

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

QUIVO SCHWARTZBURD TAHIN

"ALTERAÇÕES DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE LIPÍDEOS MITOCONDRIAIS E MICROSSOMAIS CAUSADAS PELA ADMINISTRAÇÃO DE DISTINTAS DIETAS EM RATOS. EFEITO SOBRE A ENERGIA DE ATIVAÇÃO DO TRANSPORTE DE CÁLCIO ATRAVÉS DE MITOCÔNDRIAS HEPÁTICAS, CARDÍACAS E ENCEFÁLICAS".

TESE APRESENTADA PARA O
CONCURSO DE LIVRE-DOCÊNCIA

CAMPINAS
1983

DEUS É O INÍCIO, O MEIO E O FIM |
DEUS É O MAIOR DOS POETAS |

O amante da VERDADE, da Natureza e
de Deus sã̃o pode ser POETA |

O cientista por causa de seus método
dos frios e calculista esconde o
grande POETA que existe dentro de si |

DEDICO ESTE TRABALHO

a meus pais, meu elo ao INFINITO,
a meus filhos, meu elo ao INFINITO,
a Clara, Tereza e Avelino, meus bons
amigos, sem eles esta Tese provavel-
mente não seria realizada.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Ernesto Carafoli do Instituto Federal de Tecnologia de Zurique (E.T.H.) pelo apoio, incentivo e inspiração que deu ao Autor em várias oportunidades, para a realização desse Trabalho.

ÍNDICE

	Páginas
1 - INTRODUÇÃO	1 -31
1.1. Nomenclatura e exemplos de fontes de AG	2 - 9
1.2. Famílias de AG	9 -13
1.3. Ácidos graxos essenciais (AGE)	13-16
1.4. Metabolismo dos AG. Antagonismo entre as famílias. Efeito de dietas	16-21
1.5. Fisiologia e patologia dos AG	21-28
1.6. Mitocôndrias e transporte de cálcio	28-31
1.7. Objetivos	31
2 - MATERIAIS E MÉTODOS	32-45
2.1. Animais	32
2.2. Dietas lipídicas	32-34
2.3. Preparação de mitocôndrias	34-36
2.4. Preparação de microssomas	36
2.5. Determinação da concentração de proteína	36
2.6. Determinação quantitativa de cálcio	36
2.7. Transporte de Ca^{2+} em mitocôndrias	36-40
2.8. Efeito da temperatura sobre o transporte mitocondrial de Ca^{2+}	40-43
2.9. Análises dos Ácidos Graxos	43-44
2.10. Expressão dos resultados	44-45
3 - RESULTADOS	46-103
3.1. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com <u>di</u> eta-controle	46-50

	Páginas
3.2. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com <u>di</u> eta-óleo de soja (OS)	50-55
3.3. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com <u>di</u> eta-óleo de girassol (OG)	55-60
3.4. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com <u>di</u> eta-gordura de porco (GP)	60-65
3.5. Conteúdo de AG de organelas sub-celula <u>res</u> de ratos tratados com dieta-óleo de fígado de bacalhau (FB)	65-71
3.6. Conteúdo de AG de organelas sub-celula <u>res</u> de ratos tratados com dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (SH)	71-75
3.7. Conteúdo de AG de organelas sub-celula <u>res</u> de ratos tratados com dieta-óleo de colza (CZ)	75-78
3.8. Conteúdo de AG de organelas sub-celula <u>res</u> de ratos tratados com dieta-mistura de triglicerídeos (DT)	78-80
3.9. Variação dos conteúdos dos principais AG de organelas sub-celulares de ratos tra <u>tados</u> em função do tempo e do tipo de <u>di</u> ta	80-88
3.10. Efeito da temperatura sobre o transporte de Ca^{2+} através de mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas de ratos tra <u>tados</u> com diferentes dietas lipídicas	88-103
 4 - DISCUSSÃO	 104-117
4.1. Composição de AG de organelas sub-celulares	104-106
4.2. Alterações causadas por dietas ricas em áci <u>do</u> linoléico	107-110
4.3. Alterações causadas por dieta rica em AGPI n-3	110-112

	Páginas
4.4. Alterações causadas por dietas ricas em AG n-9	112-114
4.5. Efeito das dietas lipídicas sobre o trans- porte de Ca^{2+} em mitocôndrias	114-117
5 - RESUMO	118-120
6 - SUMMARY	121-122
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123-142

ABREVIATURAS

ADP-	adenosina difosfato.
AG-	ácido graxo.
AGE-	ácido graxo essencial.
AGI-	ácido graxo insaturado.
AGMI-	ácido graxo monoinsaturado.
AGPI-	ácido graxo poliinsaturado.
AGS-	ácido graxo saturado.
BSA-	soro albumina bovina.
CM-	solução de clorofórmio:metanol.
CZ-	dieta óleo de colza.
DC-	dieta controle.
DEGS-	dietileno glicol-succinato.
E _A -	energia de ativação.
FB-	dieta óleo de fígado de bacalhau.
GP-	dieta gordura de porco.
HDL-	lipoproteína de alta densidade.
KT-	solução de KCl-Tris.
MS-	solução manitol:sacarose.
MSE-	microsomas encefálicos.
MSH-	microsomas hepáticos.
MT-	dieta mistura-triglicerídeos.
MTC-	mitocôndrias cardíacas.
MTE-	mitocôndrias encefálicas.
MTH-	mitocôndrias hepáticas.
OG-	dieta óleo de girassol.
OS-	dieta óleo de soja.
SH-	dieta óleo de soja parcialmente hidrogenado.
TC-	temperatura crítica.
TT-	temperatura de transição.
VR-	vermelho de rutênio.

1. INTRODUÇÃO

Ácidos graxos (AG) são ácidos carboxílicos encontrados esterificando lipídeos naturais. Esse conceito nos obriga a ampliar o número de AG naturais. Nesse sentido, temos que considerar como AG os ácidos carboxílicos tão simples como o acético, os de números ímpares de carbono, os ramificados e outros menos comuns, juntamente com os mais conhecidos como os AG saturados (AGS) ou alcanóicos, os AG monoinsaturados (AGMI) alcanomonoenóico e os AG poliinsaturados (AGPI) ou alcanopoli-enóicos.

Devido à quantidade existente nas nossas células, estamos acostumados a lembrar como exemplos de AG os ácidos carboxílicos de número par de carbonos e de 16 a 20 carbonos, porém existem AG com menos de 16 carbonos e com mais de 20 carbonos, com número ímpar, etc. Do ponto de vista nutricional, é muito comum a preocupação apenas com a quantidade de calorias que o alimento lipídico fornecerá em uma determinada dieta. Todavia, acreditamos que o bioquímico, o nutricionista e o patologista deverão aprender a considerar o fator qualidade ou o tipo de AG como de grande relevância para o equilíbrio vital do organismo e não apenas a quantidade de calorias que aquele AG estará fornecendo.

Assim como aprendemos que cada um dos aminoácidos e cada um dos monossacarídeos possuem papéis biológicos específicos, devemos também conhecer a importância biológica de cada AG individualmente. É escopo desta Tese chamar a atenção para a necessidade de conhecermos os AG que existem nas nossas dietas e a repercussão que eles possam ter sobre a manutenção de estruturas tão importantes como as membranas biológicas como também sobre inúmeros processos fisiológicos e patológicos.

1.1. Nomenclatura e exemplos de fontes de AG - Neste trabalho representaremos um AG pelo número de carbonos e pelo grau de insaturação, indicando-se o número de duplas ligações, isto é, se for AGS será zero, ou 1,2,3, etc., no caso de serem respectivamente mono, di, tri-insaturados, etc. Por exemplo, o ácido esteárico ou octadecanóico seria C18:0, o oléico ou octadecamonoenóico 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 nos exemplos acima (92,94,95).

Vários AG possuem nomes comuns, porém alguns biologicamente importantes não os possuem e são conhecidos pela sua nomenclatura química-orgânica. Do ponto de vista metabólico, fisiológico e mesmo patológico é absolutamente necessário precisar a posição da última dupla ligação dos AG insaturados. Essa informação deverá ser acrescentada à representação numérica de um AGMI ou AGPI. Uma nomenclatura mais completa deve contar os números indicativos dos carbonos com duplas ligações, todavia, do ponto de vista biológico é muito mais importante indicar apenas a posição da última dupla ligação, isto é, a mais próxima do grupo metila terminal do AG. Há atualmente duas formas de representar a posição dessa última dupla ligação: com a letra n ou a letra grega ω seguidas de um número que indica o número de carbonos que dista da última ligação até a metila terminal. Por exemplo, o ácido linoléico (9,12-C18:2) ou octadecadienóico será representado por 18:2 n-6 ou por 18:2 ω6, pois a última dupla ligação dista de 6

carbonos até a metila terminal e o ácido linolênico (6,9,12-18:3) ou ácido octadecatrienóico será representado por 18:3 n-3 ou por 18:3 ω3 pois a última dupla ligação dista de 3 carbonos até a metila terminal. Neste trabalho adotamos a representação n por considerá-la mais apropriada.

Os AG são encontrados distribuídos na Natureza de uma forma muito variada. Alguns são raríssimos para a maioria dos animais e vegetais mas muito comuns em uma ou mais espécies de vegetal ou de animal e outros são universalmente distribuídos por quase todos os seres vivos. Por outro lado, num mesmo indivíduo, podemos encontrar uma quantidade de um AG em um tecido e outras quantidades muito distintas em outros tecidos

Os principais AGS ou alcanóicos são os seguintes:

- 2:0 ou etanóico ou acético
- 4:0 ou butanóico ou butírico
- 5:0 ou pentanóico ou valérico
- 6:0 ou hexanóico ou caprónico
- 8:0 ou octanóico ou caprílico
- 9:0 ou nonanóico ou pentanóico
- 10:0 ou decanóico ou cáprico
- 11:0 ou hendecanóico ou undecílico
- 12:0 ou dodecanóico ou laúrico
- 13:0 ou tridecanóico ou tridecílico
- 14:0 ou tetradecanóico ou mirístico
- 15:0 ou pentadecanóico ou pentadecílico
- 16:0 ou hexadecanóico ou palmítico
- 17:0 ou heptadecanóico ou margárico
- 18:0 ou octadecanóico ou esteárico
- 19:0 ou nonadecanóico ou nonadecílico
- 20:0 ou eicosanóico ou araquídico
- 21:0 ou hencosanóico
- 22:0 ou docosanóico ou behênico
- 23:0 ou tricosanóico
- 24:0 ou tetracosanóico ou lignocérico

26:0 ou hexacosanóico ou cerótico
 28:0 ou octacosanóico ou montânico
 30:0 ou triacontanóico ou melíssico
 35:0 ou pentatriacontanóico ou ceroplástico
 40:0 ou tetracontanóico

Os AG insaturados naturais apresentam isomeria cis predominantemente. Os AGPI naturais são também predominantemente cis, isto é, todas as duplas ligações apresentam isomeria cis. Todavia, alguns vegetais, microorganismos, podem apresentar isomeria trans e alguns AGPI podem ser mistos, isto é, algumas duplas ligações cis e outras trans na mesma molécula (93,95).

Quando existem mais de uma dupla ligação, numa mesma cadeia de hidrocarbonetos, elas podem ser do tipo conjugada ou - C = C - C = C -, isto é elas são adjacentes separadas apenas por 1 carbono ou do tipo não-conjugadas ou - C = C - (C)_n = C - isto é, elas estão separadas por mais de 1 carbono. Os AGPI naturais do tecido humanos, de animais e vegetais superiores são predominantemente todo cis e com duplas ligações do tipo não-conjugado contendo 2 carbonos separando as duplas ligações: - C = C - C = C - (93).

As principais fontes de AG naturais mais comuns, segundo MARCLEY (93,95), são as seguintes:

2:0 (ácido acético), em triglicerídeos de A.lumbricoides.

3:0 (ácido propionico) em laticínios.

5:0, 7:0, 9:0, 11:0, 13:0, 15:0 e 17:0 - Esses AG saturados ímpares são raros , mas podem ser encontrados na gordura de cabelo humano.

8:0 e 10:0- largamente distribuídos nos tecidos vegetais e animais porém raramente excedendo a 8% do total de AG: encontrados nos lipídeos do leite, na gordura de coco, em várias frutas como "grape-fruit", uvas, laranja, etc.

12:0 (ácido láurico)- um dos tres AGS mais abundantes da maioria dos seres vivos. Os lipídeos de sementes de Lauraceae, por exemplo pode conter até 90% desse AG. Tam-

bém sementes de Palmaceae são muito ricas em ácido láurico , como a gordura de coco e também encontrada na manteiga.

14:0 (ácido mirístico)- É também abundantemente distribuído na Natureza geralmente em quantidades pequenas de 1 a 5%, porém em alguns vegetais da família Myristicaceae (daí o nome desse AG) pode conter até 75% de ácido mirístico, certos óleos de semente de Palmaceae podem apresentar até 20% e em gorduras animais, no leite e no esperma de baleia também podemos encontrá-lo.

16:0 (ácido palmítico)- Abundantemente encontrado em todos animais e vegetais, comumente em quantidades inferiores a 5%. Contudo, certos tecidos de um determinado vegetal ou animal podem apresentar quantidades bem maiores. Por exemplo, os óleos comestíveis de semente de milho, soja, amendoim, etc. podem chegar a 10%, o de oliva 15%, algodão e abacate 20% ou mais, gordura de porco e outros sebos animais e gordura de coco e de outras palmáceas podem conter até 35% ou mais; o sebo vegetal chinês pode conter até 70%; óleos extraídos de peixes e outros animais aquáticos podem conter até 15%.

18:0 (ácido esteárico)- Universalmente distribuído na Natureza. Encontrado nas sementes de óleos comestíveis vegetais em pequenas quantidades (2-8%), na manteiga, gordura de porco, outros sebos animais, gordura de porco, etc.

20:0 (ácido araquídico) - Componente minoritário (menos que 1%) dos óleos vegetais comestíveis, com exceção do óleo de amendoim, que pode conter 2 - 3 %.

22:0 (ácido behênico) - Raro, tanto em animais como vegetais. Excepcionalmente óleos de sementes de alguns vegetais podem conter maiores quantidades desse AG: as mustardas podem apresentar até 4%, colza até 2,1%, rabanetes até 3,4%, algumas espécies apresentam até 6,5 % desse AG como as do gênero Moringa.

24:0 (ácido lignocérico)- Largamente distribuído na Natureza, embora em pequenas quantidades. O tecido nervoso e os esfingolipídeos das membranas de hemácias são particularmente ricas nesse AG, também é encontrado em ceras de insetos e em

lã, carnaúba, etc.

4:1 (ácido crotônico) - AG raro. Isolado de lipídeos de óleo de semente de Croton tiglium, daí o seu nome.

12:1 (ácido duodecanomonoenólico) - Existe na Natureza 3 isômeros: o 4-12:1 n-8 em vegetais encontrados na Ásia; o 5-12:1 n-7 encontrado em lipídeos do peixe heringa e o 9-12:1 n-3 encontrado no leite

14:1 (ácido tetradecamonoenólico) - Pelo menos 3 isômeros foram encontrados na Natureza: o 4-14:1 n-10, 5-14:1 n-9 e 10-14:1 n-5 em algumas espécies vegetais, esperma de baleia, alguns tecidos animais, leite, etc.

15:1 (ácido pentadecamonoenólico) - Um isômero encontrado na Natureza é o 6-15:1 n-9 na gordura de cabelo humano.

16:1 (ácido hexadecamonoenólico) - O principal isômero natural é o 9-16:1 n-7 (ácido palmitoléico), largamente distribuído nos tecidos animais, geralmente em pequenas quantidades, porém em algumas espécies são particularmente ricas em ácido palmitoléico. Por exemplo, 35% dos AG dos lipídeos de Lycopodium clavatum, 20% de AG de certas algas marinhas, 15-20% dos de animais marinhos. O isômero 7-16:1 n-9 é encontrado em depósitos gordurosos de peixes e anfíbios, no leite e em óleos comestíveis. Um isômero mais raro que pode ser encontrado na gordura de cabelos humanos é o 6-16:1 n-10. Vários isômeros trans naturais foram já encontrados.

18:1 (ácido octadecamonoenólico) - O principal isômero natural é o 9-18:1 n-9 (ácido oléico), largamente distribuído nos lipídeos de tecidos animais e vegetais. Vários óleos comestíveis, particularmente o de oliva, são muito ricos em ácido oléico, podendo conter 50% ou mais desse AG. O tecido nervoso possui mais ácido oléico do que outros tecidos animais. Alguns óleos vegetais possuem os isômeros 8-18:1 n-10 e o 10-18:1 n-8. O isômero 11-18:1 n-7 é encontrado em pequenas quantidades em lipídeos de cérebro, óleo de baleia, etc. Alguns isômeros menos comuns, são encontrados em diminutas quantidades na gordura de cabelos humanos. O isômero trans 9-18:1 n-9 (ácido elaídico) é muito raro, mas pode

ser encontrado nas gorduras de ruminantes, leite, etc.

20:1 (ácido icosamonoenólico)- O isômero 5-20:1 n-15 pode ser encontrado em algumas espécies de vegetais. O isômero 9-20:1 n-11 e o 11-20:1 n-9 é encontrado principalmente nos lipídeos de peixes e animais marinhos.

22:1 (ácido docosamonoenólico)- O isômero 11-22:1 n-11 (cetolêico) é encontrado em óleos de animais marinhos como baleia, tubarão, sardinhas. O 13-22:1 n-9 (ácido erúcico) é raramente encontrado nos vegetais e animais, porém algumas espécies são muito ricas nesse AG, como óleos de semente das Cruciferae e da Tropaeolacea. Por exemplo, alguns tipos de mustarda, colza e outros vegetais podem conter de 40 a 80% desse AG.

24:1 (ácido tetracosamonoenólico)- O isômero mais importante é o 15-24:1 n-9 (ácido nervônico), encontrado nos cerebrosídeos e lipídeos de tecido nervoso, em peixes e em alguns vegetais. Geralmente em pequenas quantidades.

26:1 (ácido hexacosamonoenólico) - Existem vários isômeros ainda não identificados em cerebrosídeos e esfingomielinas de cérebro. O isômero 9-26:1 n-17 é encontrado em animais marinhos, como esponjas e o 17-26:1 n-9 é encontrado exclusivamente em alguns vegetais.

10:2 (ácido decadienólico)- Muito raro. O isômero 4-10:2 n-6 é encontrado no óleo de semente de Sapium sebeferum ou sebo vegetal chinês ou de Sabium discolor.

12:2 (ácido duodecadienólico) - O isômero 4-12:2 n-8 pode ser encontrado em algumas espécies da família Euforbiaceae.

14:2 e 16:2 (ácido tetradecadienólico e hexadecadienólico)- Podem ser encontrados em diminutas quantidades em lipídeos de tecidos animais.

18:2 (ácido octadecadienólico)- O isômero natural mais importante é o 9,12-18:2 n-6 (ácido linolêico). Largamente, distribuído nos vegetais e animais. É o AG mais abundante da maioria dos óleos comestíveis, podendo chegar até 65% como os de sementes de soja, girassol, milho, etc. Praticamente, em todos os tecidos animais encontramos de 1-18% de ácido linolêico, variando muito de tecido para tecido de um mesmo organismo. O

tecido mais pobre é o nervoso e um dos mais ricos é o cardíaco. Para os mamíferos é considerado como ácido graxo essencial (AGE) por ser indispensável e não-ser sintetizado por esses animais.

22:2 (ácido docosadienóico)- Pouco comum. Pode ser encontrado em óleo de semente de colza.

16:3 (ácido hexadecatrienóico) - Pouco comum . O isômero 14-16:3 n-2 pode ser encontrado em sardinhas e outros peixes marinhos, o 13-16:3 n-3 pode ser encontrado em quantidades expressivas em algumas espécies vegetais como Brassica napus (11-17%).

18:3 (ácido octadecatrienóico)- Largamente distribuído na Natureza, porém geralmente em diminutas quantidades. Podemos encontrar o isômero 6,9,12-18:3 n-6 (ácido gama linolênico), porém mais como produto de desnaturação do ácido linoléico e precursor de síntese de outros AGPI n-6 do que esterificando lipídeos celulares. O isômero mais importante é o 9,12,15-18:3 n-3 (ácido α -linolênico ou simplesmente ácido linolênico) que para os peixes é considerado um AGE e para os mamíferos não está ainda totalmente esclarecido se realmente seria estritamente ou parcialmente essencial. Existem na Natureza outros isômeros, inclusive de isomeria trans.

20:3 (ácido icosatrienóico) - Existem pelo menos 3 isômeros naturais importantes, principalmente para os tecidos animais, embora existam sempre em pequenas quantidades. O 5,8,11-20:3 n-9 é encontrado nos fosfolipídeos de cérebro. O 8,11,14-20:3 n-6 (ácido di-homo- γ -linolênico) é encontrado em óleo de fígado de peixes. O 11,14,17-20:3 n-3 (ácido di-homolinolênico) é encontrado em pequenas quantidades em membranas de hepatócitos e outras células animais.

22:3 (ácido docosatrienóico)- O isômero 7,10,13-22:3 n-9 é encontrado em fosfolipídeos do cérebro. O 8,11,14-22:3 n-8 é encontrado em óleo de fígado de alguns peixes.

16:4 (ácido hexadecatetraenóico)- Os isômeros 6,9,12,15-16:4 n-1 e o 5,8,11,14-16:4 n-2 são encontrados em

alguns peixes marinhos.

20:4 (ácido icosatetraenóico)- O isômero mais importante para os tecidos animais é o 5,8,11,14-20:4 n-6 (ácido aracdônico) isolado em 1909 por HARTLEY. Presente nas lece^{ti}nas e cefalinas do tecido nervoso e praticamente em todos os tecidos animais, inclusive no ganglionar, músculos, glândulas, etc. Um isômero menos comum é o 4,8,12,16-20:4 n-4, encontrado em óleos de fígado de alguns peixes e de porco também.

22:4 (ácido docosatetraenóico)- Encontramos nos fosfolipídeos do cérebro os isômeros 4,7,10,13-22:4 n-9 e o 7,10,13,16-22:4 n-6 é o mais abundante dos dois e é o terceiro AGPI do tecido nervoso em quantidade. Provavelmente, a sede de biossíntese do 22:4 n-6 seja realmente o tecido nervoso e as pequenas quantidades que podem ser detectadas em outros tecidos, provavelmente foram sintetizados no tecido nervoso.

20:5 (ácido icosapentaenóico)- O isômero mais importante é o 5,8,11,14,17-20:5 n-3. Normalmente é encontrado em vários tecidos animais mas em pequenas quantidades. É encontrado em maiores quantidades em óleos de fígado de peixes, particularmente o de bacalhau. O isômero 4,8,12,15,18-20:5 n-2 é muito menos comum e pode ser encontrado em alguns peixes como sardinhas.

22:5 (ácido docosapentaenóico) - Existem dois isômeros presentes nos tecidos animais, ambos em pequenas quantidades. O 7,10,13,16,19-22:5 n-3, mais frequentes em peixes. O segundo isômero é o 4,7,10,13,16-22:5 n-6, encontrado nos fosfolipídeos do cérebro e outros tecidos.

22:6 (ácido docosaheptaenóico) - O isômero natural mais importante é o 4,7,10,13,16,19-22:6 n-3 muito frequente nos lipídeos de tecidos animais, encontrados em maiores quantidades nos animais marinhos.

1.2. Famílias de AG - A quase totalidade de AG que existem nas células dos tecidos humanos, de mamíferos e de outros animais superiores, pertencem a uma das quatro famílias ou séries de AG:

1.2.1. AGS ou família dos ácidos graxos saturados-

Esses AG 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 2 carbonos se dá nos microsomas ou mitocôndrias.

No esquema 1, mostramos a enlongação dos AGS mais comumente encontrados nos lipídeos celulares humanos e animais:

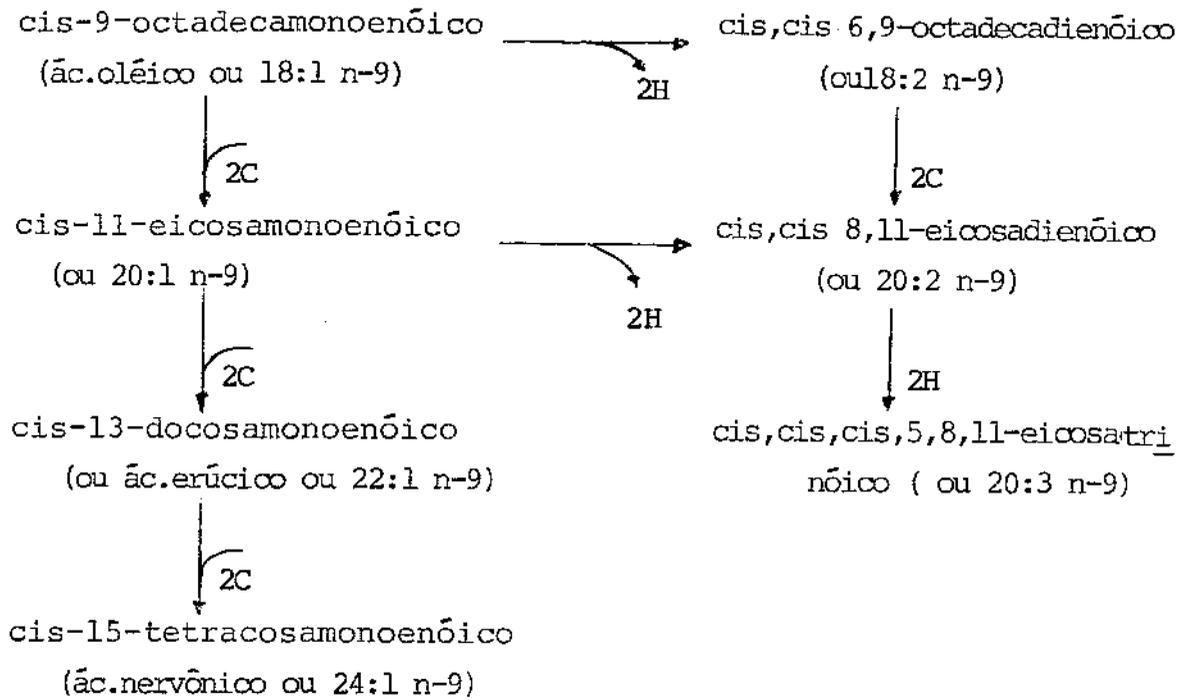
Esquema 1 - Família dos AGS mais comuns

Ácido láurico	12:0
↓ 2C	
Ácido mirístico	14:0
↓ 2C	
Ácido palmítico	16:0
↓ 2C	
Ácido esteárico	18:0
↓ 2C	
Ácido araquídico	20:0
↓ 2C	
Ácido behênico	22:0
↓ 2C	
Ácido lignocérico	24:0

1.2.2. Família dos AG insaturados n-9 ou AGI n-9 -

Essa família também é conhecida como família do ácido oléico por ser este AG o precursor principal que irá originar os outros membros dessa série. O 18:1 n-9 é formado pela dessaturação, ou seja, desidrogenação microsomal catalisada pela Δ^9 dessaturase. A partir do ácido oléico os AG superiores são formados por enlongação sucessivas: incorporando dois carbonos. Os AGIn-9 mais comuns, são os monoinsaturados, todavia, podemos também encontrar AG poliinsaturado n-9 (Esquema 2).

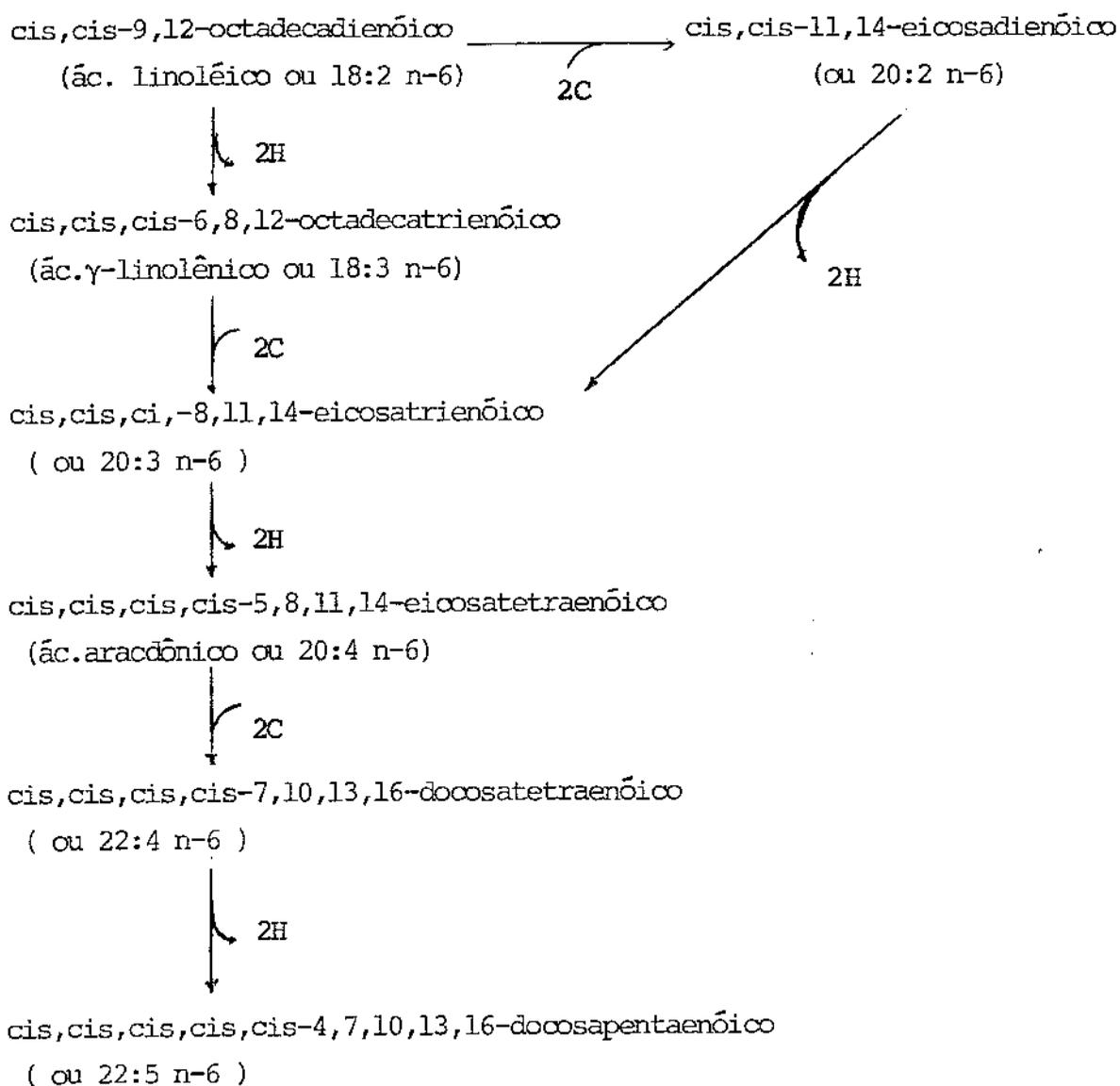
Esquema 2 - Família dos AGI n-9 ou do ácido oléico



1.2.3. Família dos AG poliinsaturados n-6 ou AGPI n-6 - Essa família também é conhecida como família do ácido linoléico por ser esse AG o precursor de todos os outros AG dessa série. O ácido linoléico é absolutamente requerido na nossa dieta, por não ser sintetizado no nosso organismo nem dos mamíferos. A partir do 18:2 n-6 todos os outros AGPI n-6 são sintetizados nas nossas células por mecanismos de alongação e de dessaturação. Esses processos podem ser microssomais ou mitocondriais.

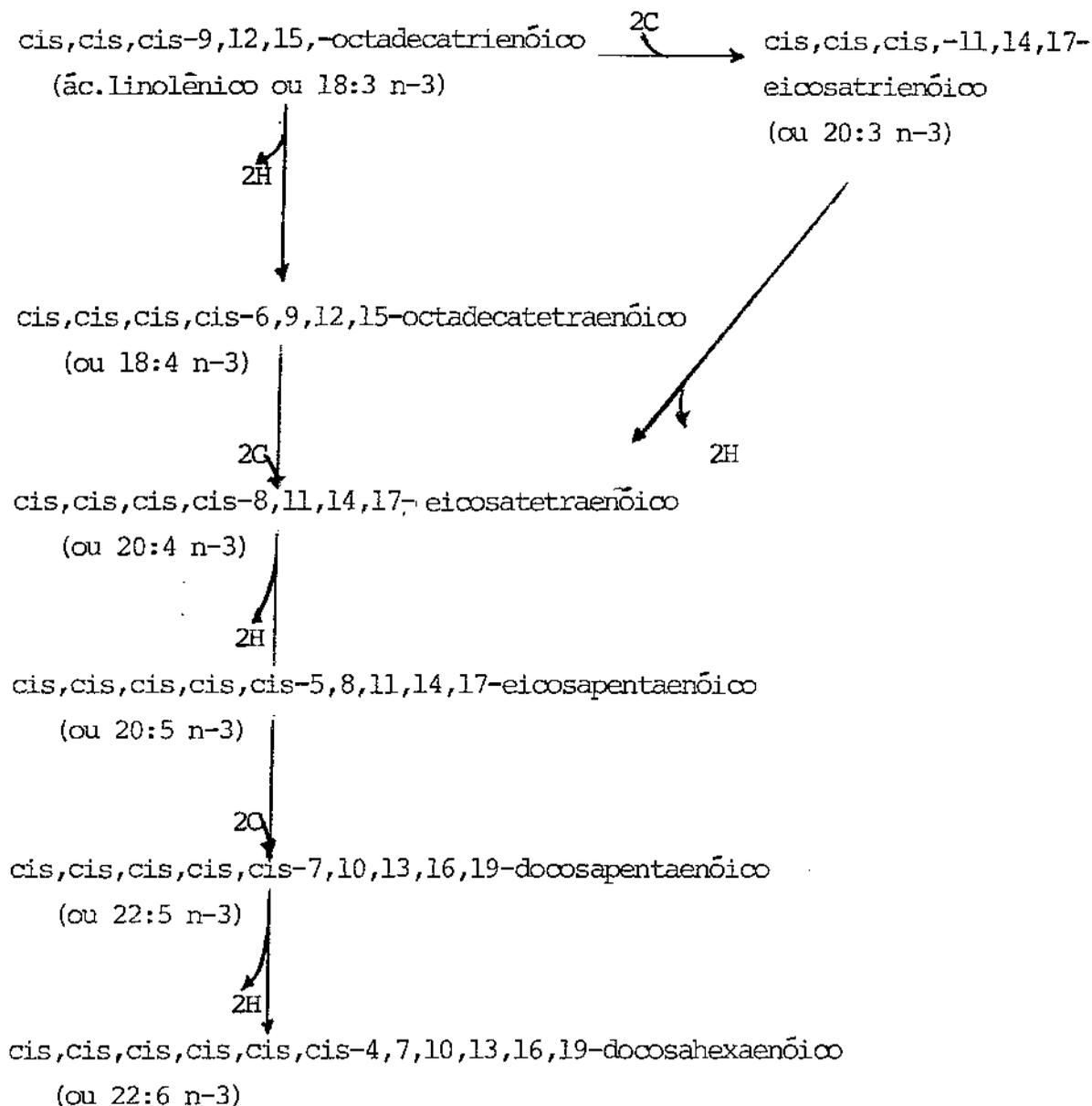
No esquema 3, mostramos as principais vias de formação dos AGPI n-6 mais comuns.

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



1.2.4- Família dos AG poliinsaturados n-3 ou AGPI n-3 - Essa família também é conhecida por família do ácido linolênico por ser esse AG, o precursor dos demais AG dessa série. A biossíntese dos AGPI n-3 se dá também por mecanismos mitocondriais e microsossomais 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



1.3. Ácidos graxos essenciais (AGE) - O conceito sobre AGE pode trazer algumas controvérsias (79). O associação de necessidade de ingestão de lipídeos com várias síndromes de deficiência tem sido descrita já há mais de 50 anos, porém apenas nos últimos 25 anos foram publicados trabalhos que puderam esclarecer melhor o verdadeiro papel fisiológico e patológico dos AG. Em 1929, BURR e BURR (27), realizaram um trabalho histórico demonstrando que a completa ausên-

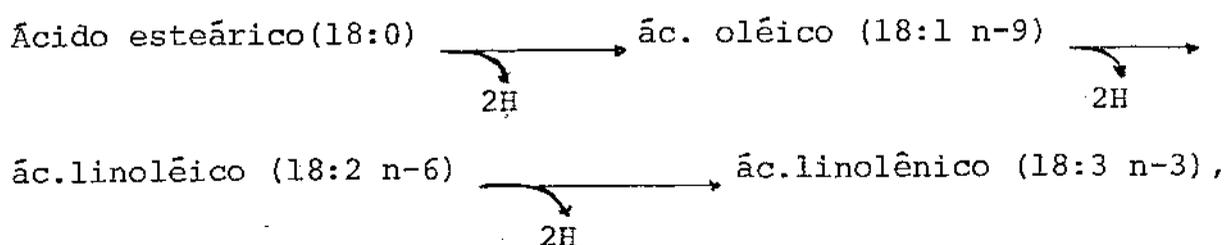
cia de lipídeos na dieta causava em ratos deficiências como necrose da cauda, diminuição do crescimento, morte prematura, dermatites, queda dos pelos, especialmente da face, costas e pescoço, feridas na pele, etc., como sendo uma nova doença, distinta das avitaminoses conhecidas. Esses autores demonstraram que pequenas quantidades de gordura de porco adicionadas diariamente a dieta causava uma rápida regressão de vários processos mórbidos e até os curavam. Todavia, embora aqueles autores tivessem chamado a atenção de que a carência dos AG que existem nos lipídeos comestíveis pudessem ser a causa das doenças descritas, apenas muitos anos depois foi demonstrado definitivamente qual ou quais seriam os AG realmente requeridos na nutrição humana e animal. Em 1970 GUARNIERI e JOHNSON (64) publicaram uma extensa revisão sobre os AGE, descrevendo a relação entre os AGE com vitaminas, hormônios, prostaglandinas, peroxidação de lipídeos, funções membranas-dependentes, etc.

Existem vários critérios para se determinar se um AG é essencial ou não. O mais comum seria fornecer ao animal, em geral rato, uma dieta livre de lipídeos, acrescentando-se apenas um determinado ácido graxo que se queira estudar: determina-se, então, o ganho de peso corpóreo, número e extensão de lesões dérmicas e pode-se realizar ainda alguns ensaios bioquímicos como a determinação da relação AGPI trienônicos e tetraenônicos, formação de peróxidos de lipídeos, etc. (64,79).

É muito frequente encontrarmos referências de que os ácidos linoléico, linolênico, aracdônico ou mesmo os ácidos graxos poliinsaturados em geral seriam AGE. Embora os polienóis da série n-6 e n-3 tenham atividades de AGE (64), deveremos ser capazes de restringir cada vez mais o número de AG que possam realmente ser considerados estritamente "essencial", isto é, não bastaria que aquele AG tivesse a capacidade de curar as manifestações mórbidas causadas por uma dieta livre de lipídeos, adicionando-se a esta aquele AG, é necessário estabelecer definitivamente se o AG não é sinte-

tizado pelas células do animal em estudo a partir de um precursor. Nesse sentido, apesar de que o ácido aracdônico seja muito importante para muitas atividades vitais celulares (nesse sentido seria essencial) ele é perfeitamente sintetizado a partir do ácido linoléico, então nesse critério não seria estritamente essencial.

Os vegetais sintetizam normalmente AGPI, tanto da família n-6 como n-3, a partir da dessaturação dos AGS, conforme descrito abaixo:



essa seria uma tendência dos vegetais, havendo dessaturações nos cloroplastos (58) ao contrário da tendência dos animais cujas dessaturações do ácido oléico é geralmente microsomal e o transforma em AGI n-9 superiores (97,98), conforme descrito no Esquema 2.

Vários trabalhos tem sido publicados visando investigar possíveis atividades de AGE de certos precursores. Assim, já foi detectada a formação de ácido linoléico a partir de 2-8:1 n-6 em galinhas, mas não em ratos; o 5,8-14:2 n-6, com pequeno rendimento, e o 7,10-16:2 n-6 produziu ácido linoléico e ácido aracdônico em ratos "in vivo"; o 7,10,13-16:3 n-3 e o 4,7,10,13-16:4 n-3 podem ser convertidos em 20:5 n-3 em ratos "in vivo"; em cultura de célula HeLa foi demonstrado que os ácidos 14:2 n-6, 16:2 n-6 e o 16:3 n-6 podiam ser precursores de síntese de 18:2 n-6 o que não ocorria com o ácido 3,6-12:2 n-6 (64).

