

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**DIETA HIPERLIPÍDICA E EXERCÍCIO FÍSICO:
CONSEQÜÊNCIAS SOBRE O METABOLISMO E
A PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA - Estudo Em
Modelo Animal**

Larissa Dantas Pereira Franco

**Araraquara
2007**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**DIETA HIPERLIPÍDICA E EXERCÍCIO FÍSICO:
CONSEQÜÊNCIAS SOBRE O METABOLISMO E
A PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA - Estudo Em
Modelo Animal**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Prof^a Dr^a. Aureluce Demonte para a obtenção de Mestre em Alimentos e Nutrição

Larissa Dantas Pereira Franco

Orientação: Prof^a Dr^a Aureluce Demonte

**Araraquara
2007**

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

F825d Franco, Larissa Dantas Pereira
Dieta hiperlipídica e exercício físico: conseqüências sobre o metabolismo e a peroxidação lipídica - estudo em modelo animal. / Larissa Dantas Pereira Franco. – Araraquara, 2007.
107 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição
Orientador: Aureluce Demonte

1.Exercício físico. 2. Dieta hiperlipídica. 3.Peroxidação. 4.Modelo animal. I.Demonte, Aureluce, orient. .II. Título.

CDD 612.397

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Aureluce Demonte
(Orientadora)

Prof. Dr. Valdir Augusto Neves
(Membro Titular)

Prof. Dr^ª. Cecília Rodrigues Silva
(Membro Titular)

Prof. Dr^ª. Sílvia Justina Papini-Berto
(Membro Suplente)

Prof. Dr^ª. Regina Célia Vendramini
(Membro Suplente)

Araraquara, 06 de julho de 2007

Ao meu avô Givaldo, que sempre me incentivou na busca do conhecimento e que, mesmo distante, tenho a certeza que esteve ao meu lado nessa caminhada e está aqui em mais esta vitória.

***"AO MEU PAI VANDERLI
por ter sido sempre meu exemplo de dignidade e
caráter, por me dar força e ser o guia do meu
trajeto."***

***"A MINHA MÃE GIVALCI
pelo exemplo de força, perseverança e dedicação;
estímulos necessários para seguir adiante."***

***"AOS MEUS IRMÃOS, LAURENCE E LORENA
por serem sempre amigos e companheiros,
demonstrando um carinho todo especial"***

***"AO MEU NAMORADO LUCAS
pelo apoio incondicional, por me fortalecer nas
horas fáceis e difíceis durante esse percurso."***

AGRADECIMENTOS

Sou grata,

- ❖ *À Prof^a. Dr^a. Aureluce Demonte, pela orientação, pelo inestimável apoio e pelos grandes ensinamentos profissionais e acima de tudo pessoais.*
- ❖ *Ao Prof. Dr. Valdir Augusto Neves, pelas colaborações pontuais, porém muito especiais para este trabalho.*
- ❖ *À Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Pepato, por ceder seu laboratório para o sacrifício dos animais e principalmente ao técnico Marcos, pela ajuda fundamental na finalização do experimento.*
- ❖ *À Prof^a. Dr^a. Regina Célia Vendramini, por auxiliar no armazenamento do nosso material biológico.*
- ❖ *Ao Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior e toda sua equipe, pelas análises de peroxidação lipídica.*
- ❖ *Ao Núcleo de Análises Clínicas (NAC), pelas análises bioquímicas.*
- ❖ *À CAPES, pela bolsa de estudo concedida, a qual apesar de tardia, facilitou a realização dessa caminhada e a finalização deste trabalho.*
- ❖ *À Mara, técnica do Laboratório de Bioquímica, pelo auxílio incondicional em todas as vezes que precisei.*
- ❖ *À Jôse Botton e ao Ederlan Ferreira, pela colaboração no decorrer do experimento.*
- ❖ *Às amigas Margéri Tessitori e Liz Maria Abi Rached que fizeram a caminhada tornar mais alegre e prazerosa.*
- ❖ *À família do Lucas por terem me acolhido todas as vezes que precisei, fazendo com que eu me sentisse sempre mais perto de casa.*
- ❖ *A todos os funcionários da biblioteca, pela gentileza e prontidão.*
- ❖ *A todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.*

***"Se as coisas são inatingíveis...ora
Não é motivo para não querê-las.
Que tristes os caminhos se não fora
A mágica presença das estrelas."***

Mário Quintana

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	II
LISTA DE TABELAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	VI
Resumo	VIII
Abstract	X
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	31
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
4. RESULTADOS	41
5. DISCUSSÃO	57
6. CONCLUSÕES	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE QUADROS

Quadro I. Principais fatores de risco para elevação das lipoproteínas séricas

Quadro II. Composição das dietas utilizadas durante o período experimental (g/Kg de dieta)

Quadro III. Métodos utilizados para determinação da composição centesimal das dietas experimentais

Quadro IV. Valores para preparação de 100mL e 50mL de solução de TCA-TBA-HCl

Quadro V. Cálculo ilustrativo da concentração das amostras para análise de GSH

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores utilizados para a realização da curva-padrão da análise de GSH

Tabela 2. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre a média de peso corporal dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

Tabela 3. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre o consumo alimentar dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

Tabela 4. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre os parâmetros séricos colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL) e triglicérides (TG) dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

Tabela 5. Resumo da análise de variância para o teor de colesterol total (mg/dl) dos animais dos diferentes grupos (NS, NE, HS, HE)

Tabela 6. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre o peso dos fígados dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

Tabela 7. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre os níveis de malondialdeído (MDA) hepático ao fim de 8 semanas de experimento

Tabela 8. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) hepático ao fim de 8 semanas de experimento

Tabela 9. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre a gordura interna dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas dos ácidos graxos poliinsaturados n-6 (ácido linoléico), n-3 (ácido linolênico) e ácido araquidônico

Figura 2. Esquema do processo de alongação e dessaturação dos ácidos graxos linoléico e linolênico

Figura 3. Interconversão de glutathiona nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px), glutathiona oxidase (GO) e glutathiona redutase (GR)

Figura 4. Etapas da Lipoperoxidação

Figura 5. Animal com sobrecarga de trabalho amarrada à cauda

Figura 6. Tanque utilizado nas sessões de exercício físico

Figura 7. Evolução ponderal dos grupos experimentais durante as 8 semanas de estudo

Figura 8. Níveis de peso corporal dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 9. Evolução do consumo alimentar dos grupos experimentais durante as 8 semanas de estudo

Figura 10. Níveis de consumo alimentar dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 11. Níveis de colesterol total (CT) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 12. Níveis de HDL-colesterol (HDL-c) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 13. Níveis de triglicérides (TG) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 14. Média de peso dos fígados (PF) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 15. Níveis de malondialdeído (MDA) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 16. Níveis de glutathiona reduzida (GSH) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

Figura 17. Níveis de gordura interna (GC) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- ADP** – adenosina di-fosfato
- AGL** – ácido graxo livre
- AIN** – American Institute of Nutrition
- ATP** – adenosina tri-fosfato
- BHT** – butil-hidroxi-tolueno
- CAT** – catalase
- CT** – colesterol total
- DHA** – ácido docosahexaenóico
- DTNB** - ácido ditiobisnitrobenzóico
- EDTA** - ácido etilenodiamino tetra-acético
- ENDEF** – Estudo Nacional da Despesa Familiar
- EPA** – ácido eicosapentaenóico
- ERO** – espécies reativas de oxigênio
- ERN** – espécies reativas de nitrogênio
- GO** – glutathiona oxidase
- GPx** – glutathiona peroxidase
- GR** – glutathiona reductase
- GSSG** – glutathiona oxidada
- GSH** – glutathiona reduzida
- HDL-c** – lipoproteína de alta densidade
- HE** – grupo hiperlipídico exercitado
- HS** – grupo hiperlipídico sedentário

