMATE, L.; GIL, A. Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. **Early Human Development**, v.65, p.S95-101, 2001.

RIDKER, P.M.; GENEST, J.; LIBBY, P. Risk factors of atherosclerotic disease. *In* **Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine.** E. Braunwald, D. P. Zipes, P. Libby, editors. Philadelphia: WB Saunders Company, p.1010-1039, 2001.

ROCHA, M. P. **Avaliação do metabolismo de quilomícrons artificiais em pacientes obesas e não obesas, portadoras da síndrome dos ovários policísticos.** 2007. 164f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

RUMSEY, S.C.; GALEANO, N.F.; LIPSCHITZ, B.; DECKELBAUM, R.J. Oleate and other long chain fatty acids stimulate low density lipoprotein receptor activity by enhancing acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase activity and altering intracellular regulatory cholesterol pools in cultured cells. **J Biol Chem**, v.270, p.10008–16, 1995.

RYE, K.A.; BURSILL, C.A.; LAMBERT, G.; TABET, F.; BARTER, P.J. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. **J. Lipid Res**, 2008.

SANTOS, R. D.; HUEB, W.; OLIVEIRA, A. A.; RAMIRES, J. A.; MARANHÃO R. C. Plasma kinetics of a cholesterol-rich emulsion in subjects with or without coronary artery disease. **J. Lipid. Res.**, v.44, p.464-469, 2003.

SCARTEZINI, M.; PICHETH, G.; SALGADO, W.; IHARA, S.S.M.; PINTO, L.E.S.A. et al. Metabolismo dos lípidos e lipoproteínas in: MARTINEZ, T.L. (Org.). **MANUAL DE CONDUTAS CLÍNICAS EM DISLIPIDEMIAS.** Rio de Janeiro: MedLine, 1ª ed., 2003.

SCHAEFER, E.J.; EISENBERG, S.; LEVY, R.I. Lipoprotein apoprotein metabolism. **J. Lipid Res.**, v.19, p.667-87, 1978.

SCHAEFER, E.J.; ZECH, L.A.; JENKINS, L.L.; BRONZERT, T.J.; RUBALCABA, E.A.; LINDGREN, F.T.; AMODT, R.L.; BREWER, J.R. Human apolipoprotein A-I and A-II metabolism. **J. Lipid Res.**, v.23, p. 850-62, 1982.

SENTI, M.; TOMAS, M.; FIO, M.; WEINBRENNER, T.; COVAS, M.I.; SALA, J.; MASIA, R.; MARRUGAT, J.- Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.88(11), p. 5422-6, 2003.

SEYDELL, T. M. **Transferência “in vitro” de uma nanoemulsão artificial para a fração HDL de pacientes com diabetes mellitus tipo 2.** 2007. 47f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SHAH, P.K.; KAUL, S.; NILSSON, J.; CERCECK, B. Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming. **Circulation**, v. 104, p. 2376-2383, 2001.

SILVA, V. M. **Metabolismo dos quilomícrons e capacidade da lipoproteína e alta densidade (HDL) de receber lípidos na Síndrome Metabólica e no diabetes mellitus tipo 2.** 2007. 87f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SINGHAD, A.K.; FINVER-SADOWSKY, J.; MCSHERRY, C.K.; MOSBACH E. H. Effect of cholesterol and bile acids on the regulation of cholesterol metabolism in hamster. **Biochim Biophys Acta**, v.752, p.214-222, 1983.

SPADAY, D.K.. Dietary fatty acids and atherosclerosis regression. **British Journal of Nutrition**, v.82, p.337-338, 1999.

SPADY, D.K., BILHEIMER, D.W., DIETSCHY, J.M. Rates of receptor-dependent and independent low density lipoprotein uptake in the hamster. **Proc Natl Acad Sci USA.**, v.80, p.3499-503, 1983.

SPADY, D.K., MEDDINGS, J.B.; DIETSCHY, J.M. Kinetic constants for receptor-dependent and receptor independent low-density lipoprotein transport in the tissues of rat and hamster. **J Clin Invest.**, v.77, p.1474-1481, 1986.