Para muitos mamíferos como por exemplo ratos, porcos, cobaias, coelhos, cães o requerimento dietário do ácido linoléico tem sido amplamente demonstrado. Todavia, para o homem tem sido difícil demonstrar tal dependência, devido a

não ser possível administrar uma dieta realmente isenta de lipídeos por períodos longos e porque experiências até agora realizadas, com dietas de baixos teores de lipídeos, em humanos adultos não puderam demonstrar síndromes de carências (79, 122). Em animais de laboratório, tem sido demonstrado que os AGE são mais indispensáveis nos jovens do que nos adultos e que uma quantidade mínima ideal para o desenvolvimento máximo seria 2% das calorias dietárias na forma de ácido linoléico, provavelmente esse requerimento seria também necessário para os seres humanos e é um fato bem estabelecido que o ácido linolênico e outros AGPI n-3 não substituem o ácido linoléico nas síndromes de deficiências de AGE (64, 79, 121, 175).

Todavia, para os peixes o ácido linoléico não é um AGE estrito. Para o crescimento normal e prevenção de qualquer sintoma de deficiência desses animais, os AGPI n-3 são estritamente requeridos e de um modo geral, o ácido linolênico é o precursor, portanto, o AGE para os peixes (89, 121). Algumas espécies exigem outros AGPI n-3 superiores e altamente poliinsaturados em sua dieta, porém é provável que esse requerimento seja corrigido pela ingestão de maiores quantidades de ácido linolênico (89). LEGER (89) mostrou que a atividade da Δ^6 dessaturase nos peixes marinhos é menor do que a dos peixes de água doce e que a Δ^4 dessaturase era muito pouco ativa nos mamíferos, é muito ativa nos peixes, sintetizando assim maiores quantidades do AG 22:6 n-3. Esse autor, mostrou ainda que nos peixes a Δ^6 dessaturase parece não ser influenciada pelos mesmos efetores que nos mamíferos e que para os peixes a relação 20:3 n-9/22:6 n-3 poderia ser um bom índice de deficiência em AGE nutricional. Estes fatos tornam os peixes um bom modelo de estudos sobre AG por terem comportamentos metabólicos distintos dos mamíferos (89).

1.4. Metabolismo dos AG. Antagonismo entre as famílias. Efeito de dietas - As enzimas que catalisam a desidrogenação de um AG, chamadas por dessaturases, são específicas para uma determinada posição de carbonos da cadeia. Assim, são

conhecidos como $\Delta^4, \Delta^5, \Delta^6, \Delta^9$, etc. dessaturases (16-18, 34, 42, 57, 182). 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 (57). Uma dessaturase que catalisa a desidrogenação de um AG de uma determinada família não catalisa provavelmente a de outros AG de outras famílias ou até mesmo de certos AG da mesma família. O ácido aracdônico, por exemplo, pode ser sintetizado a partir de vários precursores como os ácidos linoléico, γ -linolênico ou o 20:3 n-6, porém as conversões do 18:2 n-6 em 18:3 n-6 e do 20:3 n-6 em 20:4 n-6 devem ser catalisados por enzimas distintas (16-18).

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 (16-19, 34, 35, 52, 53, 57, 64, 70, 71, 89, 90, 145, 162, 163). O ácido oléico inibe a dessaturação tanto do ácido linoléico como do ácido linolênico (18, 34). O metabolismo do ácido linolênico é inibido pelos ácidos aracdônico, γ -linolênico e linoléico (58).

Os vegetais sintetizam facilmente os ácidos linoléico e linolênico a partir do ácido oléico pela ação de sistemas de dessaturases, provavelmente, diferentes dos animais e que são favorecidas pelas temperaturas mais baixas (68, 97, 98).

O tecido nervoso também é capaz de promover alongação e dessaturações. O citosol, mitocôndrias e microsossomas sintetizam AGS de cadeias longas que fazem parte das estruturas mielínicas, sintetizam os AGI n-9 que existem em maior quantidade do que a maioria dos outros tecidos e ainda são capazes de sintetizar AGPI tanto n-6 como n-3, provavelmente, a partir dos ácidos linoléico e linolênico, respectivamente, por mecanismos ainda pouco conhecidos (15, 31, 41, 51, 114, 119, 152, 154, 191).

Células renais em cultura absorve avidamente AG exógeno e os incorpora nos seus fosfolipídeos. Essas células absorvem e reutilizam seletivamente o ácido aracdônico e há uma competição entre os ácidos palmítico, esteárico, oléi

co e linolêico (35). Foi demonstrado ainda que essas células possuíam elongases e dessaturases que convertiam facilmente o ácido linolêico em aracdônico mas que outros AGPI como 18:3 n-6, 18:3 n-3, 20:3 n-6 e especialmente o trans,trans,9,12 - 18:2 n-6 diminuíam muito a atividade da Δ^6 dessaturase quando a concentração de 18:2 n-6 celular era baixa, visto que, aumentando-se a concentração de ácido linolêico era suprimido o efeito inibidor daqueles AGPI (34).

Nas células hepáticas, além das reações metabólicas de alongação e dessaturação já citadas e de β -oxidação catabólicas, várias outras podem ocorrer com os AG. Nos microsossomas hepáticos os AGPI podem ser oxidados e oxigenados dando hidroxíácidos na presença de NADPH e é provável que quantomais próxima estiver a dupla ligação do final metilênico mais fácil será essa oxigenação (116).

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" como "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 daquele (108). 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 das concentrações, de vários AG e o próprio 20:3 n-6 inibe a dessaturação do 18:2 n-6 em 18:3 n-6 (16,17,18,72). O 22:6 n-3 inibe as dessaturações dos ácidos oléico e linolêico, por outro lado, 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 (18).

Alguns AG, como o 18:2 n-6, 20:3 n-6 e 20:5 n-3 são precursores de compostos biologicamente ativos importantes, como as prostaglandinas (6,52,63,64,173,175).

Vários fatores exógenos como o consumo de cigarros, de álcool (137,156,165,169), drogas (1,53,65,166,167,173), etc. e principalmente os nutricionais, podem causar profundas altera

ções no metabolismo lipídico, composição e metabolismo dos AG celulares com importantes repercussões fisiológicas, patológica e no equilíbrio bioquímico das interações entre as famílias dos AG. Estudos com seres humanos que por hábitos culturais ou por outras contingências ambientais, alimentam-se com uma fonte lipídica constante e predominante, irão apresentar composições plasmáticas, tissulares, do leite, etc. de AG características e 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 aracdônico e menores de docosahe-xaenônico no plasma, leite materno, tecido adiposo e hemácias, ao contrário dos omníveros os quais são em média mais obesos que os vegetarianos (143). Os vegetarianos, de modo geral, apresentam menores quantidades de lipídeos plasmáticos que os omníveros, particularmente são inferiores as taxas de colesterol total, do colesterol ligado à lipoproteínas de baixa densidade e da apoproteína B, fatores de risco de doenças cardiovasculares (112).

Estudos 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, apresentam maiores quantidades de AGI n-9 e menores de AGPI n-6 nos lipídeos plasmáticos e plaquetários em relação aos que ingeriam dietas com menos lipídeos e menos AGS (135-138). 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 de 20:4 n-6 nos lipídeos sanguíneos e consequentemente apresentam baixo índice de trombose, porém tendências a hemorragias (52). Estudos semelhantes foram realizados com aborígenes australianos que se alimentavam com frutos do mar. Esses indivíduos apresentaram nos lipídeos sangüíneos menores teores de AGPI n-6 (com excessão do ácido aracdônico) e maiores de todos AGPI n-3, todavia, quando seus ali-

mentos vinham de zonas tropicais eles apresentavam maior conteúdo de 20:4 n-6, indicando que provavelmente os animais marinhos de águas mais quentes tinham maior conteúdo de 18:2 n-6 do que os de águas mais frias (46). Existem muitas evidências de que em humanos o teor de AGS e os AGI dietários causam alterações na composição de lipídeos plasmáticos (46, 52,60,112,135-138,143).

Os animais mamíferos e aves que se alimentam de peixes, principalmente marinhos, ricos em AGPI n-3, apresentam composição de AG mitocondriais hepáticos mais ricos em AGPI n-3 e mais pobres em AGPI n-6, do que os que se alimentam com outras fontes (139). Animais herbívoros apresentam composições de AG tissulares diferentes dos carnívoros, os primeiros metabolizam no fígado o 18:3 n-3 até 22:5, enquanto que os segundos até 22:6 mas ambos metabolizam predominantemente o 18:3 n-3 até 22:6 no encéfalo e de um modo geral se observou em várias espécies de animais que as fosfoetanolaminas encefálicas apresentavam composições de AG similares, porém as hepáticas possuem composições de AG que variavam muito de espécie para espécie (40).

Corações em perfusão de ratos e coelhos alimentados com uma dieta contendo como fonte lipídica o óleo de girassol (rico em 18:2 n-6) liberam prostaciclina PGI_2 mais do que os de animais alimentados com gordura de porco ou óleo de coco hidrogenado (47). Dietas ricas em ácido linoléico altera a composição de AG plaquetária e induz uma diminuição da susceptibilidade de agregar plaquetas induzida pela trombina e ADP e prolonga o tempo de coagulação do plasma rico em plaquetas, enquanto que as dietas ricas em AGS tem um efeito oposto, tanto em humanos (84,135-138) quanto em animais (5,101-103,172).

Estudos comparativos com dietas ricas em AGI n-9 (óleos de amendoim, colza, oliva) e em AGPI n-6 (óleos de milho, soja, girassol) revelam importantes alterações na composição de AG de vários tecidos, no desenvolvimento, aleitamento, etc. (14,37,39,114) em animais.

Ratos tratados com altas doses de noradrenalina, causando um grande "stress", apresentam grandes alterações nos AG dos lipídeos do miocárdio de ratos, diminuindo muito os AGPI n-6, principalmente o 18:2 e aumentando muito a série n-3, havendo uma possível correlação entre batimentos cardíacos e a taxa de docosahexaenóico (53,65). Com seres humanos, foi também demonstrado, após necrópsia cardíaca de indivíduos mortos por síncope cardíaca ou por suicídio (alto "stress"), que havia um grande aumento do 22:6 n-3 e diminuição do 18:2 n-6 (65).

Ratos desmamados precocemente podem apresentar problemas imunológicos dependendo do conteúdo de lipídeos dietários recebidos após o desmame, principalmente se for lipídeo de origem animal ao invés de vegetal (21,29). A administração em excesso de ácido 13-cis-retinóico (até 300 mg/Kg) em ratos recém-desmamados causa modificações primárias nos AG de lipídeos hepáticos e plasmáticos, aumentando o teor de 16:1 n-7, 18:1 n-9 e 20:3 n-6 e diminuindo a do 20:4 n-6, porém, não modifica apreciavelmente os AG renais, pulmonares, cardíacos sugerindo que o ácido 13-cis-retinóico teria uma ação sobre dessaturases hepáticas (1).

A quantidade de lipídeos dietários influencia a composição de AG (106), o desenvolvimento do fígado e a lipogênese do tecido adiposo de ratos (8). Todavia, TAHIN e colaboradores (161-163) demonstraram que a qualidade da fonte lipídica é determinante para a composição de AG microssomais e mitocondriais de vários tecidos de ratos.

1.5. Fisiologia e patologia dos AG - Muitos autores tem publicado trabalhos mostrando que os AG associados com funções das plaquetas, tensão arterial, do coração, colesterolemia, fluidez das membranas, etc., também estão intimamente associados com várias doenças cardiovasculares, trombose, hipertensão, algumas funções bioquímicas na diabete mellitus, obesidade, atividade das diferentes prostaglandinas, prostaci -

clinas, troboxanas, etc (174,182).

Os estudos com grupos humanos que ingeriam diária e constantemente AGS, referidos anteriormente (135-138), mostraram que havia uma maior incidência de doenças coronarianas nesses indivíduos nos que se alimentavam com menores quantidades de lipídeos e de AGS. Foi ainda demonstrado que a dieta rica em AGS, causando uma diminuição de ácidos linoléico, 20:3 n-6 e aracdônico substituídos pelo ácido oléico e outros AGI n-9, resultando em uma hipersensibilidade de plaquetas, alteração do tempo de coagulação do plasma rico em plaquetas, etc. O ácido aracdônico das membranas das plaquetas humanas é determinante não só para as funções plaquetárias como ainda para a síntese de prostaglandinas envolvidas nas suas funções e por isso a ação da fosfolipase A₂ deve ter um papel central para o início de eventos relacionados com a agregação de plaquetas (12,33). Esses dados, estão de acordo com outros trabalhos publicados referentes a seres humanos (12,33,84,85), animais (36,101-104,124,160,172,192), cultura de células endoteliais (113) e sobre a importância do ácido aracdônico e de outros AGPI na síntese das diferentes prostaglandinas (2,11,13,47,113,117,192).

O ácido linoléico desempenha um papel fisiológico central não apenas fazendo parte dos lipídeos estruturais de membranas biológicas mas porque está, por mecanismos ainda mal conhecidos, associado com vários processos bioquímicos, fisiológicos e patológicos. De acordo com vários estudos já publicados, a deficiência de AGE provoca vários sintomas como redução no crescimento, paraqueratosis, aumento da permeabilidade da pele à água, aumento da susceptibilidade a infecções bacteriana, esterilidade masculina e feminina, decréscimo de síntese de prostaglandinas, redução da contratibilidade cardíaca, agregação normal dos trombócitos, etc., curadas pela administração dietária do ácido linoléico, portanto, é válido sugerir que esse AG seja realmente importante para a atividade de vários órgãos (100,174,182). BAGHURST e TRUWELL (5) sugerem que a relação ácido esteárico/ácido linoléico da dieta deva

ser mais importante do que o grau de saturação na determinação da potencialidade dos lipídeos alimentares em serem agentes trombogênicos. Dietas ricas em ácido linoléico previne hipertensão arterial causada por ingestão de sal, diminui a tendência a trombose, melhora as funções cardíacas (174,175) e diminuem a colesterolemia e altera o metabolismo do colesterol (22,23,44,83,91,99,140,143,150,151).

O mecanismo pelo qual o ácido linoléico e outros AGPI atuam regulando a colesterolemia ainda não é bem conhecido. Dietas ricas em ácido linoléico causam diminuição dos ácidos palmítico e oléico e um aumento de linoléico esterificando o colesterol e os fosfolipídeos ao contrário de dietas saturadas ou monoinsaturadas (22,44,151,182). O colesterol esterificado com AGS de cadeias médias depositam mais facilmente nos tecidos, favorecem a formação de ateromas em humanos (23,140). Dietas contendo alta quantidade de carboidratos associado com alto teor de ácido palmítico induz um aumento grande da colesterolemia e da produção de cálculos biliares (83). A conversão de colesterol em ácidos biliares é favorecida pelo teor de lipídeos esterificados com AGS principalmente de cadeia média (91).

Doenças cardiovasculares como aterosclerose, coronarianas, trombose, agregação plaquetária estão associadas a hiperlipidemias, contudo é mais provável que a qualidade dos AG dietários, saturados, cadeias curtas ou médias, poliinsaturados, etc. deva ser o determinante para a incidência e evolução dessas doenças (47,52,84,112,135-138,143).

O ácido linoléico dietário é importante para a formação normal das estruturas mielínicas, uma deficiência alimentar pré ou pós-natal em camundongos causam uma hipomielinização (9). Embora, o ácido linoléico não seja muito utilizado diretamente para fins estruturais ele é indispensável para o crescimento animal e particularmente para o tecido nervoso onde pode servir de precursor de biossíntese de vários AGPI n-6 (40-43,72,80,119,121-126).

Dietas contendo altos teores de lipídeos e AGS ou deficientes em AGE podem causar distúrbios na resposta imuno-

lógica e hiperplasia esplênica (11,90). ANDERTON et alii (3) demonstraram que uma infecção viral em macacos causava uma grande alteração na incorporação de AG nas células renais, aumentando cerca de 2 vezes a incorporação dos ácidos palmítico, esteárico e oléico e de mais de 8 vezes a do ácido araquidônico.

A vitamina E dietária tem ação na biossíntese dos AG C20 e conseqüentemente na formação de prostaglandinas I_2 , sintetizada na aorta ou em coração perfundido, assim como na de tromboxana A_2 sintetizada pelas plaquetas de coelhos (32).

GUSTAFSON et alii (66) demonstraram que durante a gestação, ciclo menstrual ou administração de estrogênios havia alterações no metabolismo lipídico refletido na composição de lipoproteínas de alta-densidade (HDL) plasmática: na fase folicular, estrogênio-dominante, diminuía a quantidade de 18:2 n-6 nas fosfatidilcolinas das HDL com conseqüências indiretas na ação da lecitina:colesterol acil transferase (66). A deficiência alimentar de AGE, diminui muito e progressivamente o número de receptores de prolactina das membranas microsomais hepáticas de camundongo (87), diminui a atividade do hormônio de crescimento demonstrado em pintos de 1 dia (54) e ainda interfere na excreção urinária de metabólitos de prostaglandinas (193). Ratos com hipertireoidismo apresentaram nos tecidos adiposo e hepático um aumento das atividades das acetil-CoA carboxilase, AG sintetase e de elongações de AG microsomais mas não mitocondriais (61). A qualidade das dietas lipídicas afetam ainda várias outras atividades fisiológicas: os AGS e os AGMI dietários induzem após 11 dias um aumento da velocidade de tradução do mRNA da enzima málica em fígado de camundongo em comparação com dieta rica em AGPI (147); os AGS de cadeia média (8-14C) devem ser importantes para a regulação de insulina, conforme foi demonstrado com coelhos lactentes (129). CLEJAN et alii (38) estudaram o efeito do Zn e da castração de ratos machos e demonstraram que havia uma significativa diminuição de ácido araquidônico de lipídeos plasmáticos causado por dieta deficiente em Zn ou pela castração e que a adição de Zn ou administração de testosterona restauravam os níveis normais de 20:4 n-6, a deficiência de

Zn causava também alterações nas dessaturações e nos teores de AGPI (principalmente dos 18:2 n-6, 20:4 n-6 e 22:6 n-3) de lipídeos microsossomais hepáticos e de outros tecidos.

Ácidos graxos livres, tanto os AGS como os AGPI, (18:2 n-6, 18:3 n-3 e 20:4 n-6) tem uma ação tóxica sobre a cultura de células endoteliais cardíacas de ratos (187,188).

Vários trabalhos mostram a importância dos lipídeos e dos AG para manutenção das estruturas e funções celulares, de organelas sub-celulares (4,6,67,191) e de microorganismos (96,171).

TAHIN et alii (166,167) demonstraram que a administração crônica de sais de Li^+ em ratos machos e fêmeas causou uma alteração na composição de AG de lipídeos hepáticos e encefálicos, no ganho de peso corpóreo e nas concentrações plasmáticas de certos hormônios e que essas alterações eram diferentes em machos ou fêmeas.

Hábitos alimentares modernos estão permitindo a ingestão de alguns AG que eram muito pouco comuns ou quase nulos nas nossas dietas ou nas de animais. A hidrogenação química de AGPI usada na preparação das margarinas, produz isômeros trans dos ácidos oléico (trans,9-18:1 n-9 ou elaidico) e do linoléico (trans,trans-9,12-18:2 n-6 ou linoelaidico) que serão assimilados, metabolizados e/ou incorporados nos lipídeos celulares e plasmáticos. Os isômeros trans dos AG podem ser encontrados em pequenas quantidades nos lipídeos animais (ruminantes, manteiga, etc.) ou de vegetais (181). Alguns trabalhos já publicados demonstraram que a ingestão de trans-AG não causavam aumento de tumores espontâneos e outras anomalias em ratos em comparação à dietas ricas em AGS e ácido oléico (180-182), não induziria alterações significativas nas funções renais, hepáticas ou sanguíneas (taxa de hemoglobina, coagulação e adesividade de plaquetas) etc. (25,168). No entanto, os isômeros trans são diferentes dos cis em algumas propriedades física e físico-química (P.F., solubilidade, etc.), na absorção intestinal, na preferência de esterificar a posição da hidroxila primária dos triglicerí -

deos e são biologicamente menos ativos, competindo com os cis nos processos metabólicos como de alongação, dessaturação, inibindo a conversão do 18:2 n-6 em 20:4 n-6 e ainda favorecem a hipercolesterolemia e a trombogênese como os AGS de cadeia média e o ácido oléico (142,181). O ácido linoleáidico inibe as atividades das Δ^6 dessaturase (24,25,34,144). Os isômeros trans ingeridos por ratos em gestação podem ser facilmente transferidos para o feto e incorporados nos lipídeos fetais (105,109). O ácido elaidico ingerido é incorporado nos lipídeos de mitocôndrias hepáticas (82,162), mitocôndrias cardíacas e microsomas hepáticos (162), sarcolema cardíaco (4,82) etc.

O ácido erúcico (22:1 n-9) é um outro AG não comum que começou a ser adicionado nas rações animais desde o começo do século, aumentando muito o seu consumo após a 2.^a Grande Guerra, devido a fatores econômicos. O ácido erúcico pertence a família dos AGPI n-9 e é sintetizado à partir do ácido oléico (ver Esquema 2). É um AG natural mas geralmente muito raro, podendo ser encontrado em grandes quantidades no óleo de semente de colza, vegetal que do ponto de vista agrícola é muito vantajoso de ser cultivado. A França, por exemplo, produziu 4 mil toneladas de óleo de colza em 1938 e passou a produzir 141 mil toneladas em 1972 (177). No entanto, esse AG pode ser facilmente assimilado pelo intestino, ser incorporado nos lipídeos do organismo animal e causar algumas manifestações patológicas, principalmente no tecido cardíaco (86,148,176-179,183). No tecido cardíaco a oxidação do ácido erúcico é mais lenta que a de outros AG de cadeias longas e portanto tende a se acumular, principalmente nas primeiras semanas, diminuindo posteriormente nos triglicerídeos e fosfolipídeos cardíacos, podendo causar pontos de necrose neste tecido (86,176-179). A raça Spreague-Dawley de ratos é especialmente susceptível a ação deletéria do ácido erúcico (86,178,179). Em outros animais, também foram revelados outras anomalias causadas pela ingestão de dietas ricas em ácido erúcico, como cirrose hepática, anemia hemolítica em co

baías, hipercolesterolemia em coelhos (177) e com porcos foi demonstrado que o fígado era um pouco mais pesado e as adrenais mais leves no grupo que ingeriam ácido erúxico em comparação com o grupo que ingeria óleo de soja. TAHIN (161) demonstrou que as alterações na composição de AG de mitocôndrias hepáticas e cardíacas de ratos tratados com dieta rica em ácido erúxico causava alterações no transporte de cálcio através de membranas de mitocôndrias.

Os lipídeos em geral e os AG em particular são muito importantes para a manutenção da estrutura e funções das biomembranas (10,30,73,127,128,146,153,159,189). As membranas apresentam uma distribuição assimétrica dos lipídeos e de ácidos graxos em cada uma das duas faces da bicamada (127,128). As biomembranas são geralmente ricas em AGPI, tanto da série n-6 como n-3. Os AGPI são importantes para a determinação ideal da fluidez, microviscosidade, difusão e várias funções bioquímicas como o transporte de Ca^{2+} e outros íons, atividade ATPásica- Ca^{2+} -dependente (7,20,30,96,120,127,128,149,189). As dietas lipídicas também alteram a composição dos AG das biomembranas (26,161,182).

Células endoteliais isoladas de 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 (131,155). A importância dos AGPI na fisiologia e patologia do tecido mamário, tem sido amplamente discutida. O ácido linoléico dietário é determinante para o crescimento dos ductos mamários, demonstrado pela alimentação de camundongos recém-desmamados com dieta deficiente em AGE (110). Por outro lado, dietas ricas em ácido linoléico favorecem as neoplasias mamárias, provavelmente via conversão em ácido aracdônico e posteriormente em prostaglandina e/ou via alterações no sistema imunológico, demonstrado experimentalmente durante o desenvolvimento da tumorgênese mamária espontânea ou induzida por dimetilbenzantraceno ou por outros agentes cancerígenos (75,76,81,132-134,184,186). A prolactina deve ter um papel importante para o desenvolvi-

mentos tumoral mamário (111) e dietas deficientes em AGE causam uma grande e progressiva diminuição de receptores de prolactina nas membranas de microsomas hepáticos (87).

Os lipídeos e os AG são também relevantes para a carcinogênese de outros tecidos como cólon (85), fígado (55, 115 e 141), endométrio, próstata e outros (74, 84, 107). Além dos fatores nutricionais no desenvolvimento da carcinogênese humana, os fatores ambientais como fumo, higiene, drogas, clima, poluição são também relevantes (74). TAHIN et alii (164) 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, diminuindo a dos AGPI n-6 e n-3 e diminuindo a quantidade de AG com mais de 20 C.

1.6. Mitocôndrias e transporte de cálcio - As mitocôndrias das células dos eucariotes são organelas sub-celulares responsáveis por processos de transdução de energia, várias reações oxidativas importantes, respiração celular, síntese de ATP via fosforilação oxidativa do ADP entre outras. São revestidas por dupla membrana, a interna e a externa, cada uma delas formada por bicamada lipídeo-protéica (118). As mitocôndrias também são importantes para o metabolismo dos AG, não apenas como sede da β -oxidação mas também é capaz de promover enlongação e dessaturações. A degradação de AG insaturados nas mitocôndrias podem produzir metabólitos intermediários diferentes dos da degradação dos AGS (77, 78).

A composição de AG mitocondrial pode ser alterada facilmente "in vivo" por fatores exógenos dietários (48, 104, 118, 139, 157, 161, 163, 190) e outros como o etanol (159). STANCLIFF et alii (157) demonstraram que dietas deficientes em AGE causava uma acentuada diminuição de ácido linoléico e araquidônico das cardiolipinas e fosfatidilcolina, mas não nas fosfatidiletanolamina, de mitocôndrias cardíacas de ratos. As mudanças da composição de AG, encontradas por aqueles autores, não causavam alterações na fosforilação oxidativa, respiração,

translocação de íons, porém havia uma maior resistência de peroxidações de lipídeos e por análise ultraestrutural da membrana interna dessas mitocôndrias AGE-deficientes, demonstrou-se que havia uma maior desorganização "in vitro" e que eram maiores "in situ" que as controles. As mitocôndrias apresentam movimentos oscilatórios periódicos. PACKER (118) mostrou que a alteração na composição de AGPI mitocondrial pode afetar muito o período de oscilação. GRAFF et alii (62) demonstraram que a replicação do genoma mitocondrial da S. cerevisiae é muito diminuída pela ação dos 18:1 n-9 e 20:3 n-6 mas muito estimulada pelos isômeros 18:1 n-6 ou 18:1 n-5 e pelo 20:3 n-3 se presentes no meio de cultura.

O transporte de cálcio através da membrana mitocondrial é uma das funções importantes da mitocôndria que junto com outros regula a homeostase celular do cálcio. O íon cálcio pode ser transportado do citoplasma para dentro da matrix mitocondrial através de um processo denominado por captura ou influxo do cálcio, o qual é dependente de energia via sistema de transporte uniporte eletroforético, derivado de força próton-motiva gerada por energia acoplada com a respiração e é inibida pelo vermelho de rutênio(28). Dessa forma as mitocôndrias podem acumular altas quantidades de cálcio, formando depósitos insolúveis de calcificação na matrix. CARAFOLI (28) mostrou que para se evitar essa calcificação ou por necessidade de cálcio pelo citoplasma, existe o processo inverso denominado por efluxo que é espontâneo e não é inibido pelo vermelho de rutênio. Em alguns tecidos, como o cardíaco e encefálico existe um terceiro processo de transporte de cálcio dependente de Na^+ , isto é, o cálcio é transportado de dentro para fora das mitocôndrias através de um sistema transportador antiporte com um influxo de Na^+ simultâneo (28). A Figura 1 esquematiza essas possíveis vias de transporte de cálcio.

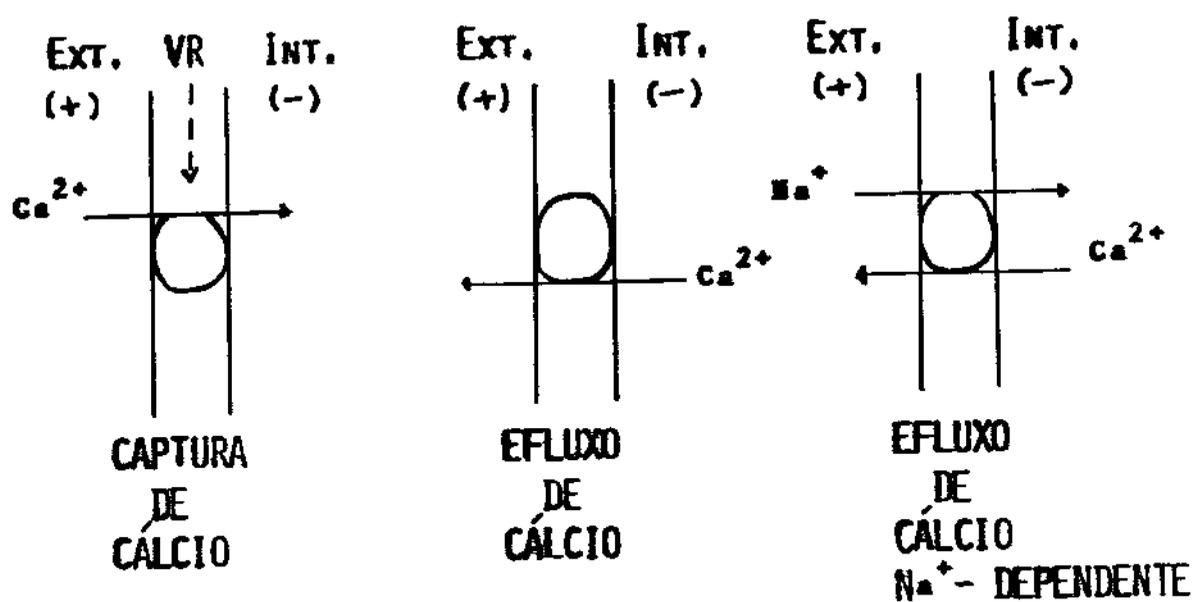


FIGURA 1 - Vias possíveis de transporte de cálcio através de membrana mitocondrial.

1.6. Objetivos - Com a finalidade de se investigar o efeito de dietas lipídicas sobre a composição de AG e função das organelas sub-celulares, administramos a ratos machos jovens 8 diferentes dietas quanto a composição de AG, durante 3,6, 6 ou 12 semanas. Cada dieta provinha de uma fonte lipídica característica que conferia determinadas concentrações de cada família de AG. Havia dietas ricas em ácido linoléico, mas com diferentes concentrações de AGPI n-3, outras pobres em AGPI n-6 mas ricas em AGPI n-3, outras ricas em AGS e ácido oléico e pobres em AGPI e ainda as que eram ricas em AG menos comuns como o ácido elaídico e linoelaídico ou o ácido erúico. Após determinado tempo de tratamento com uma dada dieta, foram analisadas as composições de AG de mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas e de microsomas hepáticos e encefálicos. Como modelo de função mitocondrial foi estudado o transporte de cálcio (influxo, efluxo e efluxo Na^+ dependente), através daquelas mitocôndrias cuja composição de AG tinha sido alterada por via dietaria "in vivo". O efeito da temperatura, determinando-se a energia de ativação de cada processo de transporte de Ca^{2+} foi também estudado.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais - Foram usados ratos machos albinos da raça Wistar de 60-90 g de peso. Os animais eram mantidos em gaiolas de aço, à temperatura controlada de 23°C, 12 horas de luz e 12 horas de escuro e alimentavam-se e bebiam água "ad libitum". Cada gaiola continha 4 a 5 ratos.

2.2. Dietas lipídicas - Grupos de animais foram alimentados com rações idênticas quanto à composição protéica, de carboidratos, fibras, micronutrientes e quantidade de lipídeos, mas variava-se a fonte de lipídeos, portanto, a composição de ácidos graxos, em cada grupo estudado. A composição básica dos ingredientes das rações de cada dieta está descrita na Tabela 1. A composição de ácidos graxos (AG) de cada dieta estudada está descrita nas Tabelas 2 a 9 do capítulo "RESULTADOS".

Numa primeira série de experiências 10 ratos foram alimentados com uma das cinco dietas abaixo descritas durante 3, 6 ou 12 semanas:

2.2.1. Dieta-controle (DC) - Essa dieta era a básica que normalmente eram alimentados os ratos de nosso laboratório. Nessa dieta a fonte principal de lipídeos era o óleo de soja, portanto rica em AGPI n-6, porém havia ainda lipídeos oriundos de peixes, portanto rica em AG superiores a C18 e em AGPI n-3 (Tabela 2).

2.2.2. Dieta-óleo de soja (OS) - A fonte de lipídeos dessa dieta era exclusivamente óleo de soja, rica em ácido linoléico (54,4%), contendo 6,2% de ácido linolênico mas não possui AG superiores a C18 (Tabela 3);

2.2.3. Dieta-óleo de semente de girassol (OG) - A fonte de lipídeos era exclusivamente óleo de semente de girassol, contendo 63,1% de ácido linoléico, porém apenas 0,5% de ácido linolênico (Tabela 4);

2.2.4. Dieta-gordura de porco (GP) - A fonte de lipídeos dessa dieta foi exclusivamente gordura de porco que continha mais de 80% de AG saturado e monoinsaturados, portanto pobre em AGPI n-3 (Tabela 5);

Tabela 1

Composição das dietas experimentais (g/100g)

<u>Ingredientes</u>	<u>Dieta da 1ª série</u>	<u>Dieta da 2ª série</u>
Caseína	28,30	10,50
Carnes	-	10,50
Soja	-	5,30
Amido de trigo	41,50	42,00
Sacarose	-	12,00
Óleo ou gordura	10,00	12,00
Mistura de vitaminas (*)	2,30	0,30
Mistura de minerais (**)	1,40	1,75
Cloreto de colina	0,10	0,10
Metionina	1,00	0,35
Celulose de milho	15,40	5,20

(*) A mistura de vitaminas continha as seguintes quantidades por Kg de ração: A- 13.000 UI ; D- 2.400 UI ; E- 210 mg ; K- 10 mg ; tiamina 7 mg; riboflavina 15 mg; piridoxina 6 mg; B12- 30 mcg; biotina 1.500 UI; ácido fólico 7 mg; ácido pantotênico 85 mg; niacina 55 mg; ácido p-amino-benzóico 60 mg; mio-inositol 800 mg e etoxiquim 125 mg.

(**) A mistura de minerais continha por Kg de ração: cálcio 10 g; fósforo 6 g; potássio 7 g; NaCl 5 g; Fe 200 mg; I₂ 6 mg; Co 5 mg; Mn 70 mg; Mg 600 mg ; Zn 18 mg e Cu 22 mg.

2.2.5. Dieta-óleo de fígado de bacalhau (FB) - A fonte principal de lipídeos dessa dieta era exclusivamente óleo de fígado de bacalhau, rico em AGPI n-3 (25%) mas pobre em AGPI n-6 (2,3%) (Tabela 5);

Numa segunda série de experiências 8 ratos foram alimentados com uma das três dietas abaixo descritas por 8 semanas:

2.2.6. Dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (SH) - A fonte de lipídeos era óleo de soja parcialmente hidrogenado, contendo portanto isômeros trans não naturais do ácido oléico e do ácido linoléico (Tabela 6);

2.2.7. Dieta-óleo de colza (CZ) - A fonte de lipídeos dessa dieta era exclusivamente óleo de colza, contendo 46% de ácido erúico não existente nas outras dietas, contendo ainda 14,5% de ácido linoléico e 8,2% de ácido linolênico (Tabela 8);

2.2.8. Dieta mistura de triglicerídeos (DT) - A fonte de lipídeos dessa dieta foi exclusivamente uma mistura de triglicerídeos cuja composição de AG era 29,1% saturados, 31,4% de ácido oléico, 35,6% de ácido linoléico e apenas 0,5% de ácido linolênico (Tabela 9).

2.3. Preparação de mitocôndrias - Foram usadas as seguintes soluções: 1) MSE (manitol 210mM, sacarose 70 mM, HEPES 3 mM, BSA 1 mg/ml, EDTA 0,1 mM, pH 7,4 ajustado com Tris) e 2) MS (idêntica a solução MSE porém sem EDTA).

Após determinado tempo de tratamento com uma dieta os animais eram sacrificados por decapitação, sem anestesia, com o auxílio de uma guilhotina especial para ratos, depois de terem jejuado por 12 horas durante a noite anterior. Deixava-se o sangue escorrer o máximo possível e retirava-se logo os órgãos desejados que eram pesados e picados com tesoura e lavados várias vezes com salina (NaCl 0,9%) para retirar os vestígios de sangue. Desde a decapitação, todas as operações foram realizadas na câmara-fria (4-6°C) ou em banho de gelo. Antes da homogeneização dos tecidos, lavava-se mais 2 a 3 vezes os tecidos em solução MSE, continuando-se a picá-los. Para

tecidos moles como fígado e encéfalo, essa operação era mais rápida, mas para o coração demorava-se muito mais picando-se o tecido até não se poder distinguir visualmente pedaços de coração.

Os tecidos hepáticos ou encefálicos eram então transferidos para um frasco de um homogeneizador tipo Potter-Elvehjem, com pistilo de teflon, suspensos com 10 volumes de solução MSE e homogeneizados a baixa rotação com 5-7 movimentos completos do pistilo (descida e subida).

O tecido cardíaco, picado o melhor possível, era homogeneizado com 10 volumes de solução MSE com o auxílio de um disruptor de tecidos tipo "Politron" a média potência durante 10 segundos. A suspensão resultante era transferida para um frasco Potter e homogeneizada a baixa rotação com 3 movimentos completos do pistilo.

Os homogeneizados de tecidos eram imediatamente submetido a uma centrifugação a 500 g/10'/0°C. Os sobrenadantes (SN-1) resultantes eram separados e usados para as etapas seguintes. Os precipitados (P-1), contendo núcleos e restos celulares e tecidos não rompidos do fígado e do encéfalo, eram desprezados, enquanto que o P-1 do coração era re-homogeneizado em um Potter com o mesmo volume da solução MSE usado na primeira homogeneização, da mesma forma descrita acima. Após nova centrifugação a 500 g/10'/0°C o SN-1 era reunido com o sobrenadante anteriormente obtido e agora o novo precipitado era desprezado.

Os SN-1 eram submetidos a uma centrifugação a 9000 g/10'/0°C. O SN-2 resultante do fígado e encéfalo eram separados e usados para a preparação de microsomas, porém o SN-2 resultante do coração era desprezado. Os P-2 que continham mitocôndrias eram suspensos em MSE e lavados 3 vezes com solução MS seguidas de centrifugação a 9000 g/10'/0°C, sucessivamente, para retirada total de vestígios de EDTA. O precipitado final (P-3), era suspenso em um volume mínimo de MS para se obter uma concentração de proteína de 50-150 mg/ml. A gordura que eventualmente se depositava nas paredes dos tubos após as centrifugações era retirada com auxílio de algodão preso em um bastão

de vidro. A preparação de mitocôndria acima obtida era parte usada imediatamente para determinação de transporte de Ca^{2+} ou parte congelada e armazenada a -20°C para análises de AG, posteriormente (ESQUEMA I).

