

Este trabalho
Tese defendida pelo aluno Romário de Araújo Mello
e aprovada pela Comissão Julgadora
24.03.86
OAG.

ROMÁRIO DE ARAÚJO MELLO

EFEITO DE DIETAS LIPÍDICAS SOBRE A ATPASE MITOCONDRIAL E A
COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE LIPÍDEOS DO SORO E DE MITO-
CÔNDRIAS HEPÁTICAS E ENCEFÁLICAS DE RATOS NORMAIS E TIREOI-
DECTOMIZADOS.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da UNICAMP para a obten-
ção do título de Doutor em Ciên-
cias (Biologia Celular e Molecu-
lar).

Orientador: Prof. Dr. Quivo S. Tahin

CAMPINAS - 1.986

Aos meus pais por orientarem-me em todos os
caminhos.

À Carminda da Cruz Landin pelo início no
caminho da pesquisa.

Ao Quivo S. Tahin pela continuação desse
caminho.

Aos meus irmãos e filhos pelo incentivo.

À

TEREZA

pelo apoio constante no dia a dia, onde juntos
escrevemos as páginas do livro da vida.

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Prof. Dr. Quivo S. Tahin por orientar-me no caminho da pesquisa e pela amizade que dispensou-me nesses anos de convivência.
- Ao Prof. Dr. Luiz Sebastião Prigensi por ter permitido que esse trabalho se realizasse no Departamento de Patologia Clínica.
- Aos Profs. Drs. Carlos Roberto Douglas, Edson Rosa Pimentel, Emílio S. Contreras Gusman, Júlia do P. Franceschi e Marcos Garcia Costa pelas críticas e sugestões feitas a este trabalho.
- Ao Prof. Dr. João Feijão da seção de Fitoquímica do Instituto Agrônomo de Campinas por ter-nos cedido suas instalações para a análise dos ácidos graxos.
- Ao Prof. Dr. Paulo Arruda do Departamento de Genética do Instituto de Biologia (UNICAMP) por nos ceder seu cromatógrafo.
- Ao Prof. Dr. Walter Esteves da F.E.A. (Unicamp) pelo empréstimo dos padrões de cromatografia.
- Ao Prof. Dr. Emílio Segundo Contreras Gusman pela ajuda prestada na manipulação das dietas.
- Aos meus amigos: Silvio Margarido, Fernando Guimarães, Ademir José Ventura, Antonio T. Mendes Peixoto e Nilce Zink, pelo apoio para que este trabalho se tornasse uma realidade.
- Aos funcionários e professores do Departamento de Patologia Clínica pela ajuda dispensada no desenvolvimento desse trabalho.
- À Pontifícia Universidade Católica de Campinas, ao Colégio Rio Branco e a Fundação Educacional de Jauá pelo suporte dado no decorrer desse trabalho.

ÍNDICE

Página

I. ABREVIATURAS UTILIZADAS	I
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Química dos ácidos graxos	3
2.1.1. Nomenclatura dos ácidos graxos	4
2.1.2. Famílias dos ácidos graxos	4
2.2. Ácidos graxos essenciais	7
2.3. Metabolismo dos ácidos graxos	8
2.4. Antagonismo entre as famílias	9
2.5. Fisiologia e Patologia dos ácidos graxos	10
2.6. Dietas lipídicas	14
2.7. Influência da dieta na atividade de ATPase mitocondrial	16
2.8. Tireóide	17
2.8.1. Anatomia da glândula	17
2.8.2. Efeitos do hormônio tireotrófico sobre a tireóide	18
2.8.3. Fisiologia dos hormônios tireóideos	18
2.8.4. Funções dos hormônios tireoideanos nos tecidos	20
2.9. Objetivos	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. Materiais	23
3.1.1. Animais	23
3.1.2. Preparação do óleo de sardinha	24
3.1.3. Preparação das dietas experimentais	24
3.1.4. Reagentes	26
3.1.5. Aparelhos	26
3.2. Métodos	26
3.2.1. Tireoidectomia	26
3.2.2. Preparação das mitocôndrias do fígado e do encéfalo	28
3.2.3. Extração de ácidos graxos dos lipídeos séricos e mitocondriais. Preparação dos metil ésteres desses ácidos graxos	29
3.2.4. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos dos ácidos graxos	31
3.2.5. Dosagem de proteínas	32
3.2.6. Determinação da atividade ATPásica	32
3.2.7. Definição da atividade específica	34
3.2.8. Dosagem do fósforo inorgânico (Pi) liberado na reação da atividade enzimática de ATPase	34

3.2.9. Captação de I^{131} e determinação dos níveis séricos de triiodotironina e tiroxina	34
3.2.10. Análise estatística	35
4. RESULTADOS	36
4.1. Variação média do peso corpóreo e do alimento ingerido	36
4.2. Média dos pesos do fígado e do encéfalo	39
4.3. Captação de I^{131} e níveis séricos de T_3 e T_4	46
4.4. Composição dos ácidos graxos dos lipídeos das dietas experimentais	46
4.5. Análise dos AG dos lipídeos séricos dos ratos normais e tireoidectomizados tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).	
4.6. Análise dos AG dos lipídeos mitocondriais do fígado dos ratos normais e tireoidectomizados tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).	
4.7. Análise dos AG dos lipídeos mitocondriais do encéfalo dos ratos normais e tireoidectomizados tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).	
4.8. Composição dos principais ácidos graxos	59
4.9. Estudos comparativos entre os AGS totais, AGMI totais, AGPI n-6 totais, AGPI n-3 totais nos diferentes grupos experimentais	77
4.10. Atividade ATPásica das mitocôndrias hepáticas e encefálicas	82
5. DISCUSSÃO	90
6. RESUMO	95
7. SUMMARY	99
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

I. A B R E V I A T U R A S U T I L I Z A D A S

ADP	Adenosina difosfato
AG	Ácidos graxos
AGE	Ácidos graxos essenciais
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
ATP	Adenosina trifosfato
ATPase	Adenosina trifosfatase
BSA	Soro albumina bovina
Ca ²⁺	Cálcio
Cpm	Contagem por minuto
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetracético
HEPES	N-2-hidroxietil piperazina-N-2-ácido etano sulfônico
I	Iodo
K ⁺	Potássio
Mg ²⁺	Magnésio
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
Na ⁺	sódio
PEG	Polietilenolglicol
Pi	Fósforo inorgânico
SRL	Substância de reação lenta
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
TBG	Globulina ligadora de tiroxina
TCA	Ácido tricloro acético

1. INTRODUÇÃO

A manipulação dietária altera a composição de ácidos graxos dos lipídeos dos tecidos e inclusive de organelas celulares dos organismos, alterando funções hormonais, enzimáticas e estruturais das membranas celulares (MALAISSE et alii, 1967; ARANDA et alii, 1972; ISMAIL-BEIG & EDELMAN, 1974; DEWAILLY et alii, 1978; SANDER et alii, 1983 e TAHIN, 1985).

Essas dietas lipídicas tem efeitos diferentes até mesmo oposto dependendo da fonte de ácidos graxos dos lipídeos dietários (TAHIN, 1985). Por outro lado sabemos que os hormônios tireoideanos controlam o metabolismo lipídico e sob a ação desses hormônios existe um controle da concentração de ácidos graxos livres no plasma e da oxidação e esterificação dos ácidos graxos (BOICHOT, 1977; MULLER et alii, 1981; GNONI et alii, 1983; STAKKESTAD & LUND, 1983 e STAKKESTAD & LUND, 1984).

Dai nosso interesse em investigar como dietas hiperlipêmicas a base de óleo de semente de soja 20% interfere na atividade da glândula tireóide que por sua vez interfere

no metabolismo lipídico e como diferentes fontes de lipídeos dietários, mas ricos em ácidos graxos da família do ácido linolêico (óleos vegetais) contra os óleos ricos em ácido graxo da família do ácido linolênico (óleo de animais marinhos), já que essas duas séries tem efeitos antagônicos uma sobre a outra (DYERBERG et alii, 1978; LEGER, 1980; TAHIN et alii, 1981; CHERN & KINSELLA, 1983a; HAGVE & CRISTOPHERSEN, 1984 e TAHIN, 1985), consideramos importante investigar o efeito dessas duas dietas antagônicas a base de semente de óleo de soja 12% e óleo de sardinha 12%.

Esses estudos da ação dessas três dietas seriam realizados em animais tireoidectomizados e seus respectivos controles durante trinta dias em ratos machos com cerca de 37 dias de idade. Escolhemos como parâmetros desses estudos mitocôndrias de fígado por ser esse um órgão essencial para o metabolismo lipídico de um modo geral e mitocôndrias de encéfalo devido ser esse um órgão que apresenta uma maior proteção contra agentes exógenos e portanto não deveriam sofrer alterações significativas. Também iremos analisar a composição de ácidos graxos dos lipídeos séricos para se investigar se a composição de ácidos graxos seria diretamente influenciada pela dieta diária dos animais ou se haveria uma influência de origem endógena. Nas mitocôndrias do fígado e encéfalo, além da composição de ácidos graxos iremos estudar a atividade de ATPase, como indicador bioquímico de nosso trabalho.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. QUÍMICA DOS ÁCIDOS GRAXOS

Os lipídeos constituem importante fonte de energia para a célula animal. Armazenados em apreciáveis quantidades na forma de triglicéridos neutros, insolúveis, funcionam ainda como componentes de órgãos internos delicados. Sob a forma de fosfolipídeos, colesterol e outras espécies moleculares fazem parte do tecido nervoso, das membranas celulares e das membranas de organelas celulares, como a do núcleo, das mitocôndrias e do retículo endoplasmático. Os lipídeos entram ainda na constituição da estrutura básica do sistema de transporte de elétrons e dos cloroplastos.

Os ácidos graxos (AG) são ácidos carboxílicos encontrados esterificando glicerol e outros álcoois. Nesse sentido, temos que considerar como AG os ácidos carboxílicos tão simples como o acético, os de número ímpares de carbono, os ramificados e outros menos comuns. Ácidos graxos, podem se apresentar como AG saturados (AGS), AG monoinsaturados (AGMI) e AG poliinsaturados (AGPI). Devido a maior quantidade existente nas nossas células, estamos acostumados a lembrar apenas como exemplos de AG os ácidos carboxílicos com números pares de átomos de carbono, geralmente com 16 a 22 átomos de carbono.

2.1.1. Nomenclatura dos ácidos graxos: Neste trabalho representaremos um AG pelo número de carbonos e pelo grau de insaturação, indicando-se o número de duplas ligações: 1, 2, 3, 4, etc, no caso de serem, respectivamente, mono, di, tri, tetrainsaturado. A inexistência de duplas ligações será zero para os AGS. Por exemplo, o ácido esteárico seria C 18:0, o oléico seria C18:1 e assim por diante. Usaremos mais frequentemente a forma mais simplificada ainda, suprimindo a letra C, ou seja, 18:0 e 18:1, referindo-se aos exemplos acima (IUPAC-IUB, 1967 e TAHIN,1985).

Vários AG possuem nomes comuns, porém alguns biologicamente importantes não os possuem e são conhecidos pela sua nomenclatura química-orgânica (IUPAC-IUB,1967). Do ponto de vista metabólico e fisiológico é absolutamente necessário precisar a posição da última dupla ligação dos AG insaturados, sendo que essa informação deve ser acrescentada à representação numérica de Um AGMI ou de um AGPI. Uma nomenclatura mais completa deve conter, portanto, os números indicativos dos carbonos, as duplas ligações e ainda (devido a sua importância biológica) indicar a posição da última dupla ligação, isto é, a mais próxima do grupo metila terminal do AG. Existe atualmente duas formas de representar a posição dessa última dupla ligação: com a letra n ou com a letra w (ômega) seguidas de um número que indica o número de carbonos que dista da última dupla ligação até a metila terminal. Por exemplo o ácido linoléico será representado por 18:2 n-6 ou 18:2 w₆, pois a última dupla ligação dista de seis carbonos até a metila terminal(TAHIN,1985).

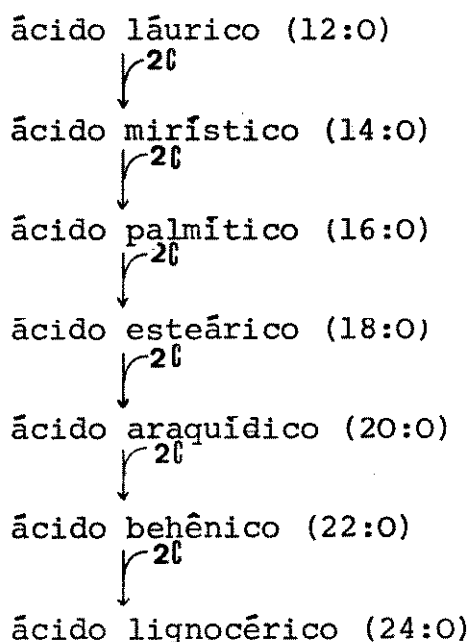
Neste trabalho adotamos a representação n por considerá-la mais apropriada. Fica também subentendido que todas as duplas ligações possuem isomeria do tipo cis.

2.1.2. Famílias dos ácidos graxos: A quase totalidade dos AG que existem nas células dos tecidos humanos, de mamíferos e de outros animais superiores , pertence a uma das quatro famílias ou séries de AG (TAHIN,1985).

1) Família dos AGS: Esses são sintetizados pelo processo / chamado por elongação, ou seja, pela incorporação de dois carbonos, catalisado pela AG-sintetase citoplasmática até o ácido palmítico. A partir desse AG a incorporação de dois carbonos se dá nos microsomas ou mitocôndrias.

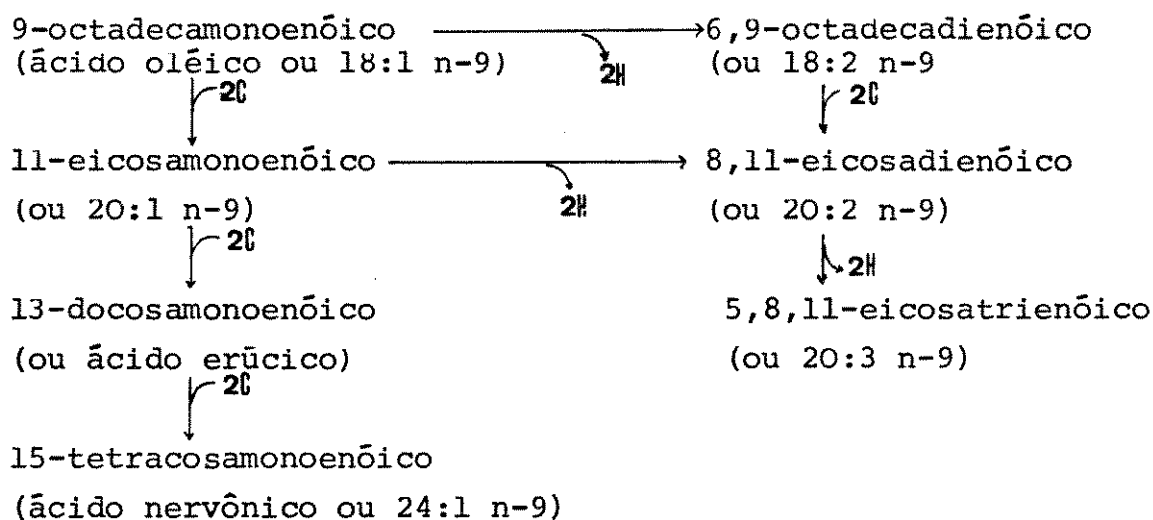
No esquema 1, mostramos a elongação dos AGS mais comumente encontrados nos lipídeos celulares humanos e de animais.

Esquema 1 - Família dos AGS mais comuns



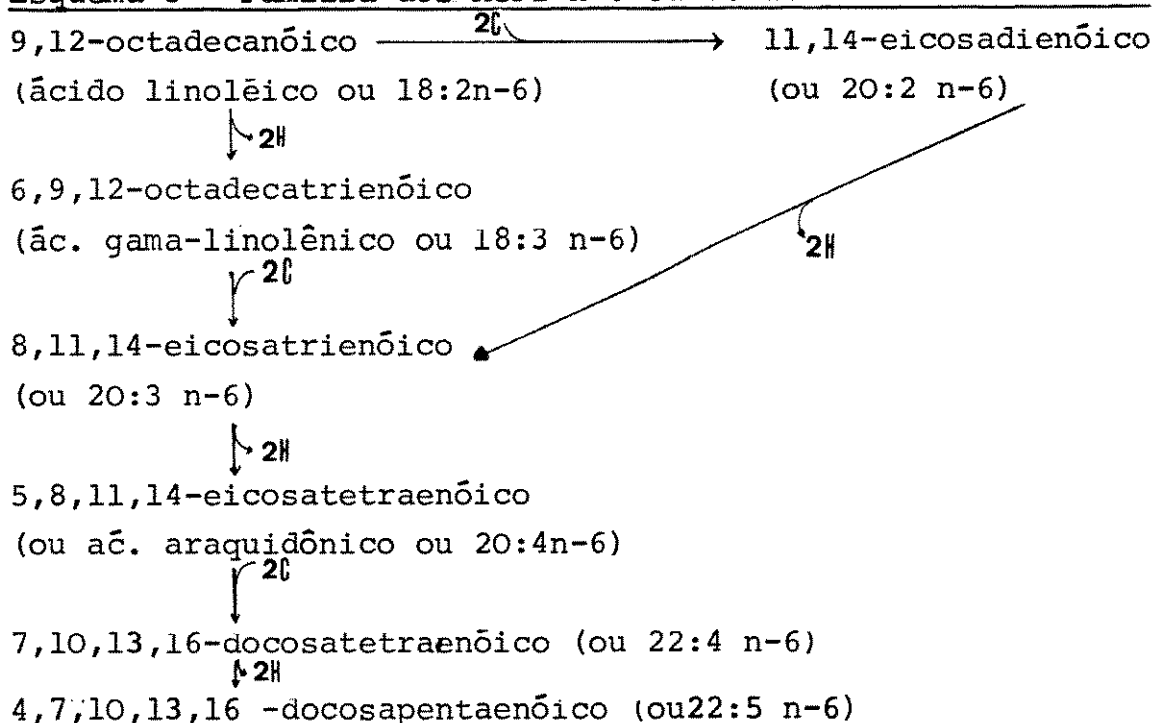
2) Família dos AG insaturados n-9 ou AGI n-9: Essa família também é conhecida como família do ácido oléico por ser esse AG o precursor principal que irá originar ou outros membros dessa série. O ácido oléico (18:1 n-9) é formado pela dessaturação, ou seja, desidrogenação microsomal catalisada pela delta⁹ dessaturase. A partir deste AG são formados por processos de dessaturação e/ou elongação os outros membros dessa série. Os AGI n-9 mais comuns, são os monoinsaturados, todavia, podemos encontrar também AGPI n-9 (Esquema 2):

Esquema 2 - Família dos AGI n-9 ou do ácido oléico



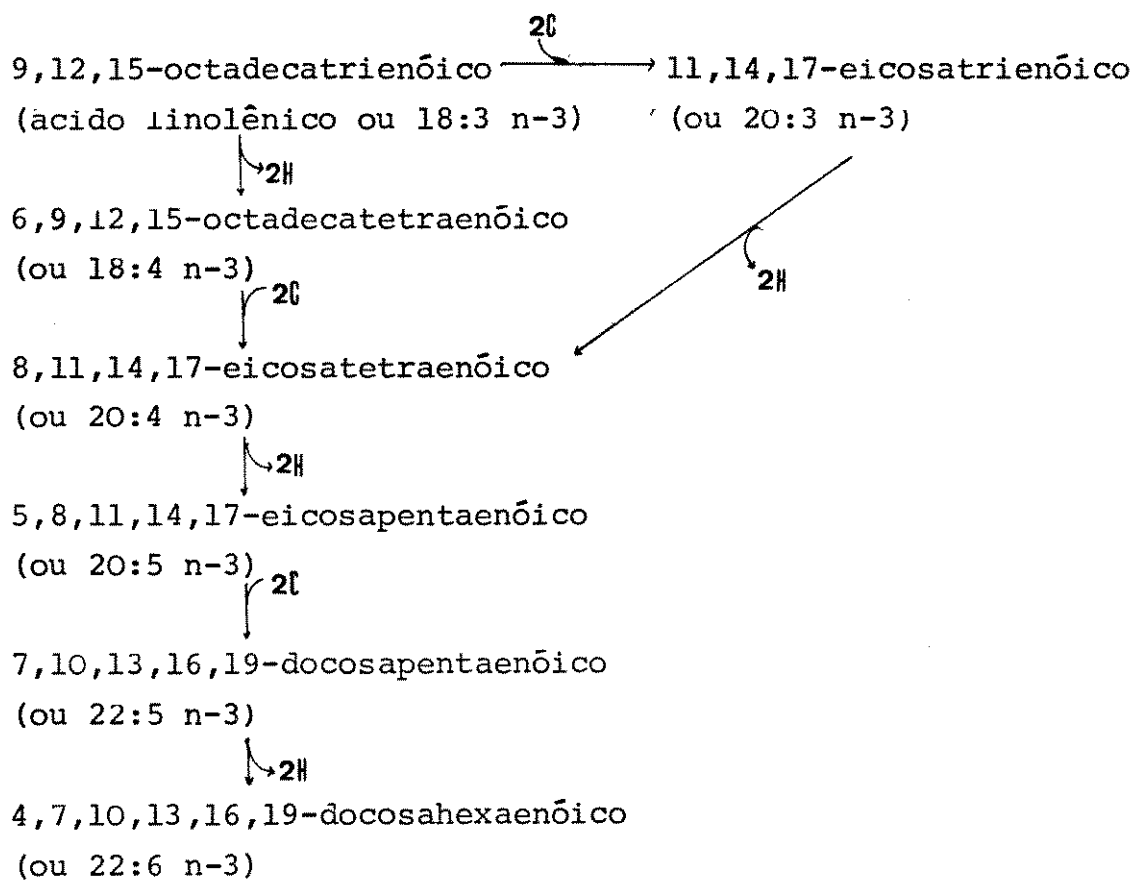
3) Família dos AGPI n-6: Essa série é conhecida como família do ácido linolêico, por ser esse o precursor de todos os outros AGPI n-6 por mecanismos de elongação e de dessaturação, esses processos podem ser microsossomais ou mitocondriais. No esquema 3, mostramos as principais vias de formação dos AGPI n-6 mais comuns.

Esquema 3 - Família dos AGPI n-6 ou do ácido linolêico



4) Família dos AGPI n-3: Essa família também é conhecida por família do ácido linolênico por esse o precursor dos demais AGPI dessa série. A biossíntese dos AGPI n-3 se dá também por mecanismos mitocondriais e microssomais de alongação e dessaturação. No esquema 4 mostramos os AGPI n-3 mais comuns.

Esquema 4 - Família dos AGPI n-3 ou do ácido linolênico



2.2. ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS

Os ácidos graxos necessários na dieta, por não serem sintetizados no organismo, são chamados de ácidos graxos essenciais (AGE). O ácido linoléico é um AGE para os mamíferos e constitui de 10 a 20% dos AG totais de seus triglicerídeos e fosfolipídeos. Os ácidos linoléico e linolênico não podem ser sintetizados pelos mamíferos, portanto, precisam ser obtidos de fontes vegetais, nos quais eles são muito abundantes (GUARNIERI & JOHNSON, 1970).

Quando ratos recém-desmamados ou imaturos passam a receber uma dieta livre de gordura, eles não crescem completamente, desenvolvem uma pele escamosa, perdem pelos e morrem (BURR & BURR, 1929 e ALLLING et alii, 1974). Os ácidos linoléico, linolênico e araquidônico readministrados na dieta tendem a diminuir os achados patológicos citados (GUARNIERI & JOHNSON, 1970 e TAHIN, 1985).

Embora ocorra a tendência de considerar como AGE os ácidos: linoléico, linolênico, araquidônico e outros polienóis, TAHIN (1985) acha que devemos restringir ao máximo esse conceito para os AGPI que absolutamente são requeridos na nossa dieta, pois não são sintetizados no organismo, mas são precursores de outros AGPI. Nesse sentido, apesar de que o ácido araquidônico seja muito importante para muitas atividades vitais celulares (nesse sentido seria essencial) ele é perfeitamente sintetizado a partir do ácido linoléico, portanto, nesse critério não seria estritamente essencial.

2.3. METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS

As enzimas que catalizam a desidrogenação de um AG, as chamadas dessaturases, são específicas para uma determinada posição de carbonos da cadeia. Assim, são conhecidas como δ^4 , δ^5 , δ^6 , etc. dessaturases (BRENNER, 1969).

As dessaturases mais conhecidas e provavelmente mais importantes para as células e para o organismo como um todo são microsossomais e devem ser enzimas distintas (FUJIIWARA et alii, 1983). Uma dessaturase que catalisa a desidrogenação de um AG de uma determinada família não catalisa a de outros AG de outras famílias ou até mesmo de certos AG da mesma família. O ácido araquidônico, por exemplo, pode ser sintetizado a partir de vários precursores como os ácidos linoléico, gama-linolênico ou do 11,14,17-eicosatrienóico, porém as conversões do 18:2 n-6 em 18:3 n-6 e do 20:3 n-6 em 20:4 n-6 provavelmente são catalisadas por enzimas distintas (BRENNER & PELUFFO, 1966 e BRENNER, 1969).

O ácido oléico inibe a dessaturação tanto do ácido linoléico como do ácido linolênico (BRENNER & PELUFFO, 1966 e CHERN & KINSELLA, 1983b) e o metabolismo do ácido linolênico é inibido pelos ácidos linoléico, gama-linolênico e araquidônico (GARCIA & HOLMAN, 1965).

Os vegetais sintetizam facilmente os ácidos linoléico e linolênico a partir do ácido oléico pela ação de sistemas de dessaturases, provavelmente diferentes daquelas dos animais e que são favorecidas pelas temperaturas mais baixas (HARWOOD et alii, 1978 e MAZLIAK, 1980).

O tecido nervoso também é capaz de promover elongações e dessaturações (SINCLAIR, 1975). O citosol, mitocôndrias e microsomas sintetizam AGS de cadeias longas e os AGI n-9 que existem no tecido nervoso em maior quantidade do que na maioria dos outros tecidos e ainda são capazes de sintetizar os AGPI n-6 e AGPI n-3 a partir dos ácidos linoléico e linolênico, respectivamente, por mecanismos ainda pouco conhecidos (SINCLAIR, 1975).

MCGARRY et alii (1973) observaram que nas células hepáticas o metabolismo de oxidação dos AG está sob um controle hormonal e ligado diretamente a dieta.

2.4. ANTAGONISMO ENTRE AS FAMÍLIAS

Existem muitas evidências que mostram definitivamente que as diferentes famílias de AG tem ações antagônicas umas sobre as outras não apenas nos seus papéis biológicos e patológicos mas também nos processos metabólicos, particularmente de biossíntese de cada AG (DYERBERG et alii, 1978; LEGER, 1980; TAHIN et alii, 1981; CHERN & KINSELLA, 1983a; HAGVE & CRISTOPHERSEN, 1984 e TAHIN, 1985).

A inibição da utilização metabólica de um determinado AG causada pela presença de outro AG, tem sido muito bem demonstrada em vários ensaios "in vivo" ou "in vitro". Na aorta, o 20:5 n-3 inibe muito mais a síntese do 20:4 n-6 do que o 20:4 n-6 inibe a síntese do 20:5 n-3. O 20:3 n-6 administrado por via oral ou em ensaios "in vitro" se converte facilmente em 20:4 n-6 e posteriormente é usado na síntese de prostaglandinas ou ainda dos AGPI n-6 de 22 carbonos. Contudo essas conversões são inibidas dependendo da concentração e presença de um determinado AG, assim o 20:3 n-6 inibe a dessaturação do 18:2 n-6 em 18:3 n-6 (BRENNER, 1969; BRENNER, 1974 e HASSAM & CRAWFORD, 1978).

O 22:6 n-3 inibe as dessaturações dos ácidos oléico e linoléico; o 18:2 n-6 inibe fortemente a dessaturação do 18:1 n-9 e parcialmente a do 18:3 n-3, mas estimula levemente as dessaturações do 16:0 e 18:0 (BRENNER & PELUFFO, 1966).