IAM – infarto agudo do miocárdio

IL-1 – interleucina 1

IL-6 – interleucina 6

IL-8 – interleucina 8

KCl – cloreto de potássio

LDL – lipoproteína de baixa densidade

LOOH – hidroperóxidos lipídicos

MDA – malondialdeído

NCEP – National Cholesterol Education Program

NE – grupo normolipídico exercitado

NS – grupo normolipídico sedentário

PA – pressão arterial

PF – peso do fígado

POF – Pesquisa de Orçamento Familiar

PPARs – ativadores de peroxissomos celulares

RT – temperatura ambiente

SOD – superóxido dismutase

TBA – ácido tiobarbitúrico

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TBA-TCA-HCl – solução de ácido tiobarbitúrico/ácido tricloroacético/ácido clorídrico

TG – triglicerídeos

TNF- α - fator de necrose tumoral alfa

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

RESUMO

A influência da quantidade e da composição em lipídeos das dietas são fatores citados na literatura como causa de obesidade e alteração do peso corporal, além de influenciar a peroxidação lipídica. Se por um lado, os ácidos graxos poliinsaturados (n-3, n-6, EPA, DHA), abundantes nos óleos comestíveis, têm mostrado efeitos hipotrigliceridêmicos devido a alterações na atividade de algumas enzimas hepáticas relacionadas ao metabolismo lipídico, como a ácido graxo sintase, a glicose-6-fosfato desidrogenase e a carnitina palmitoil transferase; por outro lado, o maior número de insaturações facilita o aparecimento da peroxidação lipídica. Já o exercício físico, recomendado para reduzir o ganho de peso e auxiliar nas dislipidemias e nos processos crônico-degenerativos tem seus mecanismos de atuação ainda inconclusivos diante de uma alimentação. O objetivo geral do trabalho foi analisar os efeitos de diferentes níveis de triglicérides fornecidos pela dieta em conjunto com o exercício físico prolongado sobre o peso corporal e consumo alimentar, parâmetros séricos (colesterol total, HDL-colesterol, triglicérides), peso do fígado e da gordura corporal sobre os fatores que determinam o funcionamento do sistema de defesa antioxidante, através da glutathiona reduzida. Foram utilizados ratos Wistar, alimentados com dietas controle (7%p/p) e hiperlipídica (14%p/p) e subdivididos em sedentários e exercitados, por um período de 8 semanas. Verificou-se que o peso não diferiu entre os grupos, embora o consumo tenha sido reduzido nos grupos com dieta hiperlipídica. O colesterol total não diferiu significativamente entre os grupos e o HDL-colesterol se elevou apenas entre os animais exercitados que tiveram dieta normolipídica. Os níveis de triglicérides foram reduzidos com o exercício físico tanto nos grupos com dieta normolipídica como nos grupos com dieta hiperlipídica, porém sem diferenças estatisticamente significantes. Os pesos dos fígados e da gordura corporal dos animais não diferiram com as dietas e com a presença ou ausência do exercício físico. Os níveis de MDA foram estatisticamente diferentes entre os grupos normolipídicos em comparação com os hiperlipídicos, sendo que foram observados teores maiores entre os hiperlipídicos. Os níveis de glutathiona (GSH) mostraram diferenças significativas entre os grupos sedentários e exercitados, sendo que aqueles que foram treinados tiveram valores mais altos (NE e HE) em relação aos sedentários com a mesma dieta (NS e HS). Conclui-se que a densidade calórica das dietas e o tempo do experimento podem ter influenciado na ausência de alterações no peso corporal dos grupos estudados, embora o consumo elevado de ácidos graxos n-6, advindos do óleo de soja, tenha sido reportado como indutor de ganho de peso, aumentando o número de células de gordura e ampliando as atividades das enzimas hepáticas lipogênicas, como: ácido graxo sintase, glicose-6-fosfato desidrogenase e lipase triacilglicerol quando comparados aos ácidos graxos saturados. Os efeitos ergogênicos vinculados à dieta hiperlipídica não foram evidenciados. O tipo do exercício utilizado, a intensidade e o tempo podem ter sido os fatores que interferiram nessa inalteração de peso nos animais. Essas características de ergogenicidade e conseqüente função de desempenho e perda de peso só iria acontecer se a dieta apresentasse altas quantidades de gordura em detrimento acentuado de carboidrato por um longo período de tempo, levando assim à mobilização dos ácidos graxos. A redução significativa do consumo alimentar entre os animais normolipídicos exercitados possibilita propor, como alternativa benéfica de perda de peso, uma dieta equilibrada normolipídica e a prática de exercício

aeróbico moderado e contínuo com o objetivo de aumentar a saciedade. Os mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos aos PUFAs foram detectados a partir da ligeira redução dos níveis de colesterol entre os grupos hiperlipídicos, apesar de não ter sido fornecido fontes de colesterol pela dieta. A semelhança dos níveis de triglicérides entre os grupos expõe também os efeitos hipotrigliceridêmicos dos PUFAs. A interação dieta hiperlipídica – exercício, entretanto, não foi capaz de reduzir os níveis séricos de triglicérides em comparação com os sedentários. O aumento significativo de HDL-colesterol com a prática de exercício físico só é válido quando o indivíduo consome dieta normolipídica. A dieta hiperlipídica composta de quantidades elevadas de ácidos graxos poliinsaturados facilitou o aparecimento do estresse oxidativo. A prática de exercício físico aeróbico de intensidade moderada propiciou a redução do malondialdeído apenas entre os animais que consumiram dieta normolipídica. Entretanto, o exercício físico aeróbico de intensidade moderada potencializou o funcionamento antioxidante endógeno. O sistema antioxidante foi estatisticamente eficaz na redução do estresse oxidativo apenas entre os animais que consumiram dieta normolipídica. Sugerimos que o exercício físico de intensidade proposta além do consumo lipídico aumentado possivelmente levou os animais às respostas ao estresse não havendo respostas afirmativas, no entanto, para a possível relação exercício- diminuição de triglicérides, colesterol, aumento de HDL-colesterol e redução de LDL-colesterol dentro das condições de estudo.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica, exercício físico, peroxidação, modelo animal