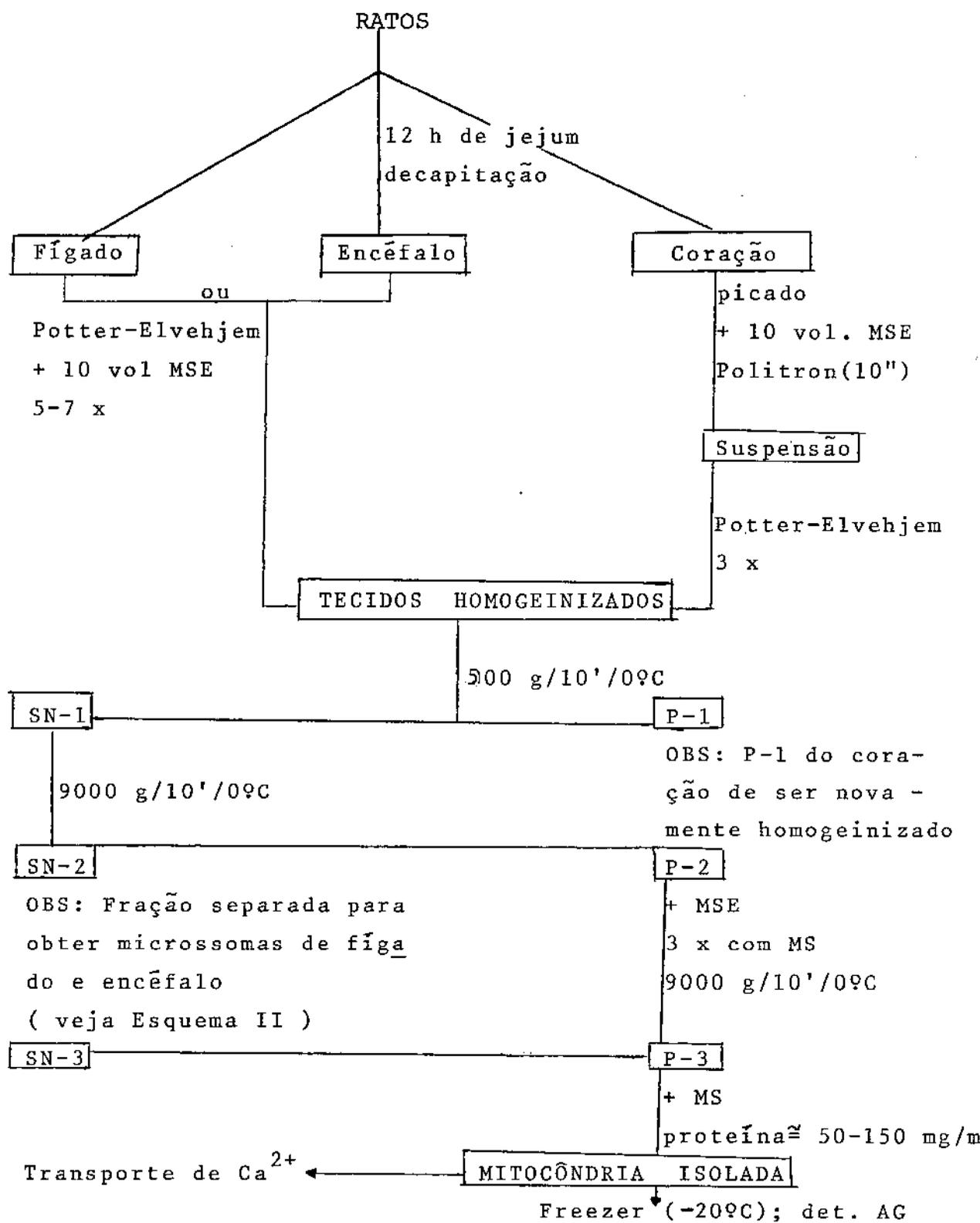
2.4. Preparação de microssomas - Os SN-2 obtidos acima de fígado ou encéfalo eram submetidos a uma ultra-centrifugação a $105.000 \text{ g}/60'/0^{\circ}\text{C}$. O SN resultante era desprezado e o precipitado era cuidadosamente suspenso em solução KT (KCl 150 mM, Tris 50 mM, pH 7,4 com HCl) com o auxílio de um pistilo fino de teflon. Essa suspensão era submetida a uma ultracentrifugação nas mesmas condições que a anterior. O SN resultante era desprezado e o precipitado suspenso em um volume mínimo de solução KT, resultando em uma concentração de proteína de cerca de 20 mg/ml e em seguida congelado e armazenado a menos 20°C para posteriores análises de AG (ESQUEMA II).

2.5. Determinação da concentração de proteína - A concentração de proteínas foi determinada pelo método do biuretito usando-se BSA como padrão e colato de sódio numa concentração final de 0,03% para melhor dissolução das proteínas associadas à membranas.

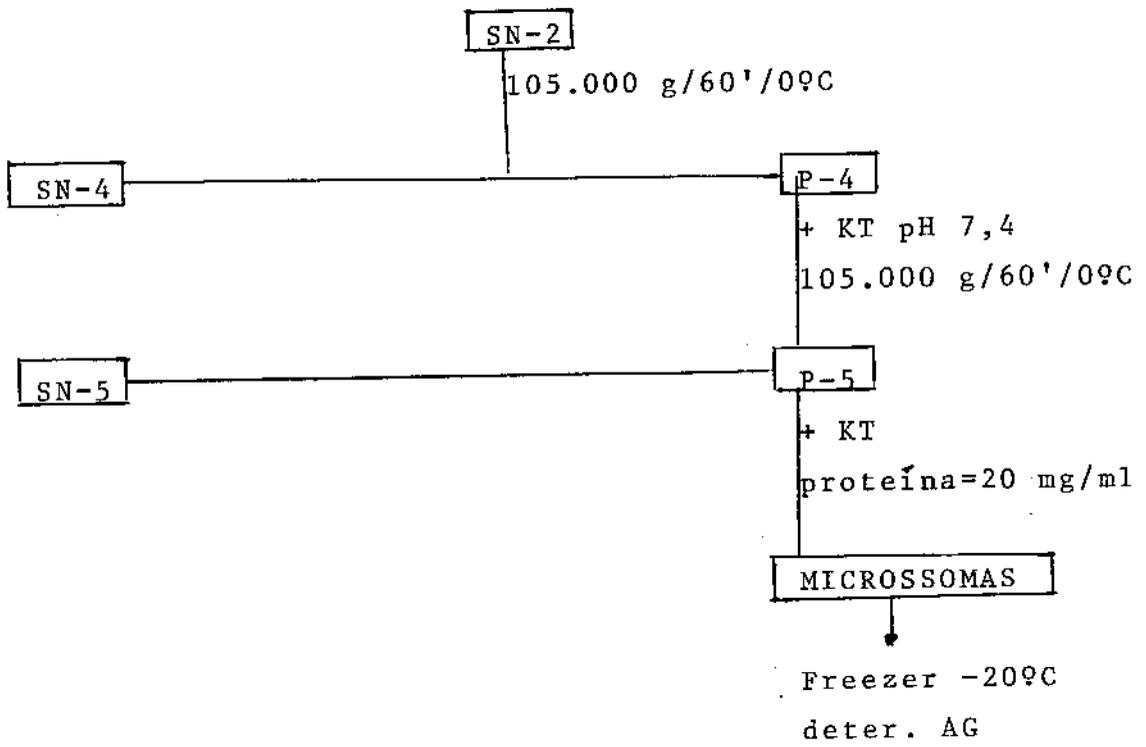
2.6. Determinação quantitativa de cálcio - O método baseava-se no uso do arzenazo III que em solução aquosa na presença de Ca^{2+} forma um complexo azul e na ausência de Ca^{2+} forma um complexo de cor lilás (50). Esta propriedade permite determinar quantitativamente, por espectrofotometria diferencial simultânea a dois comprimentos de ondas de luz a 675 e 685 nm, a quantidade de cálcio presente em uma solução em um dado instante.

2.7. Transporte de Ca^{2+} em mitocôndrias - As incubações eram realizadas numa cubeta de espectrofotômetro, sob constante agitação. Transferia-se para a cubeta 2 ml da solução SR (succinato de potássio 2,5 mM, rotenona $2\mu\text{M}$, arzenazo III $50\mu\text{M}$ dissolvidos em solução MS, conforme descrição no item 2.3.). Aguardava-se

ESQUEMA I



ESQUEMA II



a termo-estabilização a uma desejada temperatura que era medida por uma sonda acoplada a um registrador com precisão de 0,1°C. Em seguida adicionava-se um volume da suspensão de mitocôndrias de modo a transferir uma quantidade de proteínas de 0,7 a 1,5 mg. Após aguardar que as mitocôndrias se equilibrassem com o meio, com a temperatura e que todo o Ca^{2+} do meio fosse capturado pelas mitocôndrias, estabelecia-se a linha basal do experimento e iniciava-se a determinação do transporte mitocondrial de Ca^{2+} (Figura 1):

2.7.1. Captura ou influxo de Ca^{2+} - O processo era iniciado com adição de 50 nmoles de CaCl_2 , com auxílio de uma microseringa. O equipamento usado neste trabalho era um espectrofotômetro com um duplo feixe de emissões simultâneas de luz de distintos comprimentos de onda (675 e 685 nm). A absorvância diferencial era registrada em papel através de um registrador acoplado diretamente ao espectrofotômetro a uma dada velocidade da qual posteriormente poderia se determinar a velocidade do processo. Assim no tempo zero era gravado o máximo de absorção da coloração azul devido a alta concentração de Ca^{2+} no meio. A medida que as mitocôndrias capturavam Ca^{2+} a coloração tendia para o lilás da linha basal. O processo era então encerrado pela adição de vermelho de rutênio na concentração de 0,5 μM . A velocidade inicial da captura de Ca^{2+} para cada temperatura estudada era determinada graficamente pela tangente à curva obtida no tempo zero;

2.7.2. Efluxo de Ca^{2+} espontâneo - Esse processo era estudado após a adição de 10 μl de vermelho de rutênio 10 mM que inibe totalmente a captura de Ca^{2+} mas não o efluxo desse íon de dentro para fora das mitocôndrias. O tempo zero desse processo era o imediatamente após a adição do vermelho de rutênio. O aumento de Ca^{2+} no meio, em função do tempo, era gravado no papel pelo incremento da coloração azul. Para a maioria dos casos a velocidade do efluxo de Ca^{2+} era muito lenta de tal forma que no tempo observado (2-3 minutos) a velocidade era linear, portanto tida como inicial, nos casos em que ela não era linear achava-se a velocidade inicial pela tangente à curva no tempo zero;

2.7.3. Efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente - Nas mitocôndrias cardíacas e encefálicas, mas não nas hepáticas, há um terceiro processo de transporte de Ca^{2+} que é o efluxo Na^+ -dependente, muito mais rápido que o espontâneo. Nesse caso, iniciava-se este processo depois de se medir o efluxo de Ca^{2+} espontâneo, pela adição de 40 μmoles de NaCl o mais rápido possível através de uma microseringa. Esse era o tempo zero e a velocidade inicial do processo era determinada graficamente pela tangente à curva obtida.

2.8. Efeito da temperatura sobre o transporte mitocondrial de Ca^{2+} - Determinava-se o efeito da temperatura sobre cada um dos três processos possíveis de transporte de Ca^{2+} em mitocôndrias, medindo-se a variação da velocidade inicial em função da temperatura de 5 a 40°C. A esses dados, para cada processo estudado, foram aplicados a equação de Arrhenius e dessa forma era determinado graficamente a energia de ativação do processo após se encontrar a melhor reta que passava pelos pontos experimentais, pelo método dos mínimos quadrados e cálculo do valor da regressão. Na maioria dos casos obtínhamos uma temperatura de transição (TT) ou seja um ponto de inflexão na curva, que representava graficamente a equação de Arrhenius. A temperatura significava uma mudança brusca do valor da energia de ativação (E_A), portanto, abaixo da TT encontramos uma energia de ativação (E_{A1}) e acima da TT outra energia de ativação (E_{A2}) (Figura 2 -A). Em alguns casos, obtivemos duas TT, isto é, TT_1 e TT_2 , significando que havia dois pontos de inflexões na equação de Arrhenius, portanto abaixo da TT_1 havia uma E_{A1} , acima da TT_1 havia uma segunda E_{A2} e acima da TT_2 uma terceira E_{A3} (Figura 2-B). Para o processo de efluxo de cálcio Na^+ -dependente, em alguns casos, obtivemos além de uma temperatura de transição uma temperatura que chamamos crítica (TC) acima da qual as temperaturas mais altas não mais aumentavam o valor da velocidade inicial do processo, portanto a E_A era próxima de zero, ou às vezes o valor da velocidade inicial diminuía (Figura 2-C). Em três casos de determinações de efluxo espontâneo de Ca^{2+} não observamos nenhuma TT, encontrando uma

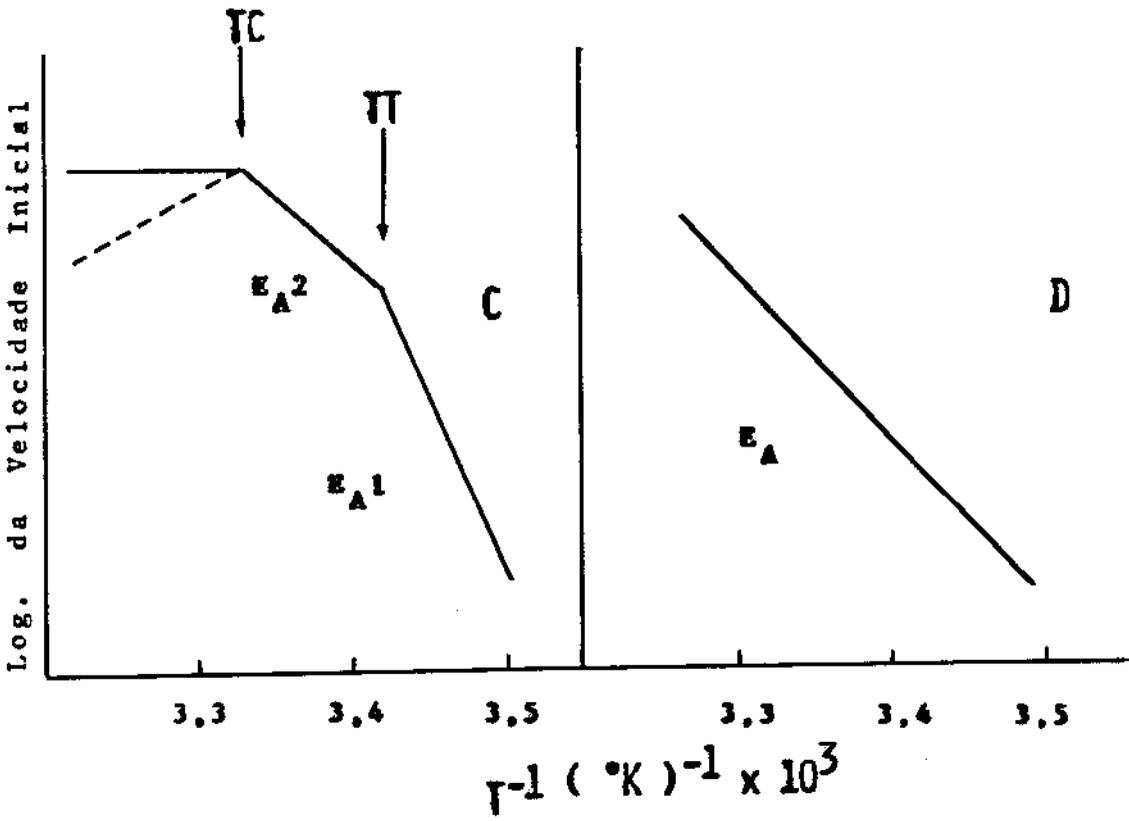
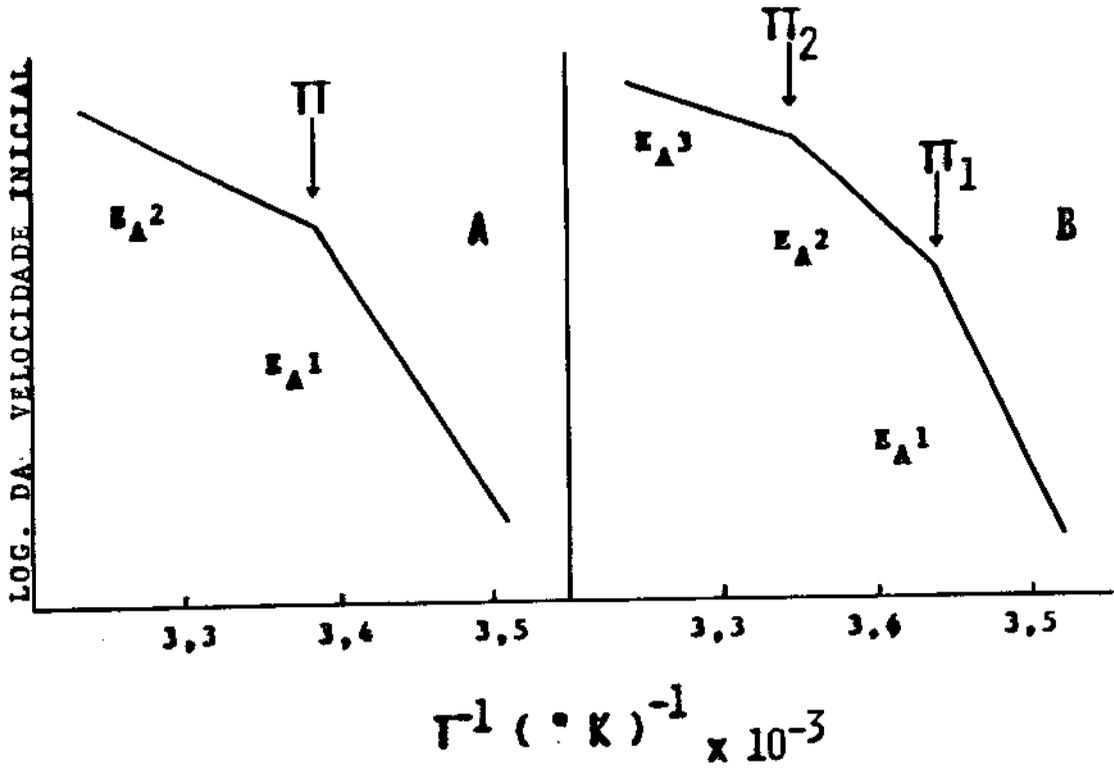


FIGURA 2. Ver legenda na página 42.

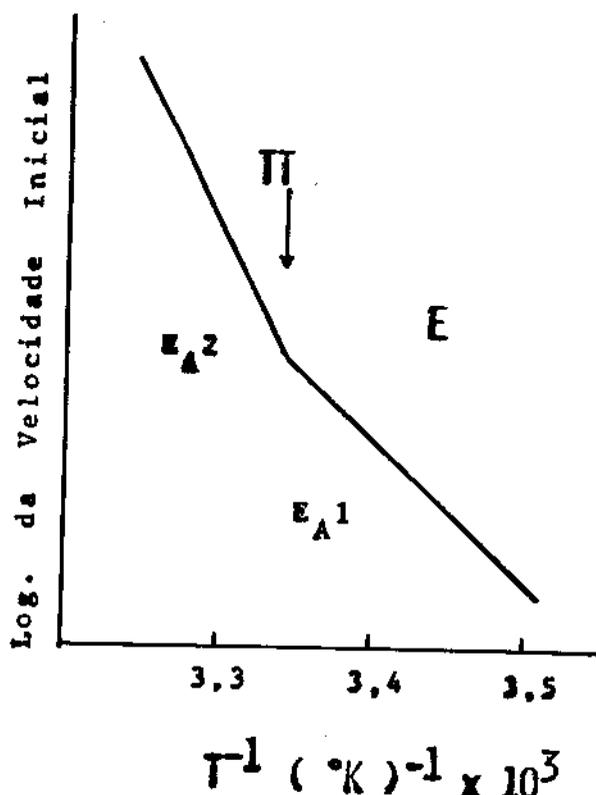


FIGURA 2 . Representação gráfica do efeito da temperatura (Equação de Arrhenius) sobre o transporte de cálcio, através da membrana mitocondrial.

E_A = energia de ativação; TT= temperatura de transição; TC = temperatura crítica.

FIGURA 2A-exemplo com uma única mudança brusca do valor de E_A .

FIGURA 2B- exemplo com duas mudanças bruscas do valor de E_A .

FIGURA 2C- exemplo com duas mudanças bruscas do valor de E_A , porém a temperatura de transição superior foi denominada por TC porque acima da qual o aumento da temperatura não mais alterava a velocidade do transporte.

FIGURA 2D- exemplo sem mudança brusca do valor de E_A .

FIGURA 2E- exemplo com uma mudança brusca do valor de E_A , porém o valor de E_{A1} era menor do que o de E_{A2} .

única E_A (Figura 2-D). Apenas para o processo de efluxo espontâneo de Ca^{2+} através das mitocôndrias encefálicas, obtivemos um TT, porém o valor de E_{A1} era menor do que o da E_{A2} , ao contrário dos demais processos estudados (Figura 2-E).

2.9. Análises dos Ácidos Graxos:

2.9.1. Extração dos lipídeos totais - O método usado foi baseado na extração com uma solução extratora, CM, de clorofórmio:metanol (2:1 v/v), segundo FOLCH et alii (56) e descrito por TAHIN et alii (162). As suspensões de mitocôndrias ou de microssomas eram homogeneizadas com 20 volumes de solução CM em um homogeneizador tipo Potter-Elvehjem, vigorosamente. A suspensão era filtrada em funil de Büchner. O filtrado contendo extrato de lipídeos era separado, enquanto que os resíduos insolúveis eram recolhidos e re-extraídos com solução CM novamente no homogeneizador e após nova filtração, juntava-se o filtrado com o anterior. Os filtrados eram misturados com 0,2 volumes de uma solução de cloreto de magnésio 34mg% vigorosamente em um agitador de tubos. A fração aquosa dessa mistura era separada por centrifugação a 1000 g/5'/4°C. Após a centrifugação a fração superior aquosa era retirada cuidadosamente e desprezada, enquanto que a fração inferior de CM contendo lipídeos era tratada novamente com 0,5 volumes de solução $MgCl_2$ 34 mg% em um funil de decantação. Para uma perfeita separação da fração aquosa, essa mistura era deixada durante a noite toda na câmara-fria. Na manhã seguinte era separada cuidadosamente a fração inferior de CM. Essa solução de lipídeos em CM era então concentrada até evaporação total de CM à vácuo, a 30°C e em um evaporador rotativo. Finalmente, os lipídeos eram dissolvidos em um pequeno volume de hexano e transferidos para um pequeno frasco e no caso de não ser usado imediatamente era armazenado sob atmosfera de N_2 a -20°C.

2.9.2. Preparação de ésteres metílicos - Uma amostra de lipídeos dissolvidos em hexano, conforme acima descrito, era concentrada por evaporação total do hexano por jato de N_2 a temperatura ambiente. Os lipídeos eram dissolvidos em 1,5 ml de hexano e se processava uma transmetilação dos lipídeos, adicio

nando-se 1 ml de BF_4 14% em metanol/15'/80°C, dentro de um tubo fechado em atmosfera de N_2 , com agitação frequente (161). Em seguida os tubos resfriados e adicionava-se 2 ml de hexano mais 2 ml de ácido acético 5%. Agitava-se vigorosamente em um agitador de tubos e submetia-se a mistura a uma centrifugação à 1000 g/10'/5°C. A fase superior de hexano contendo ésteres metílicos de ácidos graxos (AG) era retirada cuidadosamente e colocada em um novo tubo. O hexano era evaporado totalmente com jato de N_2 à temperatura ambiente. Os ésteres metílicos eram finalmente redissolvidos em um pequeno volume de hexano e usado para análises por cromatografia gasosa-líquida.

2.9.3. Análise de AG - Ésteres metílicos de AG preparados conforme descrito acima foram analisados através de uma cromatografia gasosa-líquida, usando-se detectores dual de ionização de chama e com temperatura programável e variável. A coluna utilizada era de vidro (2 m de comprimento por 4,7 mm de diâmetro interno), empacotada com DEGS-PS 10% sobre "Supelcoport" 80/100 mesh. O gás de arraste (N_2) tinha uma fluidez de 30 ml/min. A temperatura do forno era programada de 160 a 195°C, variando-se 3°C por minuto. Para análises de isômeros cis-trans foi usada uma coluna de aço inoxidável (6,1 m de comprimento e 3,2 mm de diâmetro interno). Essa coluna também foi usada para determinações de ácido erúxico. A variação da temperatura foi de 180-240°C (3°C/min) e a velocidade do gás de arraste (N_2) de 20 ml/min, quando usava-se essa segunda coluna. As áreas dos picos foram calculadas por um integrador acoplado no cromatógrafo. A identificação dos AG, individualmente, foram efetuadas através da corridas isotérmicas (195°C), usando-se o método de equivalência do tamanho da cadeia. Em adição, mistura de padrões de AG conhecidos foi utilizada também para a identificação de diferentes AGPI.

2.10. Expressão dos resultados - Nas tabelas sobre a composição de AG de organelas sub-celulares ou da ração os valores representam mol% de cada AG. A relação AGPI/AGS representa a relação entre a soma dos AGPI n-6 mais os AGPI n-3 totais e a quan

tidade total de AGMI n-9. A relação n-6/n-3 representa a relação entre a quantidade total de AGPI n-6 e a de AGPI n-3. Traços (Tr) de AG significa presença de AG porém em concentração inferior a 0,1%. O sinal (-) era usado para indicar dque um detarminado AG não foi detectado.

3. RESULTADOS

3.1. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-controle - Determinamos as composições de ácidos graxos (AG) dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas e de microsomas hepáticos e encefálicos de ratos tratados com dieta-controle durante 3, 6 ou 12 semanas (Tabela 2):

3.1.1. Composição de AG da ração - Os lipídeos da dieta-controle apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - os lipídeos apresentaram 16,2% de ácidos graxos saturados; II) AGMI n-9 total - os lipídeos da dieta continham 26,5% de AGMI n-9 sendo 24,6% de ácido oléico; III) AGPI n-6 total - o conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados n-6 foi de 44,1%, exclusivamente de ácido linoléico; IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 foi de 10,7%, sendo 5,7% de ácido linolênico e o restante de ácido icosapentaenóico, ácido do cosapentaenóico e de ácido docosahexaenóico; V) relação AGPI/AGS - a relação entre o conteúdo total de AGPI (soma de AGPI n-3 mais AGPI n-6) e do conteúdo total de AGS foi de 3,4 indicando uma predominância de AGPI em relação a de AGS; VI) relação AGPI/n-9 - a relação entre o conteúdo total de AGPI e o de AGMI n-9 foi de 2,1 indicando uma predominância de AGPI em relação a de AGMI n-9; VII) relação n-6/n-3 - a relação entre o conteúdo total de AGPI n-6 e o de AGPI n-3 foi de 4,1 indicando haver mais de 4 vezes mais AGPI n-6 do que AGPI n-3 nesta dieta (Tabela 2).

3.1.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH) - Os lipídeos das MTH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS total praticamente não variou durante o período estudado, isto é, de 3 a 12 semanas. Apresentando uma média de 36,1%; II) AGMI n-9 total - encontramos um valor crescente de AGMI n-9 de 6,3%, 7,2% e 7,8% para os grupos 3, 6 e 12 semanas, respectivamente, principalmente a custa de um aumento de ácido oléico; III) AGPI n-6 total - encontramos para os 3 grupos de 3, 6 e 12 semanas de tratamento um valor de conteúdo de AGPI n-6 praticamente constante em média de 41,1%. Nas MTH o conteúdo de ácido linoléico e do ácido aracdônico são pratica-

TABELA 2. Composição de AG (em mol%) dos lipídeos totais da ração e de mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomo na hepático (MSH), mitocôndria cardíaca encefálica (MIE) e microsoma encefálico (MSE) de ratos com dieta-controle, durante 3,6 ou 12 semanas (s).

AG	RAÇÃO	MTH			MSH			MIE			MSE		
		3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s
16:0	12,9	15,9	17,3	16,8	19,7	19,3	10,3	11,0	9,7	21,2	21,2	28,3	
16:1	1,2	0,8	1,1	1,1	0,9	0,7	0,6	0,7	0,6	1,2	1,2	0,8	
18:0	3,3	20,9	15,5	18,9	24,8	23,8	21,2	20,3	21,0	19,9	19,9	20,8	
18:1 n-9	24,6	6,0	6,8	7,1	5,7	5,6	6,8	7,0	6,4	20,3	20,3	19,6	
18:2 n-6	44,1	19,1	20,0	20,4	11,5	12,6	26,9	27,0	25,3	1,9	1,9	0,7	
18:3 n-3	5,7	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Tr	Tr	Tr	
20:1 n-9	1,9	0,3	0,4	0,5	0,3	Tr	0,3	0,3	0,4	1,6	1,6	1,8	
20:3	-	1,3	1,6	1,6	1,1	1,3	0,4	0,5	0,6	0,6	0,6	0,2	
20:4 n-6	-	21,4	20,3	21,2	24,1	24,8	15,9	16,2	17,5	12,3	12,3	9,5	
20:5 n-3	1,4	0,9	1,1	0,7	1,0	0,7	0,4	0,5	0,3	Tr	Tr	Tr	
22:4 n-6	-	0,5	0,3	Tr	0,2	0,2	0,1	0,4	Tr	2,4	2,4	2,6	
22:5 n-6	-	Tr	0,2	0,2	0,1								
22:5 n-3	1,4	1,4	1,6	1,3	1,4	1,4	1,9	2,0	2,1	0,2	0,2	0,2	
22:6 n-3	2,2	11,1	10,6	10,0	9,7	9,3	15,1	13,8	16,0	18,2	18,2	15,4	
AGS TOTAL	16,2	36,8	35,8	35,7	44,5	43,1	31,5	31,3	30,7	41,1	41,1	49,1	
AG n-9 TOTAL	26,5	6,3	7,2	7,8	5,5	5,6	7,1	7,3	6,8	21,5	21,5	22,6	
AG n-6 TOTAL	44,1	41,0	40,6	41,6	35,8	37,6	42,9	43,6	43,1	16,8	16,8	12,9	
AG n-3 TOTAL	10,7	13,6	13,5	12,3	12,3	11,6	17,6	16,5	18,6	18,4	18,4	15,6	
AGPI/AGS	3,4	1,5	1,5	1,5	1,1	1,1	1,9	1,9	2,0	0,9	0,9	0,8	
AGPI/n-9	2,1	8,7	7,5	6,9	8,7	8,8	8,5	8,2	9,1	1,6	1,6	1,7	
n-6/n-3	4,1	3,0	3,0	3,4	2,9	3,2	2,4	2,6	2,3	0,9	0,9	0,8	

mente iguais e ambos em torno de 20%; IV) AGPI n-3 total - encontramos um valor decrescente do conteúdo de AGPI n-3 em função do tempo de estudo, 13,6% após 3 semanas, 13,5% após 6 semanas e 12,3% após 12 semanas, a custos de um decréscimo no conteúdo dos AG icosapentaenóico e docosaheptaenóico, sendo este último o principal AGPI n-3; V) AGPI/AGS - encontramos para essa relação um valor de 1,5, constante para os grupos de 3, 6 ou 12 semanas de tratamento com essa dieta; VI) AGPI/n-9 - nesse caso observamos um decréscimo do valor dessa relação em função do tempo de tratamento, de 8,7 após 3 semanas, de 7,5 após 6 semanas e de 6,9 após 12 semanas; VII) n-6/n-3 - encontramos para esta relação o valor de 3,0, tanto para o grupo de 3 semanas como para o de 6 semanas, porém de 3,4 para o grupo de 12 semanas, indicando que as MTH possuíam mais de 3 vezes AGPI n-6 do que AGPI n-3 (Tabela 2).

3.1.3. Microsomas hepáticos (MSH) - Os lipídeos dos MSH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS total não variou em função do tempo da dieta, sendo em média de 43,8%; II) AGPI n-9 total - o conteúdo de AGPI n-9 também não variou em função do tempo de tratamento, sendo em média igual a 5,5%; III) AGPI n-6 total - observamos um leve acréscimo do conteúdo de AGPI n-6 de 35,8% após 3 semanas e de 37,6% após 12 semanas. Para os MSH a quantidade de ácido aracdônico foi praticamente o dobro da do ácido linoléico; IV) AGPI n-3 total - observamos um valor médio de 12% de conteúdo total de AGPI n-3 nos dois grupos de 3 a 12 semanas de tratamento. Para os MSH o principal AGPI n-3 quantitativamente foi também o docosaheptaenóico; V) AGPI/AGS - tanto para o grupo de 3 semanas como para o de 12 semanas de tratamento obtivemos o mesmo valor de 1,1 para essa relação, indicando que nos MSH havia praticamente apenas 10% mais AGPI do que AGS; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi semelhante para os dois grupos de 3 e 12 semanas de tratamento, em média igual a 8,7; VII) n-6/n-3 - o grupo de 3 semanas de dieta apresentou o valor de 2,9 e o de 12 semanas o valor de 3,2 (devido ao aumento de AGPI n-6, enquanto que o valor de AGPI n-3 praticamente não variou). Da mesma forma que para as MTH, os MSH apresen

taram uma quantidade cerca de 3 vezes maior de AGPI n-6 do que de AGPI n-3 (Tabela 2).

3.1.4. Mitocôndrias cardíacas (MTC) - Os lipídeos das MTC apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS total não variou em função do tempo de dieta, sendo em média igual a 31,2%; II) AGMI n-9 total - o conteúdo de AGMI n-9 também não variou em função do tempo de tratamento, sendo em média igual a 7,1%; III) AGPI n-6 total - da mesma forma, durante 3, 6 ou 12 semanas de tratamento o valor do conteúdo de AGPI n-6 não variou e foi em média de 43,2%. Nas MTC a quantidade de ácido linoléico (26,4%) foi bem maior que a do ácido aracdônico (16,5%); IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 foi de 17,6% na 3^a semana, de 16,5% na 6^a e de 18,6% na 12^a de dieta. O AG mais importante dessa família foi o ácido docosaheptaenóico em torno de 15% e em segundo lugar foi o docosapentaenóico em torno de 2%; V) AGPI/AGS - o valor dessa relação para os grupos de 3, 6 ou 12 semanas foi em torno de 1,9, indicando que as MTC apresentavam cerca de 2 vezes mais AGPI que AGS; VI) AGPI/n-9 - para essa relação encontramos o valor de 8,5 para o grupo de 3 semanas, 8,2 para o grupo de 6 semanas e 9,1 para o grupo de 12 semanas; VII) n-6/n-3 - o valor médio dessa relação para os 3 grupos de 3, 6 ou 12 semanas de dieta foi de 2,4 (Tabela 2).

3.1.5. Mitocôndrias encefálicas (MTE) - Os lipídeos das MTE, após 12 semanas de dieta, apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS foi de 41,1%; II) AGMI n-9 total - o conteúdo total de AGMI n-9 foi de 21,5%, sendo 20,3% de ácido oléico; III) AGPI n-6 total - o conteúdo de AGPI n-6 total foi de 16,8%. O conteúdo de ácido aracdônico foi de 12,3% e o de ácido docosatetraenóico foi de 2,4%, enquanto que o de ácido linoléico foi de apenas 1,9%; IV) AGPI n-3 total - o conteúdo total de AGPI n-3 foi de 18,4%, sendo quase totalmente devido ao ácido docosaheptaenóico que foi de 18,2%; V) AGPI/AGS - o valor encontrado para essa relação foi de 0,9, indicando que as MTE possuíam maior conteúdo de AGS do que de AGPI; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi de 1,6% indicando que as MTE apresentaram maior conteúdo

de AGPI n-3 do que de AGPI n-6 (Tabela 2).

3.1.6. Microsomas encefálicos (MSE) - Os lipídeos dos MSE apresentaram, após 12 semanas de dieta, as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo total de AGS foi de 49,1%; II) AGMI n-9 total - o conteúdo total de AGMI n-9 foi de 22,6%, sendo 19,6% de ácido oléico; III) AGPI n-6 total - o conteúdo total de AGPI n-6 foi de 12,9% . O conteúdo de ácido aracdônico foi de 9,5% e o de ácido docosatetraenóico foi de 2,4%, enquanto que o de ácido linoléico foi de 0,7%; IV) AGPI n-3 total - o conteúdo total de AGPI n-3 foi de 15,6%, sendo quase totalmente devido ao ácido docosahexaenóico (15,4%); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi de 0,8, indicando que os MSE como as MTE apresentaram maior conteúdo de AGS do que de AGPI; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi de 1,7; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi de 0,8 devido a maior quantidade de AGPI n-3 do que de AGPI n-6 (Tabela 2).

3.2. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-óleo de soja (OS)- Determinamos as composições de ácidos graxos dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas e de microsomas hepáticas e encefálicas de ratos tratados com dieta-óleo de soja, durante 3, 6 ou 12 semanas (Tabela 3).

3.2.1. Composição de AG da ração - Os lipídeos da dieta-óleo de soja apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado foi de 14,8%; II) AGMI n-9 total - o conteúdo de AGMI n-9 foi de 24,4%, exclusivamente de ácido oléico; III) AGPI n-6 total - o conteúdo de AGPI n-6 foi de 54,4%, exclusivamente de ácido linoléico; IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 foi de 6,2 exclusivamente de ácido linolênico; V) as relações AGPI/AGS, AGPI/n-9 e n-6/n-3 foram respectivamente iguais a 4,1, 2,5 e 8,8 (Tabela 3).

3.2.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH)- Os lipídeos das MTH apresentaram as seguintes características principais: I)

AGS total - encontramos o conteúdo total de AGS de 38,6%, de 35,6% e de 35,7% após 3, 6 e 12 semanas de tratamento, respectivamente. Esses valores são semelhantes aos encontrados para os respectivos controles (Tabelas 2 e 3); II) AGMI n-9 total - o conteúdo total desses AG foi em média de 8,1% durante as 3, 6 ou 12 semanas de tratamento, um pouco superior aos valores dos respectivos controles; III) AGPI n-6 total - o conteúdo total de AGPI n-6 foi de 43,6% após 3 semanas, 44,2% após 6 semanas e 41,0% após 12 semanas, semelhantes aos dos respectivos controles. A dieta OS induziu um decréscimo do conteúdo de ácido linoléico, ao mesmo tempo que induziu um aumento do conteúdo do ácido aracdônico, em relação a dieta-controle (Tabela 2 e 3); IV) AGPI n-3 total - a dieta-OS, possuindo mais AGPI n-6, menos AGPI n-3 e nenhum AG superior a C18, causou uma diminuição do conteúdo total de AGPI n-3 de 13,6% (do grupo controle) para 7,8% após 3 semanas de tratamento, porém esse conteúdo subiu para 8,6% e 12,7% após 6 e 12 semanas, respectivamente. Portanto, após 12 semanas as MTH do grupo OS voltaram a apresentar um conteúdo de AGPI n-3 total, semelhante ao do controle (Tabelas 2 e 3); V) AGPI / AGS - após 3 semanas de dieta-OS o valor dessa relação foi de 1,3, menor que o observado para o grupo controle, mas os correspondentes a 6 e 12 semanas de tratamento de valor igual a 1,5 foram os mesmos encontrados para os controles; VI) AGPI / n-9 - encontramos para essa relação um valor médio de 6,5 para os grupos de 3, 6 ou 12 semanas de tratamento, um pouco menor do que os dos controles, principalmente após 3 semanas de dieta; VII) n-6/n-3 - durante 3 e 6 semanas de tratamento obtivemos para essa relação valores de 5,6 e 5,1 respectivamente, maiores que os encontrados na dieta-controle mas o correspondente a 12 semanas, igual a 3,2, foi semelhante ao controle (Tabelas 2 e 3).

3.2.3. Microssomas hepáticos (MSH) - Os lipídeos dos MSH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - após 3 semanas de dieta encontramos os conteúdos de AGS de 44,0% e 42,4% após 3 e 12 semanas, respectivamente, semelhantes aos dos controles (Tabelas 2 e 3); II) AGMI n-9

TABELA 3. Composição de AG (em mol%) dos lipídeos totais da ração e de mitocôndrias hepáticas (MTH), mitocrossoma hepático (MSH), mitocôndria cardíaca (MTC), mitocôndria encefálica (MTE) e mitocrossoma encefálico (MSE) de ratos tratados com dieta óleo de soja, durante 3, 6 ou 12 semanas (s).