2.5. FISILOGIA E PATOLOGIA DOS ÁCIDOS GRAXOS

Muitos autores têm publicados trabalhos demonstrando a participação direta ou indireta dos AG com colesterolemia, fluidez das membranas, pressão arterial, função plaquetária, doenças cardiovasculares como trombose e hipertensão e ainda em algumas patologias em que funções bioquímicas estão alteradas como na diabetes mellitus e obesidade. Recentemente demonstraram que os lipídeos estão relacionados com a síntese de diferentes prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanas (TAHIN, 1985) e ainda a síntese de outros lipídeos farmacologicamente ativos como os leucotrienos (MONCADA et alii, 1980).

Estudos com grupos humanos que ingeriam diariamente e constantemente AGS, mostraram que havia uma maior incidência de doenças corononarianas nesses indivíduos do que nos que se alimentavam com menores quantidades de lipídeos e de AGS (RENAUD et alii, 1979; RENAUD et alii, 1980 e DAVENAS et alii, 1983). Foi ainda demonstrado que a dieta rica em AGS causava uma diminuição dos ácidos linoléico, do eicosatrienóico e do araquidônico, sendo que esses ácidos graxos eram substituídos pelos ácidos oléico e outros AGI n-9 resultando em uma hipersensibilidade das plaquetas caracterizada por alteração do tempo de coagulação do plasma rico em plaquetas. O ácido araquidônico das membranas das plaquetas humanas é determinante não só para as funções plaquetárias como ainda para a síntese de prostaglandinas e por isso a ação da fosfolipase A₂ tem um papel central para o início de eventos relacionados com a agregação plaquetária (BLACKWELL et alii 1977; JAKUBOWSKI & ARDLIE, 1978; CHAP et alii, 1981 e WALLACH & BROWN, 1981).

No homem, o ácido araquidônico deriva do ácido linoléico da dieta ou é ingerido como constituinte da carne. É então esterificado como um componente dos fosfolipídeos de membranas celulares ou é encontrado em ligação de éster em outros lipídeos complexos. O ácido araquidônico é liberado dos fosfolipídeos de

membrana por ação da enzima fosfolipase A_2 . A concentração do ácido é baixa, e por isso geralmente se admite que a biossíntese endógena de prostaglandinas e compostos relacionados depende desta liberação catalisada por fosfolipase de ácido precursor dos depósitos fosfolipídicos celulares. Com efeito, a ativação da fosfolipase A_2 admitida como hipótese para a etapa comum limitante da velocidade na síntese ativada ocorre em resposta a influências largamente divergentes: físicas, químicas, hormonais e neuro hormonais (MONCADA et alii, 1980).

Sendo liberado o ácido araquidônico é rapidamente metabolizado para produtos oxigenados por dois mecanismos, um denominado de ciclo oxigenase, sendo que através dessa via temos como produtos finais as prostaglandinas (E_2 , D_2 e F_2 alfa), endoperóxidos e tromboxano B_2 ; o segundo é denominado de lipoxigenase e através dessa via são formados o ácido 12-hidroperoxiaraquidônico e seu produto de degradação, o ácido 12-hidroxiaraquidônico. Pouco se sabe sobre a atividade farmacológica ou metabolização posterior desses compostos, embora se tenha mostrado que o ácido 12-hidroxiaraquidônico é quimiotático para leucócitos polimorfonucleares e macrófagos alveolares. Isto, ao lado do fato de estes compostos terem sido identificados em exsudatos inflamatórios, sugere que possam estar envolvidos no processo de invasão celular durante a inflamação. Nos últimos anos houve indicações de que a substância de reação lenta da anafilaxia (SRL-A) poderia ser um produto do metabolismo do ácido araquidônico. Recentemente, uma substância de reação lenta (SRL) produzida por células de mastocitoma de camundongo foi relatada como um novo produto da via da lipoxigenase, sendo formada por adição de glutathione a um intermediário epóxido instável (leucotrieno A) durante a formação de metabólitos dihidroxilados do ácido araquidônico. O nome leucotrieno foi introduzido como designação genérica para compostos como o SRL que não são ciclizados, ácidos carboxílicos de 20 átomos de carbono com uma ou duas substituições de oxigênio e três duplas ligações conjugadas. Ignora-se se o leucotrieno C é idêntico a SRL-A que é liberado dos pulmões, mas tais achados aumentam a importância dos produtos das diversas lipoxigenases em vários estados inflamatórios (MONCADA et alii, 1980).

A participação do ácido linoléico em vários processos bioquímicos, fisiológicos e patológicos tem sido muito pesquisado ultimamente. De acordo com os estudos já publicados, a deficiência desse AGE provoca vários sintomas tais como: redução no crescimento, paraqueratosis, aumento da permeabilidade da pele à água, aumento da suscetibilidade a infecções bacterianas, esterilidade masculina e feminina, decréscimo da síntese de prostaglandinas, redução da contratilidade cardíaca, agregação dos trombócitos, curadas pela administração dietária do ácido linoléico, sendo portanto, válido sugerir que esse AG seja realmente importante para a atividade de vários órgãos (VERGROESEN, 1977 e VLES & HOUTS MULLER, 1977). Dietas ricas em ácido linoléico previnem hipertensão arterial causada por ingestão de sal, diminuem a tendência à trombose, melhoram as funções cardíacas (VLES, 1971), diminuem a colesterolemia e alteram o metabolismo do colesterol (BRONGEEST et alii, 1979).

O ácido erúico (22:1 n-9) é um AG pouco comum. Óleos vegetais ricos em ácido erúico começaram a ser adicionados nas rações animais desde o começo do século aumentando muito o seu consumo após a Segunda Grande Guerra, devido a fatores econômicos. O ácido erúico pertence a família dos AGPI n-9 sendo sintetizado a partir do ácido oléico (esquema 2). É um ácido graxo natural, mas geralmente muito raro, podendo ser encontrado em grande quantidade no óleo de semente de colza, vegetal que do ponto de vista agrícola é muito vantajoso de ser cultivado. Todavia, esse AG pode ser facilmente assimilado pelo intestino, ser incorporado nos lipídeos do organismo animal e causar algumas manifestações patológicas, principalmente no tecido cardíaco (VLES, 1975 e KAKO & VASDEC, 1979). Como no tecido cardíaco a oxidação do ácido erúico é mais lenta que a dos outros AG de cadeias longas, este tende a se acumular, principalmente nas primeiras semanas, sendo posteriormente incorporado nos triglicerídeos e fosfolipídeos cardíacos, podendo causar pontos de necrose neste tecido segundo VLES (1975) e VLES et alii (1979).

TAHIN (1982) demonstrou que as alterações de AG das mitocôndrias hepáticas e cardíacas em ratos tratados com dieta rica em ácido erúico causavam alterações no transporte de cálcio através das membranas mitocôndriais.

Os lipídeos em geral e os AG em particular são muito importantes para a manutenção da estrutura e funções das biomembranas que apresentam uma distribuição assimétrica dos lipídeos e de ácidos graxos em cada uma das duas faces da bicamada (BHATTACHARYA & VONDERHAAR, 1979; PERRET et alii, 1979; CASTUMA & BRENNER, 1983; SCHROEDER & SOLER-ARGILAGA, 1983 e WETZKER et alii, 1983). As biomembranas são geralmente ricas em AGPI, tanto da série n-6 como n-3 e os AGPI são importantes para a determinação ideal da fluidez, microviscosidade, difusão e várias funções bioquímicas como o transporte de Ca^{2+} e de outros íons e da atividade de ATPase- Ca^{2+} -dependente (McMURCHIE & RAISON, 1979; SHECHTER & LETWILLIER, 1979; KLAUSNER et alii, 1980 e WETZKER et alii, 1983).

Células endoteliais isoladas da glândula mamária não diferenciada de ratas virgens maduras sintetizam predominantemente AG de cadeia média, enquanto que o tecido mamário global sintetiza mais AG de cadeia longa, sendo possível que esse fato esteja relacionado com a lactogênese (REDDY & RAY, 1981 e SMITH, 1983).

A importância dos AGPI na fisiologia e patologia do tecido mamário, tem sido amplamente discutida. O ácido linoléico dietário como determinante para o crescimento dos ductos mamários foi demonstrado pela alimentação em AGE (MIYAMOTO-TLAVEN et alii, 1981). Por outro lado dietas ricas em ácido linoléico favoreciam as neoplasias mamárias, provavelmente, via conversão em ácido araquidônico e posteriormente em prostaglandinas e/ou via alterações nos sistemas imunológicos demonstrado experimentalmente durante o desenvolvimento da tumorigênese mamária espontânea ou induzida por dimetilbenzantraceno ou por outros agentes cancerígenos (RAO & ABRAHAM, 1976; HILLYARD & ABRAHAM, 1979; WAXLER, 1979; HOPKINS et alii, 1981 e WAGNER et alii, 1982). A prolactina deve ter um papel importante para o desenvolvimento tumoral mamário e dietas deficientes em AGE causam uma grande e progressiva diminuição de receptores de prolactina nas membranas de microsossomos hepáticos (KANAZEK & LIU, 1979 e NAGASAWA, 1979).

TAHIN (1982) e BURNS et alii (1983) demonstraram que dietas lipídicas alteram a composição de AG das biomembranas.

Os lipídeos e os AG são também relevantes para a carcinogênese de outros tecidos como: colôn (el-KHATIB & CO RA,1981), fígado (FALLANI & RUGGIERI,1979 e RUGGIERI & FALLANI,, 1979), endométrio, próstata e outros (HILL,1981). TAHIN et alii, 1982 demonstraram que durante a carcinogênese mamária humana havia uma acentuada alteração da composição de AG do tecido tumoral em relação ao tecido mamário normal, aumentando a taxa de AGS e diminuindo a quantidade dos AGPI n-6 e n-3 e a quantidade dos AG com mais de vinte átomos de carbono.

2.6. DIETAS LIPÍDICAS

Fatores nutricionais podem causar profundas alterações no metabolismo lipídico, composição e metabolismo dos AG celulares com importantes repercussões fisiológicas, patológicas e no equilíbrio bioquímico das interações entre as famílias dos AG. Estudos com seres humanos que por hábitos culturais ou por contingências ambientais se alimentavam com uma fonte lipídica constante e predominante irão apresentar composições plasmáticas, dos tecidos e do leite com composição de AG características, diferentes das outras populações de hábitos mais omnívoro. Os "vegans" (grupos de vegetarianos estritos de algumas regiões da Grã Bretanha) apresentam maiores taxas de ácido linoléico e araquidônico e menores de docosahexaenóico no plasma, leite materno, tecido adiposo e hemácias, do que os omnívoros os quais são em média mais obesos que os vegetarianos (SANDERS et alii, 1978). Os vegetarianos de modo geral, apresentam menores quantidades de lipídeos plasmáticos que os omnívoros, particularmente, nas taxas de colesterol total, do colesterol ligado à lipoproteínas de baixa densidade e da apoproteína B, fatores de risco de doenças cardiovasculares (NESTEL et alii,1981). Existem diferenças entre a composição de AG de cadeia longa no cérebro em animais carnívoros ou herbívoros (CRAWFORD et alii,1978).

Estudos realizados com fazendeiros franceses e escoceses que possuem hábitos alimentares característicos e constantes, revelaram que os indivíduos que ingeriam altas quantidades de gordura animal, ricas em AGS e de ácido oléico, apresentavam maiores quantidades de AGI n-9 e menores de AGPI n-6 nos lipídeos plasmáticos e plaquetários em relação aos que ingeriam die

tas com menos lipídeos e menos AGS (RENAUD et alii,1979 e RENAUD et alii,1980). Esquimós da Groelândia que se alimentam com lipídeos de animais marinhos ricos em AGPI da série n-3, particularmente o 20:5, apresentam uma taxa elevada de 20:5 e uma diminuição acentuada do 20:4 n-6 nos lipídeos sanguíneos e consequentemente apresentam baixo índice de trombose, porém, apresentam fortes tendências a hemorragias (DYERBERG et alii,1978).

Os animais mamíferos e aves que se alimentam de peixes, principalmente marinhos, ricos em AGPI n-3, apresentam composição de AG mitocôndriais hepáticos mais ricos em AGPI n-3 e mais pobres em AGPI n-6, do que os que se alimentam com outras fontes (RICHARDSON et alii,1962).

Corações de ratos e coelhos alimentados com uma dieta contendo como fonte lipídica o óleo de girassol (rico em 18:2 n-6) quando em perfusão liberam prostaciclina PGI_2 mais do que os corações de animais alimentados com gordura de porco ou óleo de coco hidrogenado (DECKERE et alii,1979).

Estudos comparativos com dietas ricas em AGI n-9 (óleos de amendoim, colza, oliva) e com AGPI n-6 (óleos de milho, soja, girassol) revelam importantes alterações na composição de AG de vários tecidos, no desenvolvimento e aleitamento (BOTHAM & BOYD, 1983 e NOUVELOT et alii,1983).

Em diversos trabalhos (TAHIN et alii,1980; TAHIN et alii,1981 e TAHIN, 1982) demonstraram que a qualidade da fonte lipídica é determinante para a composição de AG microsomais e mitocôndriais de vários tecidos de ratos. Também DEWAILLY et alii (1978) observaram alterações na composição dos fosfolipídeos de mitocôndrias cardíacas em ratos submetidos a uma dieta com óleo de colza durante 20 semanas. Outros autores também observaram alterações na composição lipídica por influência da dieta nas membranas microsomais e nas membranas sinápticas em cérebro de ratos (FOOT et alii,1982) bem como modificações na composição dos fosfolipídeos cardíacos quando os ratos eram tratados com uma dieta contendo 10% de óleo de fígado de bacalhau (GUDBJARNASON & OSKARSDOTTIR,1977). Em porco foram observadas alterações morfológicas no coração e na composição de AG quando o animal foi submetido a dietas diferentes (SVAAR et alii,1980).

CLANDININ (1976) observou mudanças na composição de AG em membranas contendo citocromo em correlação direta com a dieta ingerida. Quando os ratos eram tratados com óleo de

de colza contendo baixa ou alta concentração de ácido erúico observou um aumento de AG da família n-9 e diminuição dos AGI em comparação com os ratos tratados com a dieta óleo de soja. Posteriormente, ROBBLEE e CLANDININ (1984) observaram alterações na composição das membranas mitocondriais cardíacas quando se fornecia aos ratos dietas contendo AGPI.

Como efeito das dietas na atividade enzimática observou-se que uma dieta rica em AGPI diminui a atividade enzimática de AG sintetase em fígado de rato (SHWARTZ & ABRAHAM, 1982). Também a atividade de aciltransferase decresce em microssomas intestinais de coelho quando os mesmos ingerem uma dieta contendo 10% de óleo de açafrão mais 1% de colesterol (FIELD & SALOME, 1982).

Ressalta-se também na literatura que as dietas lipídicas influem no crescimento de ratos (BURR & BURR, 1929) e que o peixe rodovalho necessita para um rápido crescimento livres de patologias de AG da série n-3 (COWEY et alii, 1976).

2.7. INFLUÊNCIA DA DIETA NA ATIVIDADE DE ATPASE MITOCONDRIAL

A mitocôndria é uma organela delimitada por uma membrana externa, separada da interna por um espaço de 60 a 100 Å. A membrana interna forma muitas dobras ou cristas. Envolvida pela membrana interna está a matriz. Usando-se técnicas especializadas tenta-se demonstrar a organização das diferentes funções enzimáticas, nas diferentes membranas e compartimentos estudados. Assim sabe-se que algumas enzimas mitocondriais são imediatamente solubilizadas quando as organelas são rompidas. Presumivelmente estas poderiam incluir enzimas em solução no interior da matriz ou no compartimento entre as membranas interna e externa. Talvez algumas enzimas estejam frouxamente ligadas umas as outras e estas se destaquem durante o rompimento. Muitas enzimas do ciclo de Krebs são também solúveis e comumente admite-se que elas se localizam no compartimento interno como ocorre com as enzimas que promovem a degradação dos ácidos graxos. Mas certas enzimas do ciclo de Krebs (tais como a desidrogenase succínica) estão ligadas à membrana interna. Os componentes responsáveis pelo transporte de elétrons para o metabolismo respiratório e os sistemas que realizam a fosforilação oxidativa estão ambos estritamente ligados a membrana inter

na. A membrana interna é mais fina (5-7 nm) que a maioria das membranas (7 - 11 nm). A coloração negativa de mitocôndrias isoladas mostra uma grande quantidade de pequenas esferas cobrindo a superfície da membrana interna que está em contato com a matriz.. Cada esfera está presa por um pedúnculo à membrana. As esferas denominadas de F_1 apresentam atividade enzimática e quando são extraídas na forma solúvel, portanto "in vitro" age como uma ATPase capaz de desdobrar o ATP em ADP e fosfato, entretanto, na mitocôndria intacta, considera-se que a F_1 age na direção oposta e participa na fosforilação do ADP associada ao transporte de elétrons.. Este sistema é bastante complexo, pois além da F_1 -ATPase que é composta por cinco subunidades, possui um componente protéico hidrofóbico denominado F_0 que atua como um canal de prótons através da membrana. O componente F_0 e F_1 são conectados por uma haste protéica (RACKER, 1970; PALMER & HALL, 1972 e SENIOR, 1973).

Essa atividade da F_1 -ATPase de hidrolisar lentamente o ATP na presença de Mg^{2+} medida pela liberação de fosfato (P_i) é influenciada pela dieta lipídica, provavelmente por alterar a conformação estrutural da membrana interna das mitocôndrias onde a enzima se liga (INNIS & CLANDININ, 1981; McMURCHIE et alii, 1983 e ROBBLEE & CLANDININ, 1984). O mesmo fenômeno foi também demonstrado para ATPase de eritrócitos (BLOJ et alii, 1973). Vários autores confirmam ainda que manipulações dietárias ou dietas deficientes em AGE causariam alterações conformacionais na estrutura de membranas, na fosforilação oxidativa das mitocôndrias (LEVIN et alii, 1957; SMITH & De LUCA, 1964; De LUCA, 1965; SMITHSON, 1969; STANCLIFF et alii, 1969; WILLIAMS et alii, 1972; SETIA & JAKOBSEN, 1975; DIVAKARAN & VENKATARAMAN, 1977 e DIVAKARAN, 1978).

2.8. TIREÓIDE

2.8.1. Anatomia da glândula: Ao nível entre a primeira e a segunda bolsa faríngea aparece na face ventral da linha mediana da faringe um divertículo endodérmico em forma de saco (saco tireóideo) que destina-se a dar origem ao parênquima da glândula tireóide representa o primeiro derivado glandular da faringe. Quando ele aparece, torna-se bilobado quase em seguida e um colo estreito o une os dois lobos. Esse colo, conhecido como ducto tireoglossos, torna-se um cordão sólido e entra em atrofia. A conexão entre o ducto

e a faringe resulta numa depressão permanente, o forame cego que se localiza no ápice do sulco terminal em forma de V no dorso da língua.

O saco tireóideo transforma-se em uma sólida massa de células na ocasião em que o cordão tireoglosso desaparece. Posteriormente a tireóide toma o aspecto de um crescente e se recoloca numa posição ao nível da traqueia em desenvolvimento e essa mudança de posição ocorre porque a tireóide permanece atrás à medida que a faringe cresce para diante. Nessa ocasião os dois lobos da tireóide, um de cada lado da traqueia unem-se na linha mediana por um estreito istmo de tecido tireóideo em desenvolvimento.

Finalmente começa a formação dos folículos tireóideos que adquirem colóide e novos folículos se originam somente por brotamentos e subdivisões dos já presentes (NETTER, 1982).

2.8.2. Efeitos do hormônio tireotrófico sobre a tireóide: A hipófise anterior desempenha um papel indispensável na regulação da função tireóideana. A remoção da hipófise leva à diminuição da massa tireóidea e decréscimo de produção e secreção dos hormônios tireóideos e a administração de doses excessivas de extratos hipofisários provoca um aumento da massa tireóidea dando tireóides hipertrofiadas e hiperplásicas, as quais sintetizam e secretam hormônios tireóideos em excesso. O hormônio hipofisário que tem a tireóide como seu alvo é conhecido como tireotrófico ou hormônio estimulante da tireóide (TSH). Sugere-se que a primeira ação do TSH seja ativar as enzimas proteolíticas, as quais hidrolisam tireoglobulinas e assim favorecem a secreção de tiroxina e de triiodotiroxina para a circulação e posteriormente estimula ou ativa a fixação do iodo tireóideo (NETTER, 1982).

2.8.3. Fisiologia dos hormônios tireóideos: O papel da glândula tireóide na fisiologia do organismo compreende a síntese, armazenamento e secreção dos hormônios tireóideos, que são necessários ao crescimento, desenvolvimento e metabolismo normal do organismo. Essas funções tireóideas podem ser consideradas quase um análogo do metabolismo do iodo. O iodo orgânico é absorvido no trato gastrointestinal e circula como iodeto, até ser captado pela tireóide ou glândulas salivares ou ser excretado pelo trato urinário. A tireóide extrai iodo do plasma para uma concentração vinte e cinco vezes maior, devido à sua captação do iodeto, que pode ser estimulada pelo TSH. O iodeto oxidado para iodo por uma enzima oxidativa é rapidamente utilizado na iodação da tirosina. Tem sido demons--

trada na tireóide uma desiodase capaz de desiodizar a moniodotirosina e a diiodotirosina, mas não de desiodizar a tiroxina ou a triiodotironina. O iodo removido das moléculas de moniodotirosina e da diiodotirosina por essa desiodase é disponível novamente no "pool" total de iodeto do organismo e reutilizável pela tireóide. Aceita-se geralmente que pela ação de uma enzima acopladora se unem duas moléculas de diiodotirosina para formar tetraiodotironina ou tiroxina (T_4) ou para acoplar uma molécula de moniodotirosina a uma de diiodotirosina para formar a triiodotironina (T_3). A proporção de T_4 para T_3 em tireóides humanas é de 4 para 1 (JENNINGS et alii, 1979 e NETTER, 1982).

Os compostos orgânicos iodados são armazenados na tireóide fazendo parte de uma grande molécula denominada de tireoglobulina que é estocada no folículo e circundada por uma parede acinar de células cubóides. Os hormônios T_3 e T_4 liberados pelas enzimas proteolíticas após ativação pelo TSH são transportados através da parede celular do ácino para a circulação. T_3 e T_4 são transportados da tireóide para os tecidos periféricos pelas proteínas ligadoras dos hormônios tireóideos, sendo a principal proteína chamada de globulina ligadora de tiroxina (TBG). Esta transporta a maior parte da tiroxina. Ambos os hormônios tireoideanos tem sido também localizados ligados a albumina. Pressume-se que o hormônio tireóideo ligado à albumina ou à globulina ligadora de tiroxina seja metabolicamente inativo e que o hormônio ativo seja a pequena fração livre em equilíbrio com o hormônio ligado. Pelas proteínas ligadoras, os hormônios tireóideos entram nas células do organismo onde exercem suas funções, que são predominantemente calorigênicas, isto é, elevam o metabolismo basal. Devido a essa elevada afinidade pelas proteínas plasmáticas, os hormônios tireoideanos, em particular a tiroxina, são liberados para as células teciduais apenas muito lentamente. A metade da tiroxina contida no sangue é liberada para as células teciduais, aproximadamente a cada seis dias, enquanto a metade da triiodotironina, devido a sua menor afinidade, a cada 1,3 dia. Ao penetrar nas células ambos os hormônios fixam-se novamente as proteínas intracelulares, sendo que a tiroxina se liga mais fortemente que a triiodotironina e conseqüentemente são novamente armazenadas, porém, desta vez nas próprias células funcionais e são usadas lentamente durante um período de vários dias (OPPENHEIMER, 1968; NETTER, 1982 e OKABE & TAKIMOTO, 1985).

Uma vez que os hormônios da tireóide atingem as células alvos, ligam-se ao receptor citosol e passam para dentro do núcleo onde parecem agir sobre segmentos específicos do DNA nuclear, aos quais se ligam (INOUE et alii,1983).

2.8.4. Funções dos hormônios tireoideanos nos tecidos: Os efeitos dos hormônios da tireóide são complexos e há grande evidência que ambos (T_3 e T_4) são necessários à plena expressão da ação hormonal. Sabe-se que os hormônios tireoideanos aumentam as atividades metabólicas de quase todos os tecidos do organismo, embora, desconheçam-se os mecanismos básicos desta ação. Alguns dos possíveis mecanismos sugeridos são comentados a seguir:

1) Efeito no aumento da síntese protéica: quando a tiroxina ou triiodotironina é administrada a um animal, a síntese protéica aumenta em quase todos os tecidos do organismo. Provavelmente esse fato é o responsável pelo maior crescimento do mesmo (SIMON et alii,1982). O mesmo ocorre com a síntese de proteínas mitocondriais (VOLFEN et alii,1969; KATYARE et alii,1970 e SIMON et alii,1982).

2) Efeito sobre as mitocôndrias: quando T_3 e T_4 são administrados a um animal as mitocôndrias de quase todas as células aumentam de tamanho e de número, sendo possível dizer que os hormônios tireóides tem um papel na gênese mitocondrial (KATYARE et alii,1970).

Também foi demonstrado que a tireoidectomia e o hipotireoidismo tem efeito de deprimir a oxidação fosforilativa (KATYARE et alii,1977 e SEITZ et alii,1985).

O consumo de oxigênio é também afetado pelos hormônios tireóideos (JOHN-ALDER,1983 e KLEIN et alii,1983). Esses hormônios parecem ter receptores específicos a níveis mitocondriais, pois T_4 se associa com a membrana interna dessas organelas (DIMINO et alii,1972) onde regulariam a gênese da membrana interna mitocondrial (NELSON et alii,1984).

3) Efeito sobre os sistemas enzimáticos celulares: após a administração dos hormônios tireoideanos ocorre um aumento da atividade intracelular de um grande número de enzimas. Por exemplo: a ATPase- Na^+-K^+ -dependente aumenta em resposta aos hormônios tireóideos aumentando o índice do transporte tanto do sódio como do potássio através das membranas celulares de certos tecidos, como esse processo utiliza energia, consequentemente aumenta a produção de calor e esse mecanismo tem sido sugerido como sendo o mecanismo através do qual os hormônios tireóideos aumentariam o metabolismo ba-

sal do organismo (ISMAIL-BEIG & EDELMAN,1970; ISMAIL-BEIG & EDELMAN,1971; ISMAIL-BEIG & EDELMAN,1974; LO et alii,1976 e LIN & TAI, 1978).

As enzimas relacionadas com a degradação de hidratos de carbono, aumentam sua atividade em até seis vezes acima do nível normal e isto explicaria a rápida utilização dos carboidratos sob a influência da tiroxina e aumento também da gliconeogênese com alteração na síntese de insulina (MALAISSE et alii, 1967; ARANDA et alii,1972 e SANDER et alii,1983).

Outras enzimas são também alteradas por influência dos hormônios tireóideos como a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (HOPPNER et alii,1985) e enzimas mitocondriais como succinoxidase, malato desidrogenase (KATYARE et alii,1970) e citrato sintetase (JOHN-ALDER,1983).

KATYARE et alii (1977) estudando o efeito da tireoidectomia sobre a atividade ATPásica de mitocôndrias do fígado, rim e cérebro de ratos mostra que a atividade de ATPase total não é influenciada pela tireoidectomia, entretanto, a atividade de ATPase basal é fortemente afetada pela tireoidectomia ocorrendo um decréscimo dessa atividade.

4) Efeito no metabolismo lipídico: muitos aspectos do metabolismo lipídico são alterados sob a influência dos hormônios tireoideanos (MORRIS et alii,1957; SUZUKY et alii,1979 e STAKKESTAD & BREMER, 1982). Observa-se que existe mobilização dos lipídeos do tecido adiposo, o que aumenta a concentração de AG livres no plasma e existe também uma aceleração na oxidação e esterificação dos ácidos graxos (BOICHOT,1977; MULLER et alii,1981; GNONI et alii,1983;STAKKESTAD & LUND, 1983 e STAKKESTAD & LUND, 1984).

Sabe-se também que os hormônios tireoideanos podem estimular a elongação de AGS (HOUGHAM & CRAMER, 1980 e KAWASHIMA & KOZUKA,1985) e a dessaturação em microssomas hepáticos (FAAS & CARTER,1981).

DEWAILLY et alii (1978) demonstraram que existe alterações na composição dos AG dos fosfolipídeos mitocondriais do coração de ratos Wistar quando os mesmos são alimentados com dietas contendo alta taxa de ácido erúico durante vinte semanas.