ABSTRACT

Lipidic composition and their quantity influence on obesity and body weight. These differences can also influence lipidic peroxidation. Polyunsaturated fatty acids (n-3, n-6, EPA, DHA), presents in edible oils, have been shown hypotriglyceridemic effects. These effects have been caused by modified liver enzymes activity related to lipidic metabolism, as synthase fatty acid, dehydrogenase glucose-6-phosphate and transferase carnitin palmitoil. However, the high insaturation number raise to appear lipidic peroxidation. On the other hand, physical exercise has been recommended to regulate body weight and to help plasmatic parameters and degenerative chronic process, but its mechanisms are inconclusive. The geral objective was analyze effects of different levels of dietetic triglycerides and physical exercise on body-weight regulation and feeding, on lipidic parameters (cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides), on hepatic and body fat weight, on level of lipidic peroxidation and antioxidant defense system. Wistar rats were fed hyperlipidic diet or control diet and divided into exercise or sedentary groups for eight weeks. The results demonstrated that body weight hadn't differences between groups. The feeding was reduced at hyperlipidic groups. Plasmatic cholesterol didn't get differences and HDL-cholesterol elevated in normolipidic rats. Tryglycerides reduced with exercise but didn't get significative differences. Hepatic weight and body fatty weight didn't get differences in all the groups. MDA levels had to differences between the groups and the highest levels got to hyperlipidic groups Glutathione levels were different in sedentary and exercitated groups. It concludes that caloric density of diets and experiment period influenced body weight. However, elevated n-6 fatty acid feeding seems to elevate body weight in rats because it increases fatty cell number and lipogenic hepatic enzymes, as synthase fatty acid, dehydrogenase phostate-6-glycose and tryacilglycerol lipase. Ergogenic effects of hyperlipid diet hadn't been evidenciaded in this experience. Intensity and time of exercise could be influenced on body weight of animals. These effects only appear if the diet get elevated fatty and reduced carbohydrate at a long period of time. The significative reduction of feeding in normolipidic exercitated group shows that adequated diet in fats and aerobic moderated exercise promote saciety and reduce the body weight. PUFAs hypocholesterolemic mechanisms were showed, although provided diet hasn't contain cholesterol. Triglycerides levels were similar among the groups. Nevertheless, hyperlipidic diet and exercise hadn't to able to reduce these levels in comparison with sedentary groups. Elevated HDL-cholesterol in exercitated groups happened only in normolipidic groups. Hyperlipidic diet exposed to appearing oxidative stress. Aerobic moderated exercise only raised malondialdehyde reduction in normolipidic animals. However, this exercise improved antioxidant defense system in normolipidic animals.

Key words: hyperlipidic diet, physical exercise, peroxidation, animal

1 INTRODUÇÃO

1.1 AS FONTES LIPÍDICAS DOS ALIMENTOS

Os lípides são ingeridos em sua maior parte na forma de triglicerídeos, os quais compreendem uma molécula comum a todos chamada glicerol e três ácidos graxos ligados a ele. A composição desses ácidos graxos, portanto, é que caracteriza os triacilgliceróis (MURRAY et al, 2002).

Os ácidos graxos apresentam, nas suas extremidades, grupamentos funcionais carboxila (COOH) e metil (CH₃) ligados a uma cadeia carbônica, podendo variar de acordo com o número de insaturações (saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados) e com o comprimento da cadeia (curta, média e longa) (LEHNINGER & NELSON, 2002).

A variação no comprimento, número de insaturações e arranjo estrutural das cadeias carbônicas conferem aos ácidos graxos diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas, de maneira que o aproveitamento desses compostos pelo organismo está intimamente relacionado à sua estrutura (MURRAY et al, 2002).

Dentre os ácidos graxos que compõem os triglicerídeos, os poliinsaturados (*polyunsaturated fatty acid - PUFA*), classificados por terem duas ou mais insaturações, estão presentes marcantemente nos óleos vegetais. Mais de 95% dos óleos comestíveis são constituídos de triacilglicerídeos. Além de triacilglicerídeos, os óleos podem conter outros componentes, como: mono e diglicerídeos, ácidos graxos livres, tocoferol, esteróis e vitaminas lipossolúveis (FARIA et al, 2002).

Os ácidos graxos mais comuns nos alimentos consistem em um número par de átomos de carbono, variando de 12 a 22 carbonos, ainda que ácidos graxos mais

curtos, mais compridos ou com um número ímpar de carbonos têm sido identificados em alimentos preparados (SALEM, 1999).

Os ácidos graxos saturados se encontram, predominantemente, em alimentos de origem animal, como carne, ovos, queijo, leite e manteiga, e nos de origem vegetal, como óleos de coco e dendê, além dos produtos vegetais hidrogenados (SALEM, 1999). Dentre os ácidos graxos saturados, o caprílico (C8:0) e o cáprico (C10:0) são encontrados no óleo de coco e dendê; o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0) predominam nas gorduras (CARVALHO et al, 2003).

O ácido oléico (C18:1) é o mais comum dos ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e se encontra na maioria das gorduras animais, incluindo aves, carne bovina e cordeiro, bem como em azeitonas, sementes e nozes (SALEM, 1999).

Já os PUFAs se classificam, funcionalmente, nas séries ômega 9 (n-9), ômega 6 (n-6) e ômega 3 (n-3) que se diferenciam pela posição da primeira dupla ligação contada a partir do grupo metílico terminal da cadeia do ácido graxo. O ácido linoléico (C18:2) é expoente da série (n-6) e está presente de forma abundante nos óleos vegetais como óleo de girassol, milho, soja, algodão, etc. (SALEM, 1999).

O ácido α -linolênico (C18:3 n-3), representante da família n-3, é encontrado em quantidades apreciáveis em sementes oleaginosas como canola, soja e linhaça (SALEM, 1999). Contudo, tanto nos vegetais (algas, microalgas, fitoplancton), quanto nos animais (peixes, crustáceos) de origem marinha, encontram-se outros ácidos graxos com maior número de carbonos e com maior quantidade de duplas ligações, que também pertencem à série n-3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5 n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6 n-3) (GIBSON, 2004).

Muitas plantas marinhas, especialmente algas unicelulares, realizam a alongação da cadeia e adicional dessaturação do ácido α -linolênico para produzir os

ácidos EPA e DHA. A formação desses PUFA n-3 pelas algas marinhas e sua transferência através da cadeia alimentar aos peixes explica a abundância deles em alguns óleos de peixe de origem marinha (GIBSON, 2004).