AG	RACAO	MTH			MSH			MTC			MTE			MSE		
		3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s
16:0	10,6	16,8	16,4	16,5	18,0	19,4	19,4	9,4	8,7	8,8	22,6	27,4				
16:1	0,2	1,0	1,3	1,4	0,6	0,7	0,7	0,5	0,9	0,6	1,1	0,7				
18:0	4,2	21,8	21,0	19,2	26,0	23,0	23,0	24,6	22,5	21,5	20,1	19,8				
18:1 n-9	24,4	8,0	7,5	7,9	4,3	6,3	6,3	7,2	7,0	7,0	20,3	18,7				
18:2 n-6	54,4	16,5	16,4	17,6	11,3	12,5	12,5	27,0	24,9	23,7	2,1	0,8				
18:3 n-3	6,2	0,2	0,1	0,2	0,8	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	Tr	Tr				
20:1 n-9	-	0,4	0,2	0,4	0,8	0,5	0,5	-	-	0,3	0,8	1,9				
20:3	-	0,6	0,8	1,2	0,5	0,8	0,8	Tr	0,8	0,4	0,4	0,2				
20:4 n-6	-	27,1	27,8	23,0	28,0	25,4	25,4	20,7	22,7	21,8	13,1	9,9				
20:5 n-5	-	Tr	Tr	0,5	0,1	0,4	0,4	Tr	Tr	0,2	Tr	Tr				
22:4 n-6	-	Tr	Tr	0,4	0,4	0,4	0,4	1,5	1,5	1,1	2,5	2,9				
22:5 n-6	-	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,5	0,7	0,9	0,3	0,4				
22:5 n-3	-	1,0	0,9	1,2	0,7	1,2	1,2	1,8	1,8	2,1	Tr	0,2				
22:6 n-3	-	6,6	7,6	10,8	8,5	9,1	9,1	6,7	8,4	11,6	17,9	17,2				
AGS TOTAL	14,8	38,6	35,6	35,7	44,0	42,4	42,4	34,0	31,2	30,3	42,7	47,2				
AG n-9 TOTAL	24,4	8,4	7,7	8,3	5,1	6,8	6,8	7,2	7,0	7,3	21,1	20,6				
AG n-6 TOTAL	54,4	43,6	44,2	41,0	39,8	38,4	38,4	49,7	49,8	47,5	18,0	14,0				
AG n-3 TOTAL	6,2	7,8	8,6	12,7	10,1	11,0	11,0	8,6	10,3	14,1	17,9	17,4				
AGPI/AGS	4,1	1,3	1,5	1,5	1,1	1,2	1,2	1,7	1,9	2,0	0,8	0,7				
AGPI/n-9	2,5	6,1	6,9	6,5	9,8	7,2	7,2	8,1	8,6	8,5	1,7	1,5				
n-6/n-3	8,8	5,6	5,1	3,2	3,9	3,5	3,5	5,8	4,8	3,4	1,0	0,8				

total - o conteúdo total de AGMI n-9 variou de 5,1% após 3 semanas de tratamento a 6,8% após 2 semanas devido ao aumento do conteúdo de ácido oléico de 4,3% para 6,3%, nesse período. O conteúdo total de AGPI n-9 após 3 semanas foi semelhante ao controle, mas o do grupo 12 semanas foi maior que o respectivo controle (Tabelas 2 e 3); III) AGPI n-6 total encontramos um valor médio de 39,1% de conteúdo de AGPI n-6 dos grupos 3 e 12 semanas de dieta um pouco superior ao do controle (36,7%). Observamos que enquanto o conteúdo de ácido linoléico decresce o do ácido aracdônico aumenta, em relação aos grupos controles, principalmente após 3 semanas de dieta (Tabela 2 e 3); IV) AGPI n-3 total - a dieta óleo de soja induziu um decréscimo do conteúdo total de AGPI n-3 dos MSH de 12,3 % (grupo controle) para 10,1% após 3 semanas, porém o conteúdo do grupo 12 semanas foi semelhante ao controle. Nessa organela, o ácido docosaheptaenóico foi o AGPI n-3 mais importante quantitativamente e a dieta-óleo de soja causava uma diminuição do seu conteúdo após 3 semanas, mas tende a voltar ao nível do grupo controle após 12 semanas. Proporcionalmente o ácido icosapentaenóico é o AGPI n-3 que mais variou pela ação dessa dieta (Tabelas 2 e 3); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi em média 1,1 para os grupos 3 e 12 semanas, semelhante ao do controle; VI) AGPI/n-9 - os valores dessa relação foram 9,8 e 7,2 para os grupos 3 e 12 semanas respectivamente, um pouco inferiores aos respectivos controles; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 3,9 para o grupo de 3 semanas e 3,5 para o grupo de 12 semanas, superiores aos respectivos controles (Tabelas 2 e 3).

3.2.4. Mitocôndria cardíaca (MTC) - Os lipídeos das MTC apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - os conteúdos de AGS foram 34,0%, 31,2%, 30,3 % após 3,6 e 12 semanas de dieta respectivamente, próximos aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 3); II) AGMI n-9 total - o conteúdo de AGMI n-9 das MTC após 3, 6 e 12 semanas foi em média de 7,2% semelhante ao do controle (7,1%) (Tabelas 2 e 3); III) AGPI n-6 total - o valor médio de AGPI n-6

nos grupos 3, 6 e 12 semanas foi de 49,0%, maior que o do controle (43,2%). O conteúdo de ácidolinoléico foi semelhante ao do controle, porém o de ácido aracdônico foi bem maior que o do controle. Proporcionalmente, o ácido docosatetraenóico foi o AGPI n-6 que mais aumentou, induzido pela dieta-óleo de soja (Tabelas 2 e 3); IV) AGPI n-3 total - essa dieta causou um decréscimo no conteúdo de AGPI n-3 de 17,6% (média dos grupos controles de 3, 6 e 12 semanas) para 8,6% após 3 semanas de tratamento, 10,3% após 6 semanas e 14,1% após 12 semanas principalmente devido a queda de conteúdo de ácido docosahe-xaenóico (Tabelas 2 e 3); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi em média de 1,9 semelhante ao controle; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi em média 8,4, semelhante ao do controle; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi bem maior que a do grupo controle, particularmente após 3 semanas (5,8) 2,4 vezes maior do que o do controle (2,4) (Tabelas 2 e 3).

3.2.5. Mitocôndrias encefálicas (MTE) e Microsomas encefálicos (MSE) - os lipídeos das MTE e dos MSE, após 12 semanas de tratamento com a dieta-óleo de soja apresentam as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS das MTE foi de 42,7% e dos MSE foi de 47,2% e dos MSE foi de 42,2% semelhante aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 3); II) AGMI n-9 total - o conteúdo de AGMI n-9 das MTE foi de 21,1% e o dos MSE 20,6%, semelhantes também aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 3); III) AGPI n-6 total - encontramos os valores do conteúdo de AGPI n-6 de 18,0% para as MTE e de 14,0% para os MSE, semelhantes , aos respectivos controles. Nessas organelas desse grupo de dieta, da mesma forma que as dos controles o AGPI n-6 quantitativamente mais importante foi o ácido aracdônico, em segundo lugar o ácido docosatetraenóico n-6 e somente em terceiro lugar o ácido linoléico (Tabelas 2 e 3); IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 das MTE foi de 17,9% semelhante ao do seu controle (18,4%), porém o dos MSE igual a 17,4% foi um pouco superior ao do seu controle (15,6%). Praticamente tais valo-

res correspondem ao conteúdo de ácido docosahexaenóico (Tabelas 2 e 3); V) AGPI/AGS - os valores dessa relação foram 0,8 para as MTE e 0,7 para os MSE, um pouco menores do que os dos respectivos controles; VI) AGPI/n-9 - os valores dessa relação foram 1,7 para as MTE e 1,5 para as MSE, semelhantes aos controles; VII) n-6/n-3 - os valores dessa relação foram 1,0 para as MTE e 0,8 para os MSE, semelhantes aos controles (Tabelas 2 e 3).

3.3. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-óleo de girassol (OG) -

Determinamos as composições de AG dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas e de microsomas hepáticos e encefálicos de ratos tratados com dieta-óleo de girassol durante 3, 6 ou 12 semanas (Tabela 4).

3.3.1. Composição de AG da ração - os lipídeos da dieta-óleo de girassol apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado foi 11,8% inferior ao da dieta-controle (16,8%); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 23,6%, um pouco inferior ao controle (26,5%); III) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 63,1% bem superior ao controle (44,1%); IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi 0,5%, 20 vezes inferior ao do controle (10,7%); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 5,4; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi 2,7; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 126,0 muito superior ao da dieta-controle que foi 4,1 (Tabelas 2 e 4).

3.3.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH) - os lipídeos das MTH apresentaram as seguintes características principais : I) AGS total - o conteúdo de AGS dessa organela foi 40,2% após 3 semanas de tratamento, 37,4% após 6 semanas e 36,4% após 12 semanas, superiores ao valor médio do grupo controle (36,1%) (Tabelas 2 e 4); II) AGMI n-9 total - o conteúdo de AGMI n-9 após 3 semanas de tratamento foi 6,4%, após 6 semanas foi 7,9% e após 12 semanas foi 7,4%, semelhante aos dos respectivos controles

TABELA 4. Composição de AG (em mol %) dos lipídeos totais da ração e de mitocôndrias hepáticas (MTH), mirossoma hepático (MSH), mitocôndria cardíaca (MIC), mitocôndria encefálica (MTE) e mirossoma encefálico (MSE) de ratos tratados com dieta de óleo de girassol, durante 3, 6 ou 12 semanas (s).

AG	RAÇÃO	MTH			MSH			MIC			MTE			MSE		
		3s	6s	12s												
16:0	1,3	16,0	15,2	16,1	17,8	18,1	18,1	8,6	7,9	8,4	21,9	21,9	8,6	7,9	8,4	26,4
16:1	0,3	1,0	1,2	0,9	0,7	0,5	0,5	0,6	0,8	0,6	1,7	1,7	0,6	0,8	0,6	0,7
18:0	4,5	24,2	22,2	20,3	26,6	25,6	25,6	25,1	23,6	22,7	19,5	19,5	25,1	23,6	22,7	19,9
18:1 n-9	23,2	6,3	7,7	7,4	4,1	4,9	4,9	6,7	6,5	6,3	20,3	20,3	6,7	6,5	6,3	19,1
18:2 n-6	63,1	16,7	16,4	16,3	9,8	10,0	10,0	27,3	24,1	23,5	2,2	2,2	27,3	24,1	23,5	0,9
18:3 n-3	0,5	0,1	0,2	Tr	0,1	Tr	Tr	0,7	1,7	Tr	Tr	Tr	0,7	1,7	Tr	Tr
20:1 n-9	0,4	0,1	0,2	Tr	0,2	Tr	Tr	-	0,1	0,2	1,4	1,4	-	0,1	0,2	2,3
20:3	-	0,6	0,7	0,8	0,3	0,4	0,4	Tr	0,7	0,3	0,3	0,3	Tr	0,7	0,3	0,2
20:4 n-6	-	26,8	28,5	26,4	30,5	30,1	30,1	21,5	22,5	22,2	13,5	13,5	21,5	22,5	22,2	10,6
20:5 n-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:4 n-6	-	0,6	-	0,8	1,3	0,8	0,8	1,3	1,6	1,6	2,5	2,5	1,3	1,6	1,6	3,0
22:5 n-6	-	0,6	1,0	1,1	2,9	1,0	1,0	1,2	2,7	2,3	0,8	0,8	1,2	2,7	2,3	0,9
22:5 n-3	-	0,4	Tr	0,5	0,4	0,5	0,5	0,9	0,6	1,0	Tr	Tr	0,9	0,6	1,0	Tr
22:6 n-3	-	6,5	6,6	9,4	5,3	8,1	8,1	6,1	7,2	11,1	16,0	16,0	6,1	7,2	11,1	16,1
AGS TOTAL	11,8	40,2	37,4	36,4	44,4	43,7	43,7	33,7	31,5	31,1	41,4	41,4	33,7	31,5	31,1	46,3
AG n-9 TOTAL	23,6	6,4	7,9	7,4	4,3	4,9	4,9	6,7	6,6	6,5	21,7	21,7	6,7	6,6	6,5	21,4
AG n-6 TOTAL	63,1	44,7	45,9	44,6	44,5	41,9	41,9	51,3	50,9	49,6	19,0	19,0	51,3	50,9	49,6	15,4
AG n-3 TOTAL	0,5	7,0	6,8	9,9	5,8	8,6	8,6	7,7	9,5	12,1	16,0	16,0	7,7	9,5	12,1	16,1
AGPI/AGS	5,4	1,3	1,4	1,5	1,0	1,2	1,2	1,7	1,9	2,0	0,8	0,8	1,7	1,9	2,0	0,7
AGPI/n-9	2,7	8,1	6,7	7,4	11,7	10,3	10,3	8,8	9,1	9,5	1,8	1,8	8,8	9,1	9,5	1,5
n-6/n-3	126,2	6,4	6,7	4,5	7,7	4,9	4,9	6,7	5,4	4,1	1,2	1,2	6,7	5,4	4,1	1,0

(Tabelas 2 e 4); III) AGPI n-6 total - o conteúdo de AGPI n-6 foi em média para os 3 grupos de 3, 6 ou 12 semanas de tratamento 45,1%, superior ao valor do grupo controle (em média de 41,1%). Observamos um aumento do conteúdo de ácido aracdônico e um decréscimo de ácido linoléico. Considerando se que o grupo controle apresentou apenas traços de ácido do cosapentaenônico, a dieta OG induziu uma grande incorporação desse AG nos lipídeos das MTH: 0,6% após 3 semanas , 1,0% após 6 semanas e 1,1% após 12 semanas (Tabelas 2 e 4); IV) AGPI n-3 total - os conteúdos de AGPI n-6 foram 7,0%, 6,8% e 9,9% após 3, 6 e 12 semanas, bem inferiores ao valor médio de 13,1% do grupo controle. O ácido icosapentaenônico não foi detectado durante o tempo de tratamento, enquanto que o grupo controle apresentou um valor médio de 0,9%. O conteúdo do ácido docosa pentaenônico diminuiu cerca de 3 vezes em relação ao valor médio de 1,4% do controle. O conteúdo do ácido docosahexaenônico após 3 semanas foi 6,5%, após 6 semanas foi 6,6% e após 12 semanas de 9,4%, inferiores ao controle, em média igual a 10,6% (Tabelas 2 e 4); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi em média de 1,4, semelhante ao controle; VI) AGPI/n-9- o valor dessa relação foi 8,1% na 3ª semana , 6,7% na 6ª semana e 7,4% na 12ª semana de tratamento, valores próximos aos encontrados para os respectivos controles; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 6,4 após 3 semanas, 6,7 após 6 semanas e 4,5 após 12 semanas, maiores que os dos respectivos controles, particularmente após as 3ª e 6ª semanas, quando era mais de 2 vezes maior (Tabelas 2 e 4).

3.3.3. Microsomas hepáticos (MSH) - Os lipídeos dos MSH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor médio encontrado foi de 44,0%, semelhante ao do controle (Tabelas 2 e 4); II) AGMI n-9 total - o conteúdo de AGMI n-9 após 3 semanas foi 4,3% e após 12 semanas foi 4,9%, inferior ao do controle de valor médio igual a 5,5% (Tabelas 2 e 4); III) AGPI n-6 total - o conteúdo de AGPI n-6 após 3 semanas foi 44,5% e após 12 semanas foi 41,9%, superiores ao controle de valor médio igual a 36,7%. Nesse

caso, observamos como nas MTH uma diminuição de ácido linolêico com um aumento simultâneo de ácido aracdônico. O conteúdo de ácido docosatetraenônico aumentou mais de 6 vezes em comparação ao do controle, enquanto que o ácido docosapentaenônico aumentou mais significativamente de apenas traços de AG no grupo controle para 2,9% após 3 semanas, diminuindo para 1,0% após 12 semanas (Tabelas 2 e 4); IV) AGPI n-3 total - o conteúdo total de AGPI n-3 foi 5,8% após 3 semanas e 8,6% após 12 semanas, inferiores aos controles de valor médio igual a 11,9%. O ácido icosapentaenônico não foi detectado durante o tempo do tratamento com a dieta OG, enquanto que o grupo controle possuía 1,0% ou 0,7% após 3 ou 12 semanas, respectivamente. O ácido docosapentaenônico apresentou o conteúdo em média de 0,4% mais de 3 vezes menor do que o valor médio de 1,4% dos respectivos controles. O conteúdo de ácido docosahexaenônico foi 5,3% após 3 semanas e 8,1% após 12 semanas, inferiores ao valor médio de 9,5% dos respectivos controles (Tabelas 2 e 4); IV) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi em média 1,1 semelhante ao do controle; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi em média de 11,0 superior ao do controle de 8,6; VII) n-6/n-3 - após 3 semanas o valor dessa relação foi 7,7, mais de 2 vezes maior que o do controle e após 12 semanas foi 4,9 um pouco superior ao valor de 3,2 do controle (Tabelas 2 e 4).

3.3.4. Mitocôndrias cardíacas (MTC) - Os lipídeos das MTC apresentaram as seguintes características principais : I) AGS total - após 3 semanas o conteúdo de AGS foi 33,7%, após 6 semanas foi 31,5% e após 12 semanas foi 31,1%, semelhantes ao valor médio de 31,2% dos grupos controles (Tabelas 2 e 4) II) AGMI n-9 total - o conteúdo médio de AGMI n-9 foi 6,6% semelhante ao do controle (Tabelas 2 e 4); II) AGPI n-6 total - o conteúdo de AGPI n-6 após 3 semanas foi 51,3%, após 6 semanas foi 50,9% e após 12 semanas foi 49,6%, superiores ao valor médio de 43,2% dos respectivos controles. Nas MTC o conteúdo de ácido linolêico após 3 semanas de tratamento foi 27,3% semelhante ao do seu controle, após 6 semanas foi 24,1%, inferior ao do controle e após 12 semanas foi 23,5%, enquanto que o de seu con -

trole foi 25,3%. O conteúdo de ácido aracdônico foi em média 22,1%, superior ao controle (16,5%). Observamos um grande aumento no conteúdo de ácido docosatetraenônico, em média 1,5% e do docosapentaenônico, 1,2% após 3 semanas, 2,7% após 6 semanas e 2,3% após 12 semanas, em relação aos respectivos controles (Tabelas 2 e 4); IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 após 3 semanas foi 7,7%, enquanto seu controle foi 17,6%, após 6 semanas foi 9,5%, seu controle foi 16,5% e após 12 semanas foi 12,1%, seu controle foi 18,6%. Também nas MTC a dieta OG induziu um total desaparecimento do ácido icosapentaenônico e uma redução de cerca de 50% do conteúdo de ácido docosapentaenônico, em relação ao controle. O conteúdo de ácido docosaheptaenônico caiu de 15,0% (valor médio dos controles) para 6,1% após 3 semanas de tratamento com dieta OG, 7,2% após 6 semanas e 11,1% após 12 semanas (Tabelas 2 e 4); V) AGPI/AGS - o valor médio dessa relação foi 1,9, semelhante ao do controle; VI) AGPI/n-9 - o valor médio dessa relação foi de 9,1 semelhante ao do controle; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação após 3 semanas foi 6,7, após 6 semanas foi 5,4 e após 12 semanas foi 4,1 superior à média dos respectivos controles que foi 2,4 (Tabelas 2 e 4).

3.3.5. Mitocôndrias e microssomas encefálicos (MTE e MSE) - Os lipídeos das MTE e do MSE, após 12 semanas de tratamento, apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS das MTE foi 46,3%, semelhantes aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 4); II) AGMI n-9 total - os conteúdos de AGMI n-9 das MTE foram 21,7% e das MSE foram 21,4%, semelhantes aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 4); III) AGPI n-6 total - o conteúdo de AGPI n-6 das MTE foi 19,0% superior ao do controle que foi 16,8% e dos MSE foi 15,4%, superior ao do seu controle que foi 12,9%. O conteúdo de ácido linoléico das MTE foi 2,2, um pouco superior ao do controle e dos MSE foi 0,9%, também um pouco superior ao do controle. O conteúdo de ácido aracdônico das MTE foi 13,5%, superior ao do controle e dos MSE foi 10,6%, um pouco superior ao do controle. O conteúdo de ácido docosatetraenô

co das MTE foi de 2,5%, semelhante ao controle e dos MSE foi de 3,0%, um pouco superior ao do controle. O conteúdo de ácido docosapentaenóico n-6 foi o AGPI n-6 que proporcionalmente mais se alterou pelo tratamento com a dieta OG, o seu valor nas MTE foi 0,8%, 4 vezes maior do que o do controle e nos MSE foi 0,9%, 9 vezes maior do que o do controle (Tabelas 2 e 4); IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 das MTE foi 16,0%, inferior ao do controle que foi 18,4% e dos MSE foi 16,1% , semelhante ao do controle. Praticamente, o único AGPI n-3 encontrado foi o docosahexaenóico n-3, em ambas organelas (Tabelas 2 e 4) ; V) AGPI/AGS - o valor dessa relação das MTE foi 0,8 e das MSE foi 0,7, semelhantes aos dos respectivos controles; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação das MTE foi 1,8 e dos MSE 1,5, semelhantes aos dos respectivos controles; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação das MTE foi 1,2 e dos MSE foi 1,0, superiores aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 4).

3.4. Conteúdo de ácidos graxos de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-gordura de porco (GP)

Determinamos as composições de AG dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas e dos microssomas hepáticos e encefálicos de ratos tratados com dieta-gordura de porco durante 3, 6 ou 12 semanas (Tabela 5).

3.4.1. Composição de AG da ração - Os lipídeos da dieta -gordura de porco apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado foi 41,6%, bem superior ao valor de 16,8% da dieta-controle; II) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 41,6%, superior ao valor de 36,5% do controle; III) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 12,0% mais de 3 vezes inferior do que o valor de 44,1% da dieta-controle; IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi 2%, cerca de 5 vezes inferior ao do controle (Tabelas 2 e 5); V) AGPI/AGS - o valor encontrado foi 0,3, devido ao alto conteúdo de AGS e baixo de AGPI, cerca de 11 vezes inferior ao do controle; VI) AGPI/n-9 - o valor encontrado foi 0,3, (7 vezes inferior ao

TABELA 5. Composição de AG (em mol%) dos lipídeos totais da ração e de mitocôndrias hepáticas (MTH), microsossoma hepático (MSH), mitocôndria cardíaca (MIC), mitocôndria encefálica (MIE) e microsossoma encefálico (MSE) de ratos tratados com gordura de porco, durante 3, 6 ou 12 semanas (s).

AG	RAÇÃO	MTH			MSH			MIC			MIE			MSE		
		3s	6s	12s												
14:0	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:0	24,4	16,5	14,7	14,8	18,1	18,4	11,6	10,1	9,8	20,8	26,7	26,7	20,8	26,7	26,7	26,7
16:1	2,6	1,4	1,1	1,1	0,9	0,7	1,4	0,9	0,9	1,7	0,8	0,8	1,7	0,8	0,8	0,8
18:0	15,8	25,4	23,3	22,1	27,9	26,8	24,5	23,1	22,2	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9	19,9
18:1 n-9	40,3	8,5	9,0	9,7	7,1	8,6	9,5	8,7	9,8	20,5	19,0	19,0	20,5	19,0	19,0	19,0
18:2 n-6	11,8	15,1	14,1	13,8	5,9	6,1	18,3	17,1	16,3	1,4	0,5	0,5	1,4	0,5	0,5	0,5
18:3 n-3	1,1	Tr	0,3	0,1	0,2	0,1	1,3	2,8	0,2	Tr						
20:1 n-9	1,3	Tr	1,6	0,2	0,2	Tr	0,1	Tr	0,3	0,8	2,0	2,0	0,8	2,0	2,0	2,0
20:3	-	1,3	2,1	1,3	0,5	0,7	0,4	1,2	0,5	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3
20:4 n-6	0,2	23,1	25,9	24,5	27,5	27,5	19,9	21,0	22,7	13,8	10,3	10,3	13,8	10,3	10,3	10,3
20:5 n-3	0,1	0,2	Tr	0,2	0,2	0,2	Tr									
22:4 n-6	-	Tr	Tr	0,4	0,3	0,4	Tr	Tr	0,6	2,3	2,7	2,7	2,3	2,7	2,7	2,7
22:5 n-6	-	Tr	Tr	0,3	0,2	0,2	Tr	Tr	0,4	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
22:5 n-3	0,3	0,8	Tr	0,8	0,8	1,0	2,1	1,9	2,2	Tr	0,2	0,2	Tr	0,2	0,2	0,2
22:6 n-3	0,5	7,9	7,9	10,8	10,4	9,4	11,0	13,1	14,0	18,6	17,5	17,5	18,6	17,5	17,5	17,5
AGS TOTAL	41,6	41,9	38,0	36,9	46,0	45,2	36,1	33,2	32,0	40,7	46,6	46,6	40,7	46,6	46,6	46,6
AG n-9 TOTAL	41,6	8,5	10,6	9,9	7,3	8,6	9,6	8,7	10,1	21,3	21,0	21,0	21,3	21,0	21,0	21,0
AG n-6 TOTAL	12,0	38,2	40,0	39,0	33,9	34,2	28,2	38,1	40,0	17,7	13,8	13,8	17,7	13,8	13,8	13,8
AG n-3 TOTAL	2,0	8,9	8,2	11,9	11,6	10,7	14,4	17,8	16,4	18,6	17,7	17,7	18,6	17,7	17,7	17,7
AGPI/AGS	0,3	1,1	1,3	1,4	1,0	1,0	1,5	1,7	1,8	0,9	0,7	0,7	0,9	0,7	0,7	0,7
AGPI/n-9	0,3	4,4	4,6	5,1	6,2	5,2	5,5	6,4	5,6	1,7	1,5	1,5	1,7	1,5	1,5	1,5
n-6/n-3	6,0	4,3	4,9	3,3	2,9	3,2	2,6	2,1	2,4	0,9	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8

do controle);VII) $n-6/n-3$ - o valor encontrado foi 6,0, um pouco superior ao do controle (Tabelas 2 e 5).

3.4.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH) - Os lipídeos das MTH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS após 3 semanas de tratamento foi 41,9%, após 6 semanas foi 38,0% e após 12 semanas foi 36,9%, superiores ao valor médio dos respectivos controles que foi 36,1% (Tabelas 2 e 5); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado após 3 semanas foi 8,5%, após 6 semanas foi 10,6% e após 12 semanas foi 9,9%, superiores aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 5); III) AGPI n-6 total - o valor encontrado , em média, para os 3 grupos de 3, 6 ou 12 semanas, foi 39,1% semelhante ao valor médio de 41,2% dos controles. O conteúdo de ácido linoléico após 3 semanas foi 15,1%, após 6 semanas foi 14,1% e após 12 semanas foi 13,8%, inferiores aos dos controles que em média foi 19,8%. O conteúdo de ácido aracdônico após 3 semanas foi 23,1%, após 6 semanas foi 25,9% e após 12 semanas foi 24,5%, superiores aos dos controles , que foi em média 21,0% (Tabelas 2 e 5); III) AGPI n-3 total - o valor encontrado após 3 semanas foi 8,9%, após 6 semanas foi de 8,2% e após 12 semanas foi 11,9%, inferior ao valor médio de 13,1% dos respectivos controles. O conteúdo de ácido icisapentaenônico após 3 semanas foi 0,2%, após 6 semanas foi de apenas traços e após 12 semanas, foi 0,9% muito inferiores ao valor médio de 0,9% dos respectivos controles. O conteúdo de ácido docosahexaenônico após 3 semanas foi 7,9%, inferior ao do controle de 11,1%, após 6 semanas foi 7,9% inferior ao do controle de 10,6% e após 12 semanas foi 10,8%, semelhante ao do controle de 10,0% (Tabelas 2 e 5); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação após 3 semanas foi 1,1, após 6 semanas foi 1,3 e após 12 semanas foi 1,4, um pouco inferiores a média dos respectivos controles; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação após 3 semanas foi 4,4, após 6 semanas foi 4,6 e após 12 semanas foi 5,1, inferiores aos dos controles que foram respectivamente 8,7, 7,5 e 6,9; VII) $n-6/n-3$ - o valor dessa relação foi de 4,3, após 6 semanas foi 4,9 e após 12 semanas foi

3,3, superior à média dos controles que foi 3,1 (Tabelas 2 e 5).

3.4.3. Microsomas hepáticas (MSH) - Os lipídeos dos MSH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor médio após 3 e 12 semanas de tratamento foi 45,6%, um pouco superior ao controle (Tabelas 2 e 5); II) AGMI n-9 total - o valor médio após 3 e 12 semanas foi 7,9%, superior ao do controle (Tabelas 2 e 5); III) AGPI n-6 total - o valor médio após 3 e 12 semanas foi 34,0 % semelhante ao do controle. O conteúdo de ácido linoléico foi em média 6,0%, a metade do valor médio dos controles. O conteúdo de ácido aracdônico foi em média de 27,5%, um pouco inferior a média dos controles (Tabelas 2 e 5); IV) AGPI n-3 total - o valor médio após 3 e 12 semanas foi 11,1%, semelhante ao dos respectivos controles. O conteúdo de ácido icosapentaenônico após 3 e 12 semanas foi 0,2%, enquanto os controles respectivos foram 3,5 a 5 vezes superiores. Os conteúdos do ácido docosapentaenônico em média 0,9% e do ácido docosahexaenônico foi em média 9,9%, semelhantes aos respectivos controles (Tabelas 2 e 5); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 1,0 em média para os 2 grupos, semelhantes aos dos controles; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação após 3 semanas foi 6,2 e após 12 semanas foi 5,2, inferiores ao do valor médio dos respectivos controles que foi 8,7; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 3,0 em média para os 2 grupos, semelhante ao dos controles (Tabelas 2 e 5).

3.4.4. Mitocôndrias cardíacas (MTC) - Os lipídeos das MTC apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o conteúdo de AGS após 3 semanas foi 36,1%, após 6 semanas, 33,2% e após 12 semanas foi 32,0%, superiores ao valor médio de 31,2% dos controles (Tabelas 2 e 5); II) AGMI n-9 total - o valor médio dos grupos 3, 6 e 12 semanas foi 9,5%, um pouco inferior ao dos controles que foi 8,5% (Tabelas 2 e 5); III) AGPI n-6 total - o valor médio dos grupos 3, 6 e 12 semanas foi 38,8% inferior ao dos respectivos controles que foi 49,2%. O conteúdo de ácido linoléico após

3 semanas foi de 18,3%, após 6 semanas foi de 17,1% e após 12 semanas foi de 16,3%, inferiores ao valor médio de 26,4% dos controles. O conteúdo de ácido aracdônico após 3 semanas foi 19,9%, após 6 semanas foi 21,0% e após 12 semanas foi 22,7% superiores ao valor médio de 16,5% (Tabelas 2 e 5); IV) AGPI n-3 total - o conteúdo de AGPI n-3 total após 3 semanas foi 14,4%, após 6 semanas foi 17,8% e após 12 semanas foi 16,4%, o grupo 3 semanas foi inferior ao seu controle, os grupos 6 e 12 semanas foram semelhantes ao valor médio de 17,5% dos controles. O conteúdo de ácido linolênico após 3 semanas foi 1,3%, após 6 semanas foi de 2,9% e após 12 semanas foi 0,2%, enquanto que o valor médio dos controles foi 0,2%. O conteúdo de ácido icosapentaenóico foi de apenas traços nos 3 grupos estudados, enquanto que o valor médio dos respectivos controles foi 0,4%. O conteúdo de ácido docosaheptaenóico após 3 semanas foi de 11,0%, após 6 semanas foi de 13,1% e após 12 semanas foi de 14,0%, inferiores ao dos respectivos controles de valor médio igual a 15,0% (Tabelas 2 e 5); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação após 3 semanas foi 1,5, após 6 semanas foi 1,7 e após 12 semanas foi 1,8, um pouco inferior à média dos respectivos controles que foi 1,9; VI) AGPI/n-9 - o valor médio dessa relação para os grupos 3, 6 e 12 semanas foi 5,8, inferior ao valor médio de 8,6 dos controles; VII) n-6/n-3 - o valor médio dessa relação para os 3 grupos estudados foi 2,4, semelhante ao dos controles respectivos (Tabelas 2 e 5).

3.4.5. Mitocôndrias e microssomas encefálicos (MTE) e (MSE) - Os lipídeos das MTE e dos MSE após 12 semanas de tratamento com a dieta GP apresentaram as seguintes características: I) AGS total - o valor encontrado nas MTE foi 40,7% e nos MSE 46,6%, semelhantes aos dos respectivos controles (Tabela 2 e 5); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado nas MTE foi 21,3%, semelhante ao seu controle e nos MSE foi 21,0%, um pouco inferior ao do controle (Tabela 2 e 5); III) AGPI n-6 total - o valor encontrado na MTE foi 17,7% e nos MSE foi 13,8%, um pouco superior aos dos respectivos controles. O conteúdo de ácido linoléico nas MTE foi de 1,4

e nos MSE foi de 0,5, inferiores aos dos respectivos controles . O conteúdo de ácido aracdônico nas MTE foi de 13,8% e nos MSE foi de 10,3% , um pouco superior aos respectivos controles (Tabelas 2 e 5); V) AGPI n-3 total - o valor encontrado nas MTE foi 18,6%, semelhante ao seu controle e nas MSE foi 17,7%, um pouco superior ao seu controle (Tabelas 2 e 5) V) AGPI/AGS - o valor dessa relação nas MTE foi 0,9 e nos MSE foi 0,7, semelhante aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 5); VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação nas MTE foi 1,5 e nos MSE foi 1,5 semelhante aos dos respectivos controles ; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação nas MTE foi 0,9 e nos MSE foi 0,8, semelhante aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 5).

3.5. Conteúdo de AG de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-óleo de fígado de bacalhau (FB).

Determinamos as composições de AG dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas e dos microssomas hepáticos e encefálicos de ratos tratados com dieta-FB durante 3, 6 ou 12 semanas (Tabela 6):

3.5.1. Composição de AG da ração- Os lipídeos da dieta FB apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado foi 16,1%, semelhante ao da dieta-controle (DC) (Tabelas 2 e 6); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 35,0%, superior ao valor de 26,5% da DC. Nessa ração além de 24,0% de ácido oléico, encontramos também uma expressiva quantidade de ácido icosamonoenóico de 11,0%, enquanto que a DC continha apenas 1,9% desse AG (Tabelas 2 e 6) III) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 2,3%, 19 vezes inferior ao da DC, exclusivamente como ácido linoléico (Tabelas 2 e 6); IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi 22,9% mais de 2 vezes superior ao da DC. Essa dieta foi a mais rica quantitativamente em AGPI n-3 entre todas as outras estudadas, possuindo 0,9% de ácido linolênico, cerca de 5 vezes menos do que na dieta -controle; 8,5% de ácido icosapentaenóico, mais de

TABELA 6. Composição de AG (em mol%) dos lipídeos totais da ração e de mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndria cardíaca (MIC), mitocôndria encefálica (MTE) e microsomas encefálicos (MSE) de ratos tratados com dieta óleo de fígado de bacalhau, durante 3, 6 ou 12 semanas (s).

AG	RAÇÃO	MTH			MSH			MIC			MTE			MSE		
		3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s	3s	6s	12s
14:0	3,5	-	-	-	19,6	24,0	-	11,9	10,5	10,1	-	21,2	-	26,6	-	-
16:0	10,0	21,5	18,3	20,2	1,7	2,7	-	2,6	2,2	1,6	-	1,5	-	0,8	-	-
16:1	9,3	4,6	3,6	3,2	24,4	18,2	-	21,5	21,5	21,2	-	19,9	-	19,6	-	-
18:0	2,6	17,6	18,9	14,8	9,2	11,4	-	13,6	11,5	10,9	-	21,2	-	20,0	-	-
18:1 n-9	24,0	15,2	12,7	12,8	6,8	6,3	-	16,5	13,3	12,9	-	0,9	-	0,3	-	-
18:2 n-6	2,3	7,9	9,3	10,6	0,2	0,3	-	0,6	1,5	0,3	-	Tr	-	Tr	-	-
18:2 n-3	0,9	0,7	2,0	0,3	0,8	Tr	-	1,0	1,0	0,7	-	1,1	-	2,1	-	-
20:1 n-9	11,0	0,8	0,8	1,3	0,8	1,1	-	0,5	0,9	0,8	-	0,8	-	0,4	-	-
20:3	-	0,8	1,7	1,4	10,9	6,9	-	10,5	11,7	11,1	-	9,9	-	7,5	-	-
20:4 n-6	-	6,0	8,3	6,2	6,8	9,1	-	3,3	3,8	3,6	-	0,4	-	0,4	-	-
20:5 n-3	8,5	9,3	7,0	8,6	Tr	Tr	-	Tr	Tr	Tr	-	1,1	-	1,3	-	-
22:4 n-6	-	-	-	-	Tr	Tr	-	Tr	Tr	Tr	-	Tr	-	0,1	-	-
22:5 n-6	-	-	-	-	2,7	3,2	-	2,0	1,9	1,8	-	0,7	-	0,5	-	-
22:5 n-3	1,3	2,8	1,9	2,4	16,1	16,9	-	16,0	20,5	25,0	-	21,3	-	20,1	-	-
22:6 n-3	12,2	12,6	15,5	18,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AGS TOTAL	16,1	39,1	37,2	35,0	44,0	42,2	-	33,4	31,7	30,0	-	41,1	-	46,2	-	-
AG n-9 TOTAL	35,0	16,0	13,5	14,1	10,0	11,4	-	14,6	12,5	11,6	-	22,3	-	22,1	-	-
AG n-6 TOTAL	2,3	13,9	17,6	16,8	17,7	12,2	-	27,0	25,0	24,1	-	11,9	-	9,2	-	-
AG n-3 TOTAL	22,9	25,4	26,4	29,5	25,8	29,5	-	21,9	27,7	30,7	-	22,4	-	21,3	-	-
AGPI/AGS	1,6	1,0	1,2	1,3	1,0	1,0	-	1,5	1,7	1,8	-	0,8	-	0,7	-	-
AGPI/n-9	0,7	2,5	3,3	2,8	4,3	3,7	-	3,3	4,2	4,7	-	1,5	-	1,4	-	-
n-6/n-3	0,1	0,5	0,7	0,6	0,7	0,4	-	1,2	0,9	0,8	-	0,5	-	0,4	-	-

9 vezes superior ao conteúdo da DC; 1,3% de ácido docosapentaenóico, semelhante ao da DC e 12,2% de ácido docosahexaenóico; 5,5 vezes superior ao conteúdo da DC (Tabela 2 e 6); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 1,6, mais da metade do da DC; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi 0,7, 3 vezes inferior ao da DC; VII) o valor dessa relação foi 0,1, a mais baixa entre todas as dietas estudadas e 41 vezes inferior ao da DC (Tabelas 2 e 6).

3.5.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH) - Os lipídeos das MTH apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - O valor encontrado após 3 semanas foi 39,1% , após 12 semanas de tratamento foi 35,0%, semelhante a média dos respectivos controles que foi 36,1% , (Tabelas 2 e 6); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado após 3 semanas foi de 16,0% e após 12 semanas foi 14,1%, superiores aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 6); III) AGPI n-6 total o valor encontrado após 3 semanas foi 13,9%, após 6 semanas foi 17,6% e após 12 semanas foi 16,8%, cerca de 2 a 3 vezes inferior ao dos respectivos controles . O conteúdo de ácido linoléico após 3 semanas foi 7,9%, após 6 semanas foi 9,3% e após 12 semanas foi 10,6%, enquanto que a média dos respectivos controles foi 19,8%. A dieta FB também induziu uma diminuição acentuada do conteúdo de ácido aracdônico nas MTH apresentando um valor médio de 6,8% dos grupos 3, 6 e 12 semanas, enquanto que o da média dos controles foi de 21,0% (Tabelas 2 e 6); IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado após 3 semanas foi 25,4% após 6 semanas foi 26,4% e após 12 semanas foi 29,5%, enquanto que a média dos controles foi 13,1%. A dieta FB induziu um grande aumento do conteúdo de todos os AGPI n-3 nas MTH O ácido linolênico apresentou após 3 semanas o conteúdo de 0,7% (3,5 vezes maior que o controle), após 6 semanas observamos o pico desse aumento com 2,0%, 10 vezes maior do que seu controle e após 12 semanas de 0,3%, semelhante ao seu controle. O ácido icosapentaenóico n-3 apresentou uma média de 8,0%, quase 9 vezes maior do que a média de 0,9% dos respectivos controles. O ácido docosapentaenóico apresentou um valor

médio dos para os grupos 3, 6 e 12 semanas de 2,4%, 2 vezes superior ao valor médio dos respectivos controles. O conteúdo de ácido docosahexaenóico n-3 após 3 semanas de dieta foi 12,6%, após 6 semanas foi 15,5% e após 12 semanas foi 18,2%, enquanto que a média dos respectivos controles foi 10,6% (Tabelas 2 e 6); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação após 3 semanas foi 1,0 após 6 semanas foi 1,2 e após 12 semanas foi 1,3, inferiores ao da média de 1,5 dos controles; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi em média de 2,9 para os 3 grupos de 3, 6 e 12 semanas, enquanto que o valor médio dos respectivos controles foi 7,7; VII) n-6/n-3 - o valor médio dessa relação foi 0,6 cerca de 5 vezes inferior ao da média dos controles (Tabelas 2 e 6).

3.5.3. Microsomas hepáticas (MSH) - Os lipídeos dos MSH apresentaram as seguintes características: I) AGS total - o valor encontrado após 3 semanas foi 44,0% e após 12 semanas 42,2%, semelhantes aos dos respectivos controles (Tabelas 2 e 6); II) AGMI n-9 total - o valor médio dos grupos 3 e 12 semanas foi 10,7%, quase 2 vezes superior ao da média dos controles (Tabelas 2 e 6); III) AGPI n-6 total - a dieta FB induziu uma progressiva diminuição do conteúdo total de AGPI n-6 de 17,7% após 3 semanas de tratamento a 13,2% após 12 semanas de tratamento, enquanto que o valor médio dos controles foi de 36,7%. O conteúdo de ácido linoléico foi em média 6,5% após 3 semanas e após 12 semanas, enquanto que o valor médio dos controles foi quase 2 vezes superior. O conteúdo de ácido aracdônico após 3 semanas foi 10,9% e após 12 semanas foi 6,9%, inferiores ao valor da média dos respectivos controles de 16,0% (Tabelas 2 e 6); IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado após 3 semanas foi 25,8% e após 12 semanas foi 29,5%, mais do dobro da média de 11,9% dos respectivos controles. O conteúdo de ácido linolênico foi praticamente igual ao do controle, porém o do ácido icosapentaenóico aumentou para 6,8% após 3 semanas e de 9,1% após 12 semanas em relação ao valor médio dos controles de 0,8%. O conteúdo do ácido docosapentaenóico após 3 semanas foi 2,7%, quase o dobro do seu controle e após 12 semanas foi de 3,2%, mais de 2 vezes o seu con

trole. O conteúdo do ácido docosahexaenóico foi em média para os grupos 3 e 12 semanas de 16,5% superior à média dos respectivos controles de 9,5% (Tabelas 2 e 6); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 1,0 para os dois grupos, semelhante ao dos controles; VI) AGPI/n-9 - a média dos valores dessa relação para os 2 grupos foi de 4,0, menos que a metade da média dos controles que foi de 8,7; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação após 3 semanas foi 0,7 e após 13 semanas diminuiu mais ainda para 0,4, enquanto que o valor da média dos respectivos controles foi 3,0 (Tabelas 2 e 6).