Mesmo o metabolismo lipídico do tecido epididimal é também controlado pelos hormônios tireóideos como se observa em animais tireoidectomizados, embora esse efeito seja temporá-

rio e reversível pela administração de tiroxina (PEREIRA et alii, 1983 e PEREIRA et alii, 1984).

2.9. OBJETIVOS

De maneira geral esta pesquisa pretende colaborar ao esclarecimento dos seguintes aspectos:

- 1) Influência das dietas contendo uma mesma fonte de lipídeos, óleo de soja, em concentrações diferentes (dieta normolipêmica: soja 12% e outra hiperlipêmica: soja 20%) nas alterações da composição de AG dos lipídeos do soro e das mitocôndrias hepáticas e encefálicas;
- 2) Influência das dietas normolipêmicas, contendo AG diferentes à base de óleo de semente de soja rica em AGPI n-6 e óleo de sardinha rica em AGPI n-3 nas eventuais alterações da composição de ácidos graxos dos lipídeos séricos e mitocôndriais hepáticos e encefálicos;
- 3) Influência das dietas lipídicas diferentes na atividade da glândula tireóide, observada pela captação de iodo e dosagens dos hormônios T_3 e T_4 ;
- 4) Influência da tireoidectomia na ação dessas dietas lipídicas, envolvendo o conteúdo de ácidos graxos e o desenvolvimento do animal;
- 5) Influência das dietas lipídicas diferentes e/ou a tireoidectomia na atividade ATPásica mitocondrial do fígado e do encéfalo.

3 - M A T E R I A I S E M É T O D O S

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Animais: Foram usados 62 ratos albinos da raça Sprague-Dowley provenientes de nosso biotério central. Após serem desmamados aos 21 dias de vida foram mantidos em nosso laboratório em gaiolas de aço (10-12 animais por gaiola) e durante 8 dias foram alimentados com a ração comercial "Probiotério G" da Anderson Clayton recebendo água "ad libitum". Com cerca de 30 dias de idade, 50% dos animais foram tireoidectomizados e 50% foram pseudooperados. Todos os animais (pseudo-operados e tireoidectomizados) continuaram a receber a dieta comercial por mais sete dias. Então, grupos de 10 ratos pseudo-operados e de 10 ratos tireoidectomizados passaram a receber uma das três dietas experimentais ou semi-sintéticas, conforme descrito no item 3.1.3.

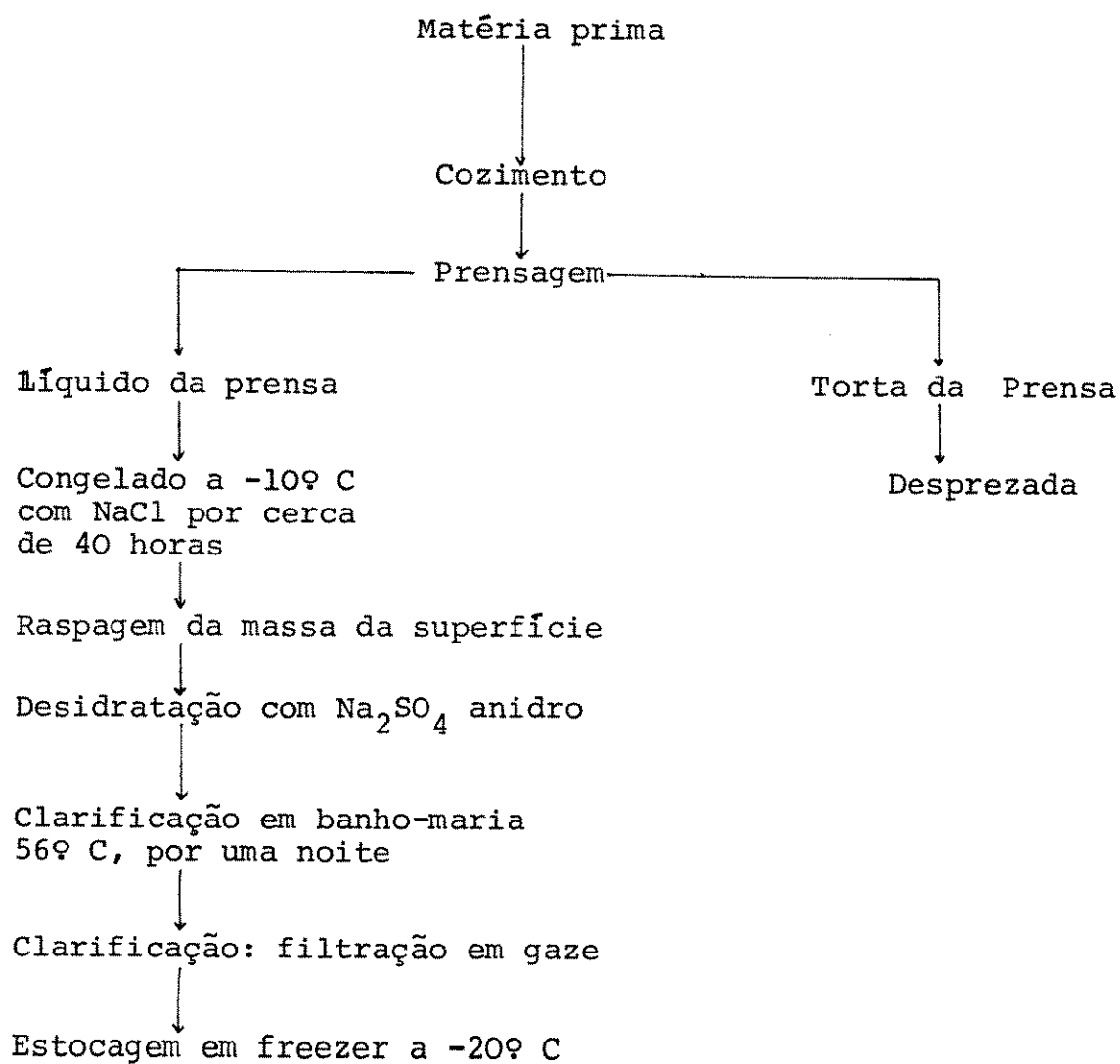
Como observação, vale lembrar, que o grupo da dieta óleo de sardinha 12% de ratos tireoidectomizados era constituído por 12 animais ao contrário de todos os outros estudados que eram constituídos por 10 animais. Uma outra observação é que os animais não tireoidectomizados (grupo controle) foram pseudo-operados e são referidos no capítulo resultados como animais normais, embora tanto os animais operados como os pseudo-operados sejam normais.

3.1.2. Preparação do óleo de sardinha: Para a obtenção do óleo de sardinha usamos toda a massa corpórea da Sardinella brasiliensis que é um peixe marinho encontrado na costa brasileira. Inicialmente a sardinha era triturada em um cortador da marca Hermann e posteriormente cozida numa temperatura de 90° C, na proporção de dois litros de água para cada 10 Kg de sardinha durante 15 minutos. Em seguida a pasta assim obtida era colocada em sacos de algodão e prensada em uma embutideira de pistão da marca Hermann. A fração líquida, obtida após a prensagem, era adicionado sal de cozinha para acelerar a separação da fração oleosa da fração aquosa. Essa mistura de frações era colocada em um freezer a -10° por cerca de 40 horas, com o objetivo de solidificação da fração oleosa que encontrava-se na superfície da emulsão.

Posteriormente a fração oleosa era retirada com uma espátula, procurando-se, sempre que possível, evitar-se a contaminação dessa camada com a que vinha logo abaixo. Esse material era coletado em um becker ao qual adicionava-se sulfato de sódio anidro, em quantidade suficiente para a retirada de toda a água que estivesse contaminando a fração oleosa. Numa fase subsequente esse material era deixado por uma noite em banho-maria a 56° C com o objetivo de melhorar ainda mais a separação, finalmente, a fração oleosa, agora livre de água e de resíduos protéicos, era filtrada em gaze. O óleo assim obtido e sem nenhum conservante era estocado em frasco ambar em um freezer a -20° C, até o momento do uso. Esse processo mostramos de maneira simplificada no esquema nº 5.

3.1.3. Preparação das dietas experimentais: As dietas semi-sintéticas contendo idêntica composição de macro e micronutrientes, com exceção da fonte de lipídeos, eram isocalóricas e preparadas de acordo com a proposta do ILAR COMMON WEALTH BUREAU OF NUTRITION (1979).

Esquema nº 5 - Processo de Produção do Óleo de Sardinha



Todos os ingredientes foram colocados individualmente em um misturador de alta rotação da marca Stan-Util, modelo Turray. A composição desta dieta está descrita na Tabela nº 1.

3.1.4. Reagentes: Foram obtidos da firma Sigma Co. (USA) os seguintes reagentes: Hepes (N-2-hidroxi-etilpiperazina-N-2-ácido e tano sulfônico), soro albumina bovina, EDTA (etileno-diamina-tetra-acetato), TRIS-HCl (hidroximetil amino metano) e ATP (adenosina trifosfato); da Merck obtivemos: metanol, clorofórmio, hidróxido de potássio, ácido sulfúrico, cloreto de sódio, cloreto de amônio, hexano e cloreto de magnésio e da Ecibra: sulfato de sódio anidro, manitol, sacarose e cloreto de sódio. Todos os reagentes utilizados nesse trabalho foram de pureza analítica.

3.1.5. Aparelhos: As homogeneizações foram efetuadas em um homogenizador de tecidos do tipo Potter modelo TE 099 e em um disruptor de tecidos Turratrec modelo TE 102, ambos da firma TECNAL. As centrifugações foram realizadas em uma centrífuga Beckmann refrigerada modelo J 2/21, sendo o rotor utilizado o J A/20 e as leituras espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro Beckmann modelo 24.

As agitações quando necessárias foram realizadas em um agitador de tubos do tipo Vortex e finalmente as análises dos AG mitocondriais e séricos foram realizadas por cromatografia líquida-gasosa em um cromatógrafo Varian modelo 2440-S.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Tireoidectomia: Para a realização da cirurgia os animais foram submetidos a anestesia leve com éter. Logo após, foram colocados sobre uma prancha em posição de decúbito dorsal, mantendo-se a cabeça em linha reta ao corpo e as extremidades fixadas com elástico.

A incisão da pele e tecidos superficiais foi feita acima da fúrcula esternal, verticalmente, separando por planos as bordas dos músculos esternocleidomastóideos, esternohioides e esterno-tireóideos que foram afastados e mantidos com um afastador.

Para se retirar a glândula tireóide, seccionou-se o ístmo com uma agulha fina, evitando-se a lesão da fás-

TABELA 1. Composição e valor energético das dietas contendo óleo de semente de soja 12% (A), óleo de semente de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

Ingredientes	DIETAS A ou C		DIETA B	
	g/100 g de dieta	KJ/100 g de dieta	g/100g de dieta	KJ/100 g de dieta
sacarose	10,0	171,5	2,0	34,3
maizena	28,8	493,7	18,8	322,1
caseína	25,0	449,8	25,0	449,8
óleo	12,0	466,9	20,0	778,2
farinha de trigo	10,0	171,5	10,0	171,5
leite em pó	10,0	213,0	10,0	213,0
mistura salina (a)	2,0	-	2,0	-
mistura vitamínica (b)	1,0	-	1,0	-
celulose	1,0	-	11,0	-
bitartarato de colina	0,2	-	0,2	-
TOTAL	100,0	1.966,4	100,0	1.968,9

(a) composição da mistura salina por Kg de ração: cálcio 7g; fósforo 4g; potássio 5g; cloreto de sódio 3g; ferro 200 mg; iodo 6 mg; cobalto 5 mg; magnésio 600 mg; zinco 18 mg e cobre 22 mg.

(b) mistura vitamínica de acordo com a análise feita pela firma Roche do Brasil conforme solicitação de análise nº 10.883 de 1/9/83: Tiamina-HCl 0,6 g; Riboflavina 0,6 g; piridoxina-HCl 0,7 g; Niacina 3,0 g; pantotenato de cálcio 1,6 g; ácido fólico 0,2 g; biotina 0,02 g; cianocobalamina 1,0 g; vitamina A 0,016 g; vitamina D₃ 0,001 g; menadiona 0,005 g; cloreto de colina a 50% 400,0 g; ácido para-aminobenzóico 50,0 g e sacarose moída 542,158 g por Kg de mistura final.

cia traqueal. A glândula foi cuidadosamente retirada por dissecação rômica, usando-se pinças finas e cotonetes preparados "ad hoc" evitando sangramento e lesão do nervo recorrente. Após a retirada da glândula tireóide, examinou-se cuidadosamente a região para que não restasse nenhum vestígio de tecido tireoideano, nem houvesse pontos de sangramento. Deve-se salientar que as glândulas paratireóides, extra tireoideanas superiores, permaneceram após a cirurgia.

Terminada a ablação da glândula, os músculos pré-tireoideanos e esternocleidomastóideos foram reaproximados e as bordas da pele suturados com fio cirúrgico fino. Praticamente quando se terminava a sutura o animal já estava voltando da anestesia, sendo em seguida mantido em gaiola individual.

3.2.2. Preparação das mitocôndrias do fígado e do encéfalo: Após 30 dias de dieta os animais foram colocados sob campânula de vidro onde era exposto ao vapor de éter até a instalação da anestesia, sendo logo após mantidos sob anestesia em circuito aberto, sendo então feita uma incisão no abdômem e sacrificados, por hemorragia aguda, através de punção aórtica, extraíndo-se o maior volume possível de sangue. Na coleta do sangue utilizou-se como anticoagulante citrato de sódio a 10%. O sangue foi centrifugado separando-se o soro que foi guardado no congelador para análises posteriores. Imediatamente após a coleta do sangue retirava-se o fígado e encéfalo dos animais tireoidectomizados e dos seus respectivos controles que eram pesados a fresco e depois guardados no freezer a -20° C para preparação de suas mitocôndrias.

As preparações das mitocôndrias desses tecidos foram efetuadas pelo método de centrifugação diferencial e descrito por PIMENTEL e TAHIN (1980). Cada grama de fígado era picado com uma tesoura até tornar-se bem fragmentado em solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%). Essa solução posteriormente era desprezada e os fragmentos de fígado eram suspensos em solução de MSE (manitol 210 mM, sacarose 70 mM, Hepes 3 mM, BSA 0,1%, EDTA 0,1 mM, pH 7,4 ajustado com Tris-HCl). O encéfalo era suspenso diretamente na solução de MSE.

Os tecidos eram então homogeneizados em um homogeneizador do tipo Potter, com cinco movimentos completos, sob baixa rotação. Após essa homogeneização inicial os tecidos eram novamente homogeneizados em um homogeneizador tipo disruptor de tecidos Turrattec da Tecnal por dez segundos sob rotação

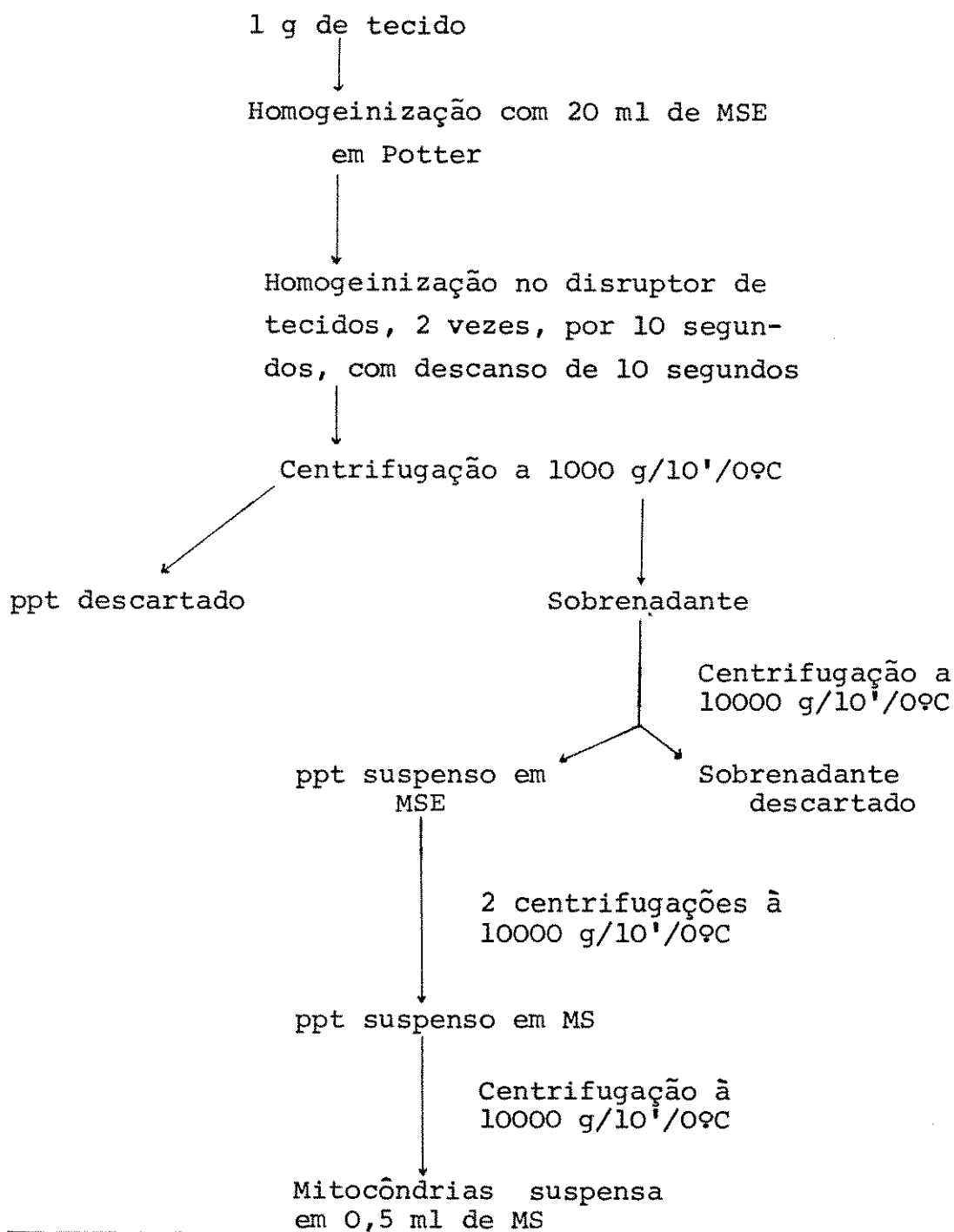
2, com descanso de dez segundos, seguindo-se nova homogeneização. Todos os processos desde a picagem do material até as homogeneizações foram feitos em banho de gelo.

Posteriormente as amostras eram centrifugadas a 1.000xg por 10 minutos a 0° C, sendo o precipitado desprezado. O sobrenadante era novamente centrifugado a 10.000xg por dez minutos a 0° C. O sobrenadante obtido dessa centrifugação era desprezado e o precipitado lavado duas vezes com 10 ml de MSE seguido de centrifugações e por fim lavado com 10 ml de solução de MS (manitol 210 mM; sacarose 70 mM; Hepes 3 mM; BSA 0,1%, pH 7,4 ajustado com TRIS-HCl). O precipitado obtido após nova centrifugação a 10.000xg por dez minutos a 0° C constituía-se nas mitocôndrias, sendo essas, ressuspensas em 0,5 ml de solução de MS e estocadas no freezer a -20° C, conforme descrito no esquema 6. Dessas mitocôndrias, assim obtidas, foram feitas análises de AG e de ATPase.

3.2.3. Extração de AG dos lipídeos séricos e mitocondriais. Preparação dos metil ésteres desses ácidos graxos: Após 30 dias nas diferentes dietas os ratos normais e tireoidectomizados foram sangrados para obtenção de soro (conservado em freezer). A extração de ácidos graxos do soro e das mitocôndrias foi feita de acordo com o método proposto por FOLCH et alii (1951) modificado por TIETZ (1970). Para cada 1 ml de soro ou de uma suspensão de mitocôndrias em MS eram adicionados 5 ml de metanol. Agitava-se vigorosamente em um agitador de tubos do tipo Vórtex, durante 1 a 2 minutos. Após um descanso de 5 minutos repetia-se o processo e após repouso de 5 minutos adicionava-se 20 ml de clorofórmio e homogeneizava-se no disruptor de tecidos Turratex da Tecnal por dez segundos sob rotação 3. Em seguida separavam-se as frações dessa mistura por centrifugação a 2.500xg por cinco minutos a 0° C. A seguir o sobrenadante era recolhido, medido o volume e adicionava-se 0,2 volumes de cloreto de sódio 0,1 M e agitava-se em funil de decantação, deixando-se decantar por uma hora, após o que, colhia-se a camada inferior e evaporava-se completamente os solventes orgânicos sob um fluxo de nitrogênio, a uma temperatura entre 30 e 40° C.

Os lipídeos assim extraídos eram submetidos à saponificação e posteriormente a uma metilação de acordo com o método proposto por HARTMANN e LAGO (1973). A saponificação era

Esquema 6. Preparação das mitocôndrias



realizada adicionando-se 5 ml de hidróxido de potássio 0,5 N em metanol, ferviamos sob refluxo por 5 minutos e ainda a quente adicionávamos 15 ml da mistura de esterificação (60 ml de metanol 3 ml de ácido sulfúrico concentrado e 2 g de cloreto de amônio). Fervia-se novamente sob refluxo por mais três minutos. Após esse processo transferia-se a mistura para um funil de separação usando 5 ml de hexano, sendo a fase superior de hexano lavada três vezes com água destilada. Em seguida desprezava-se a fase aquosa (a de baixo) e a fase superior filtrava-se em sulfato de sódio anidro para tirar o que restou de água. Finalmente evaporava-se o hexano sob um fluxo de nitrogênio com temperatura entre 30 e 40°C e estocava-se no freezer em pequenos frascos a temperatura de -20°C, para posterior análise cromatográfica.

3.2.4. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos dos AG: A análise dos metil-ésteres dos AG dos lipídeos séricos e mitocondriais do fígado e encéfalo foi realizada através de um cromatógrafo a gás da Varian, equipado com um detector de ionização de chama de hidrogênio e uma coluna de níquel de 2m/1/8" empacotada com dietileno-glicol succinato (DEGS) 17% suportada sobre chromosorb WHP, 80-100 mesh.

A temperatura do injetor variava de 215 a 230°C e a do detector de 270 a 280 °C. A programação da temperatura durante o desenvolvimento do cromatograma era inicialmente a de 50°C, aumentando-se de 15°C a cada minuto até atingir uma temperatura final de 240°C.

A velocidade dos gases foram as seguintes: nitrogênio (10 ml/15 segundos), hidrogênio (17 ml/5 segundos) e ar sintético (10 ml/2 segundos). A velocidade do papel foi de 1 cm/minuto.

As amostras dos ésteres de AG foram suspensas em 100 microlitros de clorofórmio-metanol 2:1 (v/v) e injetadas no cromatógrafo em quantidades de 1 a 2 microlitros. Os padrões dos metil-ésteres dos AG utilizados foram todos da Sigma Chemical Company (USA). Os tempos de retenção (T.R.) dos padrões e das amostras foram expressos em cm/minuto e a quantificação dos picos individuais dos ésteres cromatografados foi calculada pelo método da determinação de sua área segundo a fórmula seguinte:

$$Q = B \times \frac{H}{2}, \text{ onde:}$$

Q = quantidade

B = base do pico

H = altura do pico

A somatória de todas as áreas dos picos individuais cromatografados representava 100% dos metil-ésteres dos AG analisados. Posteriormente a fração de área correspondente a cada pico era calculada como porcentagem em relação ao total.

Deve ser ressaltado que os resultados apresentados dessas análises de AG representam triplicata de um "pool" do soro e das mitocôndrias do fígado e encéfalo envolvendo dois a três animais. A tabela 2 mostra os tempos de retenção dos padrões usados.

3.2.5. Dosagem de proteínas: As proteínas foram determinadas pelo método de LOWRY et alii (1951) utilizando-se soro albumina bovina como padrão. Este método se fundamenta na reação do reagente de Folin-Ciocalteu (10g de tungstato de sódio, 1,8g de óxido de molibdênio, 5 ml de ácido fosfórico 85%, 75 ml de água destilada) com os radicais fenólicos dos resíduos de tirosina, encontrados nas proteínas.

3.2.6. Determinação da atividade ATPásica: O método utilizado em nosso trabalho está baseado no descrito por PIMENTEL e TAHIN(1980) modificado. Em tubos de plástico da mini-centrífuga Eppendorf colocávamos 80 microlitros de água e 0,5 ml de substrato para a reação de ATPase ($MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ 6 mM; ATP 6 mM dissolvidos em TRIS HCl 0,1 M pH 8,5). Esses tubos eram mantidos à temperatura de 37° C, após o que adicionávamos 20 microlitros da solução mitocondrial hepática ou encefálica suspensa em MS e deixávamos 10 minutos a 37° C após o que encerrávamos a reação usando 0,6ml de TCA a 10%. A determinação do tempo zero da reação foi feita pela adição de TCA antes da adição da amostra de solução mitocondrial. Após encerrarmos a reação, centrifugamos em centrífuga Eppendorf modelo 3901, por 4 minutos à temperatura ambiente. Do sobrenadante obtido da centrifugação era dosado o fósforo inorgânico (Pi), liberado durante o tempo da reação à temperatura ambiente.

Cada determinação de atividade enzimática foi efetuada em duplicata sendo o resultado apresentado o correspondente a sua média.

TABELA 2. Tempo de Retenção (T.R.) dos padrões dos metil-ésteres dos ácidos graxos

<u>ÁCIDOS GRAXOS</u>	<u>P A D R Õ E S</u>	<u>T.R. em minutos</u>
6:0	hexanóico	1,6
7:0	heptanóico	2,4
8:0	octanóico	3,4
8:1	octamonoenoíco	4,1
9:0	nonanóico	4,2
10:0	decanóico	5,1
10:1	decamonoenoíco	5,6
11:0	undecanóico	5,8
11:1	undecamonoenoíco	6,1
12:0	láurico	6,5
12:1	dodecamonoenoíco	7,1
14:0	mirístico	7,5 - 8,0
14:1	miristoléico	8,1
14:2	tetradecadienoíco	8,5
15:0	pentadecanóico	8,8
16:0	palmitico	8,6 - 9,4
16:1 n-7	palmitoléico	8,9 - 9,7
17:0	heptadecanóico	10,0
16:2 n-7	hexadecadienoíco	10,3
18:0	esteárico	9,9 - 10,6
18:1 n-9	oléico	10,4 - 10,8
19:0	nonadecanóico	10,9
18:2 n-6	linoléico	10,9 - 11,4
20:0	eicosanóico	11,2 - 11,8
18:3 n-3	linolênico	11,3 - 12,0
20:1 n-9	eicosamonoenoíco	11,8 - 12,1
20:3 n-9	eicosatrienoíco n-9	11,9 - 12,2
20:3 n-6	eicosatrienoíco n-6	12,0 - 12,3
22:0	docosanóico	12,1 - 12,4
20:4 n-6	araquidônico	12,3 - 12,5
20:3 n-3	eicosatrienoíco	12,7
22:1 n-9	docosamonoenoíco	12,8
20:5 n-3	eicosapentaenoíco	13,0 - 13,5
22:4 n-3	docosatetraenoíco	14,6
22:5 n-6	docosapentaenoíco n-6	15,0
22:5 n-3	docosapentaenoíco n-3	15,5
22:6 n-3	docosahexanóico	16,0 - 16,5
22:4 n-6	tetracosatetraenoíco	17,5
24:6 n-3	tetracosahexanóico	20,0

3.2.7. Definição da atividade específica: Nesse nosso trabalho a atividade de ATPase específica foi expressa pelo número de micromoles de fósforo inorgânico (Pi) liberado durante a hidrólise do ATP por miligrama de proteína mitocondrial por minuto à 37°C.

3.2.8. Dosagem do fósforo inorgânico (Pi) liberado na reação da atividade enzimática de ATPase: À 1 ml do sobrenadante proveniente da reação de ATPase (tubos da reação e tempo zero), bem como a 1 ml de água destilada mais os reagentes da reação de Pi (branco da reação de Pi) e do padrão de fósforo (4mg % de Pi) foram adicionados 1 ml da solução C (4 volumes da solução A de molibdato de amônio 3,1 g% dissolvidos em ácido sulfúrico 3,75 N mais 1 volume da solução B composta de ácido 1,2,4-amino-naftolsulfônico preparada de acordo com a metodologia proposta por FISK & SUBBAROW, 1925). Após 10 minutos à temperatura ambiente, tínhamos o aparecimento de uma cor azul (proporcional à concentração de Pi presente no tubo de reação) que era lida em um espectrofotômetro Beckmann a um comprimento de onda de 700 nm.