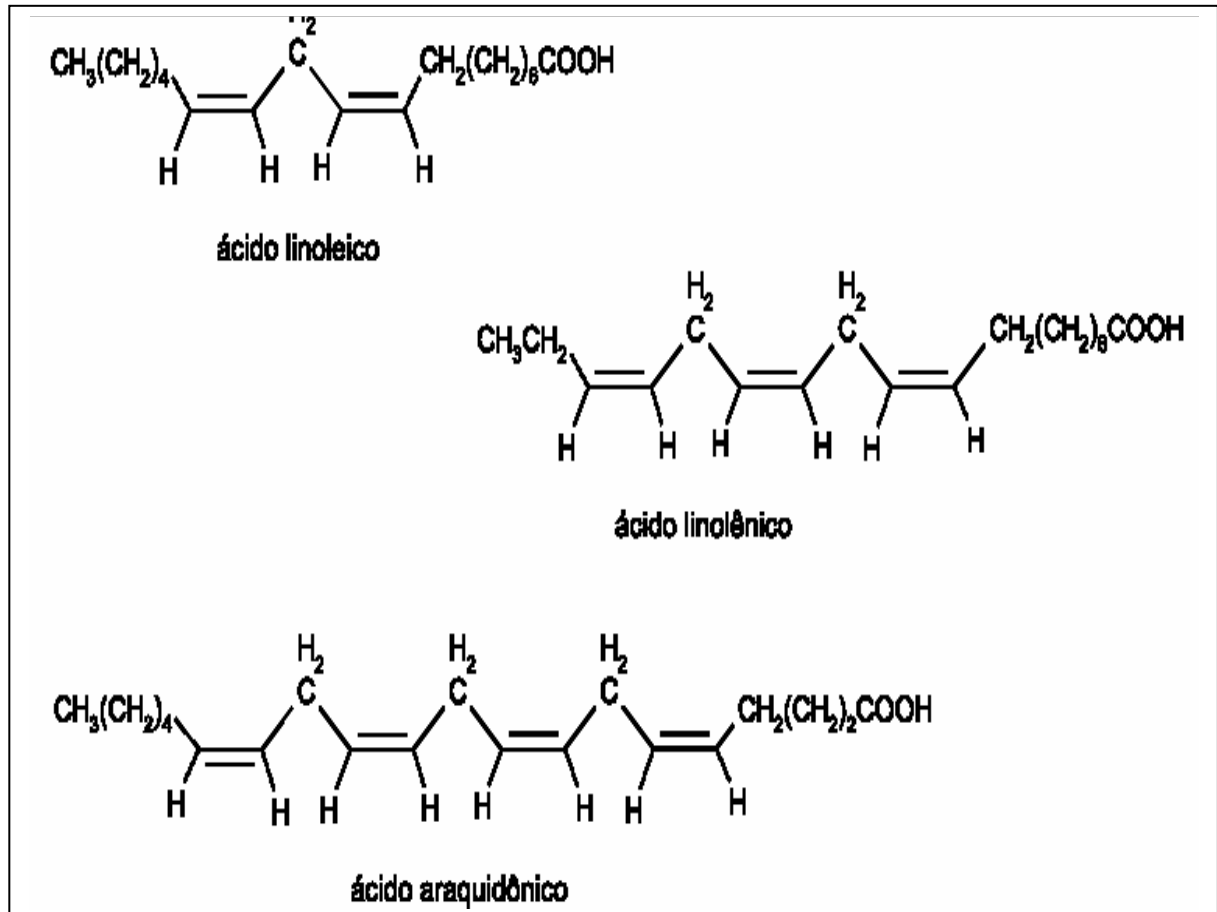


Figura 1. Estruturas dos ácidos graxos poliinsaturados n-6 (ácido linoléico), n-3 (ácido linolênico) e ácido araquidônico

1.2 CONSUMO DE GORDURAS NA ATUALIDADE

Evidências científicas constataam que os hábitos alimentares contemporâneos têm se alterado em consequência das mudanças do estilo de vida da população. O processo de industrialização e os avanços tecnológicos foram preponderantes em modificar as estruturas familiares e causar a “desestruturação das refeições” (PROENÇA, 2002; DOYLE & FELDMAN, 1997).

Segundo dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF, 2002-2003) (IBGE, 2005) realizada em todo o Brasil, a proporção de calorias lipídicas no meio urbano já se aproxima do limite máximo de 30% fixado pelas recomendações nutricionais. O excesso relativo de gorduras decorre da maior participação de óleos e gorduras vegetais (essencialmente, óleo de soja e margarina) na dieta urbana.

O *National Cholesterol Education Program* (NCEP, 2001), recomenda para um estilo de vida saudável e prevenção de doenças cardiovasculares, a ingestão de 25 a 30% de gorduras do total calórico/dia, sendo menos de 7% de gorduras saturadas, até 10% de gorduras poliinsaturadas, 20% de gorduras monoinsaturadas e menos que 200mg/dia de colesterol. Isso se deve aos conhecimentos científicos de que as características da dieta podem exercer influência decisiva sobre o estado de saúde dos indivíduos (MONDINI & MONTEIRO, 2005). Existe uma inter-relação destes nutrientes com o desencadeamento de doenças degenerativas não transmissíveis (SALGADO, 2000).

Dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) de 2002-2003, em comparação com os dados do POF 1986-1987 e com dados do Estudo Nacional da Despesa Familiar (ENDEF 1974-1975), registraram importante aumento da participação calórica de óleo vegetal na dieta dos brasileiros (IBGE, 2005).

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 82% da população ainda utilizam o óleo de soja no preparo dos alimentos. Estima-se que, no Brasil, o consumo médio diário de óleo de soja seja de aproximadamente 25g por pessoa. Isso confirma que, embora no Brasil, o consumo de peixe *per capita* seja muito baixo, a quantidade diária ingerida de ácidos graxos n-3 – quando supridos como α -linolênico apenas pelo óleo de soja – está acima da maioria das sugestões de recomendações para tal nutriente (IBGE, 2005).

1.3 IMPORTÂNCIA FISIOLÓGICA E NUTRICIONAL DOS LIPÍDEOS

Os lipídeos formam um grupo de compostos cuja natureza química é extremamente variada, possuindo a propriedade de serem solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. No organismo, de maneira geral, a gordura da dieta desempenha várias funções biológicas importantes, entre as quais, fornece e serve como forma de armazenamento de energia, proteção e estrutura celular. Por outro lado, compostos classificados como lipídeos atuam como mediadores da função celular (COSTA & SILVA, 2002).

Embora os lipídeos constituam significativa proporção dos requerimentos dietéticos de energia, essa não é sua única função; servem como veículo para a mobilização das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e fornecem os ácidos graxos poliinsaturados essenciais n-3 e n-6 (FISBERG et al, 2002). Eles são considerados essenciais porque não podem ser sintetizados no organismo devido à ausência das enzimas $\Delta 12$ dessaturase e $\Delta 15$ dessaturase e portanto devem ser fornecidos por meio da dieta (GIBSON, 2004).

Os PUFA provenientes da dieta são emulsificados no estômago, em seguida, ao nível do duodeno, misturam-se com a bile e com o suco pancreático. Os lipídeos emulsificados sofrem lipólise pela ação da lipase pancreática na luz do duodeno e na porção superior do jejuno, proporcionando lipídeos polarizados para nova emulsificação e eventual solubilização micelar. Os produtos da hidrólise lipídica (colesterol livre, monoglicerídeos e ácidos graxos) são solubilizados pelos sais biliares, de forma a permitir movimentação mais rápida para os pontos de absorção (GUYTON & HALL, 1997).

De maneira geral, os PUFAs são absorvidos, acilados e incorporados em glicerolípídeos na mucosa intestinal, transportados através da linfa e da circulação sanguínea sob a forma de quilomícrons, lipoproteínas ricas em triglicerídeos sintetizados no enterócito. Estas lipoproteínas são posteriormente hidrolisadas nos tecidos periféricos e no fígado, liberando ácidos graxos. Após sua captação pelo fígado, os ácidos graxos endógenos e exógenos e o colesterol são incorporados em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDLs), as quais são secretadas na circulação e transportadas para os tecidos periféricos, onde, via lipase lipoprotéica, fornecem ácidos graxos para os vários tecidos (LEHNINGER & NELSON, 2002).

Por outro lado, as lipoproteínas de baixa densidade (LDLs) são potencialmente aterogênicas, sendo que grande parte delas é removida pelos receptores hepáticos de LDL (receptores B-E). Entretanto, esse é um dos mecanismos propostos para ação dos ácidos graxos saturados, o que pode inibir a remoção plasmática da partícula de LDL e também aumentar os níveis de triglicérides no plasma, o que parece decorrer de estímulo na secreção hepática de triglicerídeos sob a forma de VLDL (LEHNINGER & NELSON, 2002).