3.5.4. Mitocôndrias cardíacas (MTC) - Os lipídeos das MTC apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor médio encontrado após 3, 6 e 12 semanas de dieta FB foi 31,7%, semelhante ao da média dos respectivos controles (Tabelas 2 e 6); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado após 3 semanas foi 14,6% caindo para 12,5% e 11,6% após 6 e 12 semanas respectivamente, superiores à média dos controles de 7,1% (Tabelas 2 e 6); III) AGPI n-6 total - o valor encontrado após 3 semanas foi 27,0%, baixando mais ainda para 25,0% e 24,1% após 6 e 12 semanas respectivamente, em relação a média dos respectivos controles que foi 43,2%. O ácido linoléico apresentou um conteúdo de 16,5% após 3 semanas de dieta FB, baixando mais ainda para 13,3% e 12,9% após 6 e 12 semanas respectivamente, em relação à média de 26,4% dos controles. A média dos conteúdos de ácido arac - dônico dos 3 grupos de 3, 6 e 12 semanas foi de 11,1%, inferior a dos controles (Tabelas 2 e 6); IV) AGPI n-3 total a dieta FB induziu um aumento do conteúdo total de AGPI n-3 para 21,9% após 3 semanas , 27,7% após 6 semanas e 30,7% após 12 semanas, em relação ao valor médio dos respectivos controles de 17,6%. O conteúdo de ácido linolênico aumentou muito para 0,6% após 3 semanas , apresentando um pico após 6 semanas de 1,5% e após 12 semanas foi igual a 0,3%, em comparação com o valor médio dos controles que foi 0,2%. O conteúdo de ácido icosapentaenóico também aumentou muito para 3,3% após 3 semanas e mais ainda para 3,8% e 3,6% após 6 e 12 semanas res -

pectivamente, em relação ao valor médio dos controles que foi 0,2%. O ácido docosapentaenóico foi o único AGPI n-3 que não se alterou nem em relação aos respectivos controles, nem em relação ao tempo, seu valor médio foi 1,9%. O conteúdo de ácido docosahexaenóico aumentou para 16,0% após 3 semanas, 20,5% após 6 semanas e 25,0% após 12 semanas, em relação ao valor médio dos controles de 15,0% (Tabelas 2 e 6); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação em média para os 3 grupos foi de 1,7, semelhante à média 1,9 dos controles; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação após 3 semanas foi 3,3, após 6 semanas foi 4,2 e após 12 semanas foi 4,7, inferior ao valor médio 8,6 dos controles; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação cai para 1,2 após 3 semanas, 0,9 após 6 semanas e 0,8 após 12 semanas, em relação ao valor médio de 2,4 dos controles (Tabelas 2 e 6).

3.5.5. Mitocôndrias e microssomas hepáticos (MTE)

e (MSE) - Os lipídeos das MTE e dos MSE e do MSE, após 12 semanas de tratamento com dieta FB, apresentaram as seguintes características: I) AGS total - o valor das MTE foi 41,1% e dos MSE foi de 46,2%, semelhantes aos respectivos controles (Tabelas 2 e 6); II) AGMI n-9 total - o valor das MTE foi 22,3% e dos MSE foi 22,1%, semelhantes aos respectivos controles (Tabelas 2 e 6); III) AGPI n-6 total - de modo semelhante ao que ocorreu nos tecidos hepáticos e cardíacos , porém com menor intensidade, a dieta FB induziu uma diminuição no conteúdo de AGPI n-6 total para 11,9% em relação ao valor do controle que foi 16,8% e para 9,2% nos MSE em relação ao valor do controle que foi 12,9% . O conteúdo de ácido linoléico diminuiu mais de duas vezes nas MTE, de 1,9% do controle para 0,9% e também nas MSE, de 0,7% do controle para 0,3%. O conteúdo de ácido aracdônico, por outro lado, diminuiu de 12,3% do controle para 9,9% nas MTE e de 9,5% do controle para 7,5% nos MSE. O ácido docosatetraenóico, importante para organelas encefálicas como terceiro AGPI em quantidade, diminuiu mais de 2 vezes nas MTE de 2,4% do controle para 1,1% e de 2 vezes nas MSE de 2,6% do controle para 1,3% (Tabelas 2 e 5); IV) AGPI n-3 total - da mesma forma que ocorreu nas organelas do tecido hepático e cardíaco , a

dieta FB induziu um aumento do conteúdo total de AGPI n-3 nas MTE de 18,6% encontrado no controle para 22,4% e nos MSE de 15,6% do controle para 21,3%. O conteúdo de ácido icosapentaenóico foi de 0,4% nas MTE e nos MSE, valores expressivos considerando-se que os respectivos controles apresentaram apenas traços de AG. O conteúdo de ácido docosapentaenóico, aumentou de 0,2% encontrado no controle para 0,7% nas MTE e de 0,2% no controle para 0,8% nos MSE. O conteúdo de ácido docosahexaenóico também aumentou de 18,2% no controle para 21,3% nas MTE e de 15,4% no controle para 20,1% nos MSE (Tabelas 2 e 6) ; V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 0,8 para as MTE e 0,7 para os MSE, um pouco inferior ao dos respectivos controles ; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação para as MTE foi 1,5, semelhante ao do controle e para os MSE foi 1,4, inferior ao do controle que foi 1,7; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação diminuiu cerca de 2 vezes, de 0,9 no controle para 0,5 nas MTE e de 0,8 no controle para 0,4 nos MSE .(Tabelas 2 e 6) .

3.6. Conteúdo de AG de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (SH)-

Determinamos a composição de AG dos lipídeos da ração, das mitocôndrias hepáticas e cardíacas e dos microsomas hepáticos de ratos tratados durante 8 semanas com dieta SH (Tabela 7):

3.6.1. Composição de AG da ração - Os lipídeos da dieta SH apresentaram as seguintes características principais: I) Isômeros trans - a dieta SH apresentou 16,9% de ácido elaidico ou ácido trans oléico e 5,1% de ácido linoelaidico, isômero trans do ácido linoléico; II) AGS total - o valor encontrado foi de 20,9%, superior ao da dieta-controle; III) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 42,0% (somente isômero cis), superior ao da DC; IV) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi de 13,2% (somente os isômeros cis) mais de 3 vezes inferior ao da DC; V) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi apenas traços desses AG, enquanto que na DC encontramos 10,7%;

TABELA 7 , Composição dos AG dos lipídeos totais da ração e de mitocôndria hepática (MTH), microsossoma hepático (MSH) e de mitocôndria cardíaca (MTC) de ratos tratados com dieta óleo de soja parcialmente hidrogenado, durante 8 semanas.

AG (mol/%)	RAÇÃO	MTH	MSH	MTC
16:0	10,5	9,7	12,2	8,4
16:1	Tr	0,9	0,7	0,7
18:0	10,4	21,3	25,7	23,1
18:1 (cis)	42,0	9,3	8,0	11,4
18:1 (trans)	16,9	5,6	5,8	5,4
18:2 (cis)	13,2	15,1	8,2	22,3
18:2 (trans)	5,1	-	-	-
18:3 n-3	Tr	0,1	0,2	0,6
20:1 n-9	-	0,2	0,3	0,3
20:3	-	1,1	0,5	1,0
20:4 n-6	-	28,6	31,1	21,3
20:5 n-3	-	Tr	Tr	0,2
22:4 n-6	-	0,9	0,5	1,1
22:5 n-6	-	2,4	1,8	1,6
22:5 n-3	-	0,4	0,4	0,5
22:6 n-3	-	4,3	3,6	1,8
AGS TOTAL	20,9	31,0	37,9	31,5
AG n-9 TOTAL*	42,0	9,5	8,3	11,7
AG n-6 TOTAL*	13,2	47,0	41,6	46,3
AG n-3 TOTAL*	Tr	4,8	4,2	3,1
AGPI/AGS*	0,6	1,7	1,2	1,6
AGPI/n-9*	0,3	5,4	5,5	4,2
n-6/n-3		9,8	9,9	14,9

* Foram computados apenas os isômeros cis.

VI) AGPI/AGS - o valor encontrado foi 0,6, mais de 5 vezes menor do que o da DC; VII) AGPI/n-9 - o valor encontrado foi 0,3 menor do que a DC (Tabelas 2 e 7).

3.6.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH) - Os lipídeos das MTH apresentaram as seguintes características principais: I) Incorporação de isômeros trans - a dieta SH apesar de possuir os ácidos elaidico e linoelaidico apresentaram apenas a incorporação do ácido elaidico na ordem de 5,6% (Tabela 7); II) AGS total - o valor encontrado foi 31,0%, um pouco inferior do que o valor médio das MTH da dieta DC (Tabelas 2 e 7); III) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 9,5% um pouco superior ao valor médio das MTH da dieta DC de 7,1% (Tabelas 2 e 7); IV) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 47,0%, um pouco superior ao valor médio das MTH controles de 41,1%. O conteúdo de ácido linoléico foi 15,1%, inferior ao do valor médio das MTH controles de 19,8%. O conteúdo de ácido aracdônico foi 28,6%, superior ao do controle em média 21,0%. A dieta SH induziu ainda, um expressivo, aumento do conteúdo de ácido docosatetraenônico n-6 para 0,9% em relação ao valor médio dos controles que foi 0,3% e do ácido docodapentaenônico, para 2,4% em relação aos controles de apenas traços desse AG (Tabelas 2 e 7); V) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi de 4,8%, cerca de 2,7 vezes menor do que o valor médio encontrado nas MTH controles. O conteúdo de ácido icosapentaenônico n-3 foi de apenas traços, enquanto que a MTH controle possuía em média 0,9%. O conteúdo de ácido docosapentaenônico n-3 foi 0,4%, enquanto que a média dos controles foi 1,4% e do ácido docosahexaenônico n-3 foi de 4,3%, enquanto que a média dos controles foi de 10,6% (Tabelas 2 e 7); VI) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi de 1,7, semelhante ao encontrado nas MTH controles; VII) AGPI/n-9 - o valor dessa relação foi de 5,4, inferior ao encontrado nas MTH controles; VIII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 9,8, cerca de 3 vezes maior do que a dos controles (Tabelas 2 e 7).

3.6.3. Microsomas hepáticos(MSH) - os lipídeos das MSH apresentaram as seguintes características principais:

I) Isômeros trans - apenas o ácido elaídico foi incorporado nas MSH na ordem de 5,8% (Tabela 7); II) AGS total - o valor encontrado foi 37,9%, inferior ao dos controles (Tabelas 2 e 7); III) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 8,3% , superior ao encontrado nos MSH controles (Tabelas 2 e 7) IV) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 41,6%, um pouco superior aos valores médios encontrados nos controles (Tabelas 2 e 7); V) AGPI n-3 total - o valor dessa relação foi 4,2%, quase 3 vezes inferior ao valor médio dos controles (Tabelas 2 e 7); VI) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi de 1,7 um pouco superior ao encontrado no MSH controle; VII) AGPI/n-9 - o valor encontrado foi 5,5, inferior ao valor encontrado nos controles; VIII) n-6/n-3 - o valor encontrado foi 9,9, mais de 3 vezes maior do que o valor encontrado nos controles (Tabelas 2 e 7).

3.6.4. Mitocôndrias cardíacas (MTC) - os lipídeos

das MTC apresentaram as seguintes características principais : I) Isômeros trans - apenas o ácido elaídico foi incorporado na ordem de 5,4% (Tabela 7); II) AGS total - o valor encontrado foi 31,5%, semelhante ao controle (Tabelas 2 e 7); III) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 11,7%, superior ao encontrado nos controles, em média 7,1% (Tabelas 2 e 7); IV) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 46,3%, semelhante ao valor médio dos controles de 43,2%. O conteúdo de ácido linoléico foi 22,3%, um pouco inferior ao valor médio das MTC controles. O conteúdo de ácido aracdônico foi 21,3%, superior ao valor médio das MTC controles. O conteúdo de ácido docosatetraenônico foi 1,1%, enquanto que nas MTC da DC o valor médio foi cerca de 0,2%. O conteúdo de ácido docosapentaenônico n-6 foi 1,6%, enquanto nas MTH controles há apenas traços ou no máximo 0,1% (Tabelas 2 e 7); V) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi 3,1%, quase 6 vezes inferior ao valor médio dos controles. O conteúdo de ácido linolênico foi 0,6%, enquanto que a média dos controles foi 0,2%. O conteúdo de ácido docosapentaenônico foi 0,5%, 4 vezes menor que a média dos controles de 2,0%. O conteúdo do ácido docosahexaenônico foi 1,8%, mais de 8 vezes menor

que a média dos controles de 15,0% (Tabelas 2 e 7); VI) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 1,6, um pouco inferior ao dos controles; VII) AGPI/ n-9 - o valor dessa relação foi 4,2 a metade do valor encontrado nos controles; VIII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 14,9, mais de 6 vezes maior que o valor médio dos controles (Tabelas 2 e 7).

3.7. Conteúdo de AG de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-óleo de colza (CZ).

Determinamos as composições de AG dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas e cardíacas e dos microssomas hepáticos de ratos tratados com dieta-CZ rica em ácido erúcico , durante 8 semanas (Tabela 8):

3.7.1. Composição de AG da ração - os lipídeos da dieta CZ apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado foi 5,5%, 3 vezes inferior ao da dieta DC (Tabelas 2 e 8); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 67,6% cerca de 2,5 vezes maior do que o da DC. Essa dieta foi a que apresentou o maior conteúdo total de AGMI n-9 entre todas as estudadas. O conteúdo de ácido oléico foi 13,8%, inferior ao da DC de 24,6%, porém continha 7,8% de ácido gado-léico, cerca de 4 vezes superior ao da DC e continha 46,0% de ácido erúcico, inexistente na DC e nas outras estudadas (Tabelas 2 e 8); III) AGPI n-6 total- o valor encontrado foi 14,5%, cerca de 3 vezes inferior ao da DC e era constituída exclusivamente de ácido linoléico (Tabelas 2 e 8); IV) AGPI n-3 total- o valor encontrado foi 8,2%, inferior ao da DC, exclusivamente de ácido linolênico (Tabelas 3 e 8); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação foi 4,1, um pouco superior ao da DC; VII) AGPI/ n-9 - o valor dessa relação foi 0,3, sete vezes inferior ao do valor da DC; VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação foi 1,8, mais de 2 vezes inferior ao da DC (Tabelas 2 e 8).

3.7.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH), microssomas hepáticas (MSH) e mitocôndrias cardíacas (MTC) - os lipídeos das MTH, dos MSH e das MTC apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado para as MTH

TABELA 8. Composição dos AG dos lipídeos totais da ração e de mitocôndria hepática (MTH), microsossoma hepático (MSH) e de mitocôndria cardíaca (MTC) de ratos tratados com dieta óleo de colza, durante 8 semanas.

<u>AG (mol/%)</u>	<u>RAÇÃO</u>	<u>MTH</u>	<u>MSH</u>	<u>MTC</u>
16:0	3,8	14,2	16,7	8,5
16:1	0,4	0,9	0,7	0,7
18:0	1,7	19,9	24,3	25,1
18:1 n-9	13,8	11,1	8,8	11,4
18:2 n-6	14,5	14,4	9,3	26,2
18:3 n-3	8,2	0,7	0,8	1,6
20:1 n-9	7,8	1,9	2,0	2,2
20:3	-	1,2	0,6	0,6
20:4 n-6	-	22,6	25,4	17,6
20:5 n-3	-	1,1	0,9	0,3
22:1 n-9	46,0	1,1	1,3	1,8
22:4 n-6	-	0,5	0,2	0,2
22:5 n-6	-	Tr	0,2	Tr
22:5 n-3	-	1,8	1,7	1,7
22:6 n-3	-	8,7	7,1	2,1
AGS TOTAL	5,5	34,1	41,0	33,6
AG n-9 TOTAL	67,6	14,1	12,1	15,4
AG n-6 TOTAL	14,5	37,5	35,1	44,0
AG n-3 TOTAL	8,2	12,3	10,5	5,7
AGPI/AGS	4,1	1,5	1,1	1,5
AGPI/n-9	0,3	3,5	3,8	3,2
n-6/n-3	1,8	3,0	3,3	7,7

foi 34,1%, para os MSH foi de 41,0% e para as MTE foi de 33,6% semelhantes aos respectivos controles (Tabelas 2 e 8); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado para as MTH foi 14,1%, para os MSH foi 12,1% e para os MTC foi 15,4%, cada um cerca de 2 vezes superior aos respectivos controles (Tabelas 2 e 8); III) AGPI n-6 total - o valor encontrado para as MTH foi 37,5% um pouco inferior ao seu controle, para os MSH foi 35,1%, semelhante ao seu controle, e para as MTC foi 44,0%, também semelhante ao seu controle. O conteúdo de ácido linoléico das MTH foi 14,4%, inferior ao seu controle, dos MSH foi 9,3%, um pouco inferior ao seu controle e das MTC foi 26,2%, semelhante ao seu controle. O conteúdo de ácido aracdônico das MTH foi 22,6%, dos MSH foi de 25,4% e das MTC foi de 17,6%, semelhantes aos seus respectivos controles (Tabela 2 e 8); IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado para as MTH foi 12,3% e para os MSH foi 10,5%, ambos semelhantes aos seus respectivos controles, porém o das MTC foi 5,7%, 3 vezes inferior ao seu controle. O conteúdo de ácido linolênico das MTH foi 0,7%, cerca de 3 vezes superior ao da DC, dos MSH foi 0,8%, 4 vezes superior ao da DC e das MTC foi 1,6%, 8 vezes superior ao seu controle. O conteúdo de ácido icosapentaenônico n-3 das MTH foi 1,1% dos MSH foi 0,9% e das MTC foi 0,3%, semelhantes aos respectivos controles. O conteúdo de ácido docosahexaenônico n-3 das MTH foi 8,7 e dos MSH foi 7,1%, ambos um pouco inferiores aos respectivos controles, porém o das MTC foi 2,1%, cerca de 7 vezes inferior do que seu controle (Tabelas 2 e 8); V) AGPI/AGS - o valor dessa relação para os MTH foi 1,5, semelhante ao seu controle, para os MSH foi 1,1, semelhante ao seu controle e para as MTC foi 1,5, inferior ao seu controle; VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação para as MTH foi 3,5, para os MSH foi 3,8 e para as MTC foi de 3,2, todos mais de 2 vezes inferior aos respectivos controles VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação para as MTH foi 3,0 e para os MSH foi 3,3, ambos semelhantes aos seus respectivos controles porém para as MTC foi 7,7, cerca de 3 vezes superior ao seu controle (Tabelas 3 e 8).

3.8. Conteúdo de AG de organelas sub-celulares de ratos tratados com dieta-mistura de triglice - rídeos (DT)

Determinamos as composições de AG dos lipídeos da ração e das mitocôndrias hepáticas e cardíacas e dos microsomas hepáticos de ratos tratados com dieta-DT durante 8 semanas (Tabela 9):

3.8.1. Composição de AG da ração - os lipídeos dessa dieta apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado foi 29,7%, quase 2 vezes superior ao valor encontrado na dieta DC; II) AGMI n-9 total - o valor encontrado foi 31,4%, um pouco superior ao da DC; III) AGPI n-6 total - o valor encontrado foi 35,6%, inferior ao da DC; IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado foi 0,5%, cerca de 21 vezes inferior ao da DC; V) AGPI/AGS - o valor encontrado foi 1,2, quase 3 vezes inferior ao da dieta DC; VI) AGPI/n-9 - o valor encontrado dessa relação foi 1,1, quase 2 vezes inferior ao da DC; VII) n-6/n-3 - o valor encontrado dessa relação foi 71,2, cerca de 17 vezes superior ao da DC (Tabela 2 e 9).

3.8.2. Mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH) e mitocôndrias cardíacas (MTC) - os lipídeos dessas organelas apresentaram as seguintes características principais: I) AGS total - o valor encontrado para as MTH foi 37,3%, semelhante ao seu controle, para os MSH foi 44,2% semelhante ao seu controle e para as MTC foi 38,8 superior ao seu controle (Tabelas 2 e 9); II) AGMI n-9 total - o valor encontrado para as MTH foi 7,3%, semelhante ao da DC, para os MSH foi 6,0%, semelhante ao controle e para as MTC foi 9,4%, superior ao seu controle (Tabelas 2 e 9); III) AGPI n-6 total o valor encontrado nas MTH foi 51,4%, nos MSH foi 46,6% e nas MTC foi 49,9%, superiores aos seus respectivos controles. O conteúdo de ácido linoléico das MTH foi 16,8%, dos MSH foi 9,1% e dos MTC foi 24,4%, um pouco inferiores aos seus respectivos controles. O conteúdo de ácido aracdônico das MTH foi 28,1%, dos MSH foi 31,8% e das MTC foi 19,5%, superiores aos de seus res-

TABELA 9. Composição dos AG dos lipídeos totais da ração e de mitocôndria hepática (MTH), microsossoma hepático (MSH) e de mitocôndria cardíaca (MTC) de ratos tratados com dieta mistura de óleos vegetais , durante 8 semanas.

AG (mol/%)	RAÇÃO	MTH	MSH	MTC
14:0	7,1	-	-	-
16:0	18,6	14,2	16,6	11,6
16:1	0,1	0,8	0,5	0,6
18:0	4,0	23,1	27,6	27,2
18:1 n-9	31,4	7,0	5,8	9,4
18:2 n-6	35,6	16,8	9,1	24,4
18:3 n-3	0,5	Tr	Tr	Tr
20:1 n-9	-	0,3	0,3	Tr
20:3	-	0,7	0,3	0,3
20:4 n-6	-	28,1	31,8	19,5
20:5 n-3	-	Tr	Tr	Tr
22:4 n-6	-	1,3	1,2	1,8
22:5 n-6	-	5,2	4,5	3,7
22:5 n-3	-	0,3	0,4	0,4
22:6 n-3	-	2,3	2,2	1,2
AGS TOTAL	29,7	37,3	44,2	38,8
AG n-9 TOTAL	31,4	7,3	6,0	9,4
AG n-6 TOTAL	35,6	51,4	46,6	49,4
AG n-3 TOTAL	0,5	2,6	2,6	1,6
AGPI/AGS	1,2	1,4	1,4	1,3
AGPI/n-9	1,1	7,4	8,2	5,4
n-6/n-3	71,2	19,8	17,9	30,9

pectivos controles. O conteúdo de ácido docosatetraenóico das MTH foi de 1,3%, cerca de 4 vezes superior ao valor médio das MTH controles, dos MSH foi 1,2%, 6 vezes superior ao do controle e das MTC foi 1,8%, cerca de 9 vezes superior ao valor médio das MTC controles. O conteúdo de ácido docosapentaenóico foi 5,2%, dos MSH foi 4,5% e dos MTC foi 3,7%, o que corresponde a um grande aumento desse AG, visto que as organelas do grupo DC apresentaram apenas traços desse AG (Tabelas 2 e 9)

IV) AGPI n-3 total - o valor encontrado nas MTH foi 2,6%, 5 vezes inferior ao seu controle. Nas 3 organelas encontramos apenas traços de ácidos linolênico e do icosapentaenóico, portanto muito inferior ao dos respectivos controles. O conteúdo de ácido docosapentaenóico das MTH foi 0,3%, mais de 4 vezes o valor médio do controle, dos MSH foi 0,4%, mais de 3 vezes o valor médio de seu controle e das MTC foi 0,4%, 5 vezes o valor médio do seu controle. O conteúdo de ácido docosahexaenóico das MTH foi 2,3%, mais de 4 vezes inferior ao valor médio do seu controle, dos MSH foi 2,2%, mais de 4 vezes inferior ao valor médio dos MSH controles e das MTC foi 1,2%, cerca de 7 vezes inferior ao valor médio das MTC controles (Tabelas 2 e 9);

V) AGPI/AGS - o valor dessa relação para as MTH foi 1,4, semelhante ao controle, para os MSH foi 1,4, um pouco superior ao valor médio dos MSH controles e para as MTC foi 1,3, inferior ao controle (Tabelas 2 e 9);

VI) AGPI/n-9 - o valor dessa relação para as MTH foi 7,4, semelhante ao controle, para os MSH foi 8,2, semelhante ao controle e para as MTC foi 5,4, inferior à média dos valores encontrados para as MTC controles,

VII) n-6/n-3 - o valor dessa relação para as MTC foi 19,8, mais de 6 vezes superior ao valor médio do controle, para os MSH foi 17,9, cerca de 6 vezes superior ao valor médio dos MSH controles e para as MTC foi 30,9, quase 13 vezes superior ao valor médio das MTC controles (Tabelas 2 e 9).

3.9. Variação dos conteúdos dos principais AG de organelas sub-celulares de ratos tratados em função do tempo e do tipo de dieta.

Baseando-nos nos resultados expostos nas Tabelas 2 e 9, analisamos os conteúdos dos principais AG de mitocôndrias hepáticas (MTH), microssomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas e microssomas encefálicos de ratos tratados durante 3, 6, 8 ou 12 semanas com dieta-controle (DC), dieta-óleo de soja (OS), dieta-óleo de girassol (OG), dieta-gordura de porco (GP), dieta-óleo de fígado de bacalhau (FB), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (SH), dieta-óleo de colza (CZ) ou dieta-mistura de triglicerídeos (MT) e obtivemos os seguintes resultados:

3.9.1. Ácido oléico (C18:1 n-9 ou AO) - A dieta FB foi a que induziu a maior incorporação de AO em lipídeos de todas as 5 organelas estudadas. Nas MTH e MTC o pico máximo foi após 3 semanas, enquanto que nos MSH o pico máximo foi após 12 semanas. Nas MTE e MSE, embora o grupo FB apresentasse o conteúdo mais elevado, as diferenças entre os 5 grupos de dietas estudadas foram pequenas (Figura 3).

3.9.3 Ácido linoléico (C18:2 n-6 ou AL) - O maior conteúdo de AL dos MTH foi observado no grupo DC após 12 semanas e o menor no grupo FB após 3 semanas. Nos MSH observamos os maiores níveis de AL nos grupos DC e OS e os menores nos GP e FB. Nas MTC os conteúdos de AL dos grupo OS, OG, SH, CZ, MT foram próximos ao do DC, enquanto que as dietas GP e FB induziram as menores incorporações de AL. Nas MTE o maior conteúdo de AL foi observado no grupo OG e o menor no grupo FB. Nas MSE os grupos DC, OS e OG apresentaram os níveis mais altos de AL, enquanto que o mais baixo foi observado no grupo FB. Tanto no tecido hepático como no encefálico, praticamente em todas as dietas estudadas o nível de AL nas mitocôndrias era cerca do dobro do nível dos microssomas. O conteúdo de AL das MTE é cerca de 10% do encontrado nas MTH e também o dos MSE é cerca de 10% do encontrado nos MSH (Figura 4).

3.9.3. Ácido linolênico (C18:3 n-3 ou ALN) - Nas MTH a dieta FB induziu após 6 semanas o maior conteúdo de ALN. Nas MSH os maiores valores de ALN foram observados no grupo OS

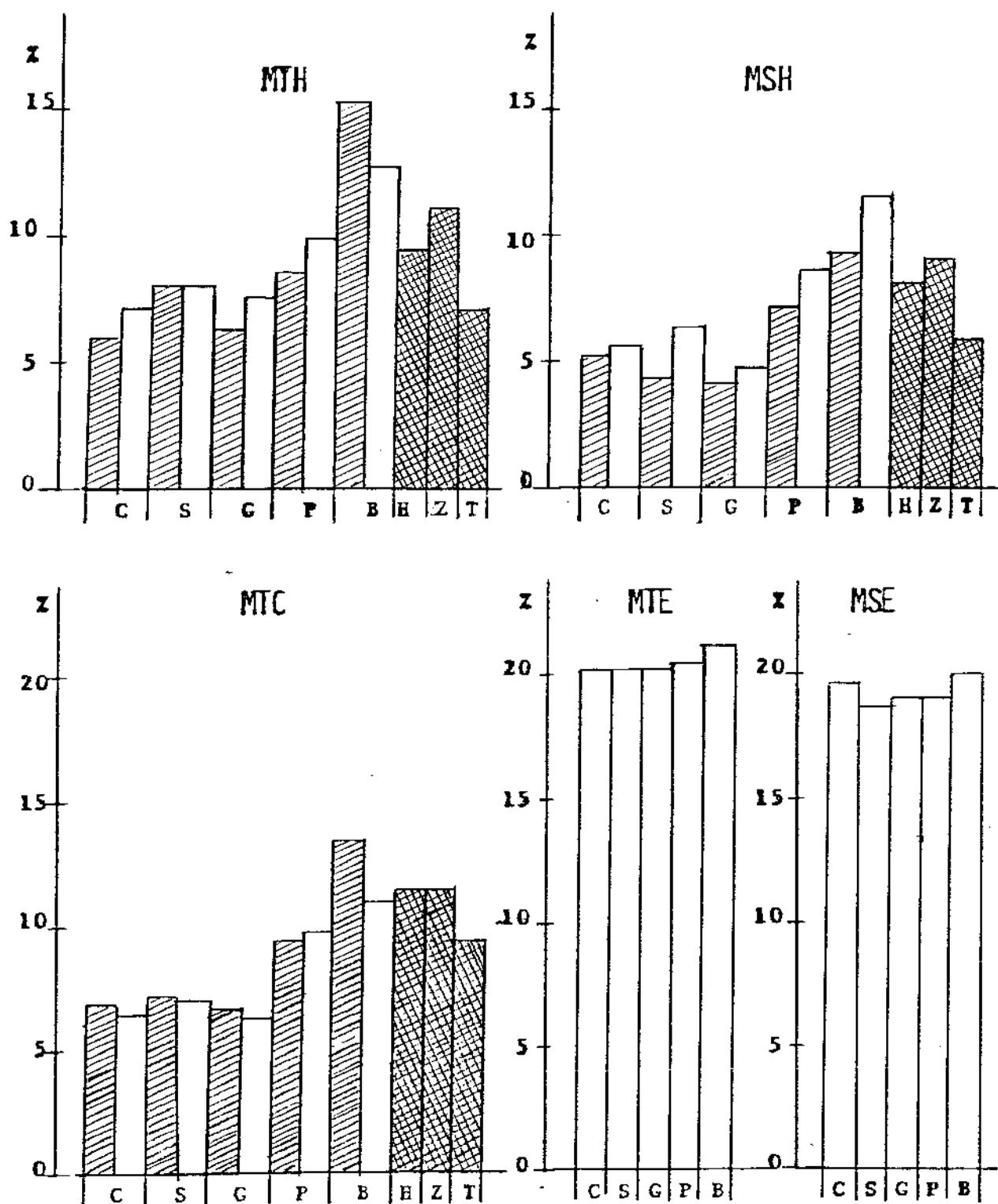


FIGURA 3. Variação do conteúdo de ácido oléico das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3  , 8  ou 12  semanas.

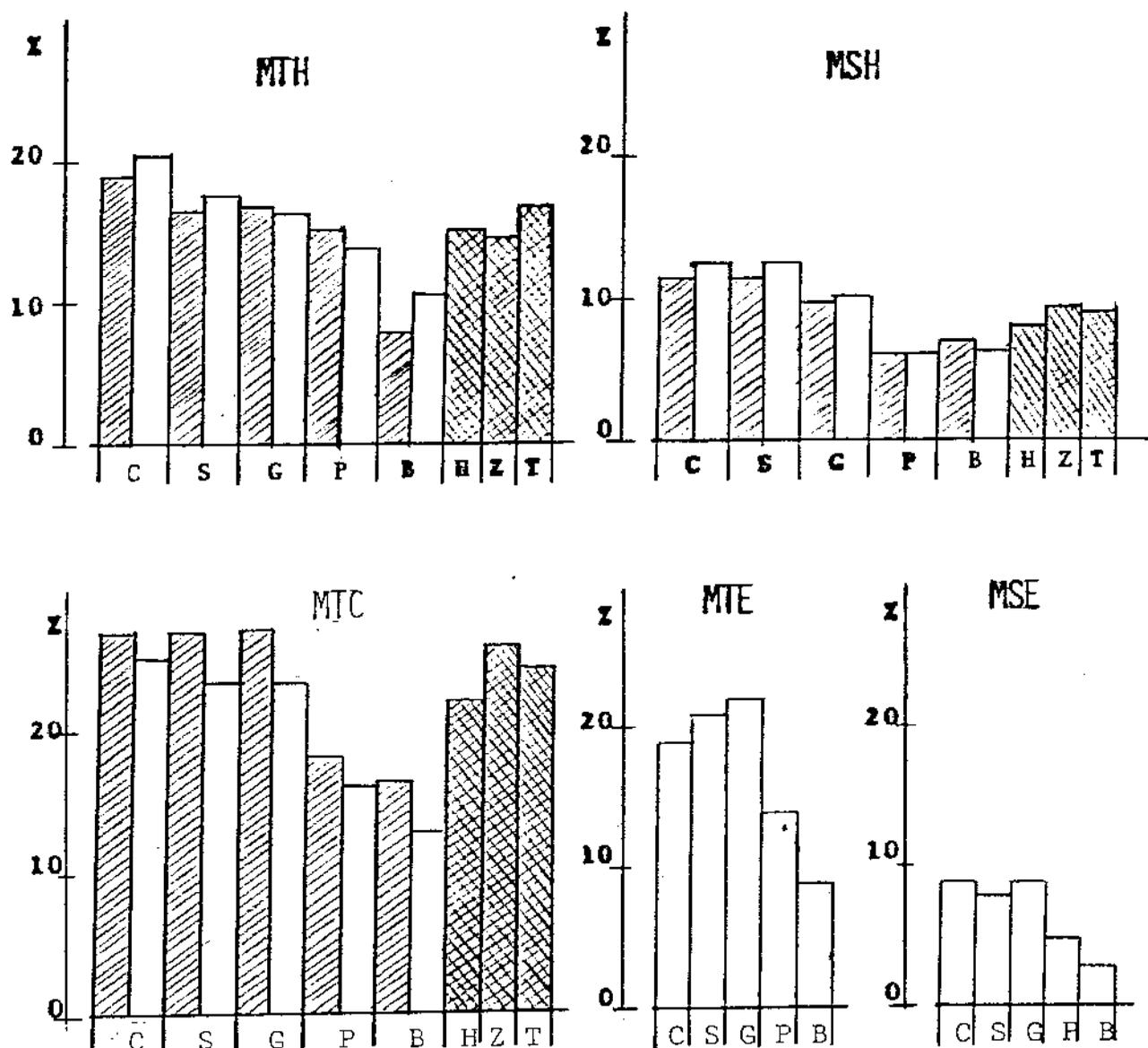


FIGURA 4 , Variação do conteúdo de ácido linoléico das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girasol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3  , 8  ou 12  semanas.

após 3 semanas e no grupo CZ após 8 semanas. Nas MTC observamos que os maiores níveis de ALN foram vistos nos grupos OG, após 6 semanas, GP, o maior de todos, após 6 semanas, FB, após 6 semanas e OC, após 8 semanas. Nas MTE e nos MSE havia apenas traços de ALN (Figura 5).

3.9.4. Ácido aracdônico (C20:4 n-6 ou AA) - Todas dietas estudadas, com exceção da FB, induziram um aumento do conteúdo de AA em todas as organelas, em relação à dieta-controle. A dieta FB induziu uma diminuição de AA muito grande nas MTH, MSH e MIC e mais discreta nas MTE e MSE. O pico máximo de conteúdo de AA nas MTH dos grupos OS, OG e GP foi observado após 6 semanas de tratamento, portanto após 12 semanas os níveis de AA eram menores. Nas MTH, apenas os grupos OS e OG apresentavam o conteúdo de AA mais elevado após 6 semanas em relação aos após 3 e 12 semanas (Figura 6).

3.9.5. Ácido icosapentaenóico (C20:5 n-3 ou AIP) - A dieta FB induziu um extraordinário aumento do conteúdo de AIP dos lipídeos de todas as organelas estudadas. Nas MTH o conteúdo máximo de AIP do grupo FB foi atingido após 3 semanas e depois decresceu. Nos MSH e nas MTC o nível máximo de AIP do grupo FB foi atingido após 12 semanas. Nas organelas encefálicas, somente o grupo FB apresentou conteúdo de AIP detectável, enquanto que as dietas DC, OS e GP apresentaram apenas traços e no grupo OG esse AG era inexistente (Figura 7).

3.9.6. Ácido docosatetraenóico (C22:4 n-6 ou ADT) - A dieta MT induziu a maior incorporação de ADT nas MTH, enquanto que a dieta FB, a menor. As dietas OG após 3 semanas e a MT induziram as maiores incorporações de ADT dos lipídeos dos MSH, enquanto que o grupo FB apresentou o nível mais baixo desse AG. Nas MTC, os níveis mais altos de ADT foram os dos grupos OS, OG, SH e MT, muito maiores do que o do grupo DC e o menor conteúdo de ADT encontrado foi o do grupo FB. Nas MTE o conteúdo de ADT dos grupos OG, OS e GP foram muito próximos ao da DC, porém o do grupo FB foi cerca de 2 vezes inferior. Nos MSE, a dieta OG induziu o maior aumento do conteúdo de ADT em relação ao do grupo DC, embora a diferença fosse relativamente pequena; e a die

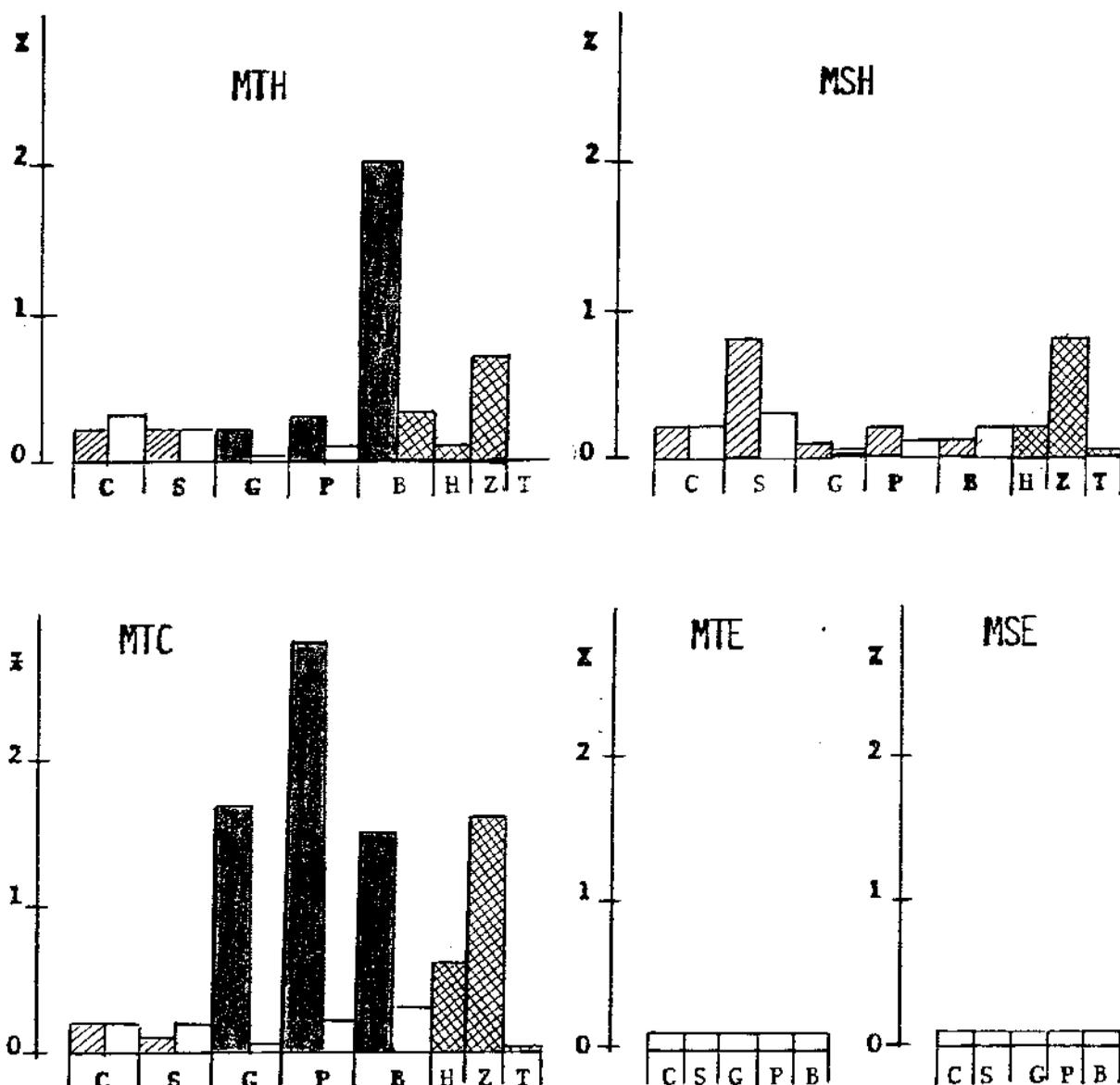


FIGURA 5 , Variação do conteúdo de ácido linolênico das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicos (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girasol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3  , 6  8  ou 12  semanas.