3.2.9. Captação de I^{131} e determinação dos níveis séricos de triiodotironina e tiroxina: Imediatamente após retirada, a glândula tireóide era transferida para um tubo de ensaio contendo 1 ml de solução fisiológica. Media-se a sua radio-atividade em detector sólido de cintilação gama da Abbot, expressando-se em cpm (contagem por minuto) após a subtração do valor do fundo (radiação do aparelho). A captação de I^{131} pela glândula tireóide foi expressa em porcentagem da dose injetada. Para isto previamente era registrado a radio-atividade em cpm da mesma amostra de iodo radioativo (I^{131}) injetado no animal 24 horas antes.

As dosagens de T_3 e T_4 séricos foram feitas por radioimunoensaio (Trilab Rie Kit - T_3 total Rie I^{125} e T_4 total Rie I^{125}).

Para as dosagens de T_3 tomou-se 0,2 ml de soro em análise e adicionou-se 0,1 ml de solução de anti-soro anti T_3 título 1:800, produzido em carneiro. A seguir foi adicionado 0,1 ml de solução de T_3 - I^{125} para que este competisse com o T_3 (contido no soro) pelo sítio de ligação de anti-soro anti T_3 .

A solução foi agitada e incubada por 15 minutos em banho-maria a 37°C. Foi pipetado então 1,0 ml de solução de polietilenoglicol (PEG) 14% em água destilada, para que ocor

resse precipitação do complexo antígeno-anticorpo. Os tubos foram agitados e centrifugados a 2.500xg por 15 minutos a temperatura de 40°C. Decantou-se o sobrenadante e fez-se a contagem da radioatividade emanada do precipitado em um contador de radiação detector sólido de cintilação gama da Abbott, por um minuto. O mesmo procedimento foi aplicado a seis amostras consideradas padrões, que continham respectivamente: zero, 50 ng%, 100 ng%, 200 ng%, 400 ng% e 800 ng% de T_3 , valores que foram utilizados para a confecção da curva padrão.

Outro tubo foi processado de forma similar, exceto pela não adição do anti-soro, com a finalidade de determinar a ligação não específica do traçador.

Nas dosagens de T_4 pipetou-se 0,02 ml do soro a ser analisado, adicionou-se 0,1 ml da solução do anti-soro anti T_4 produzido em coelhos, título de 1:200. A seguir foi adicionado 0,1 ml de solução de T_4 I^{125} para que este competisse com o T_4 contido no soro pelo sítio de ligação do anti-soro anti T_4 . Logo após a solução foi agitada e incubada por 15 minutos em banho maria a 37°C. Foi pipetado então 1,0 ml de solução de polietilenoglicol (PEG) 14% em água destilada, para que ocorresse a precipitação do complexo antígeno-anticorpo. Os tubos foram agitados e centrifugados a 2.500xg por 15 minutos a temperatura de 40°C. Decantou-se o sobrenadante do precipitado e fez-se a contagem por minuto da radioatividade do precipitado em um contador de radiação detector sólido de cintilação gama da Abbott.

Em seis amostras consideradas padrões, que continham, respectivamente: zero, 2,5 microgramas%, 5 microgramas%, 10 microgramas%, 20 microgramas% e 40 microgramas% de T_4 foi aplicado o mesmo procedimento com o intuito de se elaborar uma curva padrão.

Outro tubo foi processado de forma similar, exceto pela não adição do anti-soro, com a finalidade de determinar a ligação não específica do traçador.

Todas as análises foram feitas em duplicatas, sendo utilizadas para efeito de cálculo, as médias das contagens. Os resultados foram calculados a partir da melhor regressão linear das curvas padrão.

3.2.10. Análise estatística: A análise estatística dos resultados foram realizados através do teste "t" de Student.

4. RESULTADOS

4.1. VARIAÇÃO MÉDIA DO PESO CORPÓREO E DO ALIMENTO INGERIDO

Observamos que após 30 dias de dieta todos os ratos tireoidectomizados dos três grupos dietários apresentavam um menor ganho de peso corpóreo. Assim, na dieta A, essa diferença foi de 38%, na dieta B foi de 54% e na dieta C foi de 29% (Tabela 3), sendo esses resultados estatisticamente significativos a nível de 5% (Tabela 4).

Comparando-se a variação do peso corpóreo nos ratos normais das três dietas observamos que o maior ganho ocorreu na dieta A (Tabela 3), porém essa diferença é apenas estatisticamente significativa a nível de 5% em relação a dieta C e não

TABELA 3. Variação média do peso corpóreo nos ratos normais e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>G R U P O</u>	<u>PESO GANHO (g/dia/rato)</u>
A _N (n=10)	4,28 $\pm$ 0,95
A _T (n=8)	3,10 $\pm$ 1,40
B _N (n=10)	3,87 $\pm$ 1,10
B _T (n=9)	2,51 $\pm$ 1,65
C _N (n=10)	3,61 $\pm$ 0,64
C _T (n=12)	2,80 $\pm$ 1,22

$\pm$ indicam o desvio padrão

n = número de animais do grupo

TABELA 4. Estudo estatístico da variação média do peso corpóreo nos ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>PESO CORPÓREO</u>	
	<u>GL</u>	<u>t</u>
$A_N \quad X \quad A_T$	16	1,55 (*)
$B_N \quad X \quad B_T$	17	1,59 (*)
$C_N \quad X \quad C_T$	20	1,51 (*)
$A_N \quad X \quad B_N$	18	0,71
$A_N \quad X \quad C_N$	18	1,62 (*)
$A_T \quad X \quad B_T$	15	0,64
$A_T \quad X \quad C_T$	18	2,42 (**)

GL = grau de liberdade

t = teste "t" de Student

(*) significativo a nível de 5% ($p < 0,05$)

(**) significativo a nível de 1% ($p < 0,01$)

significativa em relação a B (Tabela 4). Entre os ratos tireoidectomizados observamos que o maior ganho de peso ocorreu também na dieta A (Tabela 3), mas essa diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$) em relação a dieta C mas não foi significativa em relação a dieta B (Tabela 4).

Após 30 dias de dieta, os ratos normais e tireoidectomizados dos três grupos dietários não apresentavam diferenças relevantes quanto a ingesta de alimento, verificando-se pela Tabela 5 que os valores estão bastante próximos, razão pela qual não existem diferenças estatisticamente significativas (Tabela 6). Quando comparamos os ratos normais com os tireoidectomizados de cada grupo dietário, somente na dieta A é que observamos diferenças estatisticamente significativa ($p < 0,05$), fato que pode ser observado também na Tabela 6.

4.2. MÉDIA DOS PESOS DO FÍGADO E DO ENCÉFALO

Após 30 dias de dieta verificamos que o fígado dos animais do grupo B são os que apresentaram um maior peso tanto nos ratos normais como nos tireoidectomizados (Tabela 7). Entretanto quando comparamos os ratos normais e os tireoidectomizados alimentados nas três dietas estudadas verificamos que esses valores não são estatisticamente significativos (Tabela 8). Quando comparamos os ratos normais com os tireoidectomizados, nas dietas A e C é que os valores são significativos a nível de 5% (Tabela 8).

O encéfalo dos animais do grupo B, tanto nos animais normais como nos tireoidectomizados, são os que apresentaram um maior peso (Tabela 9). Observamos que em todos os grupos dietários os animais tireoidectomizados apresentaram um menor peso desse órgão (Tabela 9), embora esses resultados sejam estatisticamente não significativos (Tabela 10). Comparando-se os ratos normais entre si nas três dietas experimentais observamos que existe variação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando se compara os animais da dieta A com os da dieta C (Tabela 10) e entre os animais tireoidectomizados não existe variação estatisticamente significativa (Tabela 10).

TABELA 5. Variação média de alimento ingerido por ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>G R U P O</u>	<u>ALIMENTO INGERIDO (g/dia/rato)</u>
A _N (n=10)	12,3 $\pm$ 2,78
A _T (n=8)	10,3 $\pm$ 1,74
B _N (n=10)	11,9 $\pm$ 2,10
B _T (n=9)	10,1 $\pm$ 3,03
C _N (n=10)	11,4 $\pm$ 1,52
C _T (n=12)	9,5 $\pm$ 2,01

$\pm$ indicam o desvio padrão
n = número de animais do grupo

TABELA 6. Estudo estatístico da variação média de alimento ingerido por ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>ALIMENTO INGERIDO</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
A _N X A _T	16	1,62 (*)
B _N X B _T	17	1,15
C _N X C _T	20	2,00 (*)
A _N X B _N	18	0,31
A _N X C _N	18	0,81
A _T X B _T	15	0,13
A _T X C _T	18	0,68

(*) significativo a nível de 5% ($p < 0,05$)

G.L. = grau de liberdade

TABELA 7. Média do peso do fígado nos ratos normais (N) e tireoi
dectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A),
soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>G R U P O</u>	<u>FÍGADO (gramas)</u>
A _N (n=10)	6,9107 $\pm$ 1,4276
A _T (n=8)	5,4657 $\pm$ 1,5154
B _N (n=10)	7,0725 $\pm$ 1,3437
B _T (n=9)	5,9029 $\pm$ 1,7915
C _N (n=10)	6,7383 $\pm$ 1,1949
C _T (n=12)	5,8879 $\pm$ 1,3231

$\pm$ indicam o desvio padrão

n = número de animais do grupo

TABELA 8. Estudo estatístico da variação média do peso do fígado nos ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C)

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>PESO DO FÍGADO</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
A_N X A_T	16	1,64 (*)
B_N X B_T	17	1,24
C_N X C_T	20	1,29
B_N X A_N	18	0,21
A_N X C_N	18	0,25
B_T X A_T	15	0,45
C_T X A_T	18	0,50

(*) significativo a nível de 5% ($p < 0,05$)

G.L. = Grau de Liberdade

TABELA 9. Média do peso do encéfalo nos ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12 % (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>G R U P O</u>	<u>ENCÉFALO (gramas)</u>
A _N (n=10)	1,6022 $\pm$ 0,0789
A _T (n=8)	1,6051 $\pm$ 0,0812
B _N (n=10)	1,6140 $\pm$ 0,1002
B _T (n=9)	1,6038 $\pm$ 0,1252
C _N (n=10)	1,5128 $\pm$ 0,1178
C _T (n=12)	1,4697 $\pm$ 0,0873

$\pm$ indicam o desvio padrão

n = número de animais do grupo

TABELA 10. Estudo estatístico da variação da média do peso do encéfalo nos ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: soja 12% (A), soja 20% (B) e sardinha 12% (C).

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>PESO DO ENCÉFALO (g)</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
A _N X A _T	16	0,06
B _N X B _T	17	0,15
C _N X C _T	20	0,84
B _N X A _N	18	0,25
A _N X C _N	18	1,53 (*)
B _T X A _T	15	0,02
A _T X C _T	18	2,96 (***)

(*) significativo a nível de 5% ($p < 0,05$)

(***) significativo a nível de 0,1% ($p < 0,001$)

G.L. = Grau de Liberdade

4.3. CAPTAÇÃO DE I^{131} e níveis séricos de T_3 e T_4

Para avaliar a atividade da glândula tireoi de nos ratos normais em diferentes dietas, dosamos a captação de I^{131} (Tabela 11). Pudemos observar por esses resultados que o maior nível de captação se deu na dieta soja 20% (B), apresentando 49% e 63% a mais em relação as dietas soja 12% (A) e sardinha 12% (C) respectivamente. Quando se compara a dieta B com a dieta A, essa diferença é estatisticamente significativa a nível de 1% (Tabela 12).

A Tabela 13 nos mostra a concentração de triiodotironina nos ratos normais nas diferentes dietas. Verificamos que a maior concentração se deu na dieta sardinha 12% (C), sendo respectivamente 57% e 21% a mais em relação as dietas soja 12% (A) e soja 20% (B). Quando se compara a dieta B com a dieta A essa diferença é estatisticamente significativa a nível de 0,1 % (Tabela 14).

A Tabela 15 nos mostra a concentração de ti-roxina (T_4) nos ratos normais nas diferentes dietas. Verificamos que a maior concentração se dá na dieta B, sendo respectivamente 17% e 55% a mais em relação as dietas A e C. Quando se compara a dieta A com a dieta C, essa diferença é estatisticamente significativa a nível de 5% (Tabela 16).

4.4. COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS LIPÍDEOS DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

Na Tabela 17 observamos que a dieta constituida por semente de óleo de soja tanto 12% como na de 20% apresenta em relação ao óleo de sardinha as seguintes diferenças no conteúdo percentual dos ácidos graxos:

- 1) o 14:0, o 16:1 n-7 e o 22:6 n-3 estão aumentados no óleo de sardinha em 1.462%, 933% e 675% em relação ao óleo de soja. Um aumento mais expressivo ocorreu com o 20:5 n-3 que existe em 16,4% no óleo de sardinha e no óleo de soja nem siquer foi registrado;

TABELA 11. Efeito das dietas lipídicas sobre a captação de I^{131} nos ratos normais.

<u>G R U P O</u>	<u>CAPTAÇÃO DE I^{131} (%)</u>
SOJA 12% (n=10)	4,7 $\pm$ 0,9
SOJA 20% (n=10)	7,0 $\pm$ 2,3
SARDINHA 12% (n=10)	4,3 $\pm$ 1,3

$\pm$ indicam o desvio padrão

n = número de animais do grupo

TABELA 12. Estudo estatístico sobre o efeito das dietas lipídicas sobre a captação de I^{131} nos ratos normais.

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>CAPTAÇÃO DE I^{131} (%)</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
B X A	18	2,76 (*)
A X C	18	0,62

(*) significativo a nível de 1% ($p < 0,05$)

G.L. = Grau de Liberdade

TABELA 13. Efeito de dietas lipídicas sobre os níveis séricos de triiodotironina (T_3) nos ratos normais.

<u>G R U P O</u>	<u>TRIIODOTIRONINA (ng%)</u>
SOJA 12% (n=10)	70,0 $\pm$ 12,0
SOJA 20% (n=10)	90,7 $\pm$ 13,3
SARDINHA 12% (n=10)	109,8 $\pm$ 19,1

$\pm$ indicam o desvio padrão

n = número de animais de cada grupo

TABELA 14. Estudo estatístico sobre o efeito de dietas lipídicas sobre os níveis séricos de triiodotironina (T_3) nos ratos normais.

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>NÍVEIS DE T_3</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
B X A	18	3,04 (***)
C X A	18	4,93 (***)

(***) significativo a nível de 0,1% ($p < 0,001$).

G.L. = Grau de Liberdade

TABELA 15. Efeito de dietas lipídicas sobre os níveis séricos de Tiroxina (T_4) nos ratos normais.

<u>G R U P O</u>	<u>TIROXINA (micrograma %)</u>
SOJA 12% (n=10)	4,1 $\pm$ 1,4
SOJA 20% (n=10)	4,8 $\pm$ 1,0
SARDINHA 12% (n=10)	3,1 $\pm$ 0,8

$\pm$ indicam o desvio padrão

n = número de animais de cada grupo

TABELA 16. Estudo estatístico sobre o efeito das dietas lipídicas sobre os níveis séricos de tiroxina (T_4) nos ratos normais.

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>NÍVEIS DE TIROXINA</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
B X A	18	1,00
A X C	18	1,75 (*)

(*) significativo a nível de 5% ($p < 0,05$)

G.L. = Grau de Liberdade

TABELA 17. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI)n-6 totais e AGPI n-3 totais. Relação entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3) dos lipídeos das diferentes dietas.

<u>ÁCIDOS GRAXOS</u>	<u>SOJA</u>	<u>SARDINHA</u>
10:0	0,3	0,9
12:0	0,4	1,6
14:0	0,8	12,5
14:1	1,1	0,7
16:0	16,3	21,9
16:1 n-7	0,6	6,2
18:0	3,5	7,8
18:1 n-9	19,4	20,3
18:2 n-6	50,0	4,7
18:3 n-3	4,8	2,2
20:0	-	0,7
20:1 n-9	0,6	0,9
20:4 n-6	1,1	-
20:5 n-3	-	16,4
22:5 n-6	0,2	-
22:6 n-3	0,4	3,1
AGS Totais	21,3	45,4
AGMI totais	22,2	28,1
AGPI n-6	51,3	7,8
AGPI n-3	5,2	21,7
Relação P/S	2,6	0,6
Relação P/M	2,5	1,0
Relação n-6/n-3	9,8	0,3

*AGPI totais é igual a soma dos AGPI n-6 totais mais AGPI n-3 totais.

- significa que não foi detectado.

- 2) o 18:2 n-6 e o 18:3 n-3 estão aumentados no óleo de soja em 964% e 118% em relação ao óleo de sardinha. Observamos ainda que no óleo de soja existe 1,1% do 20:4 n-6 que no óleo de sardinha não foi registrado;
- 3) a dieta óleo de sardinha apresentou um conteúdo de AGS totais de 113% maior, um conteúdo de AGMI totais de 26,6% maior e um conteúdo de AGPI n-3 de 317% maior que o de óleo de soja. Porém a dieta óleo de soja apresentou um conteúdo de AGPI n-6 558% maior que a da dieta óleo de sardinha.

4.5. ANÁLISE DOS AG DOS LIPÍDEOS SÉRICOS DOS RATOS NORMAIS E TIREOIDECTOMIZADOS TRATADOS COM AS DIETAS: SOJA 12% (A), SOJA 20% (B) E SARDINHA 12% (C).

Observando a Tabela 18, notamos que na dieta A não existem grandes variações nos conteúdos de AGS totais, dos AGMI totais, dos AGPI n-6 totais e dos AGPI n-3 totais dos lipídeos séricos dos animais normais em comparação com os tireoidectomizados, portanto a tireoidectomia não afeta o conteúdo de AG séricos.

Observando a Tabela 19 notamos que os animais tireoidectomizados alimentados com a dieta B apresentam um maior conteúdo percentual (+26%) em relação aos normais de AGS totais, essa variação se deve principalmente ao aumento do 14:0 e do 18:0. No entanto, os animais normais apresentam um maior conteúdo, em relação aos tireoidectomizados dos AGMI totais (+111%), devendo-se esse aumento aos AG: 14:1, 16:1 n-7 e 18:1 n-9; dos AGPI n-6 de 64% a mais, devendo-se esse aumento aos AG: 18:2, 20:3, 20:4, 22:4 e 22:5 n-6 e dos AGPI n-3 de 113% a mais, devendo-se esse aumento aos seguintes AG: 20:3, 20:5 e 22:6 n-3.

Analisando a Tabela 20, notamos que os animais tireoidectomizados em relação aos normais, apresentaram 46,4% a mais de AGS totais e esse aumento se deve principalmente a variação do 14:0 e do 18:0. No entanto os animais normais em relação aos tireoidectomizados apresentaram um maior conteúdo dos AGMI totais (+329%), essa variação se deve principalmente ao aumento dos AG: 11:1, 16:1 n-7, 18:1 n-9; dos AGPI n-6 totais (+104%) e essa variação se deve principalmente ao aumento do ácido linoléico e dos AGPI n-3 (+21%) que deve principalmente ao aumento dos AG: 18:3, 20:5 e 22:6 n-3.

TABELA 18.. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI) n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos do soro de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta soja 12% (A). Relação entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	tr	tr
8:0	0,4	0,1
9:0	0,4	0,1
10:0	0,3	0,2
11:0	0,5	tr
11:1	0,2	0,2
12:0	0,1	0,3
12:1	tr	tr
14:0	35,4	40,3
14:1	0,5	0,8
16:0	16,2	13,8
16:1 n-7	2,0	3,7
16:2 n-7	-	tr
18:0	4,4	4,1
18:1 n-9	13,8	9,5
18:2 n-6	16,0	10,7
18:3 n-3	1,6	2,1
20:3 n-6	0,4	1,5
20:3 n-3	2,1	2,3
20:4 n-6	3,5	7,4
20:5 n-3	0,5	1,2
22:4 n-6	0,4	0,3
22:5 n-6	0,6	0,1
22:5 n-3	tr	tr
22:6 n-3	0,8	0,6
AGS totais	57,9	59,0
AGMI totais	16,5	14,2
AGPI n-6	20,9	19,9
AGPI n-3	5,0	6,2
Relação P/S	0,43	0,44
Relação P/M	1,56	1,83
Relação n-6/n-3	4,18	3,20

tr significa traço

- significa que não foi identificado

AGPI totais* = AGPI n-6 total + AGPI n-3 total

TABELA 19. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos do soro de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta soja 20% (B). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	0,1	0,1
8:0	tr	0,5
9:0	tr	0,3
10:0	1,7	0,1
11:0	0,8	tr
11:1	0,2	0,3
12:0	0,9	0,1
12:1	tr	tr
14:0	44,7	63,4
14:1	1,4	0,5
16:0	11,6	11,0
16:1 n-7	2,2	0,6
16:2 n-7	0,4	0,2
18:0	4,6	5,1
18:1 n-9	6,9	4,1
18:2 n-6	5,7	5,2
18:3 n-3	1,1	1,2
20:3 n-6	1,7	0,2
20:3 n-3	2,6	1,2
20:4 n-6	7,9	4,4
20:5 n-3	0,7	0,3
22:4 n-6	0,7	0,3
22:5 n-6	0,9	0,2
22:5 n-3	tr	tr
22:6 n-3	2,2	0,4
AGS totais	64,1	80,6
AGMI totais	11,6	5,5
AGPI n-6	16,9	10,3
AGPI n-3	6,6	3,1
Relação P/S	0,36	0,16
Relação P/M	2,02	2,43
Relação n-6/n-3	2,56	3,30

tr = traço

AGPI totais* = AGPI n-6 + AGPI n-3

TABELA 20. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI) n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos do soro de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de sardinha 12% (C). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

<u>ÁCIDOS GRAXOS</u>	<u>N</u>	<u>T</u>
6:0	0,1	0,1
8:0	0,1	0,2
9:0	0,1	0,2
10:0	0,3	0,2
11:0	0,1	tr
11:1	0,6	0,2
12:0	0,2	tr
12:1	tr	tr
14:0	34,7	61,4
14:1	0,2	0,6
16:0	14,6	10,0
16:1 n-7	3,1	0,5
16:2 n-7	0,1	tr
18:0	5,2	9,0
18:1 n-9	16,7	3,5
18:2 n-6	9,6	1,7
18:3 n-3	2,7	1,2
20:3 n-6	0,6	tr
20:3 n-3	3,5	4,2
20:4 n-6	4,4	5,1
20:5 n-3	1,2	0,4
22:4 n-6	0,1	0,4
22:5 n-6	0,4	0,2
22:5 n-3	tr	0,4
22:6 n-3	0,6	0,4
AGS totais	55,4	81,1
AGMI totais	20,6	4,8
AGPI n-6	15,1	7,4
AGPI n-3	8,0	6,6
Relação P/S	0,42	0,17
Relação P/M	1,12	2,91
Relação n-6/n-3	1,89	1,12

tr = traço

AGPI totais* = AGPI n-6 + AGPI n-3

2.6. ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DOS AG DOS LIPÍDEOS MITOCONDRIAIS DO FÍGADO DOS RATOS NORMAIS E TIREOIDECTOMIZADOS TRATADOS COM AS DIETAS: SOJA 12% (A), SOJA 20% (B) e SARDINHA 12% (C).

Observando a Tabela 21, notamos que os animais tireoidectomizados da dieta A apresentaram em relação aos normais um maior conteúdo percentual dos AGPI n-6 totais (+43%), devendo-se essa variação principalmente ao aumento do ácido araquidônico e dos AGPI n-3 totais (+106%), devendo-se essa variação ao aumento dos AG: 20:3, 20:5 e do 22:6 n-3. Os animais normais entretanto, apresentam maior conteúdo em relação aos tireoidectomizados dos AGS totais (+19%), devendo-se esse aumento aos AG: 14:0 e 18:0 e dos AGMI totais (+73%), devendo-se esse aumento ao 16:1 n-7 e 18:1 n-9.

Observando a Tabela 22, notamos que os animais tireoidectomizados da dieta B apresentaram em relação aos normais um maior conteúdo percentual de AGS totais (+47%), devendo-se esse aumento, principalmente a variação do 14:0. Já os animais normais apresentaram um maior conteúdo percentual em relação aos tireoidectomizados dos AGMI totais (+616%), devendo-se esse aumento a variação dos seguintes AG: 16:1 n-7 e 18:1 n-9 e dos AGPI n-6 totais (+37%), devendo-se esse aumento ao ácido linolêico. Quanto aos AGPI n-3, tanto os normais como os tireoidectomizados apresentaram composição percentual similares, todavia, observamos que ocorreu nos animais tireoidectomizados um aumento da incorporação do 20:3 e do 20:5 e uma diminuição do 22:6, todos da série n-3, em relação aos normais.

Analisando a Tabela 23 notamos que os animais tireoidectomizados da dieta C apresentaram em relação aos normais um maior conteúdo percentual dos AGMI totais (+368%), devendo-se esse aumento a variação dos AG: 16:1 n-7 e 18:1 n-9; dos AGPI n-6 totais (+200%), devendo-se esse aumento a variação dos seguintes AG: 18:2, 20:3, 20:4, 22:4, 22:5 e 24:4 n-6 e dos AGPI n-3 totais (+173%), devendo-se essa variação ao aumento dos seguintes AG: 20:3, 20:5, 22:5 e 24:6 n-3. Já os animais normais apresentaram um maior conteúdo dos AGS totais (+86%) em relação aos tireoidectomizados, devendo-se esse aumento, principalmente devido a variação do 14:0.

TABELA 21. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI)n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos mitocondriais do fígado de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de soja 12% (A). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	0,4	0,2
8:0	0,5	0,4
9:0	0,5	0,3
10:0	0,6	0,7
11:0	0,4	0,3
11:1	0,4	0,4
12:0	0,4	0,3
12:1	0,6	0,2
14:0	17,0	13,4
14:1	0,3	0,6
16:0	18,2	16,9
16:1 n-7	2,8	1,3
16:2 n-7	0,6	0,3
18:0	14,8	11,8
18:1 n-9	16,3	9,3
18:2 n-6	14,8	14,0
18:3 n-3	1,4	1,3
20:3 n-6	0,6	2,3
20:3 n-3	2,3	7,0
20:4 n-6	7,3	14,0
20:5 n-3	0,4	1,0
22:4 n-6	0,1	0,5
22:5 n-6	0,1	1,3
22:5 n-3	0,2	-
22:6 n-3	0,4	1,0
24:4 n-6	0,2	1,0
24:6 n-3	0,3	tr
AGS totais	52,8	44,3
AGMI totais	20,4	11,8
AGPI n-6 totais	23,1	33,1
AGPI n-3 totais	5,0	10,3
Relação P/S	0,52	0,98
Relação P/M	1,37	3,68
Relação n-6/n-3	4,62	3,21

tr = traço

- = não foi detectado

AGPI totais* = AGPI n-6 + AGPI n-3

TABELA 22. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI)n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos mitocondriais do fígado de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de soja 20% (B). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	tr	0,1
8:0	0,1	0,1
9:0	tr	0,3
10:0	0,2	0,1
11:0	0,3	0,1
11:1	0,3	tr
12:0	0,7	0,1
12:1	0,6	0,1
14:0	19,8	52,6
14:1	0,9	0,6
16:0	19,8	13,6
16:1 n-7	2,9	0,4
16:2 n-7	tr	0,2
18:0	8,6	6,1
18:1 n-9	17,5	2,0
18:2 n-6	10,9	2,4
18:3 n-3	1,7	1,4
20:3 n-6	0,3	0,6
20:3 n-3	5,6	8,4
20:4 n-6	4,6	8,4
20:5 n-3	0,1	0,3
22:4 n-6	0,1	0,3
22:5 n-6	0,2	0,2
22:5 n-3	0,3	0,2
22:6 n-3	3,6	0,6
24:4 n-6	0,3	0,1
24:6 n-3	0,4	0,5
AGS totais	49,5	73,0
AGMI totais	22,2	3,1
AGPI n-6 totais	16,4	12,0
AGPI n-3 totais	11,7	11,4
Relação P/S	0,57	0,32
Relação P/M	1,27	7,55
Relação n-6/n-3	1,40	1,06

tr = traço;

AGPI totais* = AGPI n-6 totais + AGPI n-3 totais.