Após a digestão, os PUFA, uma vez absorvidos nas células e tecidos, são acilados e passam a constituir lipídeos estruturais de membrana e no caso do ácido linoléico (18:2n-6) e linolênico (18:3n-3), podem ser dessaturados e alongados a ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, com 20 ou mais átomos de carbono. Esse processo é realizado por sucessivas etapas que envolvem alongamento e dessaturação da cadeia carbônica dos ácidos graxos (DOMMELS et al, 2002).

A dessaturação é caracterizada pela introdução de uma dupla ligação na cadeia de carbono e a alongação, pela introdução de dois novos átomos de carbono. Essas reações metabólicas ocorrem entre o grupo carboxílico e a dupla ligação mais

próxima, e conseqüentemente não afeta a estrutura molecular entre o grupo metílico terminal e a última dupla ligação. Portanto, todo ácido graxo poliinsaturado derivado das famílias n-9, n-6 e n-3, pertencerá às suas famílias de origem (HORNSTRA, 2001).

O ácido linoléico pode ser metabolizado em outros ácidos n-6, incluindo os ácidos γ -linolênico, dihomog γ -linolênico e araquidônico. O ácido α -linolênico é metabolizado em outros da série n-3, entre eles o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA). Este processo metabólico é mediado pelas enzimas chamadas elongases e dessaturases (MURRAY et al, 2002) (Figura 2).

O ácido linolênico (C18:3 n-3) e o ácido linoléico (C18:2 n-6), apesar de pertencerem a famílias distintas, requerem as mesmas enzimas para o seu metabolismo e portanto competem entre si, especialmente no passo limitante da reação de dessaturação, ao nível da $\Delta 6$ dessaturase. Desta forma, o excesso de um pode interferir no metabolismo do outro (FARIA et al, 2002; BALCÃO et al, 1998).

Essa enzima ($\Delta 6$ dessaturase) tem maior especificidade pelos ácidos graxos ômega 3, com isso, precisa-se de menores quantidades destes ácidos que dos ômega 6 para produzir a mesma quantidade de produto (FACIOLI & BARRERA, 2001). Isto significa que deve existir uma proporção maior de ácido linoléico comparado ao α -linolênico, não subestimando a necessidade do equilíbrio entre o aporte dos dois ácidos graxos através da dieta.

Um excesso de ácido linoléico vai impedir a transformação do α -linolênico em seus derivados EPA e DHA. O mesmo acontecerá no caso contrário, onde um menor consumo do ácido linoléico leva à diminuição da formação do seu derivado, o ácido araquidônico (MORETTO & FETT, 1998).

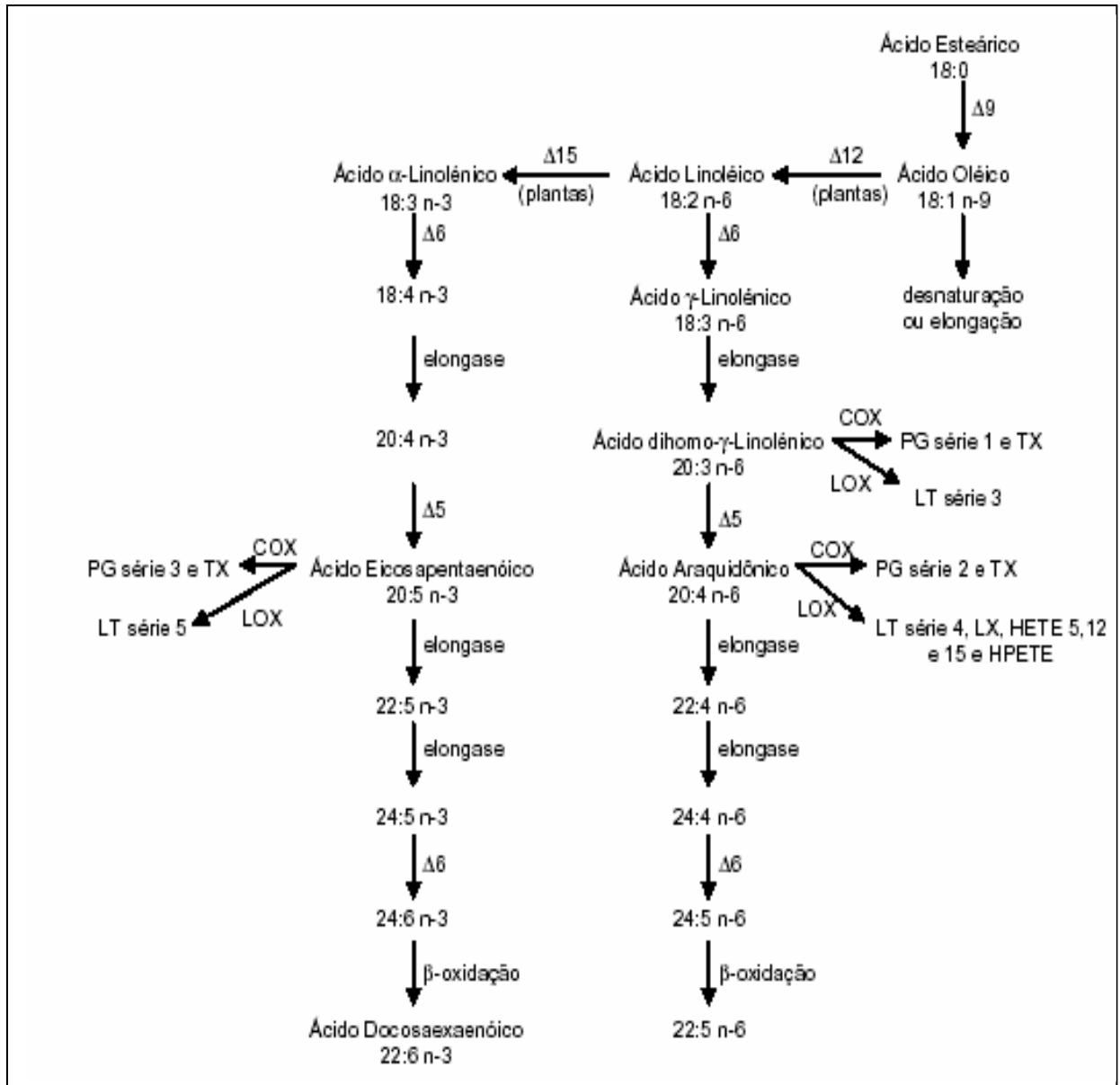


Figura 2. Esquema do processo de alongação e dessaturação dos ácidos graxos linoléico e linolênico.

A atividade da enzima $\Delta 6$ dessaturase é regulada por vários fatores, onde o ATP age como seu ativador, enquanto que a glicose e ácidos graxos insaturados tendem a diminuir sua atividade. Por sua vez, a insulina estimula e o glucagon, epinefrina, glicocorticóides e tiroxina diminuem sua atividade. Além desses, o estado de jejum e dietas com baixo teor protéico causam evidente redução na atividade da $\Delta 6$ dessaturase (MURRAY et al, 2002).

A mudança no nível dos ácidos graxos poliinsaturados na dieta pode influenciar a composição e as propriedades físicas das proteínas das membranas celulares (receptores, canais iônicos e enzimas) tanto em humanos como em animais de laboratório, alterando a produção e função biológica dos eicosanóides. Eles são importantes mediadores biológicos, formados a partir dos PUFAs, atuando como moduladores químicos em diversos processos biológicos, como na resposta inflamatória, agregação plaquetária, permeabilidade vascular e na formação de interleucinas (CALDERÓN et al, 1998; AIKAWA, 2004; CALDER, 2001; CALDER & DECKELBAUM, 2001; MIYASAKA et al, 1996).