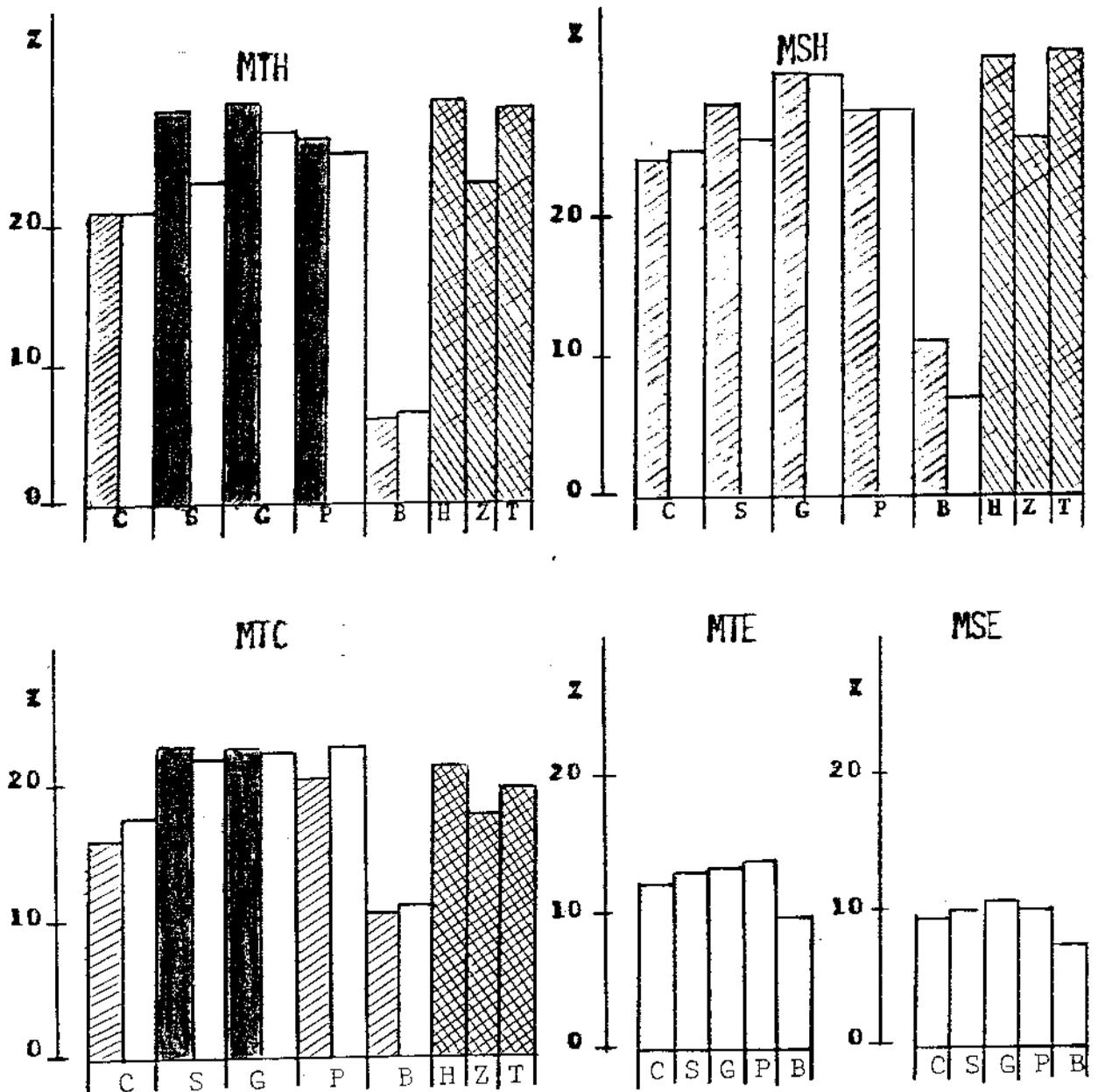


FIGURA 6. Variação do conteúdo de ácido aracídico das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta - controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3 , 6 , 8  ou 12  semanas.

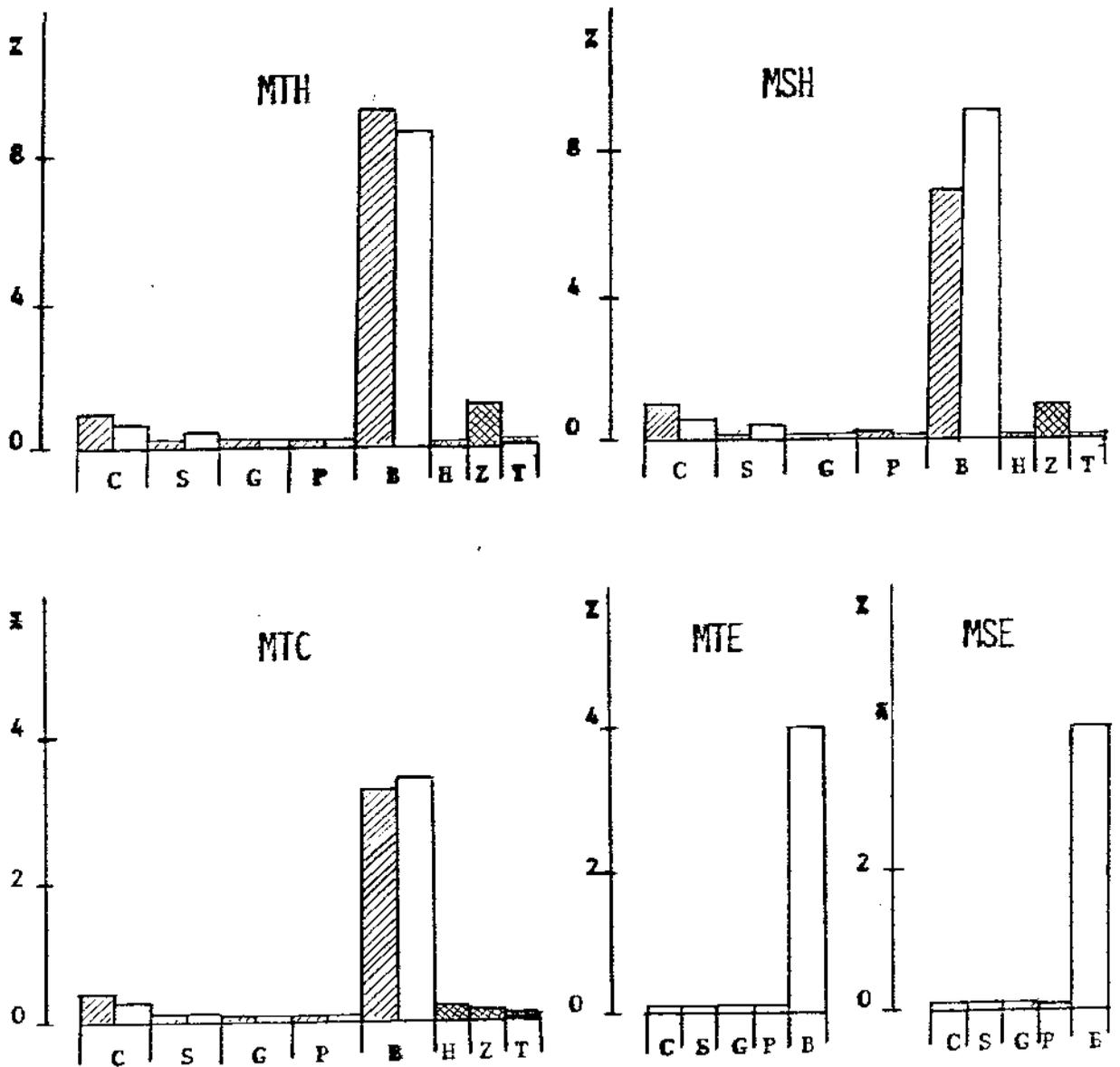


FIGURA 7. . Variação do conteúdo de ácido icosapentaenóico n-3 das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticas (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta - óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de tri glicerídeos (T) durante 3  , 8  ou 12  semanas .

ta FB induziu uma diminuição de cerca de 2 vezes o conteúdo desse AG (Figura 8).

3.9.7. Ácido docosapentaenóico n-6 (C22:5 n-6 ou ADP n-6) - Nas MTH e MSH o ADP n-6 foi praticamente inexistente nos grupos DC, OS, FB e CZ, porém as dietas OG, SH e MT induziram uma grande incorporação desse AG nos lipídeos dessas organelas, sendo o maior conteúdo observado no grupo MT. Nas MTC, a maior incorporação foi observada também nos grupos OG e MT, o pico de maior aumento de ADP n-6 do grupo OG foi observado após 6 semanas. Nas organelas encefálicas a dieta OG induziu uma maior incorporação de ADP n-6 em relação as outras dietas estudadas. Nas MTE, o conteúdo desse AG era praticamente inexistente no grupo FB e o conteúdo máximo foi o do grupo OG, Nas MSE, o maior conteúdo de ADP n-6 foi o do grupo OG e os menores dos grupos DC e FB (Figura 9).

3.9.8. Ácido docosapentaenóico n-3 (C22:5 n-3 ou ADP n-3) - Nas organelas hepáticas a maior concentração de ADP n-3 foi observada no grupo FB e a menor no grupo OG. Nas MTC os grupos OS, GP, FB, CZ apresentaram conteúdo de ADP n-3, semelhante ao do grupo DC, enquanto que os grupos OG, SH e MT foram 2 ou mais vezes inferior ao do grupo DC. Nas MTE, a dieta FB induziu um grande aumento do conteúdo de ADP n-3 em relação a DC, porém o conteúdo desse AG era praticamente inexistente nos grupos OS, OG e GP. Nas MSE o conteúdo foi cerca de 3 vezes maior que o do grupo DC e o menor nível desse AG foi o do grupo OG (Figura 10).

3.9.9. Ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3 ou ADH) - A dieta FB induziu uma maior incorporação de ADH em todas organelas estudadas. Nas MTH, MSH e MTC as dietas SH, CZ e MT induziram os menores conteúdos desse AG (Figura 11).

3.10. Efeito da temperatura sobre o transporte de Ca²⁺ através de mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas de ratos tratados com diferentes dietas lipídicas.

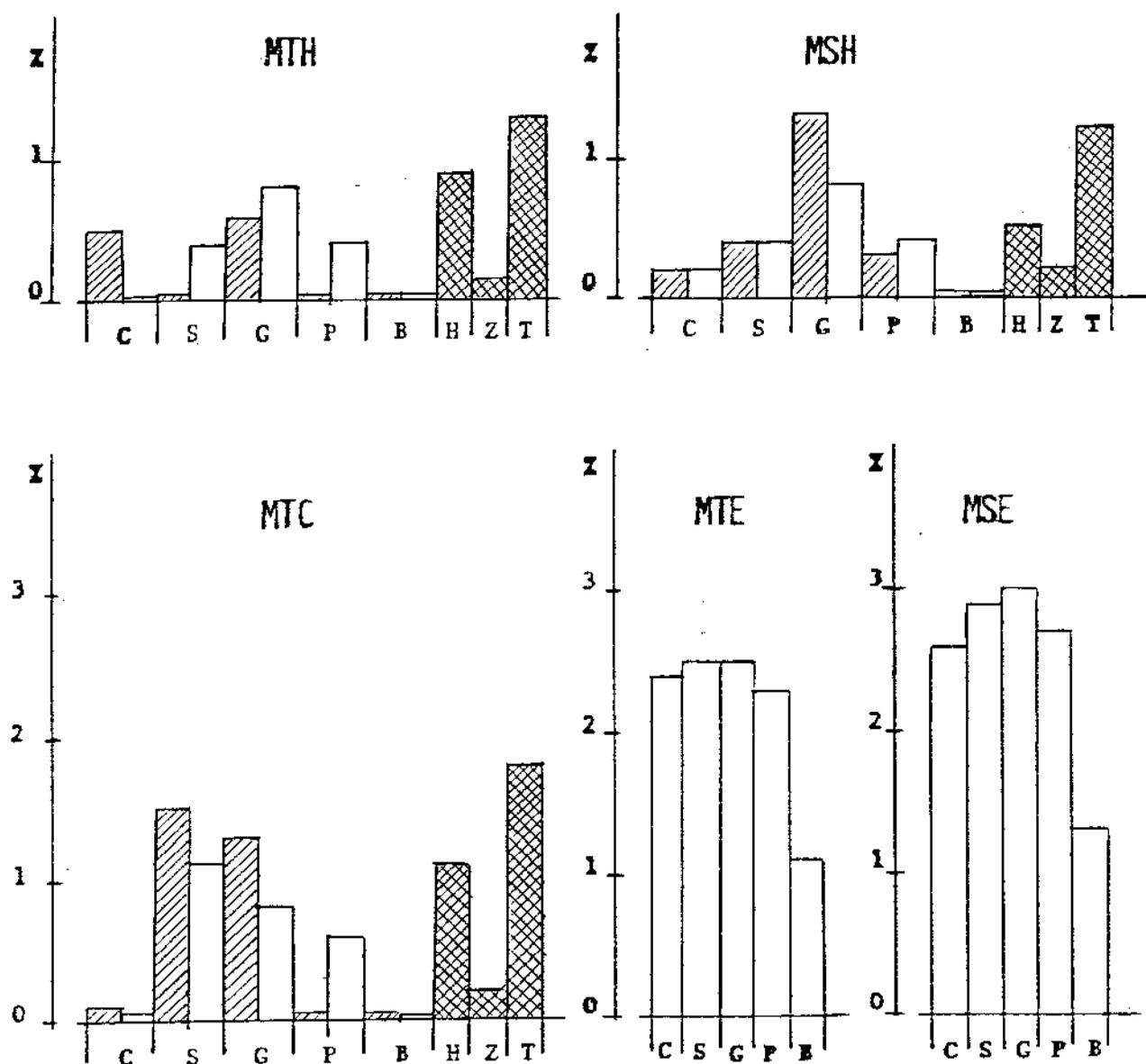


FIGURA 8 . Variação do conteúdo de ácido docosatetraenóico n-6 das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3  , 8  ou 12  semanas.

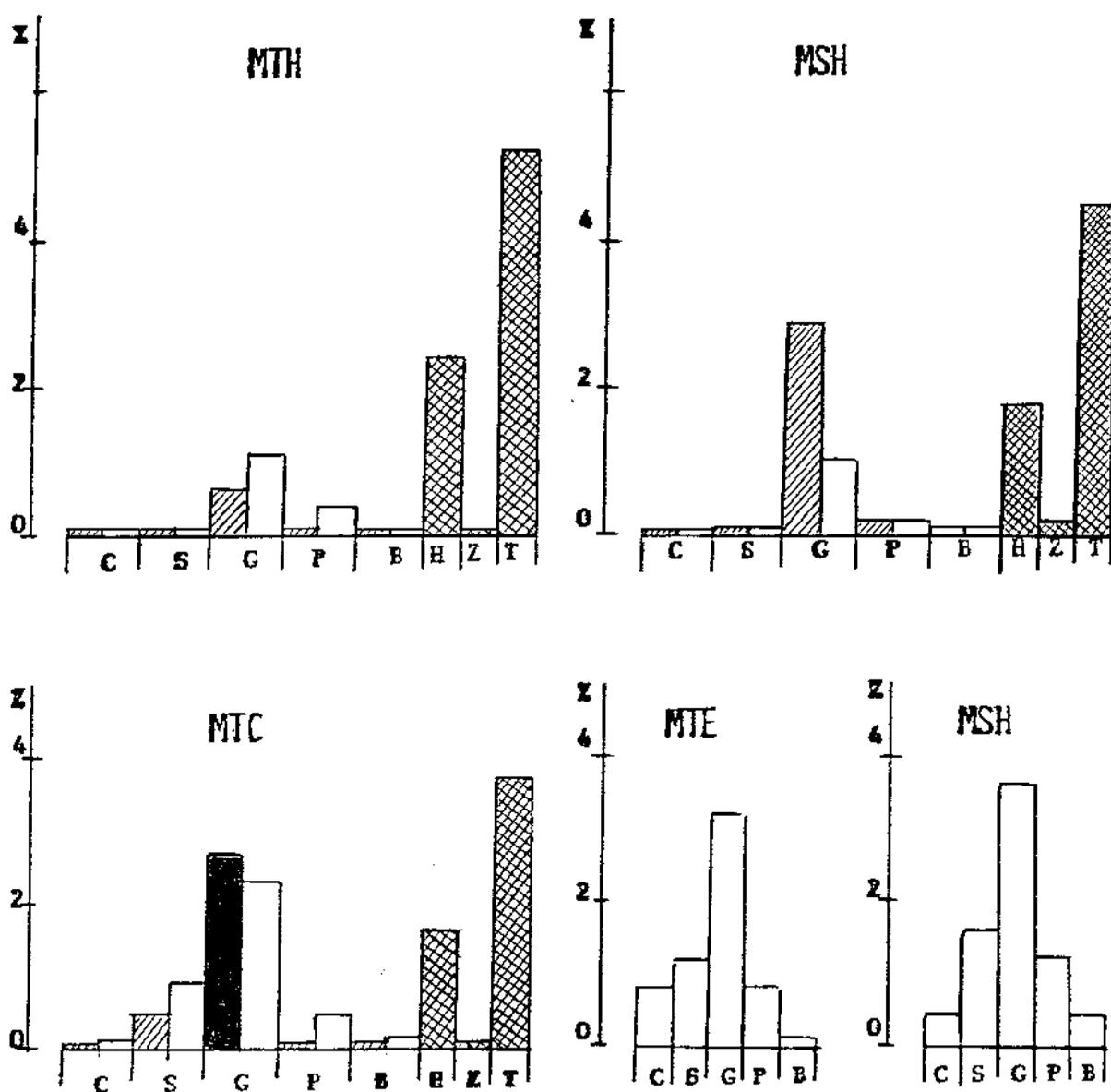


FIGURA 9. Variação do conteúdo de ácido docosapentaenóico n-6 das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3 , 6 , 8  ou 12  semanas.

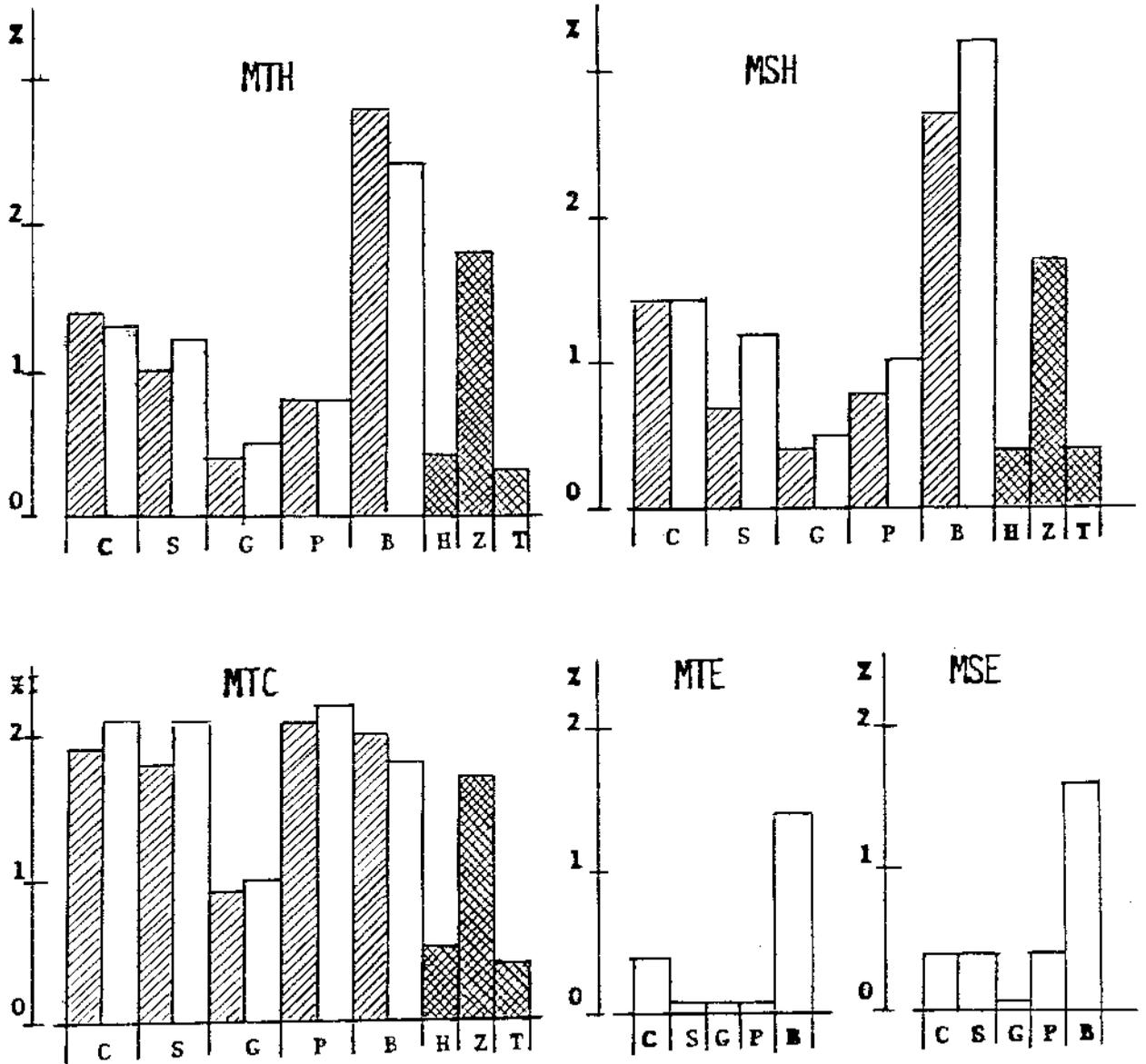


FIGURA 10. Variação do conteúdo de ácido docosapentaenóico n-3 das mitocôndrias hepáticas (MTH), microsomas hepáticos (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC), mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicos (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P), dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3 , 8  ou 12  semanas.

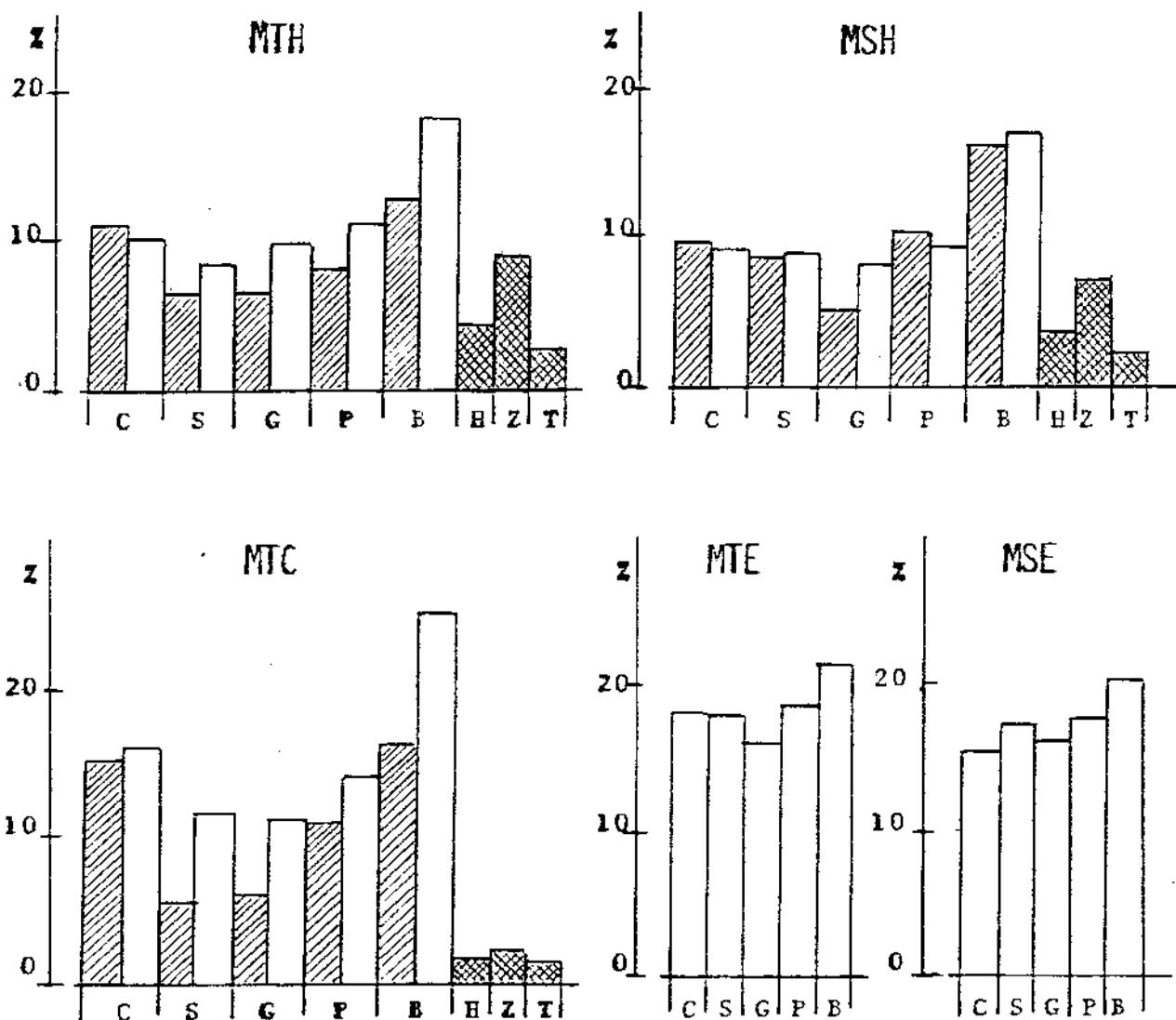


FIGURA II. Variação do conteúdo de ácido docosahexaenóico n-3 das mitocôndrias hepáticas (MSH), mitocôndrias cardíacas (MTC) mitocôndrias encefálicas (MTE) ou microsomas encefálicas (MSE) de ratos tratados com dieta-controle (C), dieta-óleo de soja (S), dieta-óleo de girassol (G), dieta-gordura de porco (P) dieta-óleo de fígado de bacalhau (B), dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (H), dieta-óleo de colza (Z) ou dieta-mistura de triglicerídeos (T) durante 3 , 8  ou 12  semanas.

Com a finalidade de investigarmos se a variação da composição de AG mitocondrial alteraria o transporte de Ca^{2+} , determinamos a temperatura de transição (TT) e a energia de ativação (E_A) do efeito da temperatura da captura e efluxo de Ca^{2+} através de mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas de ratos tratados com diferentes dietas lipídicas.

3.10.1. Captura ou influxo de Ca^{2+} através de mitocôndrias hepáticas - O grupo DC foi o único que apresentou 2 temperaturas de transições, enquanto que os demais grupos apresentaram uma única TT. Os valores de TT e E_A encontrados nos grupos DC, OS, OG, GP e FB após 3, 6 ou 12 semanas de tratamento estão expostos na Tabela 10. Os valores de TT e E_A dos grupos SH, CZ e MT após 8 semanas de tratamento estão expostos na Tabela 11. Para cada MTH dos diferentes grupos de dietas estudadas encontramos distintos valores de TT e E_A .

3.10.2. Captura ou influxo de Ca^{2+} através de mitocôndrias cardíacas - Para esse processo também encontramos distintos valores de TT em cada grupo de dieta estudada. Analogamente ao observado para as mitocôndrias hepáticas, encontramos apenas para o grupo DC duas temperaturas de transição, enquanto que os demais grupos apresentaram uma única TT, com exceção do grupo MT que não apresentou nenhuma TT no intervalo das temperaturas estudadas. Os valores de TT e E_A encontrados nos grupos DC, OS, OG, GP e FB após 3, 6 ou 12 semanas de tratamento estão apresentados na Tabela 12 e os dos grupos SH, CZ e MT após 8 semanas de tratamento, na Tabela 13.

3.10.3. Captura ou influxo de Ca^{2+} através de mitocôndrias encefálicas - Nesse processo encontramos apenas uma TT nos 5 grupos estudados e apenas o valor de TT do grupo GP coincidiu com a DC, enquanto que os outros foram diferentes do grupo controle. Os valores de TT e E_A encontrados nos grupos DC, OS, OG, GP e FB após 12 semanas de tratamento estão expostos na Tabela 14.

3.10.4. Efluxo de Ca^{2+} espontâneo através de mitocôndrias hepáticas - Para esse processo encontramos valores diferentes de TT para cada grupo de dieta estudado. Em todos os

TABELA 10 - Temperatura de transição (TT), energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius da captura de cálcio através de mitocôndrias hepáticas de ratos tratados com dieta-controle (DC), dieta-óleo de soja (OS), dieta-óleo de girassol (OG), dieta-gordura de porco (GP) e dieta-óleo de fígado de bacalhau (FB), durante 3, 6 ou 12 semanas (S).

DIETA		3S	6S	12S
DC	TT ₁	12,3°C	12,0°C	12,6°C
	TT ₂	24,0°C	24,6°C	24,0°C
	E _{A1}	14,7 Kcal	25,5Kcal	26,0 Kcal
	E _{A2}	9,5 Kcal	10,2Kcal	9,1 Kcal
	E _{A3}	6,4 Kcal	6,8Kcal	6,4 Kcal
OS	TT	17,2°C	17,4°C	17,7°C
	E _{A1}	14,7 Kcal	15,2 Kcal	13,7 Kcal
	E _{A2}	6,9 Kcal	6,7 Kcal	8,4 Kcal
OG	TT	17,2°C	17,4°C	17,7°C
	E _{A1}	15,2 Kcal	14,1 Kcal	14,7 Kcal
	E _{A2}	7,0 Kcal	9,3 Kcal	6,0 Kcal
GP	TT	22,0°C	24,8°C	26,0°C
	E _{A1}	12,7 Kcal	17,2 Kcal	13,8 Kcal
	E _{A2}	2,5 Kcal	3,6 Kcal	7,8 Kcal
FB	TT	18,7°C	17,6°C	18,4°C
	E _{A1}	12,9 Kcal	13,4 Kcal	12,4 Kcal
	E _{A2}	7,8 Kcal	9,7 Kcal	9,2 Kcal

TABELA 11 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius da captura de cálcio através de A1 mitocôndrias hepáticas de ratos tratados com dieta-óleo de soja parcialmente hidrogenado (SH), dieta-óleo de colza (CZ) e dieta-mistura de triglicerídeos (MT), durante 8 semanas (S).

	SH	CZ	MT
TT	13,7°C	23,7°C	22,1°C
E_{A1}	23,0 Kcal	16,0 Kcal	17,8 Kcal
E_{A2}	10,6 Kcal	4,8 Kcal	4,3 Kcal

TABELA 12 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius da captura de cálcio através de A1 mitocôndrias cardíacas de ratos tratados com dietas DC, OS, OG, GP e FB durante 3, 6 e 12 semanas (S).

DIETA		3S	6S	12S
DC	TT ₁	10,3°C	10,0°C	10,3°C
	TT ₂	28,2°C	28,0°C	28,2°C
	E_{A1}	24,7 Kcal	31,6 Kcal	26,7 Kcal
	E_{A2}	14,2 Kcal	14,9 Kcal	11,5 Kcal
	E_{A3}	9,5 Kcal	10,9 Kcal	6,4 Kcal
	OS	TT	28,1°C	29,6°C
E_{A1}		16,4 Kcal	18,6 Kcal	16,9 Kcal
E_{A2}		5,8 Kcal	8,8 Kcal	8,0 Kcal
OG	TT	20,7°C	20,9°C	21,1°C
	E_{A1}	17,0 Kcal	23,7 Kcal	16,5 Kcal
	E_{A2}	10,7 Kcal	12,5 Kcal	11,5 Kcal
GP	TT	25,8°C	26,5°C	26,6°C
	E_{A1}	17,6 Kcal	25,0 Kcal	16,6 Kcal
	E_{A2}	7,0 Kcal	8,1 Kcal	7,9 Kcal
FB	TT	21,5°C	20,3°C	21,1°C
	E_{A1}	19,6 Kcal	19,1 Kcal	18,0 Kcal
	E_{A2}	9,7 Kcal	12,0 Kcal	11,4 Kcal

TABELA 13 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius da captura de cálcio através de ^Amitocôndrias cardíacas de ratos tratados com dieta SH, CZ e MT durante 8 semanas.

	SH	CZ	MT
TT	23,3°C	26,6°C	-
E_{A1}	16,2 Kcal	13,4 Kcal	12,8 Kcal
E_{A2}	8,8 Kcal	4,4 Kcal	-

TABELA 14 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do influxo de cálcio através de ^Amitocôndrias encefálicas de ratos tratados com dieta DC, OS, OG, GP e FB durante 12 semanas.

	DC	OS	OG	GP	FB
TT	17,0°C	22,0°C	25,5°C	17,7°C	27,2°C
E_{A1}	22,9 Kcal	18,3 Kcal	20,1 Kcal	19,7 Kcal	15,1 Kcal
E_{A2}	10,3 Kcal	9,2 Kcal	7,3 Kcal	10,5 Kcal	5,3 Kcal

grupos encontramos apenas uma única TT. Os valores de TT e E_A encontrados para os grupos DC, OS, OG, GP e FB após 3, 6 ou 12 semanas de tratamento estão na Tabela 15 e os valores de TT e E_A dos grupos SH, CZ e MT após 8 semanas de tratamento estão expostos na Tabela 16.

3.10.5. Efluxo de Ca^{2+} espontâneo através de mitocôndrias cardíacas - Para esse processo os valores de TT dos grupos OS e OG foram semelhantes aos dos grupos DC, enquanto que foram diferentes os valores encontrados nos grupos GP, FB e SH e os grupos CZ e MT não apresentaram nenhuma TT nas temperaturas estudadas. Os valores de TT e E_A encontrados para os grupos DC, OS, OG, GP e FB após 3, 6 ou 12 semanas de tratamento estão expostos na Tabela 17 e os grupos SH, CZ e MT após 8 semanas de tratamento estão na Tabela 18.

3.10.6. Efluxo de Ca^{2+} espontâneo através de mitocôndrias encefálicas - Para esse processo encontramos uma única TT para cada grupo estudado. Os valores de TT dos grupos OG, GP e FB foram semelhantes, mas um pouco mais altos que do grupo DC. O valor de TT do grupo OS foi o mais elevado entre todos os estudados (Tabela 19).

3.10.7. Efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente através de mitocôndrias cardíacas - Encontramos para esse processo uma única TT para os grupos DC, CZ e MT, porém nesses casos, acima de uma determinada temperatura que nós denominamos de temperatura-crítica ou TC, onde a velocidade inicial do processo não mais variava em função do aumento da temperatura. Para o grupo SH, encontramos uma única TT mas não observamos até 39,0°C nenhuma TC. Para os grupos OS, OG e GP encontramos duas TT. Os valores de TT, E_A e TC encontradas nos grupos DC, OS, OG, GP e FB após 3, 6 ou 12 semanas de tratamento estão apresentados na Tabela 20 e os dos grupos SH, CZ e MT após 8 semanas de tratamento, estão na Tabela 21.

3.10.8. Efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente através de mitocôndrias encefálicas - Para esse processo encontramos uma TT diferente para os grupos DC, OS, GP e FB, porém para o grupo OG não encontramos nenhuma TT. Encontramos TC nos grupos

TABELA 15 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio espontâneo através de mitocôndrias hepáticas de ratos tratados com dietas DC, OS, OG, GP e FB durante 3, 6 e 12 semanas (S).

DIETA		3S	6S	12S
DC	TT	25,6°C	25,1°C	25,6°C
	E_{A1}	27,7 Kcal	27,0 Kcal	27,5 Kcal
	E_{A2}	18,4 Kcal	12,1 Kcal	17,9 Kcal
OS	TT	27,3°C	27,0°C	27,0°C
	E_{A1}	23,6 Kcal	18,8 Kcal	22,7 Kcal
	E_{A2}	17,7 Kcal	14,4 Kcal	15,6 Kcal
OG	TT	21,2°C	25,5°C	24,4°C
	E_{A1}	25,5 Kcal	23,1 Kcal	25,8 Kcal
	E_{A2}	13,5 Kcal	17,6 Kcal	15,6 Kcal
GP	TT	27,9°C	27,9°C	28,0°C
	E_{A1}	25,5 Kcal	21,1 Kcal	23,0 Kcal
	E_{A2}	11,1 Kcal	14,1 Kcal	15,8 Kcal
FB	TT	29,9°C	29,9°C	30,0°C
	E_{A1}	25,9 Kcal	17,4 Kcal	23,8 Kcal
	E_{A2}	13,7 Kcal	13,1 Kcal	13,2 Kcal

TABELA 16 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio espontâneo através de mitocôndrias hepáticas de ratos tratados com dietas SH, CZ e MT durante 8 semanas (S).

	SH	CZ	MT
TT	27,3°C	26,2°C	25,7°C
E_{A1}	27,9 Kcal	27,4 Kcal	28,1 Kcal
E_{A2}	4,5 Kcal	17,7 Kcal	20,9 Kcal

TABELA 17 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio espontâneo através de mitocôndrias cardíacas de ratos tratados com dietas DC, OS, OG, GP e FB durante 3, 6 e 12 semanas (S).

DIETAS		3S	6S	12S
DC	TT	31,5°C	29,5°C	30,0°C
	E_{A1}	24,7 Kcal	25,9 Kcal	21,2 Kcal
	E_{A2}	12,1 Kcal	11,5 Kcal	17,5 Kcal
OS	TT	30,0°C	31,2°C	30,2°C
	E_{A1}	34,0 Kcal	31,3 Kcal	26,7 Kcal
	E_{A2}	20,2 Kcal	8,9 Kcal	6,9 Kcal
OG	TT	30,5°C	30,5°C	29,3°C
	E_{A1}	23,0 Kcal	33,3 Kcal	31,3 Kcal
	E_{A2}	1,0 Kcal	2,6 Kcal	5,1 Kcal
GP	TT	25,9°C	26,4°C	17,9°C
	E_{A1}	31,5 Kcal	39,2 Kcal	41,3 Kcal
	E_{A2}	11,6 Kcal	18,3 Kcal	18,8 Kcal
FB	TT	23,3°C	28,2°C	24,1°C
	E_{A1}	45,8 Kcal	24,4 Kcal	34,0 Kcal
	E_{A2}	21,9 Kcal	7,4 Kcal	12,0 Kcal

TABELA 18 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio espontâneo através de mitocôndrias cardíacas de ratos tratados com dieta SH, CZ e MT durante 8 semanas .

	SH	CZ	MT
TT	23,3°C	-	-
E_{A1}	32,9 Kcal	20,6 Kcal	24,8 Kcal
E_{A2}	23,6 Kcal	-	-

5510/BC

TABELA 19 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio espontâneo através de mitocôndrias encefálicas de ratos tratados com dietas FB durante 12 semanas.

	DC	OS	OG	GP	FB
TT	16,0°C	21,9°C	17,2°C	17,7°C	17,2°C
E_{A1}	26,1 Kcal	25,6 Kcal	19,2 Kcal	20,1 Kcal	19,7 Kcal
E_{A2}	38,8 Kcal	44,4 Kcal	38,9 Kcal	40,3 Kcal	29,8 Kcal

TABELA 20 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio sódio-dependente através de mitocôndrias cardíacas de ratos tratados com dietas DC, OS, OG, GP e FB durante 3, 6 e 12 semanas.