TABELA 23. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI) n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos mitocondriais do fígado de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de sardinha 12% (C). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	0,2	0,4
8:0	0,1	0,2
9:0	0,4	0,1
10:0	0,3	0,2
11:0	tr	tr
11:1	0,1	tr
12:0	0,6	tr
12:1	0,2	tr
14:0	62,4	6,5
14:1	0,4	0,3
16:0	13,0	18,3
16:1 n-7	0,7	1,7
16:2 n-7	tr	0,3
18:0	4,8	18,3
18:1 n-9	2,4	13,9
18:2 n-6	2,3	4,6
18:3 n-3	0,8	1,0
20:3 n-6	tr	tr
20:3 n-3	3,8	6,2
20:4 n-6	tr	0,6
20:5 n-3	5,2	9,0
22:4 n-6	0,1	0,4
22:5 n-6	0,1	1,3
22:5 n-3	0,3	4,1
22:6 n-3	0,2	0,3
24:4 n-6	0,3	0,8
24:6 n-3	1,0	10,3
AGS totais	81,8	44,0
AGMI totais	3,4	15,9
AGPI n-6 totais	2,8	8,4
AGPI n-3 totais	11,3	30,9
Relação P/S	0,17	0,89
Relação P/M	4,15	2,47
Relação n-6/n-3	0,25	0,27

tr = traço;

AGPI totais* = AGPI n-6 totais + AGPI n-3 totais

4.7. ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS LIPÍDEOS MITOCONDRIAIS DO ENCEFALO DOS RATOS NORMAIS E TIREOIDECTOMIZADOS TRATADOS COM AS DIETAS. SOJA 12% (A), SOJA 20% (B) E SARDINHA 12% (C).

Observando a Tabela 24 notamos que com relação aos AGS totais e AGPI n-3 totais, tanto os animais normais como os tireoidectomizados da dieta A apresentaram composição percentual similares; todavia, a tireoidectomia causou um aumento (+189%) do ácido graxo 22:6 n-3 nessa dieta. Com relação aos AGPI n-6 totais, os animais tireoidectomizados apresentaram um maior conteúdo percentual em relação aos normais (+56%), devido a variação dos seguintes AG: 18:2 e 22:4. Já os animais normais apresentaram um maior conteúdo percentual dos AGMI totais em relação aos tireoidectomizados (+49%), devendo-se esse aumento a variação dos AG: 16:1 n-7 e 18:1 n-9.

Na tabela 25 notamos que o conteúdo de AGS totais e de AGMI totais, dos animais normais e tireoidectomizados da dieta B, são similares. Nessa dieta, embora o conteúdo dos AGPI n-6 totais seja também similar, a tireoidectomia aumentou em 255% o ácido linoléico, mas diminuiu em 567% o 22:5. No entanto, os ratos tireoidectomizados apresentaram um conteúdo de AGPI n-3 totais (-61%) que os normais devido principalmente a diminuição do 22:6 de 436%, embora o ácido linolênico tenha aumentando de 144%.

Observando a Tabela 26 notamos que os animais normais e tireoidectomizados apresentaram composição similares no conteúdo percentual dos AGS totais, AGMI totais, AGPI n-6 totais e dos AGPI n-3 totais. No entanto, notamos que a tireoidectomia causou um pequeno aumento do ácido araquidônico a custa de uma diminuição do ácido linoléico.

4.8. COMPOSIÇÃO DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS

Analisando os dados expostos nas Tabelas 18 a 26 pudemos comparar os níveis dos principais ácidos graxos dos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos dos ratos normais e tireoidectomizados nas diferentes dietas lipídicas.

TABELA 24. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI)n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos mitocondriais do encéfalo de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de soja 12% (A). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S); entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	0,1	0,2
8:0	0,1	tr
10:0	0,2	0,1
11:0	0,1	tr
11:1	tr	tr
12:0	0,3	0,4
12:1	tr	0,2
14:0	22,6	24,8
14:1	0,5	1,5
16:0	21,2	14,9
16:1 n-7	1,5	0,7
16:2 n-7	tr	0,4
18:0	7,9	11,2
18:1 n-9	21,2	13,1
18:2 n-6	7,9	14,4
18:3 n-3	2,8	2,5
20:1	0,2	0,2
20:3 n-9	0,9	0,6
20:3 n-6	0,9	0,2
20:3 n-3	3,3	3,1
20:4 n-6	4,4	5,0
20:5 n-3	1,5	0,4
22:4 n-6	0,2	0,9
22:5 n-6	0,9	0,4
22:5 n-3	tr	tr
22:6 n-3	0,9	2,6
24:0	tr	tr
AGS totais	52,5	51,6
AGMI totais	23,4	15,7
AGPI n-6 totais	13,4	20,9
AGPI n-3 totais	8,5	8,6
Relação P/S	0,42	0,57
Relação P/M	0,94	1,88
Relação n-6/n-3	1,58	2,43

tr = traço;

AGPI totais* = AGPI n-6 totais + AGPI n-3 totais

TABELA 25. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI) n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos mitocondriais do encéfalo de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de soja 20% (B). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S), entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

ÁCIDOS GRAXOS	N	T
6:0	tr	tr
8:0	tr	tr
10:0	tr	tr
11:0	tr	tr
11:1	tr	tr
12:0	1,2	tr
12:1	0,1	tr
14:0	13,1	11,9
14:1	0,9	0,4
16:0	20,2	26,5
16:1 n-7	1,7	1,8
16:2 n-7	0,8	0,5
18:0	10,0	6,0
18:1 n-9	19,5	23,3
18:2 n-6	4,7	16,7
18:3 n-3	0,9	2,2
20:1	-	-
20:3 n-9	0,4	1,0
20:3 n-6	1,3	0,5
20:3 n-3	3,3	3,1
20:4 n-6	3,7	3,1
20:5 n-3	0,4	0,1
22:4 n-6	1,4	0,6
22:5 n-6	10,0	1,5
22:5 n-3	tr	tr
22:6 n-3	5,9	1,1
24:0	tr	tr
AGS totais	44,5	44,4
AGMI totais	22,2	25,5
AGPI n-6 totais	21,1	22,4
AGPI n-3 totais	10,5	6,5
Relação P/S	0,70	0,65
Relação P/M	1,42	1,13
Relação n-6/n-3	2,01	3,44

tr = traço; - = não foi detectado;

AGPI totais* = AGPI n-6 totais + AGPI n-3 totais

TABELA 26. Composição percentual dos ácidos graxos (AG) e dos AG saturados (AGS) totais, AG monoinsaturados (AGMI) totais, AG poliinsaturados (AGPI) n-6 totais e AGPI n-3 totais dos lipídeos mitocondriais do encéfalo de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com a dieta óleo de sardinha 12% (C). Relações entre AGPI totais* e AGS totais (P/S) entre AGPI totais* e AGMI totais (P/M) e entre os AGPI n-6 totais e AGPI n-3 totais (n-6/n-3).

<u>ÁCIDOS GRAXOS</u>	<u>N</u>	<u>T</u>
6:0	tr	0,7
8:0	tr	0,3
10:0	tr	0,4
11:0	tr	0,1
11:1	tr	0,6
12:0	tr	1,2
12:1	tr	0,3
14:0	17,3	10,7
14:1	2,3	0,9
16:0	22,2	20,9
16:1 n-7	2,7	1,8
16:2 n-7	0,5	0,4
18:0	12,5	15,1
18:1 n-9	15,5	18,2
18:2 n-6	5,4	3,2
18:3 n-3	1,1	1,8
20:1	0,3	tr
20:3 n-9	0,4	tr
20:3 n-6	1,6	1,8
20:3 n-3	5,0	3,6
20:4 n-6	4,0	6,3
20:5 n-3	0,8	1,1
22:4 n-6	0,5	0,6
22:5 n-6	tr	tr
22:5 n-3	3,6	5,4
22:6 n-3	3,3	2,1
24:0	tr	tr
AGS totais	52,0	49,4
AGMI totais	20,8	22,8
AGPI n-6 totais	11,5	11,9
AGPI n-3 totais	13,8	14,0
Relação P/S	0,49	0,52
Relação P/M	1,22	1,14
Relação n-6/n-3	0,83	0,85

tr = traço;

AGPI totais* = AGPI n-6 totais + AGPI n-3 totais

1) Ácido mirístico (14:0) - De um modo geral encontramos uma maior incorporação desse AG nos lipídeos séricos do que nos mitocôndriais hepáticos e encefálicos das três dietas estudadas, com exceção da de fígado dos animais da dieta óleo de sardinha 12%. A tireoidectomia tende a aumentar essa incorporação nos lipídeos séricos dos três grupos dietários, nos lipídeos mitocôndriais hepáticos da dieta B e dos mitocôndriais encefálicos da dieta A. Por outro lado, a tireoidectomia diminui um pouco a incorporação do 14:0 nos lipídeos hepáticos da dieta A, porém diminui extensivamente nos da dieta C (-709%) como observamos pela Figura 1.

2) Ácido palmítico (16:0) - Notamos que o encéfalo apresentou concentrações maiores desse AG, embora os valores no soro e no fígado sejam relativamente próximos aos do encéfalo. De um modo geral a tireoidectomia causou uma pequena diminuição do 16:0 com exceção dos lipídeos hepáticos da dieta C e dos encefálicos da dieta B onde observamos um aumento desse AG (Figura 2).

3) Ácido esteárico (18:0) - O conteúdo do ácido esteárico dos lipídeos das mitocôndrias hepáticas e encefálicas são maiores do que dos séricos (Figura 3). A tireoidectomia não causou grandes alterações nas concentrações do 18:0 em relação aos respectivos controles, com exceção dos lipídeos mitocôndriais hepáticos, da dieta C, que causou um aumento (+281%) em relação ao conteúdo desse AG nos ratos normais (Figura 3).

4) Ácido oléico (18:1 n-9) - A Figura 4 mostra que o tecido mais rico em 18:1 é o encefálico particularmente, quando os ratos normais eram alimentados com a dieta A. A tireoidectomia causou diferentes efeitos sobre a incorporação desse AG nos lipídeos séricos ou das mitocôndrias estudadas em relação a cada uma das três dietas estudadas. As principais alterações causadas pela tireoidectomia ocorreram com os lipídeos séricos de ratos do grupo dietário C (-377%) em relação aos normais e com os lipídeos hepáticos de ratos do grupo dietário B (-479%) em relação aos normais.

FIGURA 1. Composição percentual do ácido mirístico (14:0) de lipídeos séricos e mitocondriais do fígado e encéfalo de ratos normais (□) e tireoidectomizados (■) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

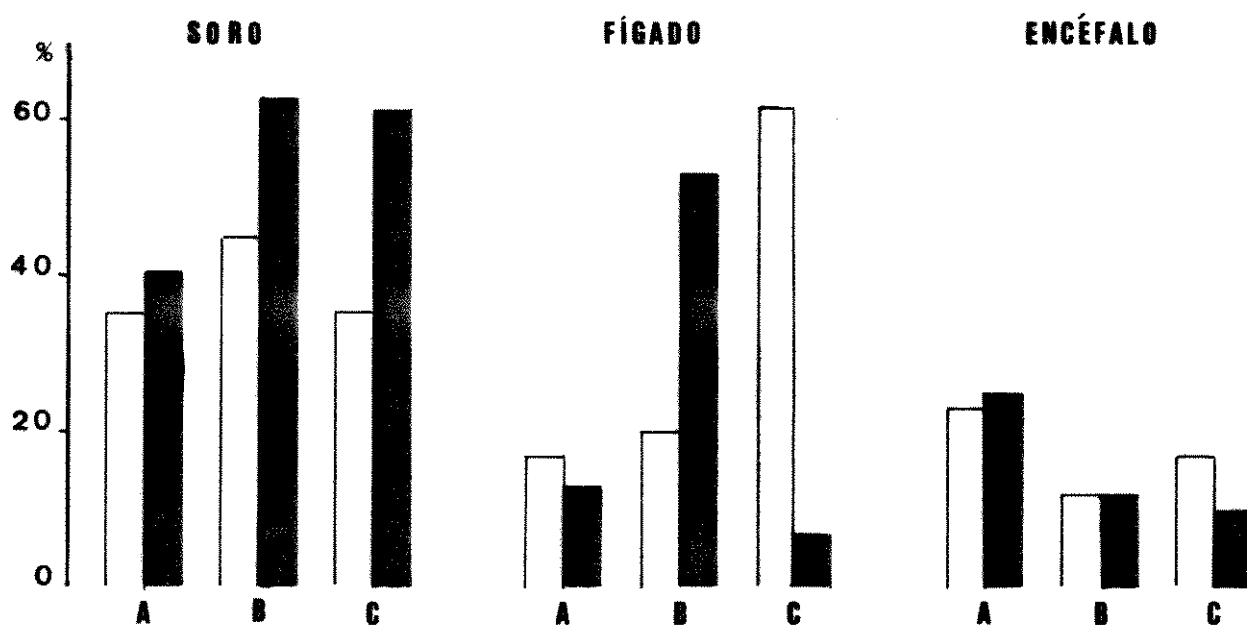


FIGURA 2. Composição percentual do ácido palmítico (16:0) de lipídeos séricos e mitocondriais do fígado e encéfalo de ratos normais (☐) e tireoidectomizados (☒) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

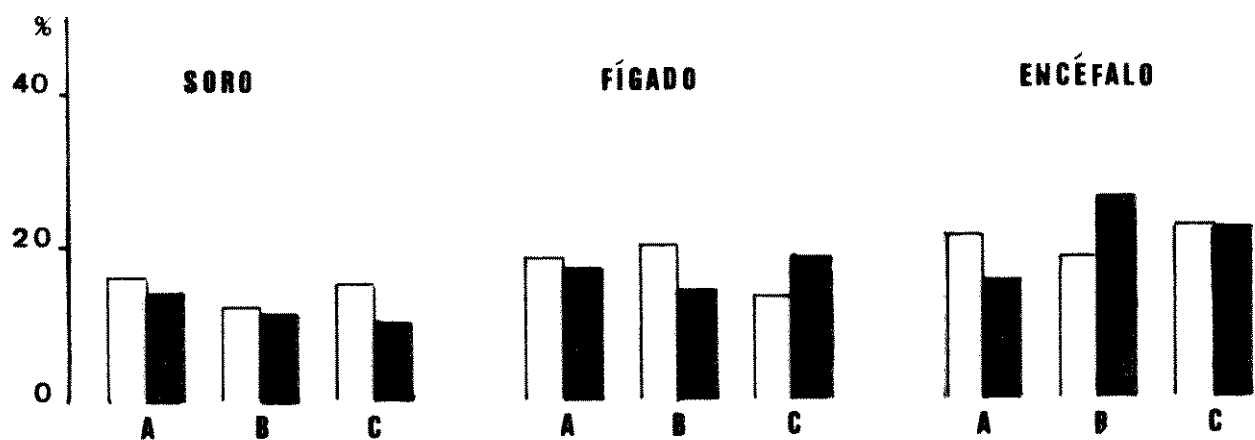


FIGURA 3. Composição percentual do ácido esteárico (18:0) de lipídeos séricos e mitocondriais do fígado e encéfalo de ratos normais (□) e tireoidectomizados (■) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

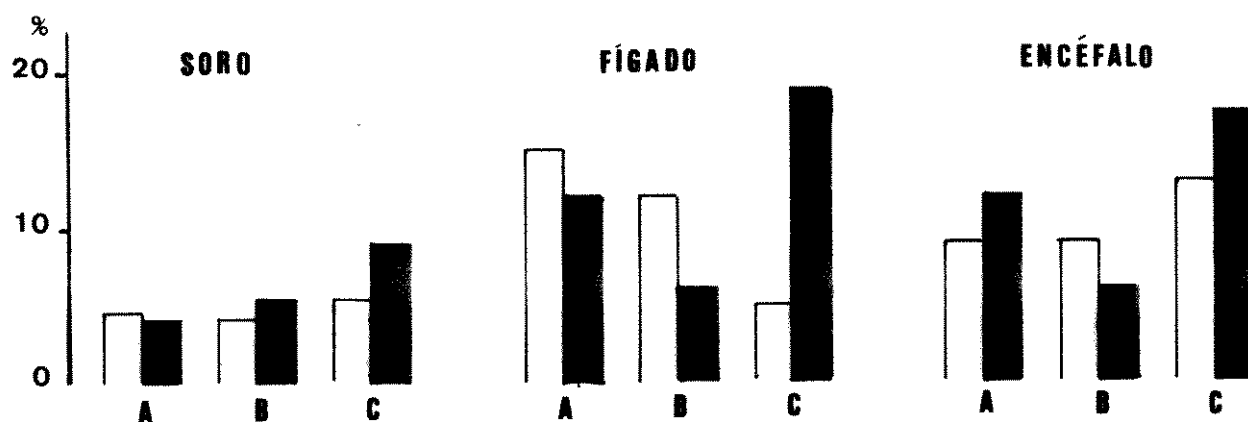
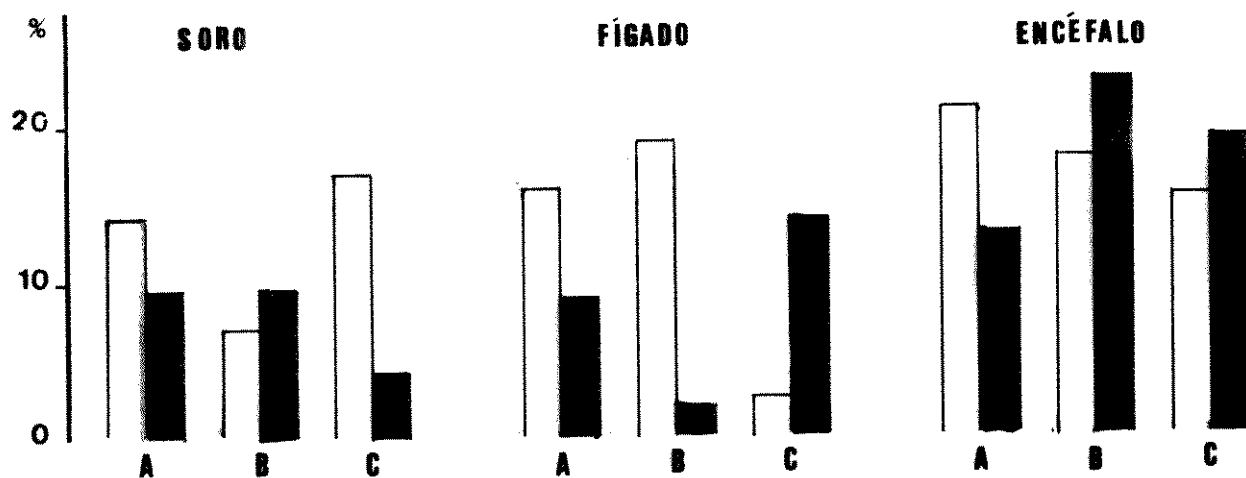


FIGURA 4. Composição percentual do ácido oléico (18:1 n-9) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais ($\square$) e tireoidec_otomizados ($\blacksquare$) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).



5) Ácido linolêico (18:2 n-6) - A Figura 5 mostra que para os ratos normais a dieta A favoreceu uma maior incorporação desse AG nos lipídeos séricos e nos mitocondriais também, em relação as dietas B e C. A tireoidectomia causou um decréscimo discreto na incorporação do 18:2 n-6 nos lipídeos séricos das dietas A e B, nos das mitocôndrias hepáticas da dieta A, porém causou uma grande diminuição nos lipídeos séricos da dieta C e nos ~~mitocon~~ mitocondriais hepáticos da dieta B. Por outro lado a tireoidectomia causou um grande aumento na incorporação desse ácido graxo nos lipídeos mitocondriais da dieta C e nos encefálicos das dietas A e B.

6) Ácido linolênico (18:3 n-3) - A Figura 6 mostra que para os ratos normais favoreceu uma maior incorporação desse AG nos lipídeos séricos na dieta C em relação aos dos grupos dietários A e B; nos lipídeos mitocondriais hepáticos a dieta B foi a que mais favoreceu a incorporação desse AG em relação as dietas A e C e nos encefálicos foi a dieta A que mais favoreceu a incorporação do ácido linolênico em relação as dietas B e C. A tireoidectomia causou uma acentuada diminuição no conteúdo desse AG nos lipídeos séricos do grupo dietário C, enquanto que causou um grande aumento nos lipídeos mitocondriais encefálicos das dietas B e C.

7) Ácido eicosatrienóico (20:3 n-3) - Observamos na Figura 7 variações no conteúdo desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais em relação a cada dieta estudada. A tireoidectomia causou um aumento na incorporação do 20:3 n-3 nos lipídeos de mitocôndrias hepáticas dos três grupos dietários, mas de um modo geral não causou grandes alterações nos outros tipos de lipídeos estudados, com exceção da diminuição causada pela tireoidectomia da incorporação desse AG nos lipídeos séricos da dieta B.

8) Ácido araquidônico (20:4 n-6) - A Figura 8 mostra que a maior incorporação desse AG se deu nos lipídeos séricos da dieta B. A tireoidectomia aumentou muito a incorporação desse AG nos lipídeos séricos da dieta A e das mitocôndrias hepáticas das três dietas, particularmente, das mitocôndrias encefálicas da dieta C.

FIGURA 5. Composição percentual do ácido linolêico (18:2 n-6) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (□) e tireoidectomizados (■) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

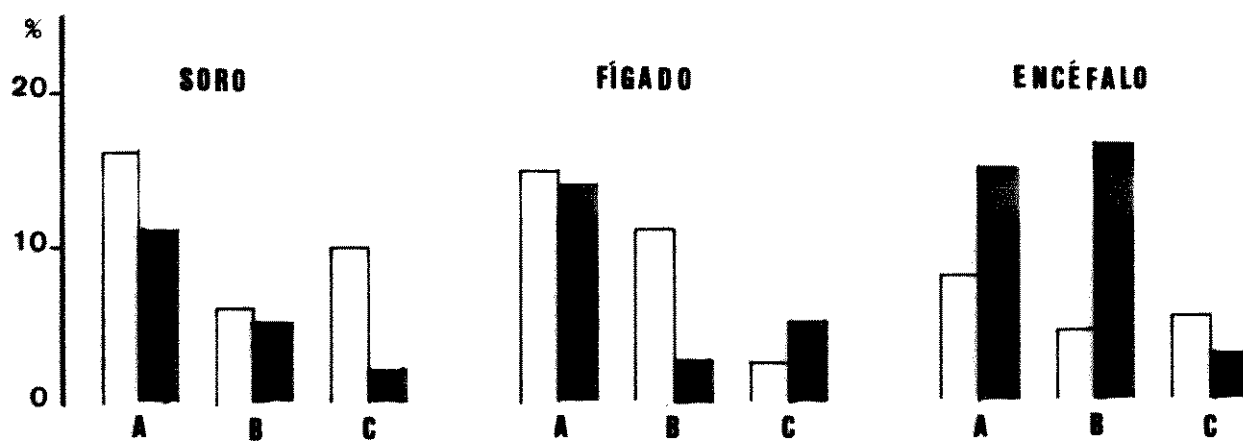


FIGURA 6. Composição percentual do ácido linolênico (18:3 n-3) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (☐) e tireoidectomizados (☒) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

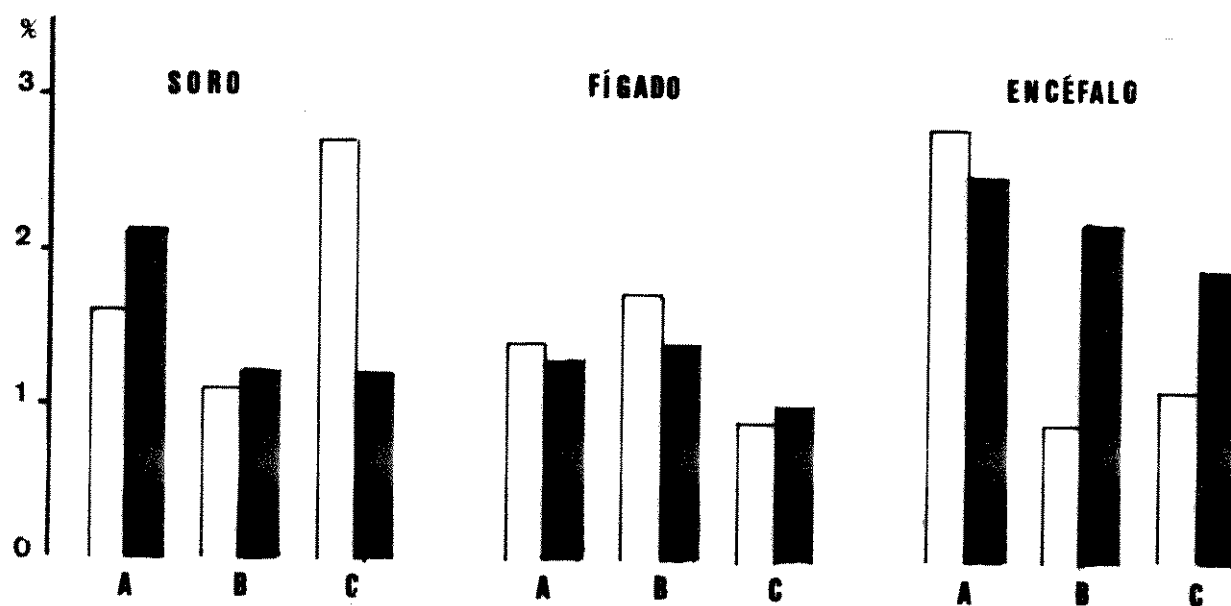


FIGURA 7. Composição percentual do ácido 11,14,17-eicosatrienóico (20:3 n-3) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (☐) e tireoidectomizados (☒) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

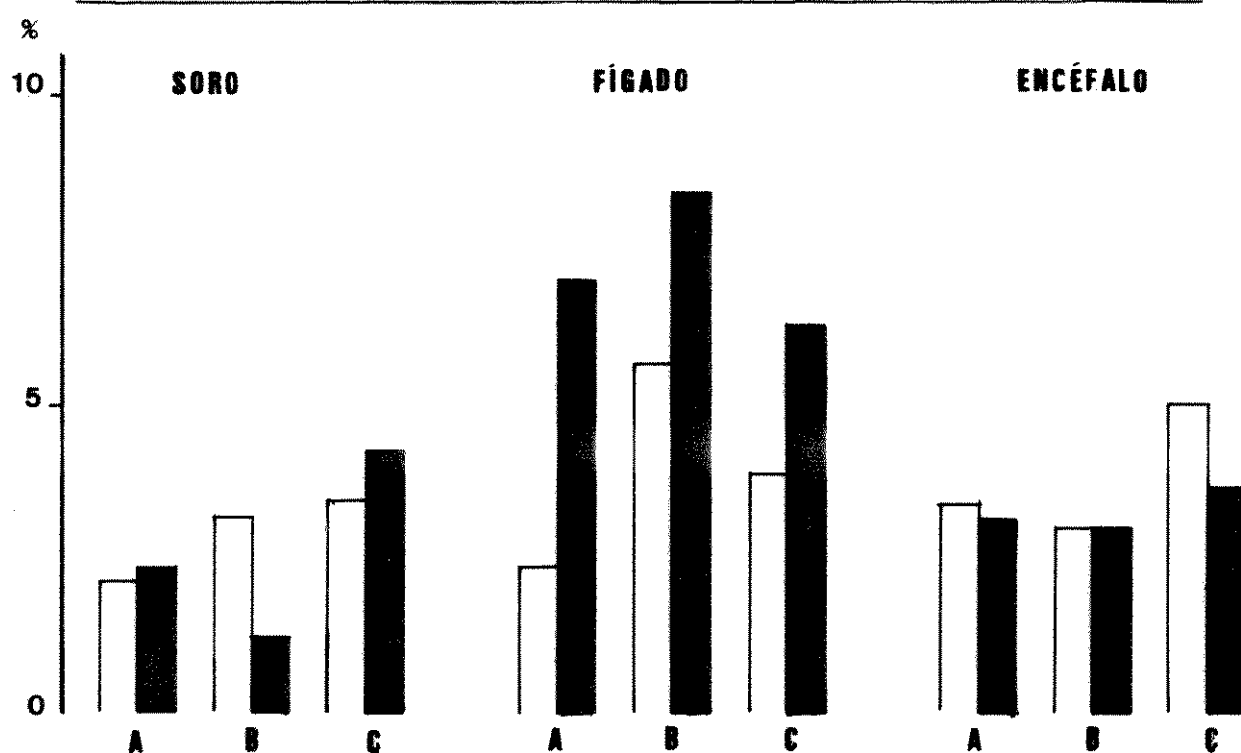
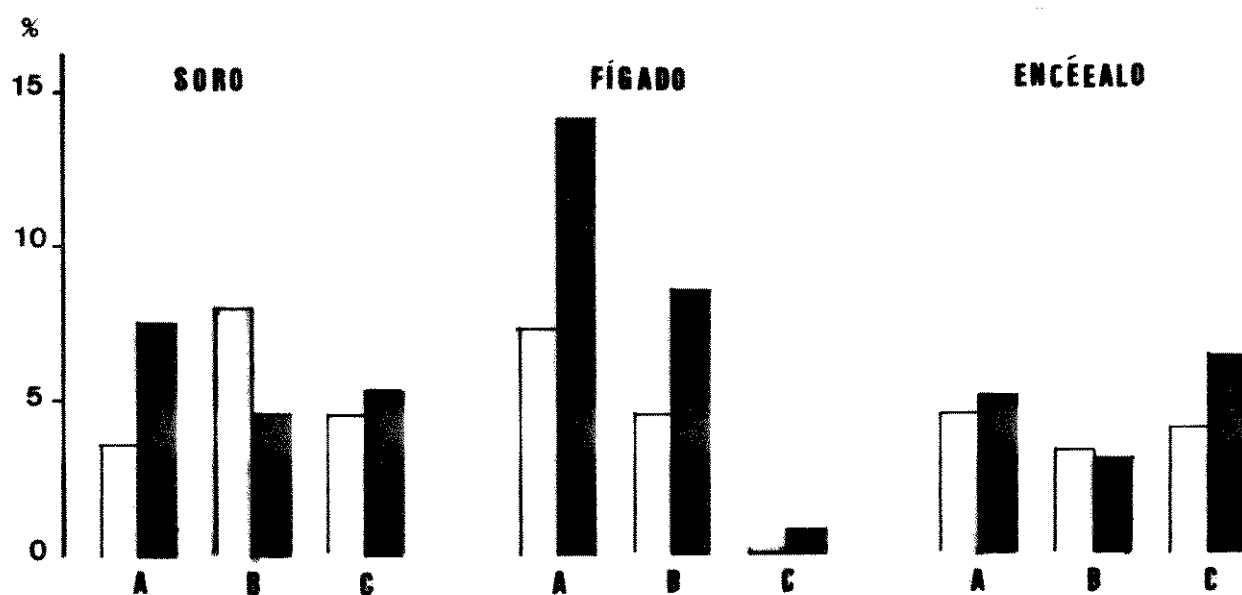


FIGURA 8. Composição percentual do ácido araquidônico (20:4 n-6) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (□) e tireoidectomizados (■) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).