Os ácidos graxos que não são oxidados são seletivamente incorporados às células. Assim, estes podem, direta ou indiretamente, influenciar diferentes funções celulares, afetando a permeabilidade celular e o comportamento de enzimas, transportadores e receptores associados à membrana, os quais controlam o fluxo de metabólitos, a interação célula-célula e a responsividade celular a mediadores químicos e hormônios (GUYTON & HALL, 1997).

Em vista do exposto, várias alternativas dietéticas são estudadas com o objetivo de regular o metabolismo lipídico nas células. O aumento do consumo de ácido linoléico é defendido como um modo de reduzir os efeitos hiperlipidêmicos provocados pelas dietas ricas em gordura saturada. No entanto, muito pouco tem sido avaliado quanto aos seus possíveis efeitos adversos.

1.4 O CONSUMO EXCESSIVO DAS GORDURAS E AS CONSEQÜÊNCIAS PARA A SAÚDE

A alimentação rica em gordura é comprovadamente um dos fatores indutores da obesidade, tanto em animais experimentais como em humanos (JEN et al, 2003; FEOLI et al, 2003), ainda que não seja acompanhada por ingestão hipercalórica. Isso ocorre porque o tipo de gordura influencia funções metabólicas e leva a mudanças no peso e/ou composição corporal (GAÍVA et al, 2003).

Além de induzir a obesidade, a ingestão excessiva de gorduras também favorece o aparecimento de todas as co-morbidades relacionadas a ela, como a hipertensão arterial, o diabetes mellitus, as hiperlipidemias e as doenças cardiovasculares (FEOLI et al, 2003).

A gordura abdominal visceral observada entre os obesos mostra-se como tecido metabolicamente ativo, apresentando uma alta taxa de renovação (CALLE, 1999). O tecido gorduroso visceral mostra-se muito sensível à ação lipolítica das catecolaminas e dos ácidos graxos livres (AGL) resultantes da lipólise que chegam ao fígado pelo sistema portal. O maior aporte hepático de AGL tem como conseqüências uma redução na captação e degradação da insulina, aumento na neoglicogênese e maior produção hepática de glicose. Paralelamente, os AGL e triglicérides, em maiores quantidades na circulação sistêmica, alcançam o músculo esquelético e reduzem a captação de glicose induzida pela insulina, favorecendo a elevação dos níveis glicêmicos que estimulam a produção de insulina. A hiperinsulinemia, atuando no sistema nervoso central, age aumentando a atividade do sistema nervoso simpático, gerando um estado hiperadrenérgico que promove vasoconstrição na musculatura e contribui para a elevação dos níveis da pressão

arterial. Além disso, tanto a insulina quanto o aumento da atividade simpática podem estimular a reabsorção renal de sódio, que também contribui para a elevação da pressão arterial (REAVEN et al, 1996; HALL, 2000).

A insulina pode atuar como um hormônio vasodilatador, induzindo aumento do fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética, um efeito que parece ser mediado pelo óxido nítrico. Entretanto, estes efeitos são acentuadamente diminuídos em pacientes obesos e hipertensos, portadores de resistência à insulina. Além deste possível comprometimento da vasodilatação, que poderia contribuir ainda mais para a elevação da pressão arterial, o decréscimo do fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética poderia também determinar uma redução no aproveitamento periférico de glicose, agravando o estado de resistência à insulina (CARNEIRO et al, 2003).

As dislipidemias, que se caracterizam por alterações dos níveis sanguíneos dos lipídeos circulantes, podem levar à aterosclerose, que é uma alteração de artérias de médio e grande calibres onde ocorre espessamento da camada íntima com a perda da elasticidade e posterior calcificação devido à deposição de LDL-colesterol (SHILS et al, 2005).

Em fase inicial, as moléculas de LDL-c atravessam a capa de células endoteliais e ingressam na camada subendotelial, onde ficam acopladas entre fibrilas da matriz extracelular. Uma vez acopladas na camada íntima, em baixas concentrações de antioxidantes, acontecem fenômenos oxidativos que modificam o ácido graxo, colesterol, fosfolípidos e apo-B, dando origem à LDL minimamente modificada. Esta estimula a migração, concentração e ativação de macrófagos na íntima, o que produz uma maior liberação de substâncias oxidantes, dando origem ao LDL oxidado. Ocorre a penetração de quantidades maciças de lipídeos nos macrófagos, que vão se acumulando e assim ficando ativos. Os macrófagos

ativados produzem diversas citocinas e fatores de crescimento que potencializam a cascata inflamatória induzindo a proliferação de músculo liso e depósito de colágeno, maturando assim o ateroma (BERKOW, 1989).

Os ateromas podem evoluir para lesões avançadas, as quais podem se romper e formar os trombos. Estes podem ser oclusivos, propiciando a angina de peito, o infarto agudo do miocárdio (IAM) ou até mesmo a morte súbita (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2002).

Os fatores de risco para dislipidemia (Quadro I) influenciam e aceleram fortemente a progressão das lesões mais complexas (FUSTER et al, 1996). Níveis elevados de triglicérides, se não forem fator de risco isolado para aterosclerose, potencializam os papéis da LDL e HDL (AUSTIN, 1999).

Quadro I. Principais fatores de risco para elevação das lipoproteínas séricas

<ul style="list-style-type: none"> - Tabagismo - Hipertensão Arterial Sistêmica (PA \geq 140/90 mmHg ou uso de alguns medicamentos anti-hipertensivos) - Baixo HDL-c (< 40 mg/dL) - História familiar de doença cardiovascular prematura - Idade (homens \geq 45 anos, mulheres \geq 55 anos)
--

FONTE: NCEP/ATP III, 2001

No entanto, muitas controvérsias são ainda encontradas na literatura científica na relação composição lipídica da dieta e ganho de peso em diferentes espécies animais. Há evidências, em humanos e em roedores, de que dietas com grandes quantidades de ácidos graxos saturados promovem maior acúmulo de gordura quando comparadas àquelas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (ELLIS et al, 2002).

Os ácidos graxos poliinsaturados estão sendo relacionados com indução de obesidade em hamsters e ratos (LOMBARDO, 2005; IKEMOTO, 1996). Estudos têm

observado maior ganho de peso em ratos alimentados com PUFAs quando comparados aos alimentados com ácidos graxos saturados (HILL et al, 1992). Entretanto, os PUFAs têm sido relacionados negativamente com gordura corporal em humanos.

Os ácidos graxos mono e poliinsaturados relacionam-se com a melhora do perfil lipídico, sendo utilizados, portanto, no tratamento e prevenção de várias doenças (LEHNINGER & NELSON, 2002).

Pesquisas e investigações clínicas têm estudado o metabolismo dos ácidos graxos poliinsaturados e, em particular, dos ácidos graxos n-3. Atualmente, sabe-se que estes apresentam um papel importante e efeito benéfico na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, aterosclerose, trombose, hipertrigliceridemia, hipertensão, diabetes, artrite, outros problemas inflamatórios, autoimunes e câncer (SALEM, 1999; UAUY & VALENZUELA, 2000).