DIETA		3S	6S	12S
DC	TT	15,2°C	15,3°C	15,5°C
	E_{A1}	39,4 Kcal	36,9 Kcal	31,5 Kcal
	E_{A2}	14,7 Kcal	14,5 Kcal	15,2 Kcal
	E_{A*}			
	TC	30,5°C	30,6°C	31,0°C
OS	TT ₁	17,7°C	14,4°C	12,7°C
	TT ₂	27,6°C	22,9°C	21,0°C
	E_{A1}	26,4 Kcal	36,5 Kcal	18,0 Kcal
	E_{A2}	17,2 Kcal	9,5 Kcal	27,6 Kcal
	E_{A3}	0,6 Kcal	4,6 Kcal	8,3 Kcal
OG	TT ₁	16,5°C	17,4°C	16,9°C
	TT ₂	30,5°C	31,7°C	29,7°C
	E_{A1}	37,5 Kcal	46,0 Kcal	32,1 Kcal
	E_{A2}	12,7 Kcal	6,6 Kcal	11,0 Kcal
	E_{A3}	0,7 Kcal	1,0 Kcal	0,0 Kcal
GP	TT ₁	16,2°C	17,4°C	16,2°C
	TT ₂	25,2°C	24,6°C	25,1°C
	E_{A1}	38,5 Kcal	39,2 Kcal	38,9 Kcal
	E_{A2}	16,1 Kcal	15,2 Kcal	16,9 Kcal
	E_{A3}	1,0 Kcal	2,7 Kcal	2,3 Kcal
FB	TT	15,0°C	15,3°C	15,6°C
	E_{A1}	34,4 Kcal	36,5 Kcal	32,2 Kcal
	E_{A2}	22,3 Kcal	10,2 Kcal	18,8 Kcal
	E_{A*}			
	TC	24,9°C	24,6°C	26,4°C

*TC - Temperatura crítica, acima da qual a velocidade inicial do processo não variava em função da temperatura.

TABELA 21 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio sódio-dependente através de mitocôndrias cardíacas de ratos tratados com dietas SH, CZ e MT durante 8 semanas.

	SH	CZ	MT
TT	23,3°C	16,4°C	18,3°C
E_{A1}	31,4 Kcal	43,4 Kcal	37,1 Kcal
E_{A2}	13,5 Kcal	19,1 Kcal	15,7 Kcal
TC*	-	28,0°C	31,5 Kcal

*TC - Temperatura crítica, acima da qual a velocidade inicial do processo não mais variava em função da temperatura.

TABELA 22 - Temperatura de transição (TT) e energia de ativação (E_A) da equação de Arrhenius do efluxo de cálcio sódio-dependente através de mitocôndrias encefálicas de ratos tratados com dietas DC, OS, OG, GP e FB durante 12 semanas.

	DC	OS	OG	GP	FB
TT	19,4°C	13,7°C	-	28,5°C	15,2°C
E_{A1}	27,9 Kcal	34,8 Kcal	23,6 Kcal	118,1 Kcal	32,5 Kcal
E_{A2}	4,1 Kcal	17,6 Kcal	-	5,5 Kcal	19,7 Kcal
TC*	-	32,1°C	24,2°C	-	29,0°C

TC* - Temperatura crítica, acima da qual a velocidade inicial do processo não mais variava em função da temperatura.

OS, OG e FB. Os valores de TT, E_A e TC dos grupos DC, OS, OG, GP e FB após 12 semanas de tratamento estão expostos na Table 22.

4. DISCUSSÃO

4.1. Composição de AG de organelas sub-celulares - Cada tecido de um organismo animal deve apresentar uma composição de AG característica e diferente das de outros tecidos. Num mesmo tecido as organelas sub-celulares também apresentam composições características, umas em relação às outras da mesma célula. Assim, demonstramos que a composição de AG das mitocôndrias hepáticas não era idêntica a dos microsomas hepáticos, que a composição de AG das mitocôndrias encefálicas também eram idênticas a dos microsomas encefálicos, assim como as mitocôndrias hepáticas tinham composição de AG bem diferente das cardíacas ou encefálicas ou que os microsomas hepáticos tinham composição de AG bem diferente dos encefálicos. Todavia, existem algumas tendências que são comuns às mitocôndrias e distintas aos microsomas, independentemente da origem tissular. Por exemplo, os microsomas hepáticos e encefálicos apresentam maiores quantidades de AGS, menores de AGPI ($n-6 + n-3$) e relação $n-6/n-3$ um pouco menor do que as das mitocôndrias hepáticas e encefálicas, respectivamente (ver Tabela 2).

Pelo menos cerca de 95% de AG das organelas sub-celulares fazem parte da estrutura lipídica das suas membranas (162). Quanto maior a quantidade de AGPI e menor a soma de AGS mais de AGMI (monoinsaturado), maior será a fluidez de uma membrana e o inverso determinaria uma maior rigidez da membrana (30,149). Os microsomas encefálicos apresentam quase 70% de AGS + AGMI, a maior quantidade entre todas as organelas estudadas e conseqüentemente a menor de AGPI, em segundo lugar em quantidade de AGS + AGMI eram as mitocôndrias encefálicas, em terceiro eram os microsomas hepáticos, em quarto eram as mitocôndrias hepáticas e finalmente as últimas foram as mitocôndrias cardíacas que logicamente são as organelas mais ricas em AGPI, em relação às outras. Nos dados sugerem que as organelas encefálicas teriam membranas mais rígidas do que as de outros tecidos, que nu-

ma mesma célula os microsomas teriam membranas mais rígidas do que as mitocôndrias e que as mitocôndrias cardíacas teriam as membranas com maior fluidez em relação aos outros tecidos estudados.

A quantidade de cada AG variou de organela para organela (ver Tabela 2). No tecido encefálico, ambas organelas estudadas apresentaram, além de altos teores de AGS já mencionados, uma alta quantidade de ácido oléico, cerca de 3 ou mais vezes maior que as de outros tecidos. Por outro lado, elas apresentaram as menores concentrações de ácido linoléico, cerca de 10 ou mais vezes menos que as de outros tecidos, comparando-se mitocôndrias com mitocôndrias e microsoma com microsomas. As mitocôndrias cardíacas foram as mais ricas em ácido linoléico do que todas as outras organelas. As mitocôndrias possuíam cerca de 2 vezes mais ácido linoléico do que os microsomas do mesmo tecido. As mitocôndrias hepáticas possuíam uma quantidade quase igual de 18:2 n-6 e de 20:4 n-6. Os microsomas hepáticos possuíam duas vezes mais ácido aracdônico do que linoléico. Os microsomas hepáticos foram as organelas mais ricas em ácido aracdônico em relação às outras estudadas. Ambas organelas encefálicas apresentaram uma quantidade cerca de 6-13 vezes maior de ácido aracdônico do que de ácido linoléico.

Para as mitocôndrias hepáticas os tres AGPI de maiores quantidades foram ácido linoléico igual a do ácido aracdônico e em terceiro lugar o ácido docosahexaenóico, cerca de duas vezes menor que os primeiros. Para os microsomas hepáticos foram pela ordem: 20:4 n-6, 18:2 n-6 e 22:6 n-3. Para as mitocôndrias cardíacas foram pela ordem 18:2 n-6 bem maior que a de 20:4 n-6 e em terceiro lugar a de 22:6 aproximadamente igual a do 20:4 n-6. Todavia, para as mitocôndrias e os microsomas encefálicos os tres AGPI de maiores quantidades foram pela ordem 22:6 n-3, 20:4 n-6 e em terceiro lugar foi o 22:4 n-5, uma vez que o encéfalo é particularmente pobre em 18:2 n-6. O ácido docosatetraenóico n-6 é encontrado em maiores quantidades no tecido nervoso do que em qualquer outro tecido do organismo e muito provavelmente sin

tetizado exclusivamente nesse tecido (154).

Assim o tecido encefálico se caracteriza pelo alto conteúdo de AGS e do ácido oléico, em ser o mais pobre em ácido linoléico e o mais rico em 22:6 n-3 em relação ao cardíaco e hepático. O tecido cardíaco foi o segundo em quantidade de 22:6 e o hepático o último. As organelas hepáticas apresentaram os maiores valores da relação n-6/n-3 do que as outras estudadas, indicando serem mais ricas em AGPI n-6 do que n-3, enquanto que as encefálicas apresentaram os menores valores de n-6/n-3, portanto mais ricas em AGPI n-3 do que n-6 (ver Tabela 2).

Esses dados referem-se aos nossos resultados obtidos com o grupo de ratos alimentados com a dieta DC, considerada por nós como grupo controle pelo fato de que os animais eram normalmente mantidos com essa ração comercial e porque apesar de que a principal fonte lipídica era o óleo de soja, rico em ácido linoléico, continha ainda farinha de peixe com lipídeos ricos em AGPI n-3 (ver Tabela 2). Nesse sentido, consideramos a proporção porcentual dos AG dessa dieta mais equilibrada do que as das outras sete dietas estudadas, que eram muito ricas em uma determinada família de AG e pobre ou quase isenta de outras.

Ratos alimentados com dietas diferentes da DC, apresentaram diferentes composições de AG nas organelas estudadas. Essas diferenças dependiam diretamente da composição e da proporção de cada família de AG dietária. Demonstramos assim que dietas lipídicas induzem amplas e grandes alterações na composição de AG celulares ao nível de organelas subcelulares, interferindo no metabolismo e na incorporação dos AG nos lipídeos celulares, confirmando vários trabalhos de outros autores (46,52,64,69,100,138,174,182). Os ratos utilizados nesse trabalho pesavam no início do tratamento 60 - 90 gramas, se alimentava, "ad libitum" com quantidades praticamente iguais independente da dieta e -o final de cada tempo de estudo o ganho de peso era também independente da dieta.

4.2. Alterações causadas por dietas ricas em ácido linolêico- Consideramos como dieta rica em ácido linolêico as que possuíam uma quantidade acima de 30% desse AG. Assim tivemos tres dietas: óleo de soja (OS) com 54,4% (ver Tabela 3), óleo de girassol (OG) com 63,1% e mistura de triglicerídeos (MT) com 35,6% em comparação à DC que tinha 44,1%.

Essas dietas como as outras estudadas tinha uma composição de AG muito distinta em relação as encontradas nas células animais que a ingeriam, no entanto, influenciavam de tal forma o metabolismo dos AG que favoreciam um aumento de AG de uma determinada família em detrimento de outras da mesma ou de outras família ou AG que normalmente não eram detectados no grupo controle apareciam em quantidades apreciáveis. No caso das dietas ricas em ácido linolêico, todas elas possuíam esse AG como o único AGPI n-6 e não possuíam AG acima de 18 carbonos. A diferença principal entre as tres era a taxa de 18:3 n-3: a OS possuía 6,2%, a OG e MT, apenas 0,5%. Em segundo lugar, a MT possuía maiores taxas de AGS e de AG n-9 do que as OS e OG. A dieta controle possuía 10,3% de ácido linolênico e as taxas de AGS e AG n-9 eram próximas as das OS e OG (ver Tabelas 2,3,4 e 9).

Aquelas tres dietas induziram um expressivo aumento do conteúdo total de AGPI n-6 em todas as organelas estudadas. É interessante observar que nas organelas hepáticas o único AG n-6 que diminuiu foi exatamente o próprio ácido linolêico. Esse fato fala a favor de que embora a oferta de 18:2 n-6 dietária tenha sido grande, essas dietas não estimulariam uma simples incorporação desse AG nos lipídeos celulares, mas ao contrário, estimulariam muito mais as reações metabólicas de alongação e dessaturação do 18:2 n-6 em AGPI n-6 mais insaturados e superiores. De fato, nas duas organelas hepáticas foi bem evidente a diminuição de 18:2 n-6 e o aumento de AGPI n-6 total devido a um apreciável aumento dos AG 20:4, 22:4 e 22:5. Foi particularmente extraordinário o aumento dos AG n-6 de 22 carbonos induzidos pela dieta MT se levarmos em conta que o grupo DC os possuía em quantidades mínimas ou traços. Neste caso, esses dados podem sugerir que,

embora a dieta MT possuisse a menor quantidade de ácido linoléico em relação as dietas OS e OG e mesmo DC, provavelmente o ácido linoléico dietário associado a altas concentrações de ácido oléico e muito baixa de AGPI n-3 estimularia as reações de alongação e dessaturação. De fato, como já referido anteriormente, tanto o ácido aracdônico como todos os outros AGPI n-6 são sintetizados às expensas de ácido linoléico (16-19,34, 41).

Nas mitocôndrias cardíacas observamos também um aumento do conteúdo total de AGPI n-6, porém, neste caso observamos que a taxa de 18:2 era praticamente a mesma nas tres dietas em relação a da DC, enquanto que havia um aumento de 20:4 e um aumento ainda muito maior daquele observado nas organelas hepáticas, dos AGPI n-6 de 22 carbonos, principalmete do docosapentaenônico. Esses dados sugerem que o tecido cardíaco teria uma maior afinidade pela incorporação de ácido linoléico em seus lipídeos do que os outros tecidos e as elongações e dessaturações nesse tecido seriam mais sensíveis a estímulos dietários do que o fígado.

Devido a existência da barreira hemato-encefálica no sentido de resistir as alterações aos estímulos exógenos, o tecido encefálico responde também às influências dietárias, mas de modo muito menos expressivo. Observamos uma aumento relativamente pequeno mas consistente dos AGPI n-6, com excessão do 22:5 que na dieta OG chegou a aumentar entre 4 e 9 vezes em relação às respectivas organelas do grupo DC. Os conteúdos de AGS e de AGI n-9 dos grupos OS e OG são praticamente os mesmos em relação aos do DC. A síntese do 22:4 n-6, que é um AGPI importante para o encéfalo não é muito estimulada pelas dietas OS ou OG.

As dietas ricas em ácido linoléico causaram uma grande diminuição de todos AGPI n-3 nas organelas hepáticas e mais ainda nas cardíacas. A dieta MT causou uma diminuição extraordinária do conteúdo total de AGPI n-3 de cerca de 5 vezes nas organelas hepáticas e cerca de 10 vezes nas cardíacas em relação ao grupo DC, causando um grande aumento da

relação n-6/n-3. Os AG n-3 que mais diminuíram foram 20:5, 22:5 e principalmente o 22:6. Esses dados reforçam a hipótese de que dietas ricas em 18:2 n-6 se estiverem associadas a um baixo conteúdo de AGPI n-3 e alto de 18:1 n-9, favoreceriam os processos de biossíntese de AG n-6 de cadeias muito longas e altamente poliinsaturadas e inibiriam a biossíntese dos AGPI n-3 a partir do 18:3 n-3. Nas organelas encefálicas o conteúdo total de AGPI n-3 e do 22:6 n-3 dos grupos OS e OG eram praticamente iguais ao do DC, todavia os AG n-3, 20:5 e 22:5 foram relativamente os mais afetados pela dieta, principalmente a OG. O ácido eicosapentaenóico existente nas organelas hepáticas e cardíacas na ordem de 1 a 0,5% respectivamente e nas encefálicas apenas traços, não diminuíram muito no grupo OS mas era praticamente nula nos OG e MT.

Algumas das alterações observadas nos principais AG dependiam do tempo da dieta (ver Tabelas 2,3 e 4 e Figuras 3-11). Na série de AG n-6, o 18:2 e 20:4 atingiram o máximo da alteração, causadas pelas dietas OS ou OG, após 3 semanas de tratamento que perdurava até o período estudado de 12 semanas, tanto nas organelas hepáticas como nas cardíacas. O 22:4 n-6 e 22:5 n-6 variavam em função do tempo e da dieta. Na série de AG n-3, o 22:6 foi o que variou mais em função do tempo. Tanto nas organelas hepáticas como nas cardíacas observamos que o pico máximo de diminuição de AG induzida pelas dietas OG e OS foi após 3 semanas de tratamento e depois de 6 e 12 semanas as taxas desse AG tendiam a aumentar aproximando-se dos valores dos respectivos controles, principalmente no fígado e mais lentamente no coração.

Apesar das dietas DC e OS conterem óleo de soja, como principal fonte lipídica, os resultados das composições de AG das organelas desses grupos foram diferentes. Julgamos que a causa deva ser uma maior quantidade de AG n-3 da DC e porque esta continha AG n-3 de mais de 18 carbonos e a OS não. A dieta DC continha além de uma quantidade aproximadamente igual de ácido linoléico, 20:5, 22:5 e 22:6 que são AG n-3 de cadeia muito longa e altamente insaturada, pro

valmente importantes na interação metabólicas inter-famílias de AG. Os efeitos da dieta OS foram mais próximos da dieta OG foram mais próximos da dieta OG do que da DC, no entanto, observamos várias diferenças, como já mencionadas, entre os grupos OS e OG, a causa principal deve ser porque a dieta OS possuía 6,2% de 18:3 n-3, enquanto que a OG apenas 0,5%.

4.3. Alterações causadas por dieta rica em AGPI n-3 - A dieta óleo de fígado de bacalhau (FB) foi a única entre todas estudadas, que possuía uma taxa de AGPI n-3 acima de 20% e com a mais baixa de AGPI n-6 (2,3%). Essa dieta era praticamente rica nos AG 20:5 e 22:6. Além desses AGPI, continha expressiva quantidade de AGMI. Assim, podemos considerar essa dieta um modelo de estudo muito importante sobre o efeito dos AG dietários sobre o metabolismo e funções dos AG celulares.

Observamos várias alterações causadas por essa dieta em relação a dieta DC e em função do tempo de tratamento (ver Tabelas 2 e 6 e Figuras 3 a 11). A dieta FB induziu um aumento do conteúdo total de AG n-9 de cerca de duas vezes nas organelas hepáticas e cardíacas mas não alterou a do encéfalo. Induziu um decréscimo do conteúdo total de AGPI n-6 de mais de duas vezes nas organelas hepáticas e de cerca de 1,7 vezes nas cardíacas e cerca de 20% nas encefálicas. Nossos resultados sugerem que o fígado deva ser o órgão mais sensível à influência dos AG n-3 dietários em relação ao coração, visto que no fígado o máximo de decréscimo de AG n-6 se dava após 3 semanas de tratamento e após 6 ou 12 semanas os níveis estavam já mais altos ~~com~~ tendendo a voltar aos níveis dos controles, embora ainda fossem mais baixos, enquanto que no coração a dieta FB, induzia uma crescente diminuição dos AG n-6 em função do tempo. Provavelmente, estes dados estariam de acordo com o fato já referido de que o tecido cardíaco teria maior afinidade pelos AGPI n-6 do que os outros tecidos estudados. Todos AGPI n-6 apresentaram grande decréscimos de suas quantidades em todas as organelas. No fígado, o ácido aracdônico foi o que mais decresceu, quase 3 vezes, o que mais uma vez confirma a capacidade de uma família inibir as reações metabólicas de elongações e dessatura

ções de outra. No encéfalo a dieta FB induziu um decréscimo de 2 vezes, tanto de ácido linoléico como de docosatetraenóico, mas relativamente menos do ácido aracdônico. Se considerarmos a resistência da barreira hemato-encefálica essas alterações podem ser consideradas muito grandes.

A dieta FB induziu em todas as organelas um aumento expressivo do conteúdo total de AG n-3. Mais uma vez fígado mostrou ser o tecido mais sensível às influências exógenas dietárias pois sofreu um acréscimo de duas ou mais vezes, enquanto que o tecido cardíaco foi de menos de duas vezes e no encefálico cerca de 1,3 vez. Nas organelas hepáticas e cardíacas essas alterações eram crescentes em função do tempo, isto é, quanto mais semanas de tratamento maior o conteúdo de AG n-3. Todos os AG n-3 sofreram um grande aumento. O 18:3 n-3 variou muito em função do tempo de tratamento, demonstrando com as mitocôndrias hepáticas e cardíacas (ver Tabela 6 e Figura 5). Observamos nesses casos que o máximo de efeito foi após 6 semanas, quando havia um aumento superior a sete vezes e após 12 semanas a taxa de 18:3 n-3 tendia aos valores dos controles. O aumento mais dramático ocorreu com o ácido eicosapentaenóico em todas as organelas: no fígado variou cerca de 10 ou mais vezes, no coração cerca de 8 - 10 vezes e no encéfalo o aumento foi pelo menos da mesma ordem, visto que no grupo controle havia apenas traços desse AG e no grupo FB passou a 0,4%. O ácido docosapentaenóico n-3 das organelas hepáticas do grupo FB era cerca de duas vezes maior que as do grupo DC, nas organelas cardíacas, praticamente não houve alteração mesmo em função do tempo do tratamento e nas encefálicas houve um aumento superior a duas vezes. A dieta FB induziu um progressivo aumento de 22:6 nas mitocôndrias hepáticas . Nos microsomas hepáticos o aumento foi de quase 2 vezes e se deu já na 3^a semana de tratamento, permanecendo nesse nível ate 12 semanas . Nas mitocôndrias cardíacas o aumento de 22:6 também foi progressivo, como nas mitocôndrias hepáticas, na 3^a semana o aumento foi muito pequeno mas após 12 semanas era cerca de 1,5-1,8 vez maior, nas organelas encefálicas o aumento foi da ordem de 20-30%.

O grupo FB apresentou valores da relação AGPI/AGS um pouco menores do que os do grupo DC, em todas as organelas, indicando um aumento de AGS, embora tenha sido pequeno; apresentou valores cerca de 1,5-2 vezes menores da relação AGPI/n-9 nas organelas hepáticas e cardíacas, indicando um aumento expressivo de AGI n-9; apresentou um decréscimo da relação n-6/n-3 na ordem de 4 a 7 vezes nas organelas hepáticas e de 2 a mais vezes nas cardíacas e de cerca de 2 vezes nas encefálicas, mostrando a grande variação ocorrida entre as famílias de AG n-6 diminuindo e da n-3 aumentando.

Nossos resultados estão de acordo com os trabalhos publicados por outros autores, mostrando que dietas ricas em AGPI n-3 induz alterações na composição de AG de vários tecidos tanto humanos (46,52) como de animais (58,64,89,139).

4.4. Alterações causadas por dietas ricas em AG n-9 - As dietas desse grupo foram as que possuíam acima de 40% de AG n-9, como a de gordura de porco (GP) com 41,6% de AG n-9, rica ainda em AGS com 41,6% mas pobre em AGPI n-6 e n-3; a de óleo de soja parcialmente hidrogenada (SH) com 42% de AG n-9, contendo ainda 16,9% de ácido elaidico e 5,1% de ácido linoleáidico, pobre em AGPI n-6 e contendo apenas traços de AGPI n-3 e a com óleo de colza (CZ) com 67,6% de AG n-9, muito rica no AG não-comum, o ácidoerúico com 46%, relativamente pobre em AGPI n-6 mas contendo uma apreciável taxa de AGPI n-3 (8,3%).

Os resultados mostrados nas Tabelas 2,5,8 e 9 e Figuras 3 a 9, demonstram que as dietas ricas em AG n-9 induziram alterações na composição de AG das organelas estudadas, porém foram mais discretas do que as induzidas pelos dois grupos de dietas anteriores. Observamos um aumento no conteúdo total de AG n-9 nas organelas hepáticas e cardíacas, sendo que a dieta CZ foi a que induziu o maior aumento, de cerca de duas vezes em relação ao grupo DC. Nesse caso, houve um aumento de ácido oléico, porém proporcionalmente a AG n-9 que mais se alterou foi o 20:1 e a incorporação do ácido erú

cico nos lipídeos das organelas estudadas foi também demonstrada.

O conteúdo total de AG n-6 não foi alterado apreciavelmente por nenhuma dessas tres dietas. Contudo, observamos que havia um aumento do ácido aracdônico com uma diminuição de ácido linoléico, nas organelas hepáticas e cardíacas dos tres grupos. No grupo SH houve também um aumento expressivo do AG 22:5 n-6. Esses resultados confirmam mais uma vez a hipótese defendida nesta Tese de que os AG n-9 associados com o ácido linoléico favorecem as dessaturações e alongações dos AGPI n-6 produzindo AG de cadeia muito longa e altamente insaturados dessa família.

As mais importantes alterações estavam relacionadas com os AG n-3. As tres dietas induziram uma diminuição do conteúdo total de AGPI n-3 nas tres organelas estudadas. Particularmente, as dietas SH e principalmente a CZ, induziram uma grande diminuição de AG n-3 nas mitocôndrias cardíacas, todavia observamos um aumento expressivo de 18:3 n-3 no grupo CZ. Os grupos GP e SH apresentaram uma grande diminuição de 20:5 n-3, porém no grupo CZ a quantidade desse AG era quase a mesma do grupo DC. O ácido docosahexaenóico sofreu uma pequena diminuição no grupo GP mas grande no grupo SH nas tres organelas estudadas e no grupo CZ esse AG sofreu uma diminuição relativamente pequena nas organelas hepáticas, porém diminuiu cerca de 7 - 8 vezes nas cardíacas. Esses dados podem sugerir que os diferentes efeitos das dietas ricas em AG n-9 seriam devido à combinação destas com os outros AG de cada dieta. Nossos resultados sugerem que os isômeros trans de AG do grupo SH ou o ácido erúico do grupo CZ possam interferir de modo especial. No metabolismo dos AGPI, principalmente no da série n-3. Particularmente, o tecido cardíaco parece ser o mais sensível a tais efeitos. Tanto no grupo SH como na CZ as mitocôndrias cardíacas apresentaram um aumento do 18:3 n-3 e uma grande diminuição do 22:6. Nesse sentido, julgamos oportuno se investigar num futuro próximo, se realmente o ácido erúico ou os trans-AG teriam a capacidade de inibir os processos de alongações e dessaturações do 18:3 até 22:6 ou ini

bir a incorporação de AGPI n-3 superiores ao 18:3. Normalmente, o ácido docosahexaenóico é o segundo AGPI em quantidade incorporado nos lipídeos das mitocôndrias cardíacas.

Não observamos nenhuma alteração apreciável na composição de AG encefálicos do grupo GP em relação a da DC.

4.5. Efeito das dietas lipídicas sobre o transporte de Ca^{2+} em mitocôndrias - É muito frequente associar as funções específicas das membranas às proteínas e aos lipídeos apenas um papel secundário e de suporte. No entanto, várias propriedades como permeabilidade, fluidez e microviscosidade variam muito em função da composição dos AG, com repercussão sobre vários processos membrana-dependentes (30,120,162).

Neste Trabalho escolhemos como indicador bioquímico de um processo membrana-dependente o transporte de Ca^{2+} através de membranas mitocondriais. Estudamos esse processo com organelas cujas composições de AG foram alteradas por manipulações dietárias "in vivo". A dependência da temperatura nesse processo como em outros lipídeos-dependentes é geralmente bifásico (158), isto é, após uma determinada temperatura (TT) existiria uma mudança brusca do valor da energia de ativação do processo. Nesse sentido, estudamos o efeito da composição de AG mitocondrial, sobre a dependência da temperatura do transporte de Ca^{2+} através das membranas mitocondriais comparando-se os valores de TT e E_A de cada processo (Tabelas 10-22).

Nossos resultados mostraram que as marcantes alterações das composições de AG mitocondriais, causadas por diferentes dietas lipídicas, afetaram muito os valores de TT e E_A do efeito da temperatura sobre a captura e efluxo de cálcio através de mitocôndrias hepáticas, cardíacas ou encefálicas, como também sobre o efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente através de mitocôndrias cardíacas ou encefálicas.

Atualmente é bem aceito que cada um dos processos de transporte de Ca^{2+} seja independente do outro do ponto de vista do mecanismo transportador: o influxo ou captura de

Ca^{2+} é dependente de energia e é fortemente inibido pelo vermelho de rutênio; o efluxo espontâneo de Ca^{2+} de uma mesma organela, não é inibido por vermelho de rutênio, indicando que não seria um simples mecanismo de reversibilidade do influxo e o efluxo de Ca^{2+} dependente de Na^+ só ocorre em mitocôndrias de alguns tecidos na presença de Na^+ externo e não é inibido pelo vermelho de rutênio (Figura 1 e como revisão ver ref. 28). Nossa hipótese de trabalho era investigar se cada sistema transportador numa mesma mitocôndria seria envolvido por lipídeos esterificados com AG diferentes, se um sistema transportador em mitocôndrias de diferentes tecidos seria envolvido por lipídeos esterificados com AG diferentes, particulates a cada tecido, e se alterando a composição desses AG afetaríamos, de alguma forma, a capacidade mitocondrial de transportar o Ca^{2+} . Nosso modelo de estudo nos permitiu apenas nos aproximar dessas questões e investigações futuras devem ser propostas para se obter dados mais conclusivos e elucidativos. No entanto, o modelo foi válido como uma tentativa para se pesquisar se os AG teriam ou não apenas um mero papel de suporte das estruturas de membrana. GUDBJARNASON et alii (64) discutiram a possibilidade de certos AGPI, como o 22:6, serem ou participarem da constituição de um canal ionóforo para um determinado íon(6).

Do ponto de vista de valores de TT e E_A do transporte de Ca^{2+} , nossos resultados demonstraram que, independente do tipo de dieta, cada processo (captura, efluxo ou efluxo de Na^+ dependente) era diferente do outro; que um determinado processo de transporte de Ca^{2+} era diferente de acordo com a origem tissular das mitocôndrias, por exemplo, o influxo de Ca^{2+} era diferente para as mitocôndrias hepáticas em relação às cardíacas ou encefálicas e que mitocôndrias de um mesmo tecido mas possuindo composições de AG alteradas por manipulações dietárias, apresentavam processos também diferentes. Esses fatos falaram a favor de que os AG dos arredores de um sistema transportador teria um papel mais relevante no mecanismo do transporte de Ca^{2+} , pelo menos quanto

ao efeito da temperatura, favorecendo ou não, tendo-se em vista que as alterações de E_A e de TT de cada processo foram causadas pelas mudanças nas composições de AG de uma dada membrana mitocondrial.

O influxo de Ca^{2+} através das mitocôndrias hepáticas e cardíacas do grupo DC era um processo trifásico, isto é, obtínhamos duas TT (TT_1 e TT_2) e tres valores de E_A (E_{A1} , E_{A2} e E_{A3}), indicando que havia duas mudanças bruscas nos valores de E_A na faixa de temperatura de 5 - 40°C estudada. O influxo de Ca^{2+} através das mitocôndrias hepáticas, cardíacas e encefálicas de todos os outros grupos dietários (incluindo-se as encefálicas do grupo DC) era um processo bifásico, com uma única TT e dois valores de E_A (E_{A1} e E_{A2}), com excessão das mitocôndrias cardíacas MT, cujos processos apresentam um único valor de E_A , portanto sem TT_1 , nas temperaturas estudadas.

O efluxo espontâneo de cálcio em mitocôndrias hepáticas, cardíacas ou encefálicas era um processo bifásico em todos os grupos dietários, com excessão das mitocôndrias MT e CZ onde o processo apresentava apenas um único valor de E_A , portanto sem TT . Assim, todo o influxo com o efluxo de cálcio através das mitocôndrias cardíacas não apresentaram nenhum ponto de inflexão na equação de Arrhenius. Quanto às mitocôndrias cardíacas CZ, embora o influxo tenha sido um processo bifásico o efluxo tinha apenas um único valor de E_A , nas temperaturas estudadas.

O efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente através de mitocôndrias cardíacas SH era um processo bifásico. As demais mitocôndrias cardíacas dos outros grupos dietários apresentaram um processo trifásico. Todavia, apenas as do grupo GP apresentava dois valores de TT (TT_1 e TT_2) e tres de E_A (E_{A1} , E_{A2} e E_{A3}), enquanto que as dos demais grupos o segundo ponto de inflexão da equação de Arrhenius não correspondia a uma TT_2 mas a uma temperatura que denominamos por temperatura crítica (TC), pois acima dela a E_{A3} era ou tendia ao valor de zero caloria.

de zero caloria.

O efluxo de Ca^{2+} Na^{+} -dependente através de mitocôndrias encefálicas DC e GP era um processo bifásico. O do grupo OG também era bifásico, porém o ponto de inflexão da equação de Arrhenius do processo era uma TC. Para as mitocôndrias encefálicas OS e FB o processo era trifásico, porém o ponto de inflexão superior era uma TC.

Assim, dependendo da composição de AG das mitocôndrias cardíacas e encefálicas, observamos que a presença de Na^{+} no meio externo das mitocôndrias causava um efeito possivelmente deletério sobre essas organelas, especificamente no sistema transportador responsável pelo efluxo de cálcio sódio-dependente. Normalmente, as mitocôndrias são muito mais estáveis e acoplados nas suas funções energéticas oxidativas quando mantidas em temperaturas baixas. No entanto, aquelas mitocôndrias apresentavam atividades específicas normais de influxo e efluxo espontâneo de Ca^{2+} , isto é, a velocidade inicial desses processos era diretamente proporcional ao aumento de temperatura. Porém, o processo do efluxo de cálcio Na^{+} -dependente, nos casos já citados a partir de uma determinada temperatura a velocidade inicial não mais aumentava em função do aumento da temperatura, causando um valor de E_A igual ou próximo de zero.

Assim, a partir de uma determinada temperatura, geralmente entre 24 a 31°C, algumas mitocôndrias cardíacas ou encefálicas de vários grupos, apresentavam E_A tendendo a zero. Porém, não observamos nenhuma anormalidade no influxo ou no efluxo espontâneo de Ca^{2+} na mesma organela, mesmo em temperaturas mais altas do que a da TC, o que indicava que não havia mitocôndrias desacopladas, mesmo nas temperaturas mais elevadas em torno de 40°C, que o íon Na^{+} deveria ter um efeito deletério apenas sobre o sistema do efluxo de Ca^{2+} Na^{+} -dependente e que variava com a composição de AG mitocondrial, visto que cada grupo apresentava um valor de TC diferente.

5. RESUMO

A composição de ácidos graxos (AG) dos lipídeos de uma organela sub-celular é diferente de outras do mesmo tecido e mais diferente ainda da de outros tecidos. Do ponto de vista metabólico, fisiológico e patológico os principais AG dos tecidos humanos e dos animais superiores devem ser classificados em quatro famílias ou séries: 1) dos AG saturados (AGS); 2) dos AG insaturados n-9 (AGI n-9); 3) dos AG poliinsaturados n-6 (AGPI n-6) ou família do ácido linoléico e 4) dos AGPI n-3 ou família do ácido linolênico. Os AGS e AGI n-9 são universalmente sintetizados no reino animal e vegetal. Os AGPI n-6 e n-3 são sintetizados comumente nos vegetais, mas nos animais são sintetizados apenas a partir de um precursor específico que é o ancestral de cada família. O ácido linoléico é considerado um AG essencial (AGE) para mamíferos e o ácido linolênico é um AGE para peixes. Os AG são precursores de vários compostos biologicamente ativos como as prostaglandinas.

Os fosfolipídeos das membranas biológicas são particularmente ricos em AGPI n-6 e n-3 que tem um importante papel relacionado com propriedades físico-químicas como permeabilidade, fluidez e microviscosidade das membranas. Por outro lado, os AG também estão associados a várias patologias como hipercolesterolemia, aterosclerose, hemorragias, trombose, câncer e outras.

É muito comum associar as proteínas às funções específicas das membranas e os lipídeos a um papel secundário e de suporte estrutural. O objetivo principal desta Tese foi o de propor um modelo de estudo que pudesse trazer mais informações sobre a composição e metabolismo de AG ao nível de organelas sub-celulares e sobre a importância de AG em processos fisiológicos membrana-dependentes.

Foram preparadas mitocôndrias hepáticas (MTH), car-

díacas (MTC) e encefálicas (MTE) e microssomas hepáticos (MSH) e encefálicos (MSE) de ratos machos Wistar. Os animais pesando 60-90g foram tratados durante 3,6,8 ou 12 semanas com oito dietas contendo a mesma composição de macro e micronutrientes mais variando quanto a fonte lipídica: 1) dieta controle ou DC, comercial, à base de óleo de soja; 2) dieta-óleo de soja ou OS; 3) dieta óleo de girasol ou OG, as tres ricas em ácido linoléico, porém diferiam quanto a quantidade de AGPI n-3 presentes; 4) dieta à base de gordura de porco ou GP, rica em AGS e AGI n-9; 5) dieta à base de óleo de fígado de bacalhau ou FB, rica em AGPI n-3 e pobre em AGPI n-6; 6) dieta à base de óleo de soja parcialmente hidrogenado ou SH, rica em AGI n-9 e em isômeros trans dos ácidos oléico e linoléico; 7) dieta à base de uma mistura de triglicerídeos ou MT, igualmente rica em AGPI n-6, AGPI n-9 e AGS; 8) dieta-óleo de colza ou CZ, rica em AGPI n-9 e em ácido erúico.

Foram demonstradas grandes alterações na composição de AG de todas organelas estudadas via manipulações dietárias. As dietas ricas em ácido linoléico causaram as seguintes alterações: um expressivo aumento do conteúdo total de AGPI n-6, principalmente dos AG n-6 de 20 e 22 C; no grupo MT, o aumento dos AG n-6 22:4 e 22:5 foi mais expressivo ainda do que o encontrado nos grupos OS e OG; causando ainda uma grande diminuição dos AGPI n-3 como os 20:5, 22:5 e 22:6. A dieta FB causou efeitos opostos, diminuindo a produção e incorporação de AGPI n-6 e aumentando a de AGPI n-6 dos lipídeos de todas as organelas estudadas. As alterações induzidas pela ingestão de dietas ricas em AGI n-9 foram em geral menos expressivas que as anteriores, contudo observamos um grande aumento do AG 22:5 n-6 e diminuição dos AG n-3 de cadeia muito longa e altamente poliinsaturados. Os lipídeos das MTH, MTS e MTC incorporam AG não comuns via dietária como os ácidos eláídico. Apesar da barreira hemato-encefálica, diminuindo a ação dos agentes exógenos, demonstramos que as dietas causavam alterações

na composição de AG dos lipídeos das MTE e MSE, semelhante as dos tecidos hepáticos e cardíaco mas quantitativamente em menor intensidade. Foi sugerido que dietas contendo ácido linoléico associado com grandes quantidades de AGI n-9 favoreciam as reações metabólicas de elongações e des-saturações aumentando a incorporação de AGPI n-6 de 20 e 22 C e altamente poliinsaturados à expensas de uma diminuição da quantidade de AGPI n-3.

Para se investigar o papel dos AG nas funções membrana-dependente, determinou-se a energia de ativação (E_A) do transporte de cálcio (influxo, efluxo espontâneo ou efluxo Na^+ -dependente) através de MTH, MTC e MTE. Na maioria dos casos observou-se que a partir de uma determinada temperatura, denominada de transição (TT), havia uma mudança brusca no valor de E_A , indicativo de um ponto de inflexão na equação de Arrhenius e de um processo bi-fásico com uma TT e dois valores de E_A . Em alguns casos o processo era trifásico, com duas TT e tres valores de E_A . Demonstrou-se que as alterações da composição de AG mitocondriais determinava mudanças nos valores de TT e E_A de cada processo em relação ao grupo controle.

Foi observado que o efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente das MTC do grupo SH, das MTE dos grupos DC e GP eram processos bifásicos. O das MTE do grupo OG também era bifásico, porém o ponto de inflexão correspondia a temperatura aqui denominada por crítica (TC), pois acima da qual a E_A era ou tendia ao valor zero. O das MTC e das MTE dos demais grupos eram processos trifásicos, porém o ponto de inflexão superior, correspondia a uma TC e não a uma segunda TT. Nesse sentido, foi sugerido que o íon Na^+ , pudesse ter um papel de letério sobre o sistema de efluxo de Ca^{2+} Na^+ -dependente.

6. SUMMARY

Each subcellular organelle has its own peculiar composition in fatty acids (FA). It was analysed the influence of diets having different FA composition on the FA content of lipids of rat liver mitochondria and microsomes, heart mitochondria and brain mitochondria and microsomes. Male Wistar rat of 60-90g were used. Animals were treated with the different diets during 3, 6, 8 or 12 weeks. Some diets contained high level of linoleic acid (polyunsaturated FA or n-6 PUFA family) with different amount of n-3 PUFA. Other diets were rich in n-3 PUFA, but poor in n-6 PUFA. Some other diets contained different combinations of oleic acid and saturated FA (SFA). Still other diets contained uncommon FA, like trans-FA or erucic acid.

It has been found that, diets induced profound modifications on FA composition of all organelles studied, but to different degrees in different organelles. Those of brain were most resistant. It was observed the metabolic composition among oleic acid, linoleic acid and linolenic acid. Unusual FA like erucic acid and elaidic acid (trans-oleic) can also become incorporated into membrane of cell organelles.