SPADY, D.K.; DIETSCHY, M. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. **J Clin Invest.**, v.81, p.300-309, 1988.

SPADY, D.K.; DIETSCHY, M. Sterol synthesis in vivo in 18 tissues of the squirrel monkey, guinea pig, rabbit, hamster, and rat. **J Lipid Research**, v.24, p.303-315, 1983.

SPADY, D.K.; WOOLLETT, L.A.; DIETSCHY, J.M. Regulation of plasma LDL-cholesterol levels by dietary cholesterol and fatty acids. **Annu Rev Nutr**, v.13, p.355– 81, 1993.

SPECTOR, A.A. Plasma lipid transport. **Clin Physiol Biochem.**, v.2, p.123-134, 1984.

STAHL, A.; HIRSCH, D. J.; GIMENO, R. E.; PUNREDDY, S.; GE, P.; WATSON, N.; PATEL, S.; KOTLER, M.; RAIMONDI, A.; TARTAGLIA, L. A.; LODISH, H. F. Identification of the major intestinal fatty acid transport protein. **Mol Cell.**, v.4, p.7214-7219, 1999.

STRUNZ, C.C.; OLIVEIRA, T.V.; VINAGRE, J.C.M.; LIMA, A.; COZZOLINO, S.; MARANHÃO, R.C. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research**, v.28, p.151-155, 2008.

SVIRIDOV, D.; NESTEL, P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 161, p. 245- 54, 2002.

TAILLEUX, A.; DURIEZ, P.; FRUCHART, J.; CLAVEY, V. Apolipoprotein A-II, HDL metabolism and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v.164, p.1-13, 2001.

TALL, A.R. Plasma lipid transfer proteins. **Annu Rev Biochem.**, v.64, p.235-257, 1995.

TERPSTRA, A.H.M.; BERG, P.V.D.; JANSEN, H.; BEYNEN, A.C.; TOL, A.V. Decreasing dietary fat saturation lowers HDL-cholesterol and increases hepatic HDL binding in hamsters. **British J Nutrition**, v.83, p.151-159, 2000.

The American Oil Chemists Society. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society (AOCS), **Official method**, ce 2-66, 2004.

THOMSON, A.B.R.; KEELAN, M.; GARG, M.L.; CLANDININ, M.T. Intestinal aspects of lipid absorption: in review. **Can J Physiol Pharmacol.**, v.67, p.179-191, 1989.

TOMÁS, M.; LATORRE, G.; SENTI, M.; MARRUGAT, J. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. **Rev Esp Cardiol.**, v.57, p.557-69, 2004.

TSUTSUMI, K.; HAGI, A.; INOUE, Y. The relationship between plasma high density lipoprotein cholesterol levels and cholesteryl ester transfer protein

activity in six species of healthy experimental animals. **Biol Pharma Bull.**, v.24, p.579-581, 2001.

UINT, L.; SPOSITO, A.; BRANDIZZI, L.I.; YOSHIDA, V.M.; MARANHÃO, R.C.; LUZ, P.L. Cellular cholesterol efflux mediated by HDL isolated from subjects with low HDL levels and coronary artery disease. **Arq Bras Cardiol.**, v. 81, p. 39-41, 2003.

VASANDANI, C.; KAFROUNI, A.I.; CARONNA, A.; BASHMAKOV, Y.; GOTTHARDT, M.; HORTON, J.D.; SPADY, D.K. Upregulation of hepatic LDL Transport by n-3 fatty acids in LDL receptor knockout mice. **J. Lipid Res.**, v.43, p.772–784, 2002.

WANG, C.S.; BRIGGS, M.R. HDL: the metabolism, function, and therapeutic importance. **Chem Rev.**, v.104, p.119-137, 2004.

WILSON, F.A.; SALLEE, V.L.; DIETSCHY, J.M. Unstirred water layers in intestine: rate determinant of fatty acid absorption from micellar solutions. **Science**, v. 174, p.1031-1033, 1971.

WOOLLETT, L.A.; SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M. Regulatory effects of the saturated fatty acids 6:0 through 18:0 on hepatic low density lipoprotein receptor activity in the hamster. **J Clin Invest**, v.89(4), p.1133-41, 1992.