9) Ácido eicosapentaenóico (20:5 n-3) - A Figura 9 mostra que de um modo geral o conteúdo desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos nas dietas A e B é relativamente baixo, porém aumenta de maneira expressiva nos lipídeos mitocondriais hepáticos da dieta C dos ratos normais em relação as dietas A e B. Nos ratos normais encontramos maior conteúdo desse AG nos lipídeos mitocondriais encefálicos. A tireoidectomia causou um aumento na incorporação do 20:5 n-3 dos lipídeos séricos da dieta A e das mitocôndrias hepáticas das três dietas e nos do encéfalo da dieta C. Todavia a tireoidectomia causou uma diminuição no conteúdo dos lipídeos séricos das dietas B e C e no das mitocôndrias encefálicas das dietas A e B.

10) Ácido docosatetraenóico (22:4 n-6) - A Figura 10 mostra que a dieta B estimula a incorporação desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos dos ratos normais em comparação com os grupos dietários A e C. A tireoidectomia aumenta muito o conteúdo do 22:4 n-6 dos lipídeos séricos apenas da dieta C e das mitocôndrias hepáticas das três dietas e das mitocôndrias encefálicas da dieta A e discretamente da dieta C. Todavia a tireoidectomia causou uma diminuição na incorporação desse AG nos lipídeos séricos das dietas A e B e no das mitocôndrias encefálicas da dieta B.

11) Ácido docosapentaenóico (22:5 n-6) - A Figura 11 mostra que para os ratos normais o conteúdo desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais apresentou-se relativamente baixo em relação aos outros AG, em todos os grupos dietários, com exceção dos lipídeos mitocondriais encefálicos de ratos normais da dieta B que apresentaram um conteúdo muitas vezes maior que os de outras origens. A tireoidectomia diminui o conteúdo do 22:5 n-6 nos lipídeos séricos das três dietas e dos mitocondriais encefálicos da dieta A, mas aumentou a incorporação desse AG nos lipídeos mitocondriais hepáticos das dietas A e C.

FIGURA 9. Composição percentual do ácido eicosapentaenóico (20:5 n-3) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (☐) e tireoidectomizados (☒) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

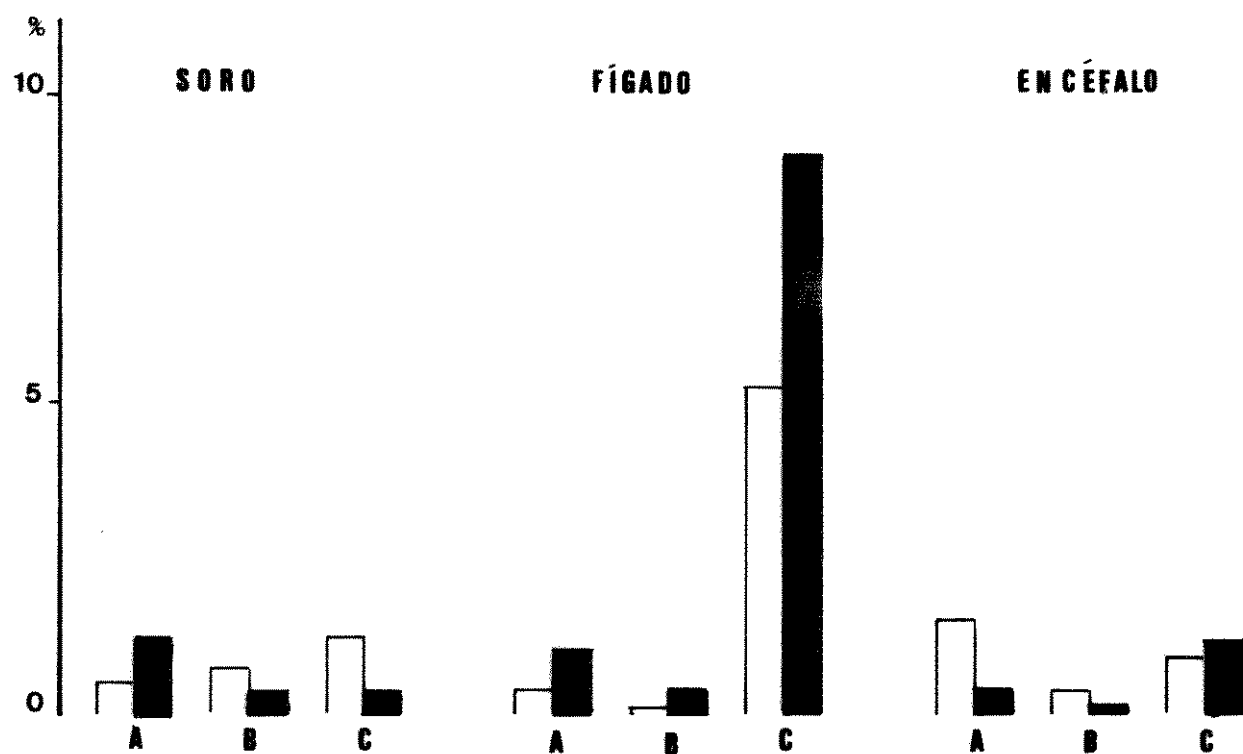


FIGURA 10. Composição percentual do ácido docosatetraenóico (22:4 n-6) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (☐) e tireoidectomizados (☒) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

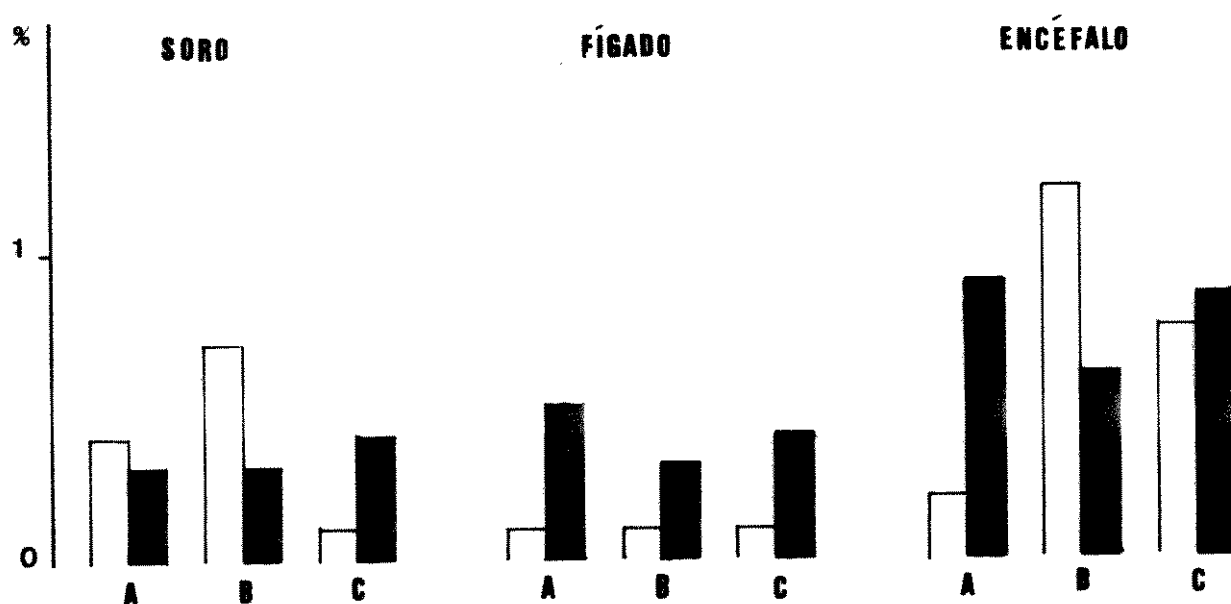
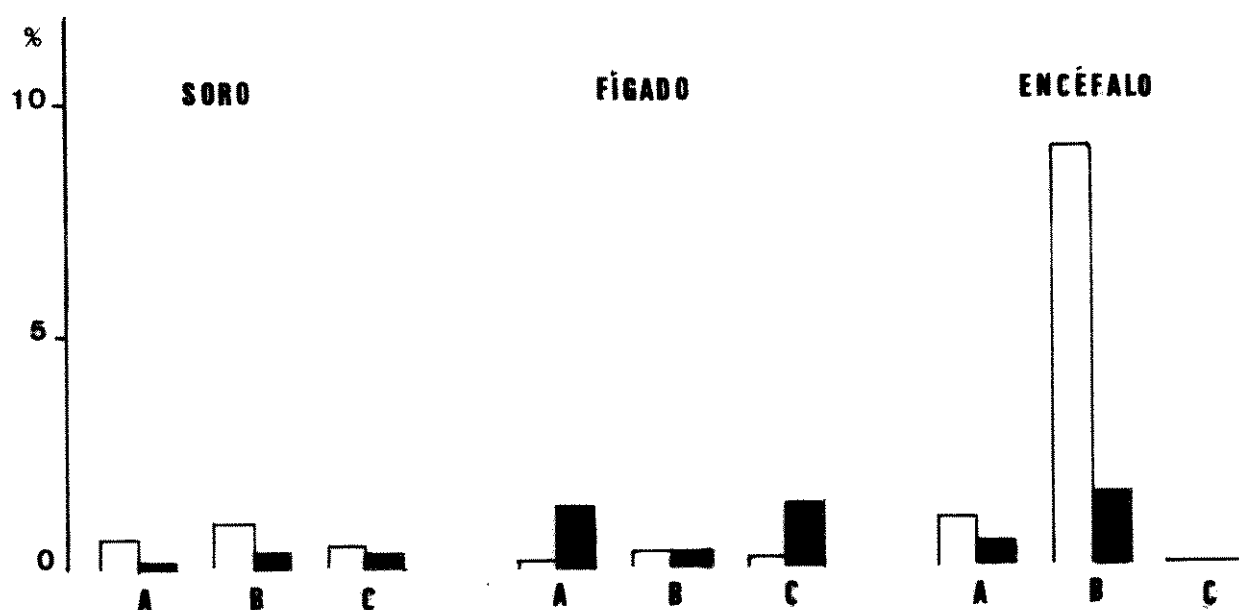


FIGURA 11. Composição percentual do ácido docosapentaenóico (22:5 n-6) dos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (□) e tireoidectomizados (■) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).



12) Ácido docosapentaenóico (22:5 n-3) - A Figura 12 mostra que de um modo geral para os ratos normais é muito pequeno o conteúdo desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais das três dietas, com uma importante exceção, pois é relativamente alto o conteúdo desse AG nos lipídeos mitocondriais encefálicos da dieta C. A tireoidectomia estimulou muito a incorporação desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos dos ratos do grupo dietário C.

13) Ácido docosahexaenóico (22:6 n-3) - A Figura 13 mostra que para os ratos normais a dieta B estimulou uma maior incorporação desse AG nos lipídeos séricos e mitocondriais em relação as dietas A e C. A tireoidectomia aumentou a incorporação do 22:6 n-3 nos lipídeos mitocondriais hepáticos e encefálicos da dieta A mas diminui as dos lipídeos séricos das três dietas e dos mitocondriais hepáticas e encefálicas das dietas B e C.

4.9. ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE OS AGS TOTAIS, AGMI TOTAIS, AGPI n-6 TOTAIS, AGPI n-3 TOTAIS NOS DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTAIS.

O conteúdo de AGS totais dos lipídeos séricos dos ratos normais não se altera muito em função das dietas e a tireoidectomia tende a aumentá-lo principalmente nas dietas B e C (Figura 14). O conteúdo dos AGS totais das mitocôndrias hepáticas dos ratos normais dos grupos dietários A e B é similar mas menor do que o da dieta C. A tireoidectomia aumenta o conteúdo de AGS totais na dieta B e diminui na dieta C e não afeta muito no grupo dietário A (Figura 14). Quanto ao conteúdo de AGS dos lipídeos mitocondriais encefálicos nossos resultados mostram que nem pelas diferentes dietas, nem pela tireoidectomia o mesmo não é afetado.

A Figura 15 mostra que para os ratos normais o conteúdo de AGMI totais dos lipídeos séricos é maior na dieta C do que nas A e B e que a tireoidectomia tende a diminuí-lo nas três dietas, principalmente na dieta C. Nos lipídeos mitocondriais hepáticos dos ratos normais os conteúdos de AGMI totais das dietas A e B são similares e muito maiores do que os da dieta C, po-

FIGURA 12. Composição percentual do ácido docosapentaenóico (22:5 n-3) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (☐) e tireoidectomizados (☒) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

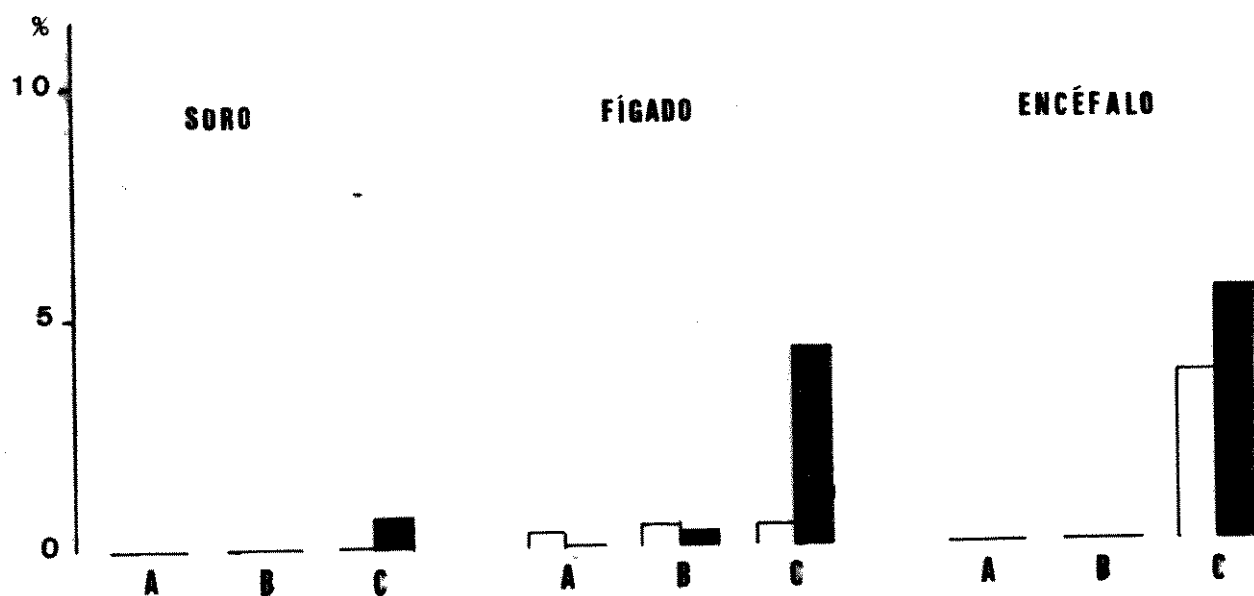


FIGURA 13. Composição percentual do ácido docosahexanóico (22:6 n-3) de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (□) e tireoidectomizados (■) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

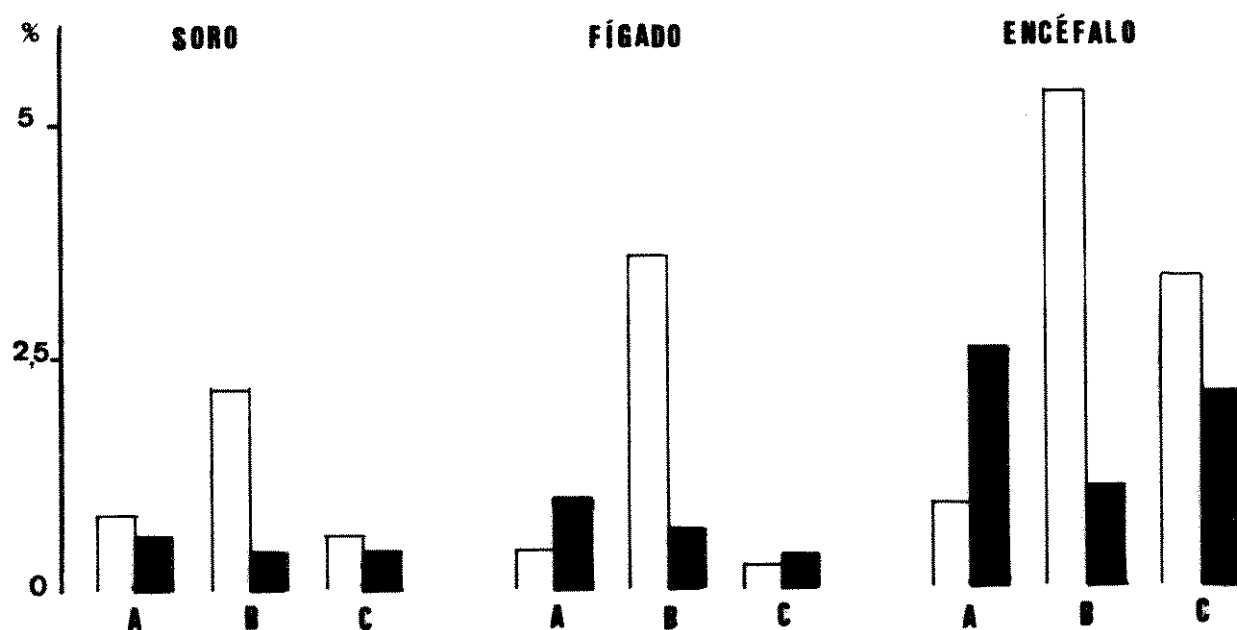


FIGURA 14. Composição entre os conteúdos de AGS totais dos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normis (☐) e tireodecmizados (☒) de ratos tratados com as dietas óleo de soja 12% (A) , óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C) .

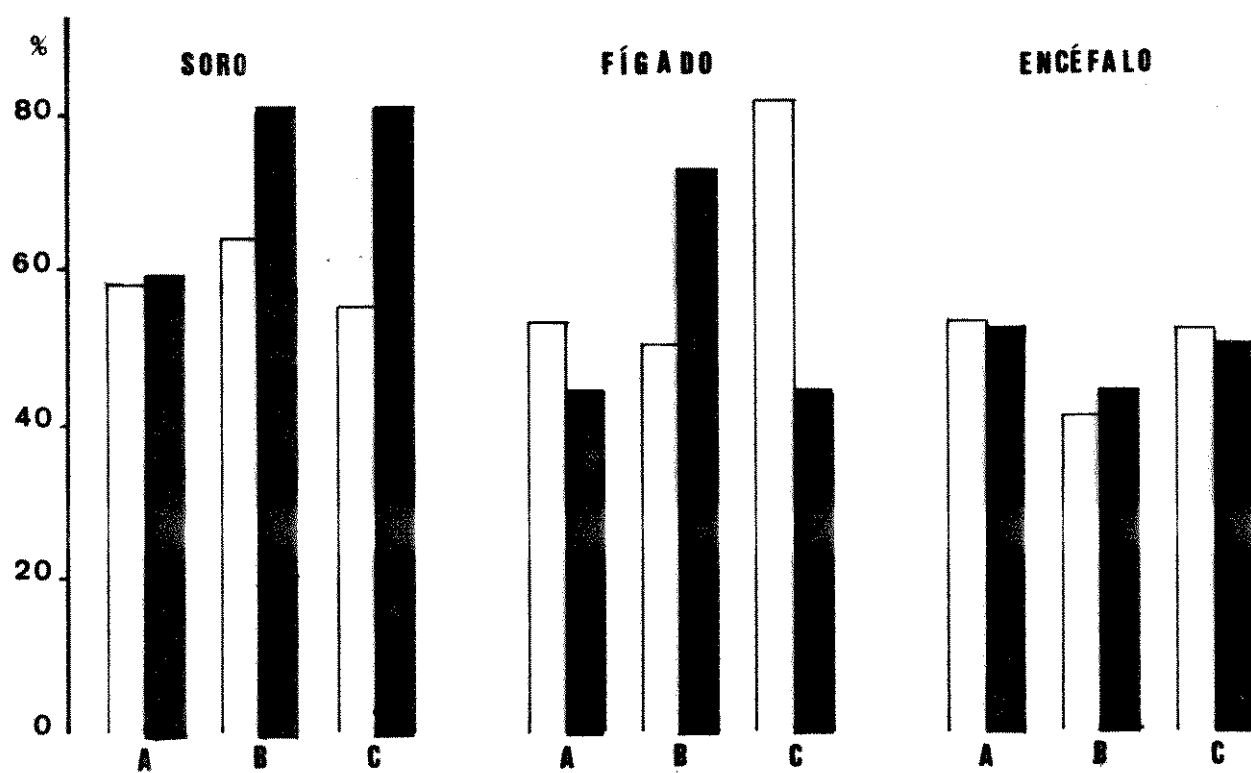
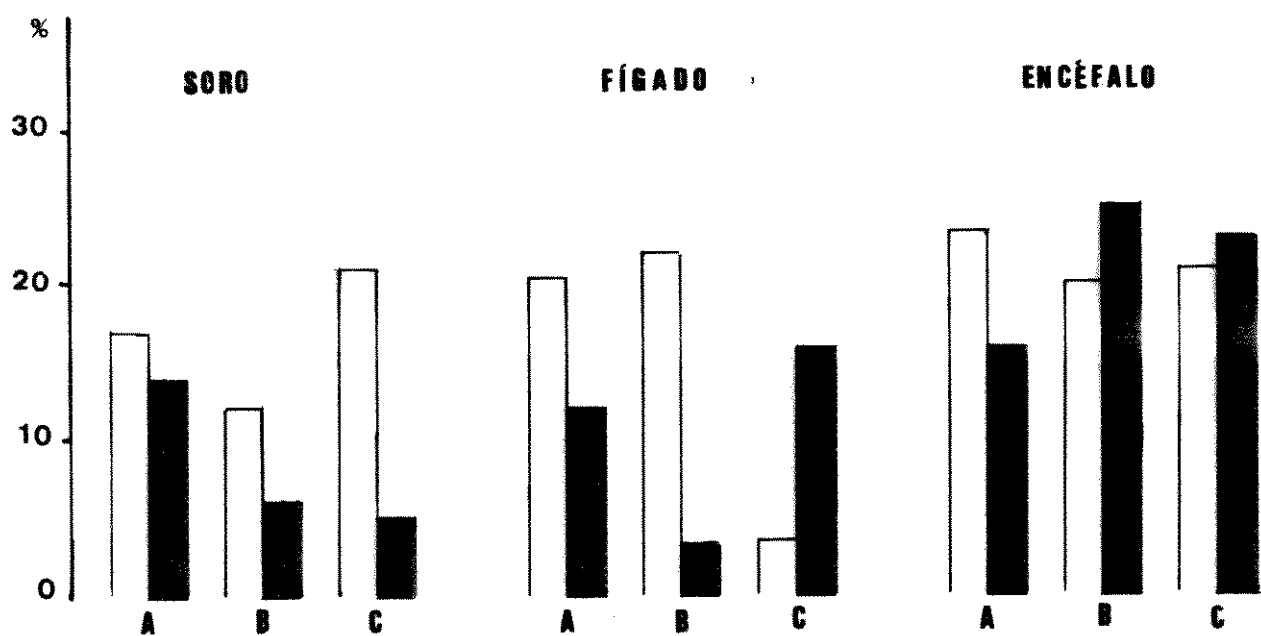


FIGURA 15. Comparação entre os conteúdos de AGMI totais dos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (□) e tireodectomizados (■) tratados com as dietas óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).



rêm, a tireoidectomia diminui os AGMI totais nas dietas A e B mas aumenta muito na dieta C. Para os lipídeos mitocondriais encefálicos o conteúdo dos AGMI totais não varia muito nas três dietas para os ratos normais e a tireoidectomia tende a diminuirlos na dieta A e aumentar um pouco nas dietas B e C.

A Figura 16 mostra que para os ratos normais o conteúdo de AGPI n-6 totais dos lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos da dieta C eram inferiores aos das dietas A e B. Para os lipídeos séricos a tireoidectomia diminui o conteúdo de AGPI n-6 nas três dietas. Para os das mitocôndrias hepáticas das dietas A e C e das encefálicas das três dietas a tireoidectomia os aumentou, enquanto que para os lipídeos mitocondriais hepáticos da dieta B os diminui.

A Figura 17 mostra que para os ratos normais a dieta C favoreceu um maior conteúdo de AGPI n-3 totais dos lipídeos séricos e mitocondriais encefálicos em relação as dietas A e B e que para as mitocôndrias hepáticas o conteúdo desses AG são similares nas dietas B e C mas maiores que na dieta A. A tireoidectomia aumenta o conteúdo dos AGPI n-3 totais nas mitocôndrias hepáticas da dieta C e o diminui nas mitocôndrias encefálicas da dieta B.

4.10. ATIVIDADE ATPÁSICA DAS MITOCÔNDRIAS HEPÁTICAS E ENCEFÁLICAS

Analisando-se inicialmente a atividade de ATPase hepática a Tabela 27 mostra que a atividade específica da ATPase mitocondrial dos ratos normais variou de acordo com a dieta estudada e que essas variações foram estatisticamente significativas quando se compara o grupo dietário B com o A e o grupo dietário A com o C a nível de 1% (Tabela 28). Comparando o efeito da tireoidectomia verificamos que a mesma tem efeito na dieta C, quando essa variação é altamente significativa a nível de 0,1% (Tabela 28). Vale salientar que nos grupos dietários A e B a tireoidectomia causou um pequeno aumento da atividade enzimática, no entanto esse aumento não é significativo (Tabelas 27 e 28). Quando comparamos os valores da atividade ATPásica dos ratos tireoidectomizados dos três grupos dietários entre si, observamos que apenas não foi significativa a comparação entre os grupos dietários C com A (Tabelas 27 e 28).

FIGURA 16. Comparação entre os conteúdos de AGPI n-6 totais de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratos normais (□) e tireodectomizados (■) tratados com dietas óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C) .