Specific membrane functions are traditionally associated with proteins whereas phospholipid normally, would play a secondary role. It was studied the influence of mitochondria FA composition on the activation energy (E_A) of the influx, eflux and Na^+ -dependent eflux Ca^{2+} , in liver, heart and brain mitochondria, as a model for studying the real role of fatty acids on membrane functions. Arrhenius' plots of these processes had one inflexion point called here transition temperature (TT) in the most cases. It was found that the changes of mitochondrial

FA content via dietary manipulations induced also changes on the values of E_A and TT in all process, compared to control groups. Na^+ -dependent efflux of Ca^{2+} , may be a triphasic process, with two values of TT and three values of E_A in most of heart mitochondria and some of brain mitochondria. However, the superior inflexion point could be not exactly a TT point but a critical temperature, because at higher temperatures, above it E_A had a value approximately to zero.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALAM, B.S. & ALAM, S.Q. Excessive intake of 13-cis retinoic acid and fatty acid composition of tissues. J.Nutr., 113:64-9,1983.
- 2- ANDERSEN, N.H. & RAMWELL, P.W. Biological aspects of prostaglandins. Arc.Int.Med., 133:30-50,1974.
- 3- ANDERTON, P.; WILD, T.F. & ZWINGELSTEIN, G. Accumulation of radiolabelled fatty acids in the neutral lipid fraction of measles virus persistently infected BGM cells. Biochem.BiophysResear.Comm., 112(1).29-34,1983.
- 4- AWAD, A.B. & CHATTOPADHYAY, J.P. Alteration of rat heart sarcolemma lipid composition by dietary elaidic acid. J.Nutr., 113:913-20,1983.
- 5- BAGHURST, K.I. & TRUSWELL, A.S. Acute effect of three dietary fats on platelet function and fibrinolysis in man. Nutr.Rep.Inter., 20(1):39-44,1979.
- 6- BASS, D.A.; THOMAS, M.J.; GOETZL, E.J.; deCHATELET, L.R. & McCALL, C.E. Lipoxygenase-derived products of arachidonic acid mediate stimulation of hexose uptake in human polymorphonuclear leukocytes. Biochem.Biophys.Resear.Comm., 100(1):1-7,1981.
- 7- BEREZIAT, G. Renouvellement des acides gras polyethyleniques des membranes cellulaires a partir des lipides plastiques. Res.Colloque Acids Gras Polyinsaturés, Paris, 1979. p.9.
- 8- BERKE, B.M. & KAPLAN, M.L. Effects of high fat and high carbohydrate diets on development of hepatic and adipose lipogenesis in fa/fa and non-fa/fa rats. J.Nutr., 113:820-34,1983.
- 9- BERKOW, S.E. & CAMPOGNONI, A.T. Essential fatty acid deficiency: Effects of cross-fostering mice and birth on myelin levels and composition. J.Nutr., 113:582-91,1983.

- 10- BHATTACHARYA, A. & VONDERHAAR, B.K. Phospholipid methylation stimulates lactogenic binding in mouse mammary gland membranes. Natl.Acad.Sci., 76(2):4489-92,1979.
- 11- BOISSONNEAULT, G.A. & JOHNSTON, P.V. Essential fatty acid deficiency, prostaglandin synthesis and humoral immunity in lewis rats. J.Nutr., 113:1187-94,1983.
- 12- BLACKWELL, G.J.; 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.
- 13- BORGEAT, P.; de LACLOS, B.F. & MACLOUF, J. New concepts in the modulation of leukotriene synthesis. Biochem.Pharmac., 32(3)381-7,1983.
- 14- BOTHAM, K.M. & BOYD, G.S. The effect of dietary fat on bile salt synthesis in rat liver. Biochem.Biophys.Acta., 752:307-14,1983.
- 15- BOURRE, J.M. & BAUMANN, N. Elongation des acides gras dans le systeme nerveux. Res.Colloque Acids Gras Polyinsaturés, Paris, 1979. p. 21.
- 16- BRENNER, R.R. Reciprocal Interactions in the desaturation of linoleic acid into γ -linolenic and eicosa-8,11,14-trienoic into arachidonic. Lipids, 4(6):621-3,1969.
- 17- _____ . The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. Mol.Cell.Biochem., 3(1):41-52, 1974.
- 18- _____ . & PELUFFO, R.O. Effect of saturated and unsaturated fatty acids on the desaturation in vitro of palmitic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic acids. J.Biol.Chem., 241(22):5213-9,1966.
- 19- _____ .; NERVI, A.M. & De THOMAS, M.E. Competitive effect of α - and γ -linolenyl-CoA and arachidonyl-CoA in linolenyl-CoA desaturation to γ -linolenyl-CoA. Biochim.Biophys.Acta., 176:420-2,1969.
- 20- BRETON, J.C.; RABINOVITCH, H. & BAUDET, J. Acides gras polyinsaturés et grossesse. Res.Colloque Acids Gras Polyinsaturés, Paris, 1979. p.5.

- 21- O'BRIEN, B.C.; McMURRAY, D.N. & REISER, R. The influence of premature weaning and the nature of the fat in the diet during development on adult plasma lipids and adipose cellularity in pair-fed rats. J.Nutr., 113:602-9, 1983.
- 22- BRONGEEST-SCHOUTE, D.C.; HAUTVAST, J.G.A.J. & HERMUS, R.J. 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.
- 23- _____; HERMUS, R.J.J.; DALLINGA-THIE, G.M. & HAUTVAST, J.G.A.J. Dependence of the effects of dietary cholesterol and experimental conditions on serum lipids in man. II. Effects of dietary cholesterol in a linoleic acid-poor diet. Am.J.Clin.Nutr., 32:2188-92, 1979.
- 24- BRUCKNER, G.; SHIMP, J.; GOSWANI, S.; MAI, J. & KINSELLA, J.E. Dietary trilinoleate: effects on metabolic parameters related to EFA metabolism in rats. J.Nutr., 112:126-35, 1982.
- 25- _____.; TRIMBO, S.; GOSWAMI, S. & KINSELLA, J.E. Dietary trilinoleate: effects on hematological parameters, serum eicosanoids and tissue fatty acid composition in rats. J.Nutr., 113:704-13, 1983.
- 26- 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. Ann.Nutr. Metab., 27:268-77, 1983.
- 27- 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.
- 28- CARAFOLI, E. The calcium cycle of mitochondria. FEBS LETTERS, 104(1):1-5, 1979
- 29- CARLOMAGNO, M.A.; O'BRIEN, B.C. & McMURRAY, D.N. Influence of weaning dietary fat on immune responses in adult rats. J.Nutr., 113:610-7, 1983.
- 30- CASTUMA, C. & BRENNER, R.R. Effect fatty acid deficiency

- on microsomal membrane fluidity and cooperative of the UDP-glucuronyltransferase. Biochim.Biophys.Acta., 729: 9-16, 1983.
- 31- CHAN, P.H. & FISHMAN, R.A. Brain edema: Induction in cortical slices by polyunsaturated fatty acids. Science, 201:358-60, 1978.
- 32- CHAN, A.C.; PRITCHARD, E.T. & CHOY, P.C. Differential effects of dietary vitamin E and antioxidants on eicosanoid synthesis in young rabbits. J.Nutr., 113:813-19, 1983.
- 33- CHAP, H., SIMON, M.F. & DOUSTE-BLAZY, L. Effect of ticlopidine on arachidonic acid metabolism in platelet phospholipid in vitro. Biochem.Pharmacol., 30(12):1463-68, 1981.
- 34- CHERN, J.C. & KINSELLA, J.E. The effects of unsaturated fatty acids on the synthesis of arachidonic acid in rat kidney cells. Biochim.Biophys.Acta., 750:465-71, 1983.
- 35- _____ . Concurrent release and reacylation of fatty acid by rat kidney cells selective incorporation of arachidonic acid. Biochim.Biophys.Acta., 750:7-17, 1983.
- 36- CHIGNARD, M.; VARGAFTIG, B.B.; SORS, H. & DRAY, F. Synthesis of thromboxane B₂ in incubates of dog platelet-rich plasma with arachidonic acid and its different drugs. Biochem.Biophys.Res.Commun., 85(4):1631-9, 1978.
- 37- CLANDININ, M. & YAMASHIRO, S. Dietary factors affecting the incidence of dietary fat-induced myocardial lesions. J.Nutr., 112:825-8, 1982.
- 38- CLEJAN, S.; CASTRO-MAGANA, M.; COLLIPP, P.J.; JONES, E. & MADDAIAH, V.T. Effects of zinc deficiency and castration on fatty acid composition and desaturation in rats. Lipids, 17:129-35, 1982.
- 39- CLIFFORD, C.K.; SMITH, L.M.; ERICKSON, K.L.; HAMBLIN, C.L.; CREVELING, R.K. & CLIFFORD, J. Effect of dietary triglycerides on lymphocyte transformation in rats. J.Nutr., 113:669-79, 1983.

- 40- CRAWFORD, M.A.; CASPERD, N.M. & SINCLAIR, A.J. The long chain metabolites of linoleic and linolenic acid in liver and brain in herbivores and carnivores. Comp. Biochem. Physiol., 54B:395-401, 1978.
- 41- _____.; HASSAM, A.G.; WILLIAMS, G. & WHITEHOUSE, W. Fetal accumulation of long-chain polyunsaturated fatty acids. In: BAZAN, N.G.; BRENNER, R.R. & GIUSTO, N. M., New York, Plenum Publishing, 1977. p.135-43.
- 42- _____.; WILLIS, A.L.; STONE, J.F. The key role of rate limitations in the elongation and desaturation of fatty acids for structural lipids and prostaglandins. Res. Colloque Acids Gras Polyinsaturés, Paris, 1979. p.1
- 43- _____ & WELLS, M.A. Fatty acids and molecular species composition of rat brain phosphatidylcholine and ethanolamine from Birth to weaning. Lipids, 14(9):757-62, 1979.
- 44- CROCKER, P.J.; FITCH, M. & OSTWALD, M.F. Effects of the unsaturation of dietary fat and of arachidonate supplement on cholesterol pool expansion in the guinea pig. J. Nutr., 109:927-38, 1979.
- 45- DAVENAS, E.; CIAVATTY, M.; MICHEL, G. & RENAUD, S. Influence of sex and dietary fats on platelet lipid biosynthesis in rat. Biochim. Biophys. Acta., 750:526-32, 1983.
- 46- O'DEA, K. & SINCLAIR, A.J. Increased proportion of arachidonic acid in plasma lipids after 2 weeks on a diet of tropical seafood. Am. J. Clin. Nutr., 36:868-72, 1982.
- 47- DECKERE, E.A.M.; NUGTEREN, D.H. & ten HOOR, F. Influence of type of dietary fat on the prostaglandin release from isolated rabbit and rat hearts and from aortas. Prostaglandins, 17(6):947-55, 1979.
- 48- DIVAKARAN, P. Essential fatty acids (EFA) deficiency and liver mitochondria. Experientia, 34:1540-41, 1978.
- 49- DHOPEHWARKAR, G.A. & MEAD, J.F. Role of oleic acid in the metabolism of essential fatty acids. J. Am. Oil Chem., 38:297-301, 1961.

- 50- DOROGI, P.L.; RABL, C.R. & NEUMANN, E. Kinetic scheme for Ca^{2+} -arsenazo III interactions. Biochem.Biophys.Res. Commun., 111(3):1027-33, 1983.
- 51- DURAND, G. Les lipofuscines: structure, origine, évolution. Res.Colloque Acids Gras Polyinsaturés, Paris, 1979. p.15.
- 52- DYERBERG, J.; BANG, H.O.; MONCADA, S. & VANE, J.R. Eicosa pentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? Lancet, 117, 9, july, 1978.
- 53- EMILSSON, A. & GUDBJARNASON, S. Reversible alterations in fatty acid profile of glycerophospholipids in rat heart muscle induced by repeated norepinephrine administration. Biochim.Biophys.Acta., 750:1-6, 1983.
- 54- ENGSTER, H.M.; CAREW, Jr. L.B.; HARVEY, S. & SCANES, C.G. Growth hormone metabolism in essential fatty acid-deficient and pair-fed nondeficient chicks. J.Nutr., 109: 330-8, 1979.
- 55- FALLANI, A. & RUGGIERI, S. Lipid composition of SV40-induced transplantable hamster tumor. Lipids, 14(8):752 - 5, 1979.
- 56- FOLCH, J.; LEES, M. & STANLEY, G.H.S. A simple method for isolation and purification of total lipides from animal tissues. J.Biol.Chem., 226:497-509, 1957.
- 57- FUJIWARA, Y.; OKAYASU, T. ISHIBASHI, T. & Imai, Y. Immunochemical evidence for the enzymatic difference of delta⁶ desaturase in rat liver microsomes. Biochem.Biophys.Res. Commun., 110(1):36-41, 1983.
- 58- GARCIA, P.T. & HOLMAN, R.T. Competitive inhibitions in the metabolism of polyunsaturated fatty acids studied via the composition of phospholipids, triglycerides and cholesteryl esteres of rat tissues. J.Am.oil.Chem.Sci., 42(912):1137- 41, 1965
- 59- GARDINER, S.E. & ROUGHAN, P.G. Relationship between fattyacyl composition of diacylgalactosylglycerol and turnover of chloroplast phosphatidate. Biochem.J., 210:949 - 52, 1983.
- 60- GENNES; J.L.; DOUMITH, R.; TRUFFERT. J. & LAGARDE, J.P.

- Modifications du profil des acides gras dans toutes les fractions lipidique circulantes, sous régime riche en acides gras polyinsaturés. Res.Colloque Acides Gras Polyinsaturés, Paris,1979. p.13.
- 61- GNONI, G.V.; LANDRISCINA,C.; RUGGIERO, F.M. & QUAGLIARIELLO, E. Effect of hyperthyroidism on lipogenesis in brown adipose tissue of young rats. Biochim.Biophys.Acta., 751:271-9,1983.
- 62- GRAFF, G.; SACKS,R.W. & LANDS, W.E.M. Selective loss of mitochondrial genome can be caused by certain unsaturated fatty acids. Arch.Biochem.Biophys.,224(1):342-50, 1983.
- 63- GREENWALD, J.E.; BIANCHINE,J.R. & WONG,L.K. The production of the arachidonate metabolite HETE in vascular tissue. Nature,281:588-9,1979.
- 64- GUARNIERI,M. & JOHNSON, R. The essential fatty acid. Adv.lipid.Res. ,8:115-74,1970.
- 65- GUDBJARNASON, S.; DOELL, B.; OSKARSDOTTIR, G. & HALLGRIMSSON; J. Modification of cardiac phospholipids and catecholamine stress tolerance. In: de DUVE, C. & HAYAISHI, O. Tocopherol,oxygen and biomembranes. Amesterdam,Elsevier, 1978. p.297-310.
- 66- GUSTAFSON, A.; LILLIENBERG, L, & SVANBORG, A. Human plasma high-density lipoprotein composition during the menstrual cycle. Scan.J.clin.Lab.Invest.,33(137):63-70,1974.
- 67- HAMMER, C.T. & WILLA, E.C. The role of lipid components of the diet in the regulation of the fatty acid composition of the rat liver endoplasmic reticulum and lipid peroxidation. Biochem.J.,174:585-93,1978.
- 68- HARWOOD,J.L.; WHARFE,J. & BOLTON, P. Changes in fatty acid synthesis during leaf development. Biochem.SocTrans., 6:598-600,1978.
- 69- HASSAM,A.G. The influence of alfa-linolenic acid on the metabolism of gama-linolenic acid in the rat. Br.J.Nutr., 38:137-40,1977.
- 70- _____ . & CRAWFORD, M.A. Influence of maternal die-

- tary gamma-linolenic acid on the milk and liver lipids of suckling rats. Nutr.Metab.20:112-6,1976.
- 71- _____ . The effect of dihomogamma linolenic acid (20:3,n-6) on the composition of phospholipid fatty acids in the liver of rats deficient in essential fatty acids. Br.J.Nutr.,40:155-7,1978.
- 72- _____ . The incorporation of orally administered radiolabeled dihomogamma linolenic acid into tissue lipids and its conversion to arachidonic acid. Lipids,13(11):801-3,1978.
- 73- HENNESSEY, T.M. & NELSON, D.L. Biochemical studies of the excitable membrane of Paramecium tetraurelia. VIII. Temperature-induced changes in lipid composition and in thermal avoidance behavior. Biochim.Biophys.Acta.,728:145-58,1983.
- 74- HILL, M.J. Dietary fat and human cancer. Proc.Nutr.Soc., 40:15-19,1981.
- 75- HILLYARD, L.; RAO, G.A. & ABRAHAM, S. Effect of dietary fat acid composition of mouse and rat mammary adenocarcinomas (40781). Proc.Soc.exp.Biol.Med., 136:376-83,1980.
- 76- _____ . & ABRAHAM, S. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on growth of mammary adenocarcinomas in mice and rats. Cancer.Res., 39:4430-7,1979.
- 77- HILTUNEN, J.K.; OSMUNDSSEN, H. & BREMER, J. Beta-oxidation of polyunsaturated fatty acids having double bonds at even-numbered positions in isolated rat liver mitochondria. Biochim.Biophys.Acta.,752:223-32,1983.
- 78- HOLLIDAY, R. A new theory of carcinogenesis. Br.J.Cancer., 40:513-22,1979.
- 79- HOLMAN, R.T. How essential are fatty acids? J.Am.Med.Assoc.,178(9):930-3,1961.
- 80- HOLUB, B.J. & KUKSIS, A. Interrelationship in the metabolism of liver arachidonoyllecithins and plasma cholesteryl arachidonate in the rat. Can.J.Biochem.,49:1005-11,1971.
- 81- HOPKINS, G.J.; KENNEDY, T.G. & CARROLL, K.K. Polyunsaturated fatty acids as promoters of mammary carcinogenesis

- induced in sprague-dawley rats by 7,12-dimethylbenz(a) anthracene. J.Natl.Cancer.Inst.,66(3):517-22,1981.
- 82- HØY,C.E. & HØLMER,G. Incorporation of cis- and trans-oc-tadecanoic acids in the membranes of rat liver mitochon-dria. Lipids,14(8):727-33,1979.
- 83- IIJIMA,Y.; YAMAZAKI,M. & MARUYAMA, M. Effects of dietary fatty acids on hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase activity in hamsters on a high-glucose diet. Arch.Biochem.Biophys.,196(1):265-9,1979.
- 84- JAKUBOWSKI, J.A. & ARDLIE, N.G. Modification of human platelet function by a diet enriched in saturated or po-lyunsaturated fat. Atherosclerosis, 31:335-44,1978.
- 85- el-KHATIB,S.M. & CORA, E.M. Role of high-fat diet in tu-morigenesis in C57BL/1 mice. J.Natl.Cancer.Inst.,66(2):297-301,1981.
- 86- 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.
- 87- KNAZEK, R.A. & LIU,S.C. Dietary essential fatty acids are required for maintenance and induction of prolactin re-ceptors (40679). Proc.Soc. exp.Biol.Med.,162:346-50,1979.
- 88- KVNAV,W.K. & DORUMES,P. Degradation of unsaturated fatty acids. Identification of intermediates in the degradation of cis-4-decenoyl-CoA by extracts of beef-liver mitochon-dria. Eur.J.Biochem.,91:533-44,1978.
- 89- LEGER, C. Developments recents de la notion d'acides gras essentiels chez poissons. Ann.Nutr.Aliment.,34:207-15 ,1980.
- 90- LOCNISKAR,M.; NAUSS,K.M & NEWBERNE, P.M. The effect of quality of dietary fat on immune system. J.Nutr.,113:951-61,1983.
- 91- LUTTON,C.; MAGOT,T.; MATHÉ,D.; SULPICE,J.C. & CHEVALLIER,F. Influence des acides gras à chaîne courte on moyenne sur la dynamique du cholestérol chez le rat. Ann.Nutr.Metab.,27:162-71,1983.
- 92- MARKLEY,K.S. Historical and General. In: MARKLEY,K.S.

- Fatty acids. Part 1. New York, Erscience, 1960, I, p.1-22.
- 93- _____ . Nomenclature, classification, and description of individual acids. In: MARKLEY, K.S. Fatty acids. New York, Erscience, 1960. Part 1, II, 23-113.
- 94- _____ . Their chemistry, properties, production, and uses. In: MARKLEY, K.S. Fatty acids. New York, Erscience, 1969. Part 5, I-A, 3119-29.
- 95- _____ . Nomenclature, classification, and description of individual acids. In: MARKLEY, K.S. Fatty acids. New York, Erscience, 1969. II-A, 3134- 3285.
- 96- MARTIN, C.E. & JOHNSTON, A.M. Changes in fatty acid distribution and thermotropic properties of phospholipids following phosphatidylcholine depletion in a choline-requiring mutant of Neurospora crassa. Biochim. Biophys. Acta., 730:10-16, 1983.
- 97- MAZLIAK, P. Formation des acides gras polyinsaturés dans le règne végétal. Ann. Nutr. Alim., 34:1-18, 1980.
- 98- _____ . Formation des acides gras poliinsaturés dans le règne végétal. Res. Colloque Acides Gras Polyinsaturés, Paris, 1979. p.3.
- 99- MATHUR, S.N.; SIMON, I.; LORESH, B.R. & SPECTOR, A.A. Phospholipid fatty acid modification of rat liver microsomes affects acylcoenzyme A:Cholesterol acyltransferase activity. Biochim. Biophys. Acta., 751:401-11, 1983.
- 100- MACDONALD, M.L. ROGERS, Q.R. & MORRIS, J.G. Role of linoleate as an essential fatty acid for the cat independent of arachidonate synthesis. J. Nutr., 113:1422-33, 1983.
- 101- MCGRECOR, L.; MOROZAIN, R. & RENAUD, S. Effect of dietary linoleic acid on platelet function in the rat. Thromb. Res., 20:499-507, 1980.
- 102- _____ . Platelet functions and fatty acid composition of platelet phospholipid in spontaneously hyperthensive rats fed saturated or polyunsaturated fats. Atherosclerosis, 38:129-36, 1981.
- 103- _____ . A comparison on the effects of dietary short and long chain saturated fatty acids on platelet functions, platelet phospholipid

- and blood coagulation en rats. Lab.Invest.,43(5):438-42,1980.
- 104- MCMURCHIE,E.J.; GIBSON, R.A.; ABEYWARDENA,M.Y. & CHARNOCK, J.S. Dietary lipid modulation of rat liver mitochondrial succinate:cytochrome c reductase. Biochim.Biophys. Acta.,727:163-9,1983.
- 105- MENON,N.K.; & DHOPESHWARKAR, G.A. Differences in the fatty acid profile and beta-oxidation by heart homogenates of rats fed cis and trans octadecenoic acids. Biochim.Biophys. Acta.,751:14-20,1983.
- 106- MOHRHAUER, H. & HOLMAN,R.T. The effect of dose level of essential fatty acids upon fatty acid composition of the rat liver. Lipid.Res.,4:151.9,1963.
- 107- MONTAUDON,D.; ROBERT,J.; LOUIS,J.C. & REBEL,G. Distribution des acides gras des phospholipides de cellules nerveuses normales et tumorales en culture. Res.Colloque Acides Gras Polyinsaturés,Paris,1979. p.23.
- 108- MORISAKI,N.; SAITO,Y. & KUMAGAI,A. Synthesis and metabolism of arachidonyl- and eicosapentanoyl-CoA in rat. Biochim.Biophys. Acta.,752:301-6,1983.
- 109- MOORE,C.E. & DHOPESHWARKAR, A. Positional specificity of trans fatty acid in fetal lecithin. Lipids,16(7):479-84,1981.
- 110- MIYAMOTO-TLAVEN,M.J.; HILLYARD,L.A. & ABRAHAM,S. Influence of dietary fat on growth of mammary ducts in BALB/mice. J.Natl.Cancer.Inst.,67:179-85,1981.
- 111- NAGASAWA, H. Prolactin:its role in the development of mammary tumors. Med.Hypot.,5:1117-21,1979.
- 112- NESTEL,P.; BILLINGTON,T. & SMITH,B. Low density and high density lipoprotein kinetics and sterol balance in vegetarians. Metab.,30(10):941- ,1981.
- 113- NORDØY,A.; SVENSSON,B. & HOAK,J.C. The effects of albumin bound fatty acids on the platelet inhibitory function of human endothelial cells. Eur.J.clin.Invest.,9:5-10,1979.
- 114- NOUVELOT,A.; BOURRE,J.M.; SEZILLE,G.;DEWAILLY,P. &JAILLARD, J. Changes in the fatty acid patterns of brain phospholipids

- during development of rats fed peanut or rapeseed oil taking into account differences between milk and maternal food. Ann.Nutr.Metab.,27:173-81,1983.
- 115- NUNEZ,E.A.; BENASSAYAG,C.; SAVU,L., VALLETTE,G. & DELORME, J. Acides gras polyinsaturés libres, oestrogènes et foeto-protéines. Res.Colloque Acides Gras Polyinsaturé,Paris,1979. p.4.
- 116- OLIW,E.H. Oxygenation of linolenic and linoleic acid to novel vicinal dihydroxy acids by hepatic microsomes of the rabbit. Biochem.Bophys,Res.Comm.,111(2):644-51, 1983.
- 117- OSAMA,H.; NARUMIYA,S.; HAYAISHI,O.;IINUMA,H.;TAKEUCHI,T. & UMEZAWA,H. Inhibition of brain prostaglandins synthetase and prostaglandin D₂ dehydrogenase by some saturated and unsaturated fatty acids. Biochim.Biophys. Acta.,752:251-8,1983.
- 118- PACKER,L. Relation of structure to energu coupling in rat liver mitochondria. Fed.Proc.,29(4):1533-9,1970.
- 119- PASCAUD,M. Importance de la nutrition lipidique dans le developpement de l'animal. Ist.World Congress on genetics applied to livestock production,Madrid,1974. p. 391-7.
- 120- _____. Les acides gras polyinsaturés dans le membranes biologiques. Rev.fran.Corps.Gras.,10:475-80,1978.
- 121- _____. Acides gras essentiels et developpement animal. Ann.Nutr.Alim.,34:175-86,1980.
- 122- _____ & LAVABRE,P. Utilisation de l'acide linoléique ¹⁴C par le rat en croissance. In: VIEWEG,V.F. & GMBH,S. Proceedings of the Seventh International Congress of Nutrition. Braunschweig,VIEWEG,V.F. & GMBH, S.,1966. I,3-7.
- 123- _____.; PHAN,H. & RENARD,J.L. Transfert materno-foetal et captation des acides gras essentiels chez le rat. Ann.Biol.anim.Biophys.,19(1B):251-6,1979.
- 124- _____.; ROUGIER,A. & DELHAYE,N. Materno-fetal transfer of ¹⁴C linoleic acid and arachidonic acids. In:

- BAZAN, N.G.; BRENNER, R.R. & GIUSTO, N.M. Function and biosynthesis of lipids. New York, Plenum Publishing, 1977. p.145-9.
- 125- _____ & STROUVÉ, C. Devenir métabolique des acides ^{14}C linoléique et palmitique chez le rat en croissance I. oxydation et utilisation énégetique. Bull.Soc.Chim. Biol., 50(3):569-77, 1968.
- 126- _____ . Devenir métabolique des acides ^{14}C linoléique et palmitique chez le rat en croissance. II. Rétention et dérivations. Bull.Soc.Chim.Biol., 50(3): 579-84.
- 127- PAPAHADJOPOULOS, D. Studies on the mechanism of action of local anesthetics with phospholipid model membranes. Biochim.Biophys.Acta., 265:169-86, 1972.
- 128- PERRET, B.; CHAP, H.J. & DOUSTE-BLAZY, L. 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.
- 129- PERRET, J.P.; GUIFFRAY, N. & MOTTAZ, P. Stimulation de la sécrétion insulinique par les acides gras à chaîne moyenne de l'alimentation chez le lapereau. Ann.Nutr. Metab., 27:153-61, 1983.
- 130- PETERSEN, von U.; OSLAGE, H.J. & SEHER, A. Nutritional effect of low-erucic rapeseed oils on pigs. I. Development of animals and carcass characteristics. Fette . Seifen.Anstrichmittel. , 81(5):177-94, 1979.
- 131- REDDY, K.V.S. & RAY, T.K. Lipid composition of goat mammary gland at different stages of lactation. Indian.J. Biochem.Biophys., 18:182, 1981.
- 132- RAO, G.A. & ABRAHAM, S. Dietary alteration fatty acid composition of lipid classes in mouse mammary adenocarcinoma. Lipids, 10(10):641-3, 1975.
- 133- _____ . Enhanced growth rate of transplanted mammary adenocarcinoma induced in C3H mice by dietary linoleate. J.Natl.Cancer.Inst., 56(2):431-2, 1976.

- 134- _____ . Reduced growth rate of transplantable mammary adenocarcinoma in C3H mice fed eicosa-5,8,11,14-tetraenoic acid. J.Natl.Cancer.Inst., 58(2):445-7,1977.
- 135- RENAUD,S.; MCGREGOR, L. & MCGREGOR,J. Le rôle des AGP dans la membrane plaquettaire en relation avec l'agrégation. Res.Colloque Acides Gras Polyinsaturés,Paris, 1979. p.11.
- 136- _____.; MORAZAIN,R.; MCGREGOR,L. & BAUDIER,F. Dietary fats and platelet functions in relation to atherosclerosis and coronary heart disease. Haemostasis, 8:234-51,1979.
- 137- _____.; DUMONT,E; GODSEY,F.; SUPLISSON,A. & THEVENON, C. Platelet function in relation to dietary fats in farmers from two regions of France. Thrombos Haemostas, 40(3):518-31,1979.
- 138- _____; MORAZAIN,R ; THEVENON,C.& ORTCHANIAN,E. Dietary fats and platelet function in French and Scottish farmers. Nutr.Metab.,24(1):90 - 104,1980.
- 139- RICHARDSON,T.; TAPPEL,A.L.; SMITH,L.M. & HOULE,C.R. Polyunsaturated fatty acids in mitochondria. J.Lipid. Res.,3(3):344-50,1962.
- 140- ROCKERBIE,R.A.; DOBSON,R.D. & FROHLICH,J. Gas-chromatographic analysis of patterns of fatty acids of cholesteryl esters and phosphatidylcholine. Clin.Chem., 25:1411-4,1979.
- 141- RUGGIERI,S. & FALLANI,A. Lipid composition of yoshida ascites hepatoma and of livers and blood plasma from host and normal rats. Lipids,14(4):323-33,1979.
- 142- RUTTENBERG,H. DAVIDSON,L.M.; LITTLE,N.A.; KLURFELD,D.M. & KRITCEVSKY,D. Influence of trans unsaturated fats on experimental atherosclerosis in rabbits. J.Nutr., 113:835-44,1983.
- 143- SANDERS,T.A.B.; ELLIS,F.R.; PATH,F.R.C. & DICKERSON,J. W.T. Studies of vegans:the fatty acid composition

- of plasma choline phosphoglycerides, erythrocytes, adipose tissue, and breast milk, and some indicators of susceptibility to ischemic heart disease in vegans and omnivore controls. Am.J.clin.Nutr., 31:805-13,1978.
- 144- SCHRIYVER,R. & PRIVETT,O.S. Interrelationship between dietary trans fatty acids and the 6- and 9-desaturases in rat. Lipids,17:27-34,1982.
- 145- _____ . Effect of dietary long-chain fatty acids on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in rats. J.Nutr.,112:619-26,1982.
- 146- SCHROEDER,F. & SOLER-ARGILAGA,C. Calcium modulates fatty acid dynamics in rat liver plasma membranes. Eur.J. Biochem.,132:517-24,1983.
- 147- SCHWARTZ, R.S. & ABRAHAM,S. The effect of dietary fat on the activity, content, rates of synthesis, and degradation and translation of messenger RNA coding for malic enzyme in mouse liver. Arch.Biochem.Biophys., 221(1):206-15,1983.
- 148- SEHER,von A.; ARENS,M.; KROHN,M. & PETERSEN,U. Nutritional effect of low-erucic rapeseed oils on pigs:2.Effect on lipids of heart muscle. Fette.Seife.Anstrichmittel, 81(5):181-87,1979.
- 149- SHECHTER,E.& LETWILLIER,L. Importance des insaturations des acides gras lipidiques sur les structures et fonctions membranaires. Res.Colloque Acides Gras Polyinsaturés,Paris,1979. p.8.
- 150- SHEPHERD,J.; PACKARD,C.; MORGAN,G.; TAUNTON,D. & GOTTO, Jr,A. The influence of dietary-fat saturation on the metabolism of apolipoproteins A-1,B and C in a type - IIb hyperlipoproteinaemic subject. Biochem.Soc.Trans., 6:592-6,1978.
- 151- SHIMENO,H.; OKAMURA,N.; WALI,A. & KISHIMOTO,Y. Further characterization of the heat-stable factor in the α -hydroxylation and oxidation of lignoceric acid in brain: effect of acidic amino acids and hexose-phosphates on brain fatty acid metabolism. Arch.Biochem.Biophys.,223:

- (1):95-106,1983.
- 152- SHIMENO,H.; OKAMURA,N.; WALI,A. & KISHIMOTO,Y. Further characterization of the heat-stable factor in the α -hydroxylation and oxidation of lignoceric acid in brain:effect of acidic amino acids and hexose-phosphates on brain fatty acid metabolism. Achiv.Biochem. 233(1):95-106,1983.
- 153- SIMON,I. Differences in membrane unsaturated fatty acid and electron spin resonance in different types of myeloid leukemia cells. Biochim.Biophys.Acta.,556:408-22,
- 154- SINCLAIR,A.J. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the mammalian brain. Proc.Nutr.Soc.,34:287-91,1975.
- 155- SMITH, S. Biosynthesis of medium-chain fatty acids by mammary epithelial cells from virgin rats. Biochem.J., 212:155-5,1983.
- 156- SMITH,T.L.; VICKER,A.E.; BRENDDEL,K. & GERHART,M.J. Effects of ethanol diets on cholesterol content and phospholipid acil composition of rat hepatocytes. Lipids,17:124-8, 1982.
- 157- STANCLIFF,R.C.; WILLIAMS,M.A.; UTSUMI,K. & PACKER,L. Essential fatty acid deficiency and mitochondrial function. ArchivBiochem.Biophys.,131:629-42,1969.
- 158- STANLEY,K.K. & LUZIO,J.P. The arrhenius plot behavior of rat liver 5'-nucleotidase in different lipid environments. Biochim.Biophys.Acta.,514:198-205,1978.
- 159- STORCH,J.; SCHACHTER,D.; INOUE,M, & WOLKOFF,A. Lipid fluidity of hepatocyte plasma membrane subfractions and their differential regulation by calcium. Biochim.Biophys.Acta, 727:209-12,1983.
- 160- SWENDSEN,C.L.; ELLIS,J.M.; CHILTON III,F.H.; O'FLAHERTY,J.T; & WYKLE,R.L. 1-o-alkyl-2-acyl-SN-glycero-3-phosphocholine: a novel source of arachidonic acid in neutrophils stimulated by the calcium ionophore A23187. Biochem.Biophys. Res. Commun.,113(1):72-9,1983.
- 161- TAHIN,Q.S. Changings in fatty acid composition of heart mitochondria of rat fed diet rich in erucic acid:alterati-

- ons in activation energy of calcium transport. Abst. 9th World Congress of Cardiology, Moscow, Tomo II, II, n^o 1234, 343, 1982.
- 162- _____.; 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.
- 163- _____: LÖTSCHER, H.; RITCHER, C. & CARAFOLI, E. Calcium transport across mitochondrial. Arg. Biol. Tecnol., 23:127-8, 1980.
- 164- _____; CAVALCANTI, T.C.; PISANI, R.; BRENELLI, H.B.; TEIXEIRA, L.C. & PINOTTI, J.A. Fatty acid composition of human breast cell carcinoma. In: Lipidis in cancer, Sabine, J., Perth, Australia, 1982. p.83-6.
- 165- _____; LOPES, L.M.; CISTERNAS, J.R. & MARTINEZ, T.L.R. Effect of alcoholism on lipid metabolism of a group of Brazilian farmers that feed themselves with lard fat as the only source of lipids. Abst. 6th Intern. Symp. on Atherosclerosis, Berlin, 1982. n^o307.
- 166- _____; MURARI, W.F.; GUIMAREY, M.E.; FERNANDES, G.; KARNIOL, I.G. & TEIXEIRA, N.A. Endocrine and lipid changes caused by chronic lithium on male and female rat. Abst. 12th Inter. Congress Biochem. Perth, Australia, 281
- 167- _____; MURBACH F^o, P.; KARNIOL, I.G. & MORAIS, R.N. Fatty acid composition of brain and liver of female rats treated with lithium chloride. Res. II Simp. Bras. Neuroquim., 1983.
- 168- THOMASSON, H.J.; GOTTENBOS, J.J.; KLOEZER, J. & VLES, R.O. Nutritional evaluation of hydrogenated fats. Proc. Nutr. Soc., 25:1-4, 1966.
- 169- THOMPSON, J.A. & REITZ, R.C. Effects of ethanol ingestion and dietary fat levels on mitochondrial lipids in male and female rats. Lipids, 13(8):540-50, 1978.
- 170- TOMASSI, G. & OLSON, J.A. Effect of dietary essential fatty acids on vitamin A utilization in the rat. J. Nutr., 113:697-703, 1983.

- 171- UMEKI, S.; MARUYAMA, H. & NOZAWA, Y. Studies on thermal adaptation of Tetrahymena lipids. Alteration in fatty acid composition and its mechanism in the growth temperature shift-up. Biochim. Biophys. Acta., 752:30-7, 1983.
- 172- VALLEE, E.; GOUGAT, J & AGERON, M. Inhibition of platelet phospholipase-A₂ as a mechanism for the anti-aggregating effect of linoleic acid. Agenc. Actions., 10(1/2): 57-62, 1980.
- 173- VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirine-like drugs. Nature, 231: 232-5, 1971.
- 174- VERGROESEN, A.J. Physiological effects of dietary linoleic acid. Nutr. Rev., 35(1):1-5, 1977.
- 175- VLES, R.O. Graisses alimentaires, acides gras essentiels et prostaglandines. Rev. Fran. Corps. Gras., 6:1-8, 1971.
- 176- _____. Nutritional aspects of rapeseed oils. Sonderdruck: 4. Intern. Rapskongress Giessen, 17-30, 1974.
- 177- _____. Problèmes nutritionnels posés par l'huile de colza. Inf. Diétiq., 2:5-8, 1975.
- 178- _____. Effets des corps gras sur le myocarde de diverses espèces animales: essais d'évaluation histométrique. Rev. Fran. Corps. Gras., 6:289-96, 1978.
- 179- _____; BIJSTER, G.M. & TIMMER, W.G. Nutritional evaluation of low-erucic-acid rapeseed oils. Arch. Toxicol., 1:23-32, 1978.
- 180- _____ & GOTTENBOS, J.J. Long-term effects of feeding butterfat, coconut oil, and hydrogenated or non hydrogenated soyabean oils. Voeding, 33(10):455-465, 1972.
- 181- _____ & van PIJPEN, P.L. Aspects nutritionnels des huiles de soja hydrogénées e de leurs acides gras insaturés isomériques. Biblthca. Nutr. Dieta., 25: 186-96, 1977.
- 182- _____ & HOUTSMULLER, U.M.T. Connaissances actuelles sur les graisses alimentaires: leur importance en nutrition humaine. Rev. Fran. Corps gras., 11:523-8, 1977.
- 183- _____; TIMMER, W.G. & ZAALBERG, J. A. Recherches anatomo-

- mopathologiques chez le rat ingérant différents doses d'huile d'arachide ou d'huile de colza à faible teneur en acide érucique (Huile de colza Primor). 5b. Etude de histologie du myocarde. Ann.Biol.anim.Bioch.Biophys., 19(2B):501-8,1979.
- 184- 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-dimethylbenz(a)anthracene. Cancer.Res., 42:1266-73,1982.
- 185- 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. Biochem.Pharmacol., 30(11):1315-24,1981.
- 186- WAXLER, S.H.; BRECHER, G. & BEAL, S.L. The effect of fat-enriched diet on the incidence of spontaneous mammary tumors in obese mice (40683). Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 162:365-8,1979.
- 187- WENZEL, D.G. & HALE, T.W. Toxicity of free fatty acid for cultured rat heart muscle and endothelioid cells. I. Saturated long-chain fatty acids. Toxicology, 11:109-117, 1978.
- 188- _____ . Toxicity of free fatty acid for cultures rat heart muscle and endothelioid cells. II. Unsaturated long-chain fatty acid. Toxicology, 11:119-25,1978.
- 189- WETZKER, R.; KLINGER, R. & FRUNDER, H. Effects of fatty acid and calmodulin binding of Ca²⁺-ATPase of human erythrocyte membranes. Biochim.Biophys.Acta., 730:196-200, 1983.
- 190- WITTING, L.A.; HARVEY, C.C.; CENTURY, B. & HORWITT, M.K. Dietary alterations of fatty acids of erythrocytes and mitochondria of brain and liver. J.Lipid.Res., 2(1):412-18,1961.
- 191- YAO, J.K.; NATARAJAN, V. & DYCK, P.J. The sequential alterations of endoneurial cholesterol and fatty acid in wallerian degeneration and regeneration. J.Neur., 35(4):

- 933-40,1980.
- 192- YUE,T.L.; VARMA,D.R. & POWELL,W. Effects of protein deficiency on the metabolism of arachidonic acid by rat pleural polymorphonuclear leukocytes. Biochim.Biophys. Acta.,751:332-9,1983.
- 193- ZÖLNER,N.; ADAM,O. & WOLFRAM,G. The influence of linoleic acid intake on the excretion of urinary prostaglandin metabolites. Res.Exp.Med.,175:149-53,1979.