Os efeitos hipotriglicidêmicos e hipocolesterolêmicos dos ácidos graxos poliinsaturados n-3 e n-6 se devem à redução da atividade de enzimas hepáticas relacionadas com a síntese de ácidos graxos, como ácido graxo sintase, glicose-6-fosfato desidrogenase e lipase triacilglicerol (IRITANI, 1998; IKEDA, 1998) e com o aumento da atividade relacionada com a oxidação dos ácidos graxos, como da enzima carnitina palmitoil transferase hepática (YOSHIDA et al,1999).

Esses achados benéficos dos PUFAs têm feito com que a ingestão de gorduras, principalmente de origem animal, seja reduzida; sendo substituídas pelo consumo das gorduras de origem vegetal, representadas pelos ácidos graxos mono e poliinsaturados (NCEP, 2001).

O consumo elevado de alimentos ricos em PUFA n-3, entretanto, pode levar ao consumo inadequado de gorduras totais e também de PUFA n-6. A maioria dos

alimentos que contém PUFA n-3 também apresenta grandes quantidades de PUFA n-6, os quais têm funções que favorecem a exacerbação de processos inflamatórios (MURRAY et al, 2002).

Acredita-se que, atualmente, as dietas do Ocidente apresentam razão n-6/n-3 de aproximadamente 20 a 30:1, valores muito elevados quando comparados com aqueles considerados ideais, que seriam de 5 a 10:1 (SIMOPOULOS et al, 1999). Os elevados valores da razão n-6/n-3 geram um desbalanceamento de ácidos graxos no organismo humano e, provavelmente, contribuem para o desenvolvimento de processos inflamatórios, desordem do sistema imune, hipertensão e disfunções neurológicas (KINSELLA, 1986; ROSS, 2003; SKOSNIK & YAO, 2003).

O consumo excessivo da classe (n-6) na dieta pode levar a alterações fisiológicas que propiciam a exacerbação de quadros inflamatórios. Isso acontece devido à formação exagerada de eicosanóides pró-inflamatórios e devido à supressão das funções imunológicas como a produção de anticorpos (SIJBEN et al, 2001; PASQUALINI et al, 2005).

Evidências têm mostrado a relação direta entre análogos formados durante o metabolismo do ácido araquidônico, como as lipoxinas e seus epímeros, com patologias caracterizadas por inflamação persistente mediada por neutrófilos, como desordens inflamatórias renais e gastrintestinais e periodontite (ROMANO, 2006).

Um dos achados relacionando inflamação e desbalanceamento da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados foi o desenvolvimento de colite ulcerativa em indivíduos com alta ingestão de n-6 e baixa de n-3 (SHODA et al, 1996), enquanto que a ingestão de n-3, em dietas pobres em gorduras totais, melhorou os danos intestinais da colite em ratos (NIETO et al, 2002).

Dados mais recentes também sugerem que os ácidos graxos n-3 servem como mediadores importantes na expressão gênica, atuando via receptores proliferadores e ativadores de peroxissomos celulares (PPARs), controlando a expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico e adipogênese (JUMP, 2002).

Uma dieta inadequada, apresentando alto teor de gordura e uma razão de ácidos graxos n-6/ácidos graxos n-3 desbalanceada, está relacionada portanto com o desequilíbrio da síntese de eicosanóides e com as situações patológicas decorrentes.

Além da relação entre gordura, peso corporal e lipoproteínas, os lípidos também interferem na susceptibilidade de um organismo a danos oxidativos. Esses danos são gerados pela instalação do estresse oxidativo.

O estresse oxidativo surge quando uma quantidade excessiva de radicais livres é formada em concomitância com um sistema antioxidante enfraquecido. Os radicais livres, que são átomos, moléculas ou íons que possuem um ou mais elétrons livres na sua órbita externa, têm alta instabilidade e por isso podem se associar com átomos isolados (hidrogênio ou íons metálicos), ou, ainda, com moléculas (açúcares, proteínas, lipídeos, DNA), o que resulta em um processo de relevância biológica (SLATER, 1984; HALLIWELL, 1987). Os radicais livres já foram relacionados a várias doenças humanas e participam como componentes fundamentais em muitas, o que mostra quão grande é o dano oxidativo causado por eles (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1985).

O estresse oxidativo tem sido associado a uma variedade de doenças tais como, aterosclerose (NIGRIS et al, 2003), câncer (ABDI & ALI, 1999; GATTI et al, 2004), envelhecimento precoce (LANE, 2003; ZHANG et al, 2004), doenças

neurológicas (HAYASHI et al, 2002; ESPOSITO et al, 2002) e também lesão muscular induzida por exercício físico intenso (SACHECK & BLUMBERG, 2001).

O estresse oxidativo, entretanto, é detido ou retardado por sistemas, enzimáticos ou não, compostos por substâncias antioxidantes endógenas ou exógenas.

Os antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria são exógenos, ou seja, necessitam ser absorvidos pela alimentação apropriada. Os principais são as vitaminas lipossolúveis (α -tocoferol, β -caroteno), o ácido ascórbico, os oligoelementos (zinco, cobre, selênio, magnésio, etc.), os flavonóides (derivados de plantas), etc. (JORDÃO JR. et al, 1998).

Os sistemas enzimáticos de defesa são compostos pelas seguintes enzimas: glutathione peroxidase (que necessita do selênio), catalase, metionina-redutase e superóxido-dismutase (os dois principais necessitam de zinco, cobre e manganês), os quais combatem, no organismo os seguintes radicais livres: peróxido de hidrogênio, superóxido, oxigênio singlet, íon hidroxila, óxido nítrico e óxido nitroso. (JORDÃO JR. et al, 1998).

A glutathione peroxidase (GPx), que controla os níveis de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos oriundos do ataque de espécies radicalares, possui uma característica importante, apresentando um resíduo de cisteína contendo selênio covalentemente ligado ao restante da enzima (ROVER JR. et al, 2000).

A deficiência de selênio no organismo, um nutriente essencial, apresenta uma diminuição na atividade desta enzima em sua forma reduzida, e tem sido associada com alterações no metabolismo celular. Em um trabalho recente, foi determinada a distribuição de selênio em plasma humano por cromatografia líquida, onde as maiores frações deste elemento encontram-se associadas junto à enzima GPx e

albumina. Neste sentido, um controle dos níveis de glutathiona (GSH), substrato da enzima GPx, torna-se importante (ROVER JR. et al, 2000).

A glutathiona (GSH) é um tripeptídeo composto de aminoácidos não-essenciais (glutamina, cisteína e glicina), sendo marcador da saúde celular e indicativa de lesão oxidante quando seus níveis apresentam-se baixos. Ela pode estar no organismo nas formas reduzida ou oxidada, atuando direta ou indiretamente em muitos processos biológicos importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular (JORDÃO JR et al, 1998), como mostrado na Figura 3. Em particular, problemas na síntese e metabolismo da glutathiona estão associados a algumas doenças, nas quais os níveis de glutathiona e das enzimas que atuam no seu metabolismo podem ser bastante significativos no diagnóstico de alguns tipos de câncer, bem como em outras doenças relacionadas ao estresse oxidativo (NAVARRO et al, 1999).