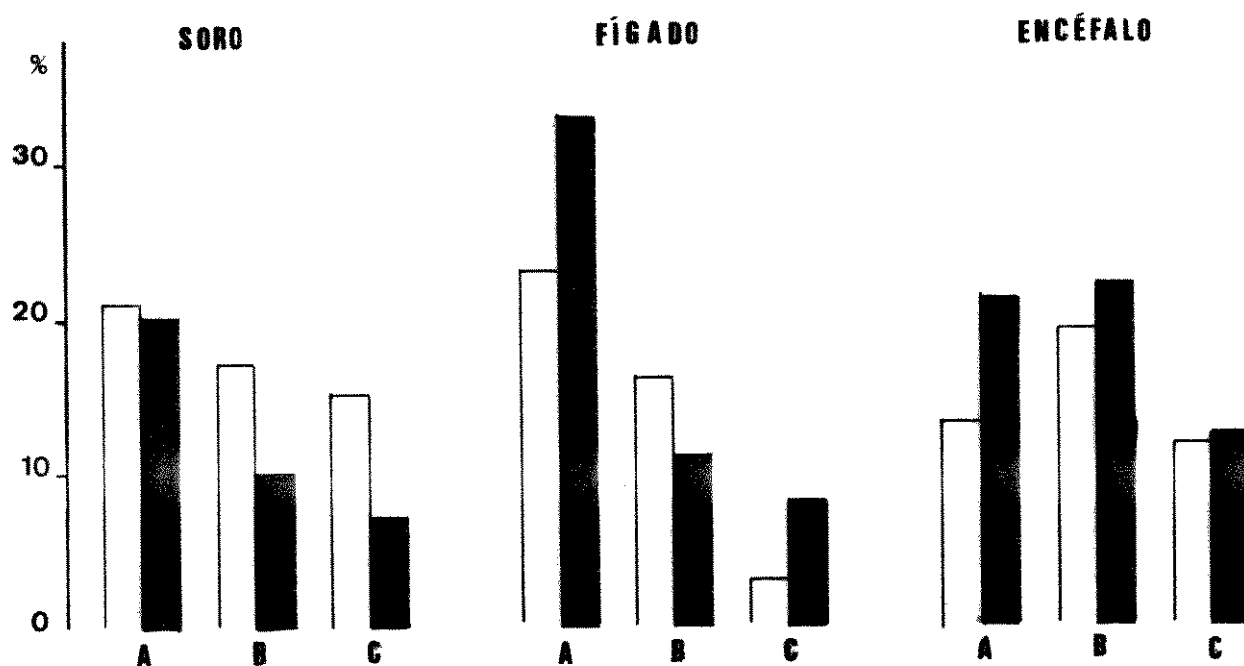


FIGURA 17. Comparação entre os conteúdos de AGPI n-3 totais de lipídeos séricos e mitocondriais hepáticos e encefálicos de ratas normais (□) e tireodectomizadas (■) tratadas com as dietas óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 20% (C).

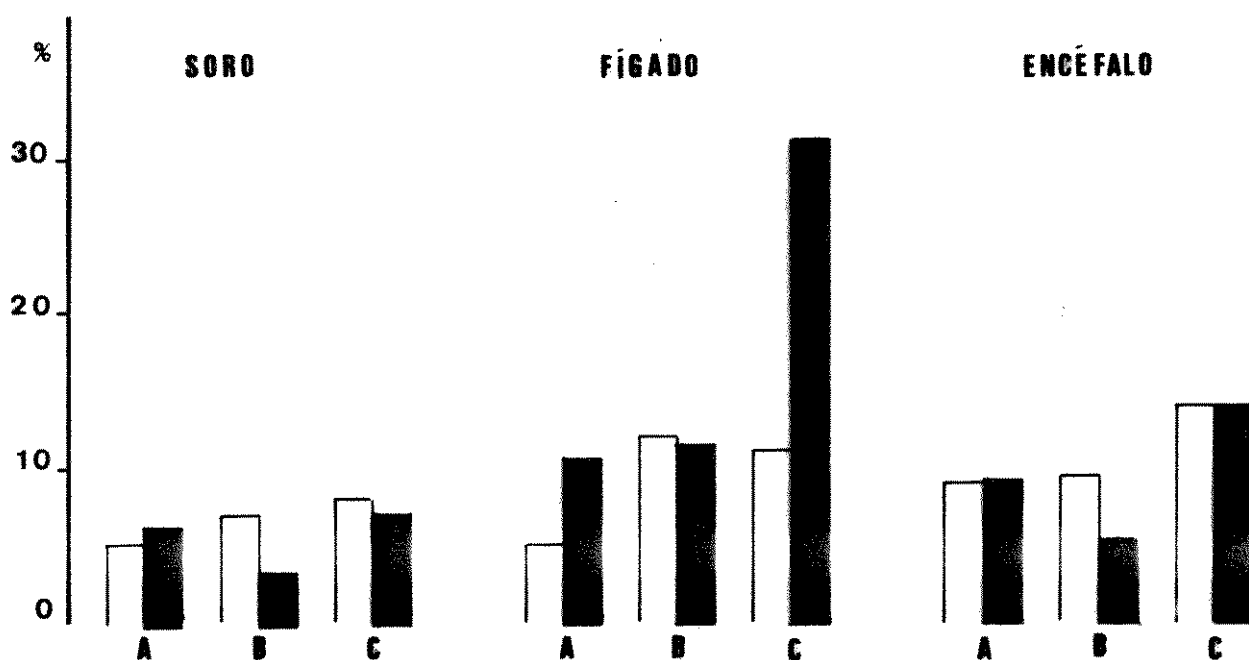


TABELA 27. Atividade ATPásica das mitocôndrias hepáticas de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: óleo de soja 12%, óleo de soja 20% e óleo de sardinha 12%.

<u>D I E T A S</u>	<u>ATIVIDADE ESPECÍFICA ATPásica</u> (μ g Pi/min./mg proteína/37°C)	
	<u>N</u>	<u>T</u>
Soja 12% (n=10)	1,54 (0,38)	1,67 (0,35)
Soja 20% (n=6)	2,09 (0,32)	2,26 (0,36)
Sardinha 12% (n=10)	1,13 (0,21)	1,85 (0,28)

() desvio padrão

n = número de animais do grupo

TABELA 28. Estudo estatístico da atividade ATPásica mitocondrial do fígado de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>ATIVIDADE ESPECÍFICA DA ATPASE</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
$A_T \quad X \quad A_N$	16	0,63
$B_T \quad X \quad B_N$	10	0,87
$C_T \quad X \quad C_N$	18	5,58(***)
$B_N \quad X \quad A_N$	14	2,57(**)
$A_N \quad X \quad C_N$	18	2,69(**)
$B_T \quad X \quad A_T$	12	2,67(**)
$C_T \quad X \quad A_T$	16	0,97

(**) significativo a nível de 1% ($p < 0,01$)

(***) significativo a nível de 0,1% ($p < 0,001$)

G.L. = Grau de Liberdade

A atividade específica da ATPase das mitocôndrias encefálicas dos ratos normais apresentou alterações estatisticamente significativas. Assim na dieta A observamos a maior atividade da enzima, sendo respectivamente 87% e 65% a mais em relação as dietas B e C (Tabela 29), sendo esses valores altamente significativos a nível de 0,1% (Tabela 30). Entre os animais tireoidectomizados também a maior atividade enzimática ocorreu na dieta A, sendo cerca de 30% a mais em relação as dietas B e C (Tabela 29), sendo esse valor significativo a nível de 1% (Tabela 30). Quando se compara a atividade dos animais normais com os tireoidectomizados observamos na dieta A os animais tireoidectomizados apresentam uma diminuição da atividade enzimática de 37% (Tabela 29) sendo essa variação significativa a nível de 0,1%, na dieta B ambos os grupos de animais apresentaram atividade enzimática similar e portanto não significativa estatisticamente (Tabela 30) e na dieta C a tireoidectomia causou uma diminuição da atividade enzimática de 9,5% (Tabela 29) sendo essa variação significativa a nível de 5% (Tabela 30).

TABELA 29. Atividade ATPásica das mitocôndrias encefálicas de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: óleo de soja 12%, óleo de soja 20% e óleo de sardinha 12%.

<u>D I E T A S</u>	<u>ATIVIDADE ESPECÍFICA ATPásica</u> (μ g Pi/min./mg proteína/37°C)	
	<u>N</u>	<u>T</u>
Soja 12% (n=9)	7,44 (0,90)	5,42 (0,40)
Soja 20% (n=6)	3,97 (0,72)	4,07 (0,78)
Sardinha 12% (n=10)	4,51 (0,46)	4,12 (0,40)

() desvio padrão

n = número de animais do grupo

TABELA 30. Estudo estatístico da atividade ATPásica mitocondrial encefálica de ratos normais (N) e tireoidectomizados (T) tratados com as dietas: óleo de soja 12% (A), óleo de soja 20% (B) e óleo de sardinha 12% (C).

<u>CONDIÇÕES DO TESTE</u>	<u>ATIVIDADE DE ATPASE</u>	
	<u>G.L.</u>	<u>t</u>
$A_N \times A_T$	15	6,15 (***)
$B_T \times B_N$	10	0,19
$C_N \times C_T$	18	1,69 (*)
$A_N \times B_N$	13	6,77 (***)
$A_N \times C_N$	17	7,08 (***)
$A_T \times B_T$	12	3,00 (**)
$A_T \times C_T$	16	2,89 (**)

(*) significativo a nível de 5% ($p < 0,05$)

(**) significativo a nível de 1% ($p < 0,01$)

(***) significativo a nível de 0,1% ($p < 0,001$)

G.L. = Grau de Liberdade

5. D I S C U S S Ã O

Os hormônios da tireóide têm uma influência generalizada, afetando quase todas as células e muitas das enzimas celulares do organismo. Nossos resultados demonstraram que a tireoidectomia causou um menor ganho de peso corpóreo e do peso do fígado e do encéfalo. Esses dados estão de acordo com a literatura, que segundo SIMON et alii (1982) os hormônios tireoideanos participam do crescimento não só do organismo como também dos órgãos internos. Todavia, nós ainda observamos que essa variação de peso é influenciada diretamente pelo tipo de dieta lipídica. Assim, a dieta óleo de soja 20% causou o maior efeito depressor do peso corpóreo dos ratos em comparação com as duas outras dietas estudadas. Esse menor ganho de peso corpóreo dos animais tireoidectomizados não poderia ser justificado pela menor ingestão de alimentos, por nós observada, pois não foi estatisticamente

significativa em relação aos controles.

A atividade tireoideana foi alterada pela qualidade da fonte lipídica dietária (óleo de semente de soja 12% e óleo de sardinha 12%) avaliada pela dosagem dos níveis séricos de T_3 e T_4 , sendo que na dieta óleo de sardinha 12% o nível de T_4 é maior mas o nível de T_3 é menor em relação a dieta óleo de soja 12%. Todavia, essas dietas qualitativamente diferentes não influenciaram a captação de I^{131} pela glândula. No entanto, dietas quantitativamente diferentes (óleo de soja 12% e óleo de soja 20%) influenciaram tanto a captação de I^{131} como os níveis de T_3 e T_4 , sendo que no grupo da dieta soja 20% esses valores foram maiores do que os do grupo de soja 12%.

O estudo do metabolismo lipídico e seu controle pelos hormônios tireoideanos tem sido amplamente descrito na literatura (MORRIS et alii, 1957; SUZUKY et alii, 1979 e STAKKESTAD & BRENNER 1982). Todavia essas observações não são suficientes para auxiliar-nos na análise dos nossos resultados acima descritos.

Nossos resultados demonstraram que o conteúdo de AG dos lipídeos séricos dos animais tireoidectomizados era diferente dos controles e ainda dependente da dieta lipídica usadas. Esse fato é a comprovação de que tal composição de AG era muito diferente da composição dos AG dos lipídeos dietários ingeridos diariamente nos leva a sugerir que os AG dos lipídeos séricos são predominantemente de origem endógena ao invés de uma simples correlação com os AG alimentares. Vários autores sugerem que os hormônios tireóideos seriam responsáveis pela mobilização dos lipídeos do tecido adiposo, o que aumentaria a concentração de AG livres no plasma, existindo também uma aceleração dos processos de oxidação e esterificação dos AG (BOICHOT, 1977; MULLER et alii, 1981; GNONI et alii, 1983; STAKKESTAD & LUND, 1983 e STAKKESTAD & LUND, 1984). Todavia essas observações não são suficientes para auxiliar-nos na justificativa dos nossos resultados acima descritos.

A tireoidectomia causou diferenças nos conteúdos de AG de lipídeos mitocondriais hepáticos e encefálicos, porém dependendo do tipo de dieta usada. No fígado observamos que

nas dietas soja 12% e soja 20% os animais controles apresentaram maior conteúdo de AGS e AGMI de 16 a 18 átomos de carbono quando comparamos com os animais tireoidectomizados de cada grupo. Esses dados estão de acordo com a literatura, pois HOUGHAM & CRAMER (1980) e KAWASHIMA E KOZUKA (1985) demonstraram que os hormônios tireoideanos são importantes para promoverem a elongação de AGS. Entretanto fato oposto foi observado quando os ratos eram alimentados com a dieta sardinha 12%. Nossos resultados indicariam que neste caso, o efeito dos hormônios tireoideanos seriam dependentes da dieta lipídica. Por outro lado, a tireoidectomia, isto é a diminuição ou ausência dos hormônios tireoideanos, causaram um expressivo aumento no conteúdo dos AGPI, tanto da série n-6 como os da série n-3, de número de carbonos igual ou maior que 20 de maior grau de insaturações em todos os três grupos dietários estudados.

FAAS & CARTER (1981) demonstraram que os hormônios tireoideanos estimulam a dessaturação e elongação de lipídeos nos microssomas hepáticos. Essas observações não estariam de acordo com os nossos resultados aqui apresentados, talvez devido a que aqueles autores usarem fonte lipídica dietária diferente das nossas e apenas uma quantidade de 5% de lipídeos na dieta, enquanto que as nossas dietas continham 12% ou 20%.

No encéfalo, o conteúdo de AGS e AGMI não apresentaram alteração importantes causadas pela tireoidectomia. No entanto, quanto aos AGPI observamos algumas alterações que devem ser muito importantes para o tecido encefálico. A tireoidectomia favoreceu uma maior incorporação de ácido linoléico, em relação aos respectivos controles, nas dietas soja 12% e soja 20%, o que não acontece no grupo da dieta sardinha 12%. Esse fato pode ser importante para o tecido encefálico, visto que esse AG normalmente é encontrado em baixas concentrações nos lipídeos deste tecido (TAHIN, 1985), o que sugeriria que os hormônios tireoideanos poderiam regular o metabolismo do ácido linoléico e/ou sua incorporação naqueles lipídeos. Quanto ao ácido araquidônico a tireoidectomia parece não afetar o conteúdo desse AG nos ratos alimentados com as dietas soja 12% ou soja 20%, porém aumentaria nos da dieta óleo de sardinha 12%. Os AGPI n-3 não sofrem grandes alterações causadas pela tireoidectomia nos três grupos dietários, com exceção do 22:6 n-3 do grupo soja 20% quando os controles apresentaram um maior conteúdo desse AG em relação aos tireoidectomizados.

No encéfalo, as alterações causadas pela dieta e/ou pela tireoidectomia foram bem menores do que as do fígado, devendo-se esse fato a barreira hematoencefálica que protege aquele órgão mais eficientemente do que os outros órgãos do organismo contra as manipulações dietárias.

A atividade ATPásica mitocondrial foi estudada como um indicador bioquímico para se avaliar quanto as alterações da composição de AG mitocondriais, causadas pela tireoidectomia e/ou dietas lipídicas afetariam funções bioquímicas dessas organelas. No fígado a atividade ATPásica é alterada de modo estatisticamente significativo pela tireoidectomia apenas quando os animais eram alimentados com óleo de sardinha 12%. Quando comparamos o efeito da dieta óleo de soja 12% com a da sardinha 12% sobre aquela atividade enzimática, demonstramos que havia alteração estatisticamente significativa apenas para os animais controles e não para os tireoidectomizados e quando comparamos o efeito de dietas de mesma fonte lipídica mas quantitativamente diferentes, demonstramos que a atividade daquela enzima era alterado de modo estatisticamente significativo em ambos os grupos, isto é, controles e tireoidectomizados.

No encéfalo a atividade ATPásica é alterada pela tireoidectomia que causa uma redução da atividade enzimática nas dietas soja 12% e sardinha 12% de modo estatisticamente significativo, no entanto na dieta soja 20% ambos os grupos de animais, controles e tireoidectomizados, apresentaram praticamente a mesma atividade enzimática, portanto, não estatisticamente significativo. Quando se compara o efeito das dietas qualitativamente diferentes (óleo de soja 12% e óleo de sardinha 12%) somente entre os animais tireoidectomizados observamos que os resultados são estatisticamente significativo, o mesmo ocorre quando comparamos os animais controles. Esses dados se repetem quando comparamos o efeito das dietas quantitativamente diferentes (óleo de soja 12% e óleo de soja 20%) entre os animais tireoidectomizados, bem como entre os controles dão resultados estatisticamente significativos.

KATYARE (1977) observou que a tireoidectomia, não teria efeito sobre a atividade ATPásica total de rim, fígado e cérebro de rato quando os animais eram tratados com ração comercial. No entanto, nossos resultados demonstraram que dependen

do da dieta a que os animais são submetidos e do órgão estudado a atividade de ATPase pode ser alterada pela tireoidectomia. Consideramos nossos resultados viáveis devido as alterações de AG dos lipídeos mitocondriais por nós encontradas, isto porque manipulações dietárias alteram a composição de AG das membranas (BURNS et alii, 1983 e TAHIN, 1985) e sendo essas ricas em AGPI tanto da série n-6 como da n-3, as possíveis alterações que ocorreram na composição de AG causadas pela tireoidectomia e /ou manipulação dietárias alterariam várias propriedades físico-químicas das membranas, afetando importantes atividades bioquímicas membranas dependente como o transporte de Ca^{2+} e da atividade de ATPase- Ca^{2+} dependente (McMURCHIE & RAISON, 1979; SHECHTER & LETWILLER, 1979; KLAUSNER et alii, 1980 e WETZKER et alii, 1983).

6. R E S U M O

Devido ao fato de que a manipulação dietária altera a composição de ácidos graxos (AG) dos lipídeos dos tecidos e inclusive de organelas celulares dos organismos, podendo alterar funções hormonais, enzimáticas, estruturais das membranas celulares, investigamos as possíveis alterações causadas pela administração de três dietas diferentes: óleo de semente de soja 12%, óleo de soja 20% e óleo de sardinha 12%, sendo que a dieta óleo de semente de soja é rica em AGPI da série n-6 e óleo de sardinha é rica em AGPI da série n-3, em ratos machos da raça Sprague-Dawley com cerca de 37 dias de idade pseudo-operados e tireoidectomizados durante 30 dias. Durante o período experimental com as três dietas os animais foram pesados e ainda se determinava a ingesta de alimento diária. Após 30 dias determinou-se a captação de I^{131} nos animais controles, a seguir os

animais pseudo-operados e tireoidectomizados foram sacrificados. O sangue foi retirado para análise dos hormônios tireoideanos T_3 e T_4 (apenas dos animais pseudo operados) e do conteúdo de AG de lipídeos séricos dos ratos normais e tireoidectomizados. O fígado e o encéfalo foram retirados, pesados e usados para a preparação das mitocôndrias, usadas para determinação da atividade de ATPase e posteriormente analisava-se os AG dos lipídeos daquelas organelas celulares.

Demonstramos que os ratos tireoidectomizados quando comparados com seus respectivos controles apresentaram um menor ganho do peso corpóreo e dos órgãos estudados (fígado e encéfalo) e em relação a ingestão de alimento os animais tireoidectomizados ingeriram menos alimento que os respectivos controles nos três grupos dietários. Observamos que a atividade da glândula tireóide é afetada pelas dietas lipídicas de origens diferentes (óleo de semente de soja 12% ou óleo de sardinha 12%) devido a variação do nível sérico de T_3 e T_4 , mas que essas dietas qualitativamente diferentes não alteraram a captação de I^{131} pela glândula. As dietas quantitativamente diferentes (óleo de soja 12% e óleo de soja 20%) alteraram os níveis de T_3 e T_4 e a captação de I^{131} pela glândula, sendo que os níveis de T_3 e T_4 são maiores na dieta soja 20%.

No soro observamos que na dieta soja 12% o conteúdo de AGS totais nos animais tireoidectomizados e controles são similares, enquanto na dieta óleo de soja 20% e óleo de sardinha 12% a tireoidectomia causa um aumento dos AGS totais em relação aos normais. Quanto aos AGMI totais na dieta óleo de soja 12% a composição em ambos os grupos de animais são similares. Enquanto que nas dietas soja 20% e sardinha 12% os animais controles apresentaram um maior conteúdo de AGMI totais em relação aos tireoidectomizados. Esse mesmo evento se sucedeu com relação aos AGPI n-6 totais. Quanto aos AGPI n-3 na dieta óleo de soja 12% os tireoidectomizados apresentaram um conteúdo um pouco maior que os respectivos controles e nas dietas óleo de soja 20% e óleo de sardinha 12% os animais pseudo operados dos dois grupos dietários é que apresentaram um conteúdo maior em relação aos tireoidectomizados.

No fígado o conteúdo de AGS totais na dieta ôleo de soja 12% são similares em ambos os grupos de animais. Na dieta ôleo de soja 20% os tireoidectomizados apresentaram um maior conteúdo em relação aos pseudo operados sugerindo que a tireoidectomia favoreceu a elongação dos AGS. Na dieta ôleo de sardinha 12%, os animais pseudo operados apresentaram um maior conteúdo de AGS totais em relação aos tireoidectomizados. Os AGMI totais do fígado nas dietas ôleo de soja 12% e ôleo de soja 20% apresentaram nos animais controles um maior conteúdo em relação aos tireoidectomizados, enquanto que na dieta ôleo de sardinha 12% são os tireoidectomizados que apresentaram um maior conteúdo em relação aos respectivos controles. Os AGPI n-6 do fígado tem nas dietas ôleo de soja 12% e ôleo de sardinha 12% os animais tireoidectomizados com um maior conteúdo em relação aos controles, sugerindo que a tireoidectomia favoreceu elongações e dessaturações dos AG nessas duas dietas, enquanto que na dieta ôleo de soja 20%, os controles apresentaram um conteúdo maior que os tireoidectomizados. Os AGPI n-3 do fígado tem nas dietas ôleo de soja 12% e ôleo de sardinha 12% os animais tireoidectomizados com um maior conteúdo em relação aos controles, sugerindo que a tireoidectomia promove elongações e dessaturações e na dieta ôleo de soja 20% ambos os grupos de animais apresentaram composição similares.

Para o encéfalo o conteúdo de AGS totais nas três dietas experimentais são similares para ambos os grupos de animais. Quanto aos AGMI totais os animais normais da dieta ôleo de soja 12% apresentaram um conteúdo maior que os tireoidectomizados e nas dietas ôleo de soja 20% e ôleo de sardinha 12% os conteúdos foram similares em cada uma das dietas. Quanto ao conteúdo de AGPI n-6 a tireoidectomia o aumenta na dieta soja 12% em relação aos normais, sugerindo que nessa dieta a mesma favoreceria elongação dos AGPI n-6. Nas dietas ôleo de soja 20% e sardinha 12% os animais tireoidectomizados e controles apresentaram composição similares em cada grupo dietário. Quanto ao conteúdo de AGPI n-3 nas dietas ôleo de soja 12% e ôleo de sardinha 12% ambos os grupos de animais apresentaram composições similares em cada grupo dietário e na dieta soja 20% os normais apresentaram um conteúdo maior que os tireoidectomizados.

Nossos resultados sobre a atividade de ATPase mitocondrial do fígado mostrou que a tireoidectomia tem efeito nessa atividade, quando os ratos foram tratados com a dieta óleo de sardinha 12%, ocorrendo um aumento significativo e não tem efeito quando os animais foram tratados com as dietas óleo de soja 20% e óleo de sardinha 12%. No encéfalo a tireoidectomia diminui de maneira significativa a atividade enzimática no grupo dietário óleo de soja 12% e nos outros dois grupos dietários essa atividade não sofre alteração.

Concluindo podemos dizer que nossos resultados indicam que a tireoidectomia causa alterações na atividade ATPásica mitocondrial e na composição de AG de lipídeos séricos e mitocondriais, porém esse efeito depende da dieta lipídica oferecida aos animais e do tecido do organismo estudado.

7. S U M M A R Y

"Lipid dietary effect on mitochondrial ATPase and fatty acid composition of lipids of serum and liver and brain mitochondria of normal and thyroidectomized rats".

Normal and thyroidectomized Sprague-Dawley male rats of 37 days old, were fed three different lipid diets during 30 days. Two diets contained soybean seed oil, rich in n-6 polyunsaturated (PUFA), but different concentrations, one of 12% other 20%. The third diet contained 12% of sardine (sea fish) oil, rich in n-3 PUFA.

Thyroidectomized rats had lesser gain of body, liver and brain weight and food ingestion.

Normal animals had thyroid activity altered in function of lipid diets. Sardine oil group shown different T_3 and T_4 serum levels, but similar I^{131} uptake in comparison to 12% soybean oil group. However, 12% soybean oil group shown different T_3 and T_4 serum levels and I^{131} uptake in comparison to 20% soybean oil group. The thyroidectomy affected the fatty acid (FA) contents of serum lipids in function of lipid diets. Thyroi-

dectomized animals had similar saturated FA (SFA) content in 12% soybean oil group, but higher in 20% soybean oil and 12% sardine oil groups, in comparison to respective controls animals. Thyroidectomized rats had similar total monounsaturated FA (MUFA) and n-6 PUFA contents in 12% soybean oil group, but lesser in 20% soybean oil and 12% sardine oil groups, in comparison to respective controls animals. Thyroidectomized animals had higher total n-3 PUFA content in 12% soybean oil group but lesser in 20% soybean oil and 12% sardine oil groups, in comparison to respective controls animals.

In liver, the thyroidectomy also affected the FA contents of mitochondrial lipids in function of lipid diets. Thyroidectomized rats had similar total SFA content in 12% soybean oil group, higher in 20% soybean oil group and lesser in 12% sardine oil group, in comparison to respective controls. Thyroidectomized rats had lesser total MUFA content in 12% and 20% soybean oil group, but higher in 12% sardine oil group, in comparison to respective controls. Thyroidectomized rats had higher total n-6 PUFA contents in 12% soybean oil and 12% sardine oil group, but lesser in 20% soybean oil group, in comparison to respective controls. Thyroidectomized rats had higher total n-3 PUFA content in 12% soybean oil and 12% sardine oil groups, but similar in 20% soybean oil group, in comparison to respective controls.

In brain, the thyroidectomized also affected the FA contents of mitochondrial lipids in function of lipid diets, but in much lesser extension than in liver. The contents of total SFA of thyroidectomized and controls were similar in the three diet groups. Thyroidectomized rats had similar total MUFA contents in 20% soybean oil and 12% sardine oil group, but lesser in 12% soybean oil group, in comparison to respective controls. Thyroidectomized rats had similar total n-6 PUFA contents in 20% soybean oil and 12% sardine oil groups, but higher in 12% soybean oil group in comparison to respective controls. Thyroidectomized rats had similar total n-3 PUFA contents in 12% soybean oil and 12% sardine oil groups, but lesser in 20% soybean oil group, in comparison to controls rats.

Our results on the mitochondrial liver ATPase specific activity demonstrated that the thyroidectomized animals had a significative increase on the enzymatic activity only in 12% sardine oil group, in comparison to controls. For the mitochondrial brain ATPase specific activity, our results demonstrated that the thyroidectomized rats had a significative decrease on the enzymatic acitivity only in 12% soybeam oil group in comparison to controls animals.

Our results suggest the thyroidectomy may caused alterations on the mitochondrial ATPase activity and on the FA composition of serum and liver and brain mitochondrial lipids, however this effect depend on lipids diets and on the tissue of animal.

8. REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

- ALLING, C.; BRUCE, A.; KARLSON, I. & SVENNERHOLM, L. The effect of different dietary levels of essential fatty acids on growth of the rat. Nutr. Metab., 16:38-50, 1974.
- ARANDA, A.; MONTOYA, E. & HERRERA, E. Effects of hypo-and hyper-thyroidism on liver composition, blood glucose, ketone bodies and insulin in the male rat. Biochem. J., 128: 597 - 604, 1972.
- BHATTACHARYA, A. & VONDERHAAR, B.K. Phospholipid methylation stimulates lactogenic binding in mouse mammary gland membranes. Natn. Acad. Sci., 76: 4489-92, 1979.
- BLACKWELL, G.L.; DUNCOMBE, W.G.; FLOWER, M.F. & VANE, J.R. The distribution and metabolism of arachidonic acid in rabbit platelets during aggregation and its modification by drugs. Br. J. Pharmac., 59: 353-66, 1977.
- BLOJ, B.; MORERO, R.D.; FARIAS, R.N. & TRUCCO, R.E. Membrane lipid fatty acids and regulation of membrane-bound enzyme: allosteric behaviour of erythrocyte Mg^{2+} -ATPase, $(Na^{+}-K^{+})$ -ATPase and acetylcholinesterase from rats fed different fat supplemented diets. Biochem. biophys. Acta, 311:67-79, 1973.

- BOICHOT, J. Incorporation in vivo des acides palmitique et oléique marqués dans les lipides du muscle squelettique chez le rat normal et thyroïdoprimé au cours d'une épreuve de nage. Archv. Int. physiol. Biochem., 85:255-271, 1977
- BOTHAM, K. M. & BOYD, G.S. The effect of dietary fat on bile salt synthesis in rat liver. Biochim. biophys. Acta., 752: 307-14, 1983.
- BRENNER, R.R. & PELUFFO, R.O. Effect of saturated and unsaturated fatty acids on the desaturation in vitro of palmitic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic acid. J. biol. Chem., 241: 5213-9, 1966.
- _____. Reciprocal interactions in the desaturation of linoleic acid into gamma-linolenic and eicosa-8,11,14-trienoic into arachidonic. Lipids, 4: 621-3, 1969.
- _____. The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. Mol. cell. Biochem., 3: 41-52, 1974.
- BRONGEEST-SCHOUTE, D.C.; HAUTVAST, J.G.A.J. & HERMUS, R.J. Dependence of the effects of dietary cholesterol and experimental conditions on serum lipids in man. I. Effects of dietary cholesterol in a linoleic acid-rich diet. Am. J. clin. Nutr., 33: 2183-7, 1979.
- BURNS, C.P.; ROSENBERGER, J.A. & LUTTENEGGER, D.G. Selectivity in modification of the fatty acid composition of normal mouse tissues and membranes in vivo. Annals. Nutr. Metab., 27: 268- 77, 1983.
- BURR, G.O. & BURR, M.M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. J. biol. Chem., 82: 345-67, 1929.
- CASTUMA, C. & BRENNER, R.R. Effect of fatty acid deficiency on microsomal membrane fluidity and cooperative of the UDP-glucuronyl transferase. Biochem. biophys. Acta, 729: 9 -16, 1983.

- CHAP, H.; SIMON, M.F. & DOUSTEBLAZY, L. Effect of ticlopidine on arachidonic acid metabolism in platelet phospholipid in vitro. Biochem.Pharmacol., 30: 1463-8, 1981.
- CHERN, J.C. & KINSELLA, J.E. Concurrent release and reacylation of fatty acid by rat kidney cells selective incorporation of arachidonic acid. Biochem.biophys.Acta, 750:7-17, 1983a.
- _____. & _____. The effects on unsaturated fatty acids on the synthesis of arachidonic acid in rat kidney cells. Biochem.biophys.Acta, 750:465-71, 1983b.
- CLANDININ, M.T. Fatty acids composition changes in mitochondrial membranes induced by dietary long chain fatty acids. FEBS. lett., 68: 41-4, 1976.
- COWEY, C.B.; OWEN, J.M.; ADRON, J.W. & MIDDLETON, C. Studies on the nutrition marine flatfish. The effect of different dietary fatty acids on the growth and fatty acid composition of turbot (Scophthalmus maximus). Br.J.Nutr., 36:479-86,1976.
- CRAWFORD, M.A.; CASPERD, N.M. & SINCLAIR, A.J. The long chain metabolites of linoleic and linolenic acid in liver and brain herbivores and carnivores. Comp.Biochem.Physiol., 548:395-401,1978.
- DAVENAS, E.; CIAVATTY, M.; MICHEL, G. & RENAUD, S. Influence of sex and dietary fats on platelet lipid biosynthesis in rat. Biochem.biophys.Acta., 750:526-32,1983
- DECKERE, E.A.M.; NUGTEREN, D.H. & den HOOR, F. Influence of type of dietary fat on the prostaglandin release from isolated rabbit and rat hearts and from aortas. Prostaglandins, 17:947-55,1979.

- De LUCA, H.F. Variations in lipid intake and their influence on respiration and tricarboxylic acid cycle activity. Can.J. Biochem., 43:1583-7, 1965.
- DEWAILLY, P.; NOUVELOT, A.; SEZILLE, G.; FRUCHART, J.C. & JAILLARD, J. Changes in fatty acid composition of cardiac mitochondrial phospholipids in rats fed rapeseed oil. Lipids, 13: 301-4, 1978.
- DIMINO, M.J.; KURAS, R.A.; McCLEARY, A.R. & HOCH, F.L. Thyroid hormone action on mitochondria. III. Resolution of iodine containing mitochondria and subfractions by zonal centrifugation. Archv.biochem.Biophys., 150:618-23, 1972.
- DIVAKARAN, P. & VENKATARAMAN, A. Effect of dietary fats on oxidative phosphorylation and fatty acid profile of rat liver mitochondria. J.Nutr., 107:1621-31, 1977.
- _____. Essential fatty acids deficiency and liver mitochondria. Experientia, 34:1540-1, 1978.
- DYERBERG, J.; BANG, H.O.; MONCADA, S. & VANE, J.R. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. Lancet, 117:9, 1978.
- FAAS, F.H. & CARTER, W.J. Fatty acid desaturation and microsomal lipid fatty acid composition in experimental hyperthyroidism. Biochem.J., 193:845-52, 1981.
- FALLANI, A. & RUGGIERI, S. Lipids composition of SV40-induced transplantable hamster tumor. Lipids, 14:752-5, 1979.
- FIELD, F.J. & SALOME, R.G. Effect of dietary fat saturation cholesterol and cholestyramine and acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity in rabbit intestinal microsomes. Biochem. biophys. Acta, 712:557-70, 1982.
- FISKE, C.H. & SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. J.biol.Chem., 66:375-400, 1925

FOLCH, J.; ASCOLI, I.; LEES, M.; MEATH, J.A. & LeBARON, F.N. Preparation of lipids extracts from brain tissue. J.biol.Chem., 191:833-41, 1951.

FOOT, M.; CRUZ, T.F. & CLANDININ, M.T. Influence of dietary fat on the lipid composition of rat brain synaptosomal and microosomal membranes. Biochem.J., 208:631-40, 1982.

FUJIIWARA, Y.; OKAYASU, T.; ISHIBASHI, T. & IMAI, Y. Immunochemical evidence for the enzymatic difference of delta⁶-desaturase in rat liver microsomes. Biochem.biophys.Res.Commung., 110: 36-41, 1983.

GARCIA, P.T. & HOLMAN, R.T. Competitive inhibitions in the metabolism via the composition of phospholipid, triglycerides and cholesteryl esteres of rat tissues. J.Am.Oil chem.Soc., 42:1137-41, 1965.

GNONI, G.V.; LANDRISCINA, C.; RUGGIERO, F.M. & QUAGLIARIELLO, E. Effect of hyperthyroidism on lipogenesis in brown adipose tissue of young rats. Biochem.biophys.Acta, 751:271-9, 1983.

GUARNIERI, M. & JOHNSON, R. The essential fatty acid. Adv.lipid Res., 8: 115-74, 1970.

GUDBJARNASON, S. & OSKARDOTTIR, G. Modification of fatty acid composition of rat heart lipids by feeding cod liver oil. Biochim.biophys.Acta, 487:10-15, 1977.

HABGVE, T.A. & CHRISTOPHERSEN, O. Effect of dietary fats on arachidonic acid and eicosapentaenoic acid biosynthesis and conversion to C₂₂ fatty acids in isolated rat liver cells. Biochem.biophys.Acta, 796:205-17, 1984.

HARTMANN, L. & LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esteres from lipids. Lab.Prac., 22:475-6, 1973

HARWOOD, J.L.; WHARFE, J. & BOLTON, P. Changes in fatty acid synthesis during leaf development. Biochem.Soc.Trans., 6: 598-600, 1978.

- HASSAM,A.G. & CRAWFORD,M.A. The incorporation of orally administered radio labeled dihomogamma-linoleic acid into tissues lipids and its conversion to arachidonic acid. Lipids, 13: 801-3,1978.
- HILL,M.J. Dietary fat and human cancer. Proc.nutr.Soc., 40: 15-9,1981.
- HILLYARD,L. & ABRAHAM,S. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on growth of mammary adenocarcinoma in mice and rats. Cancer Res.,39:4430-7,1979.
- HOPKINS,G.L.; KENNEDY,T.G. & CARROLL,K.K. Polyunsaturated fatty acids as promoters of mammary carcinogenesis induced in Sprague-Dowley, rats by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. J. natn.Cancer Inst.,66:517-22,1981.
- HOPPNER,W.; SUSSMUTH,W. & SEITZ,H.J. Effect of thyroid state on cyclic AMP-mediated induction of hepatic phosphoenolpyruvate carboxikinase. Biochem.J.,226:67-73,1985.
- HOUGHAM,D.F. & CRAMER,D.A. Effect of hormone injections of fatty acid composition of lipid in muscle and liver tissues of Newzeeland withe rabbits. J.Ann.Sci.,50:57-61, 1980.
- ILAR COMMON WEALTH BUREAU OF NUTRITION. Control of diets in laboratory animals experimentation. Nutr.Abstr.Rev.B.,49: 413-9,1979.
- INNIS,S.M. & CLANDININ,M.T. Dymamic modulation of mitochondrial membrane physical properties and ATPase activity by diet lipid. Biochem. J.,198:167-75,1981.
- INOUE,A.; YAMAKAWA,J.; YUKIOKA,M. & MORISAWA,S. Filter-binding assay procedure for thyroid hormone receptors. Anal.Biochem., 134:176-83,1983.

ISMAIL-BEIG, F. & EDELMAN, T.S. The mechanism of the thyroid colorigenesis: role of active sodium transport. Proc.natn.Acad. Sci., 67:1071-8, 1970

_____. & _____. The mechanism of the colorigenic action of thyroid hormone: stimulation of $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ activated adenosine triphosphatase activity. J.gen.Physiol., 57:710-22, 1971.

_____. & _____. Time course of the effects of thyroid hormones on respiration and $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ -ATPase activity in rat liver. Proc.Soc.exp.Biol.Med., 146:983-8, 1974.

IUPAC-IUB. COMMISSION OF BIOCHEMICAL NOMENCLATURE. The nomenclature of lipids. Biochem.J., 105:897-902, 1967.

JAKUBOWSKI, J.A. & ARDLIE, N.G. Modification of human platelet function by diet enriched in saturated or polyunsaturated fat. Atherosclerosis, 31:335-44, 1978.

JENNINGS, A.S.; FERGUSON, D.C. & UTIGER, R.D. Regulation of the conversion of thyroxine to triiodothyronine in the perfused rat liver. J.clin.Invest., 64:1614-23, 1979.

JOHN-ALDER, H.B. Effects of thyroxine supplementation on metabolic rate and aerobic capacity in a lizard. J. Physiol., 244: 659-66, 1983.

KAKO, K.J. & VASDEV, S.C. Effects of a high fat-high erucic acid diet on the lipid metabolism and contractility of the rat heart. Biochem. Med., 22:76-87, 1979.

KANAZEK, R.A. & LIU, S.C. Dietary essential fatty acids are required for maintenance and induction of prolactin receptors (40.679). Proc.Soc.exp.Biol.Med., 162:346-50, 1979

KATYARE, S.S.; FATTERPAKER, P. & STREENIVASAN, A. Heterogeneity of rat liver mitochondrial fractions and the effect of triiodothyronine on their protein turnover. Biochem.J., 118: 111-21, 1970.

- KATYARE, S.S.; JOSHI, M.V.; FATTERPAKER, P. & STREENIVASAN, A. Effect of thyroid deficiency on oxidative phosphorylation in rat liver, kidney and brain mitochondria. Archv. Biochem. Biophys., 182:155-63, 1977.
- KAWASHIMA, Y. & KOZUKA, H. Regulation of palmitoyl-CoA chain elongation and linoleoyl-CoA chain elongation in rat liver mitochondria and the differential effects of peroxisome proliferators, insulin and thyroid hormone. Biochim. biophys. Acta, 834:118-23, 1985.
- el-KHATIB, S.M. & CORA, E.M. Role of high fat diet in tumorigenesis in C57BL/1 mice. J. natn. Cancer Inst., 66:297-301, 1981
- KLAUSNER, R.D.; KLEINFELD, A.M.; HOOVER, R.L. & KARNOVSKY, M.J. Lipid domains in membranes: evidence derived from structural perturbations induced by free fatty acids and life heterogeneity analysis. J. biol. Chem., 255:1286-95, 1980.
- LEGER, C. Developments recents de la notion d'acides gras essentiels chez poissons. Annls. Nutr. Aliment., 34:207-15, 1980.
- LEVIN, E.; JOHNSON, R.M. & ALBERT, S. Mitochondrial changes associated with essential fatty acid deficiency in rats. J. biol. Chem., 228:15-21, 1957.
- LIN, M.H. & TAI, A. Increased $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -ATPase concentration in various tissues of rats caused by thyroid hormone treatment. J. biol. Chem., 253:723-726, 1978.
- LO, C.; AUGUST, T.R.; LIBERMAN, U.A. & EDELMAN, I.S. Dependence of renal $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -ATPase activity on thyroid status J. biol. Chem., 251:7826-33, 1976.

- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L. & RANDAL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. biol. Chem., 193:265-75, 1951.
- MALAISSSE, W.J.; MALAISSSE-LAGAE, F. & McCRAW, E.F. Effects of thyroid function upon insulin secretion. Diabets, 16:643-6, 1967.
- MAZLIAK, P. Formation des acides gras polyinsaturés dans le règne végétal. Annals. Nutr. Aliment., 34:1-18, 1980.
- McGARRY, J.D.; MEIER, J.M. & FOSTER, D.W. The effects of starvation and refeeding on carbohydrate and lipid metabolism in vivo and in the perfused rat liver: the relationship between fatty acid oxidation and esterification in the regulation of ketogenesis. J. Biol. Chem., 248:270-8, 1973.
- McMURCHIE, E.J. & RAISON, J.K. Membrane lipid fluidity and its effect on the activation energy of membrane-associated enzymes. Biochim. biophys. Acta., 554:364-74, 1979.
- _____.; ABEYWARDENA, M.Y.; CHARNOCK, J.S. & GIBSON, R.A. Differential modulation of rat heart mitochondrial membrane-associated enzymes by dietary lipid. Biochim. biophys. Acta, 760: 13-24, 1983.
- MIYAMOTO-TLAVEN, M.J.; HILLYARD, L.A. & ABRAHAM, S. Influence of dietary fat on growth of mammary ducts in BALB/mice. J. natn. Cancer Inst., 67:179-85, 1981.
- MONCADA, S.; FLOWER, R.J. & VANE, J.R. Prostaglandins, prostacyclin and thromboxane A₂. In: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. The pharmacological Basis of Therapeutics. MACMILLAN Publishing Co. Inc. (ed), New York, 1980, p.668-81.
- MORISAKY, N.; SAITO, Y. & KUMAGAI, A. Synthesis and metabolism of arachidonyl and eicosapentanoyl-CoA in rat. Biochim. biophys. Acta, 752:301-6, 1983.
- MORRIS, D.M.; PANOS, T.C.; FINERTY, J.C.; WALL, R.L. & KLEIN, G.F. Relation of thyroid activity to increased metabolism induced by fat deficiency. J. Nutr., 62:119-28, 1957.

- MULLER,M.J.; KOSTER,H. & SETTZ,H.J. Effect of thyroid state on ketogenic capacity of the isolated perfused liver of starved rats. Biochim.biophys.Acta,666:475-81,1981.
- NAGASAWA,H. Prolactin: its role in the development of mammary tumors. Med. Hyphot.,5:117-21,1979.
- NELSON,B.D.; MUTVEI,A. & JOSTE,V. Regulation of biosynthesis of rat liver inner mitochondrial membrane by thyroid hormone. Archv. Biochem. Biophys., 228:41-8,1984.
- NESTEL,P.; BILLINGTON,T. & SMITH,B. Low density and high density lipoprotein kinetics and sterl balance in vegetarians. Metabolism, 30:941-6,1981.
- NETTER,F.H. A glândula tireoide e as glândulas paratireóides. In: Guanabara Koogan S.A.,ed., Ilustrações Médicas, Sistema Endócrino e Doenças Metabólicas Seleccionadas. Rio de Janeiro,1978, vol.4,p.41-73.
- NOUVELOT, A.; BOURRE,J.M.; SEZILLE, G.; DEWAILLY,P. & JAILLARD, J. Changes in the fatty acid patterns of brain phospholipids during developments of rats fed peanut or repeseed oil taking into account differences between milk and maternal food. Annals. Nutr. Metab.,27:173-81,1983.
- OKABE,N. & TAKIMOTO,E. The binding of a thyroid hormone metabolite, 3-monoiodo-L-thyronine, to bovine serum albumin as measured by circular dichroism. J. Biochem.,97:1317-22,1985.
- OPPENHEIMER, J.H. Role of plasma proteins in the binding, distribution and metabolism of the thyroid hormone. New Engl. J. Med.,278:1153-62,1968.
- PALMER,J.M. & HALL,D.O. The mitochondrial membrane system. Prog. biophys. Chem.,24:125-76,1972.

PEREIRA, B.M.J.; BALASUBRAMANIAN, K. & GOVINDARAJULU, P. Thyroid epididymal relation-ship. I. Influence of hypothyroidism on epididymal lipids. Biochim.biophys.Acta, 753:300-5, 1983.

_____.; _____. & _____. Thyroid epididymal relation-ship. II. Influence of hyperthyroidism on epididymal lipids. Biochim.biophys.Acta, 792:207-13, 1984.

PIMENTEL, E.R. & TAHIN, Q.S. Purification of soluble amphibian liver mitochondrial ATPase. IRCS Med.Sci., 8: 147, 1980.

PERRET, B.; CHAP, H.J. & DOUST-BLAZY. Asymmetric distribution of arachidonic acid in the plasma membrane of membrane isolation. A determination using purified phospholipases and a rapid method for membrane isolation. Biochim.biophys.Acta., 556:434--46, 1979.

RACKER, E. The two faces of the inner mitochondrial membrane. Essays Biochem., 6: 1-22, 1970.

RAJWADE, M.S.; KATYARE, S.S.; FATTERPAKER, R. & SREENIVASAN, A. Regulation of mitochondrial protein turnover by thyroid hormone (s). Biochem.J., 152:379-87, 1975.

RAO, G.A. & ABRAHAM, S. Enhanced growth rate of transplanted mammary adenocarcinoma induced in C3H mice by dietary linoleate. J.natn.Cancer Inst., 56:431-2, 1976.

REDDY, K.V.S. & RAY, T.K. Lipid composition of goat mammary gland at different stages of lactation. Ind.J.Biochem.Biophys., 18:182, 1981.

RENAUD, S.; DUMONT, E.; GODSEY, F.; SUPLISSON, A. & THEVENON, C. Platelet function in relation to dietary fats in farms from two regions of France. Thromb.Haemost., 40:518-34, 1979.

- RENAUD, S.; MORAZAIN, R.; MCGREGOR, L. & BANDIER, F. Dietary fats on platelet functions in relation to atherosclerosis and coronary heart disease. Haemostasis, 8:234-51, 1979.
- _____.; DUMONT, E.; GODSEY, F.; MORAZAIN, R.; THEVENON, C. & ORTCHANIAN, E. Dietary fats and platelet function in French and Scottish farms. Nutr. Metab., 24:90-104, 1980.
- RICHARDSON, T.; TAPPEL, A.L.; SMITH, L.M. & HOULE, C.R. Polyunsaturated fatty acids in mitochondria. J. Lipid Res., 3:344-50, 1962.
- ROBBLEE, N.M. & CLANDININ, M.T. Effect of dietary fat level and polyunsaturated fatty acid content on the phospholipid composition of rat cardiac mitochondrial membrane and mitochondrial ATPase activity J. Nutr., 114:263-9, 1984.
- RUGGIERI, S. & FALLANI, A. Lipid composition of Yoshida ascites hepatoma and of livers and blood plasma from host and normal rats. Lipids, 14:323-33, 1979.
- SANDERS, T.A.B.; ELLIS, F.R.; PATH, F.R.C. & DICKERSON, J. Studies of vegans: the fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides, erythrocytes, adipose tissue and breast milk some indicators of susceptibility to ischemic heart disease in vegans and omnivore controls. Am. J. Nutr., 31:805-13, 1978.
- SANDLER, M.P.; ROBINSON, R.P.; RABIN, D.; LACY, W.W. & ABUMRADE, N. N. The effect of thyroid hormones on gluconeogenesis and forearm metabolism in man. J. clin. Endocrinol. Metab., 56:479-85, 1983.
- SCHROEDER, F. & SOLER-ARGILACA, C. Calcium modulates fatty acid dynamics in rat liver plasma membranes. Eur. J. Biochem., 132:517-24, 1983.

- SCHWARTZ, R.S. & ABRAHAM, S. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on the activity and content of fatty acid synthetase in mouse liver. Biochim.biophys.Acta, 711:316-26,1982.
- SEITZ, H.J.; MULLER, M.J. & SOBOLL, S. Rapid thyroid-hormone effect on mitochondrial and cytosolic ATP/ADP ratios in the intact liver cell. Biochem.J., 227:149-153,1985.
- SENIOR, A.E. The structure of mitochondrial ATPase. Biochim.biophys.Acta, 301:249-77,1973.
- SETIA, M.S. & JAKOBSEN, P.E. Effect of linoleic acid on oxidative phosphorylation in mitochondria in rats. Z.Tierphysiol. Tierernaehr. Futtermittelkd., 36:113- 17,1975.
- SHECHTER, E. & LEFWILLIER, L. Importance des insaturations des acides gras lipidiques sur les structures et fonctions membranaires. Res. Colloque Acides Gras Polyinsaturés, Paris, 1979.
- SHIMENO, H.; OKAMURA, N.; WALI, A. & KISHIMOTO, Y. Further characterization of the heat-stable factor in the alfa-hydroxylation and oxidation of lignoceric acid in brain: effect of acidic amino acids and hexose-phosphates on brain fatty metabolism. Archv.Biochem.Biophys., 223:95-106,1983.
- SIMON, O. BERGNER, H.; MUNCHMEYER, R. & ZEBROWSKA, T. Studies on the range of time protein synthesis in pigs: the effect of thyroid hormones. Br. J.Nutr., 48:571-81,1982.
- SINCLAIR, A.J. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the mammalian brain. Proc.Nutr.Soc., 34:287-91,1975.
- SMITH, J.A. & DeLUCA, H.F. Structural changes in isolated liver mitochondria of rats during essential fatty acid deficiency. J.cell.Biol., 21:15-21,1964.
- SMITH, S. Biosynthesis of medium-chain fatty acids by mammary epithelial cells from virgin rats. Biochem.J., 212:155-9,1983.

- SMITHSON, J.E. The effects of essential fatty acid deficiency on the liver mitochondria of the rat and mouse. Lab. Invest., 20:207-12, 1969.
- STAKKESTAD, J.A. & BREMER, J. The metabolism of fatty acids in hepatocytes isolated from triiodothyronine-treated rats. Biochim. biophys. Acta, 711: 90-100, 1982.
- _____. & LUND, H. The outer carnitine palmitoyltransferase and regulation of fatty acid metabolism in rat liver in different thyroid states. Biochim. biophys. Acta, 750:244-52, 1983.
- _____. & _____. The effect of nutritional and thyroid state on the distribution of fatty acids between oxidation and esterification in isolated rat hepatocytes. Biochim. biophys. Acta, 793:1-9, 1984.
- STANCLIFF, R.C.; WILLIAMS, M.A.; UTUSUMI, K. & PACKER, L. Essential fatty acid deficiency and mitochondrial function. Archv. Biochem. Biophys., 131:629-42, 1969.
- SUZUKY, H.; TANAKA, M. & IMAMURA, M. Interaction of dietary fat and thyroid function with lipid metabolism of fasted rats. J. Nutr., 109:1405-12, 1979.
- SVAAR, H.; LANGMARK, F.T.; LAMBERT-SEN, G. & OPSTVEDT, S. Morphological changes and fatty acid composition in hearts from pigs fed rapeseed oil, fish oil, partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil and lard Acta Path. Microbiol. Scand., 88:41-8, 1980.
- TAHIN, Q.S.; BLUM, M.; LOTSCHER, H.; RITCHER, C. & CARAFOLI, E. Calcium transport across mitochondrial membranes with dietary lipid alterations. Arg. Biol. Tecnol., 23:127-8, 1980.

TAHIN,Q.S.;BLUM,M. & CARAFOLI,E. The fatty acid composition of subcellular membranes of rat liver, heart, and brain: diet-induced modifications. Eur.J.Biochem.,121:5-13,1981.

_____; CAVALCANTI, T.C.; PISANI,R.; BRENELi,H.B.; TEIXEIRA, L.C. & PINOTTI, J.A. Fatty acid composition of human breast cell carcinoma. In: SABINE,J.,ed. Lipids in cancer. Perth-Australia, 1982, p. 83-6.

_____; Changes in fatty acid composition of heart mitochondria of rat fed diet rich in erucic acid: alteration in activation energy of calcium transport. Abstract 9th World Congress of Cardiology, 2:343,1982.

_____; Importância fisiológica dos ácidos graxos. Arg.Biol. Técnol.,28:335-61,1985.

TIETZ, N.W. Extraction of lipids from biological materials:sam^{ple} preparation. In: TIETZ, N.W.,ed. Fundamentals of clinical laboratory. Philadelphia, Saunders,W.B.,1970. p.321.

VERGROESEN,A.J. Physiological effects of dietary linoleic acid. Nutr.Rev., 35:1-5,1977.

VLES,R.O. Graisses alimentaires, acides gras essentiels et prostaglandines. Revue fr. Corps Gras, 6:1-8,1971.

_____. Problèmes nutritionnels posés par l'huile de colza. Inf.Diétiq., 2:5-8,1975.

_____. & HOUTSMULLER,U.M.T. Connaissances actuelles sur les graisses alimentaires leur importance en nutrition humaine. Revue fr. Corps Grass,11:523-8,1977.

_____; TIMMER,W.G. & ZAALBERG,J.A. Recherche anatomopathologiques chez le rat ingérant différents doses d'huile d'arachide ou d'huile de colza à faible teneur en acid érucique (Huile de Colza Primor). 5^b Étude histologique du myocarde.Annals. Biol.Anim.Biochim. Biophys.,19:501-8,1979.

- VOLFIN,P.; KAPLAY,S.S. & SANADI, D.R. Early effect of thyroxine in vivo on rapidly labeled mitochondrial protein fractions and respiratory control. J.biol.Chem.,244:5631-5,1969.
- WAGNER,D.A.; NAYLOR,P.H.; KIM,U.; SHEA,W.; IP,C & IP,M.M. Interaction of dietary fat and the thymus in the induction of mammary tumors by 7,12-dimethylbez(a)anthracene. Cancer Res. 42:1266-73,1982.
- WALLACH,D. & BROWN, V.J.R. Studies on the arachidonic acid cascade.I. Inhibition of phospholipase A₂ in vitro and in vivo by several novel series of inhibitor compounds. Biochim. Pharmacol.,30:1315-24,1981.
- WAXLER,S.H.; BRECHER,G. & BEAL,S.L. The effect of fat-enriched diet on the incidence of spontaneous mammary tumors in obese mice (40.683). Proc. Soc. exp. Biol. Med.,162:365-8,1979.
- WETZKER,R.; KLINGER,R. & FRUNDER,H. Effects on fatty acid and calmodulin binding of Ca²⁺-ATPase of human erythrocyte membranes. Biochem.biophys.Acta,730:196-200,1983.
- WILLIAMS,M.A.; STANCLIFF,R.C.; PACKER,L. & KEITH,A.D. Relation of unsaturated fatty acid composition of rat liver mitochondria to oscillation period, spin label motion, permeability and oxidative phosphorylation. Biochim.biophys.Acta,267:444-56,1972.