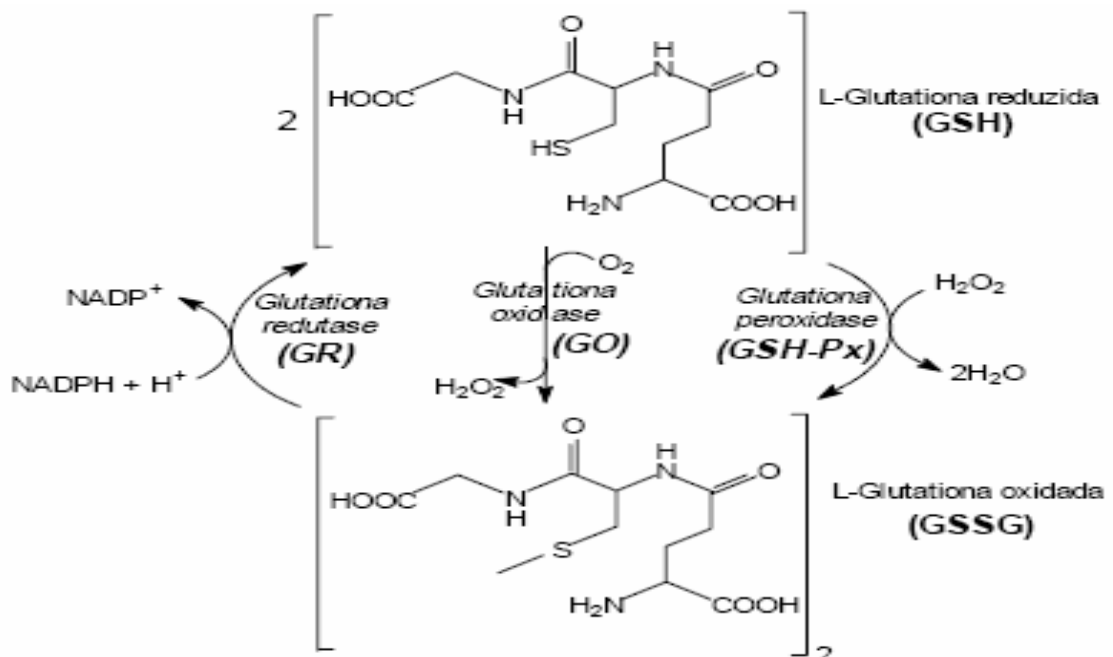


Figura 3. Interconversão de glutathiona nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px), glutathiona oxidase (GO) e glutathiona redutase (GR).

A glutathiona constitui um importante sistema de proteção endógena das células contra os prejuízos provocados por substâncias tóxicas e oxidantes endógenos produzidos pelo seu metabolismo. A glutathiona está presente em elevadas concentrações nas células dos mamíferos e demais vertebrados, sob forma reduzida (~99%) (GSH), junto a menores quantidades de forma oxidada (~1%) (GSSG) (WILHELM FILHO et al, 2000). Uma queda nos níveis de GSH de 20 a 30% pode prejudicar as defesas celulares contra a ação tóxica dos radicais oxidantes levando ao dano celular e à morte (HEFFNER & REPINE, 1989). Segundo MATSUBARA (1997), sob condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor, haverá desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de GSSG, o que caracteriza igualmente o estresse oxidativo. Assim, a magnitude do estresse oxidativo pode ser monitorada pela razão GSSG/GSH.

O alto grau de insaturação dos ácidos graxos, tendo óleos vegetais e óleos de animais marinhos como as principais fontes de poliinsaturados, facilita o aparecimento e/ou manutenção do estresse oxidativo (ATALAY et al, 2000). É bem conhecido que os PUFAs são mais susceptíveis à peroxidação lipídica que os ácidos graxos saturados e que a oxidação é linearmente dependente da concentração de poliinsaturados (THOMAS et al, 1994; LU & LU, 2002). VENKATRAMAN et al (1998) relatam que os ácidos graxos poliinsaturados n-3 são bastante susceptíveis à oxidação. O alto consumo desses ácidos graxos leva a uma maior peroxidação lipídica das membranas a partir de radicais livres (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1991).

As membranas das células e organelas contêm grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados. A fluidez da membrana relaciona-se à presença de cadeias insaturadas dos fosfolipídios e do colesterol. Danos desta camada lipídica

tendem a diminuir a fluidez da membrana. O ataque de algumas espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais abstraem um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, inicia o processo de peroxidação lipídica (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1991). As etapas da lipoperoxidação são mostradas na Figura 4.

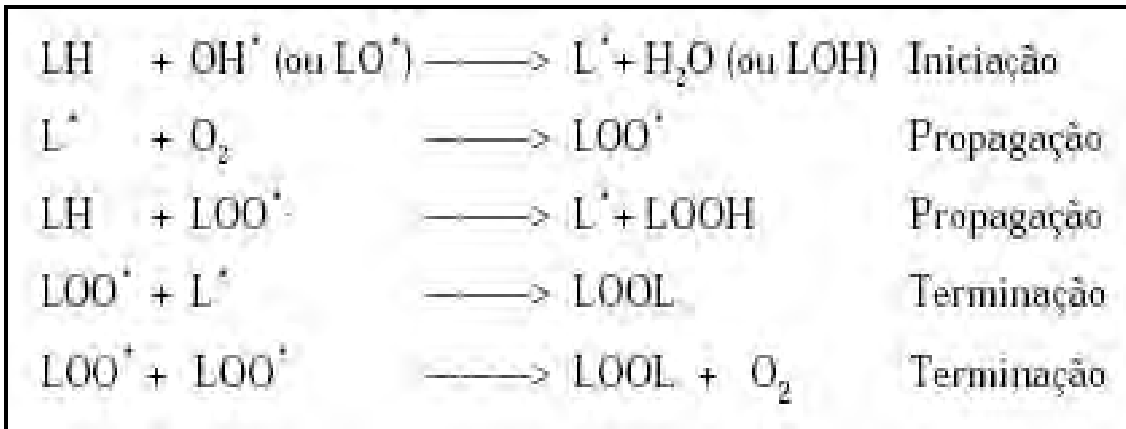


Figura 4. Etapas da Lipoperoxidação

A oxidação de lipoproteínas tem um importante papel na patogênese da aterosclerose. Espécies oxidantes liberadas pelas células endoteliais, células do músculo liso, monócitos, neutrófilos, macrófagos e plaquetas podem promover modificações oxidativas das lipoproteínas. Estas moléculas podem participar do processo aterogênico por diferentes mecanismos, incluindo a modulação de eventos bioquímicos relacionados às vias de sinalização celular que regulam expressão de fatores de crescimento e citocinas, os quais estão envolvidos no processo de formação das células espumosas presentes na lesão aterosclerótica (NIGRIS et al, 2003).

A peroxidação lipídica pode favorecer a oxidação e a modificação das LDL (SLYPER, 1994); com formação de dienos conjugados e produtos finais desta oxidação (DURAK et al, 1994; McGRATH et al, 1995; PANZETTA et al, 1995;

ONGAJOOTH et al, 1996). A modificação das LDL é o principal processo no desencadeamento da formação de placas de ateroma e conseqüentes problemas cardiovasculares (CURI et al, 2002).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) podem danificar não só o DNA, mas também outros componentes celulares. Devido à abundância de PUFAs nas células e à susceptibilidade de oxidação pela presença de grupos metilênicos entre duplas ligações, os ácidos graxos poliinsaturados são, para os oxidantes, alvos mais prováveis do que o DNA (WAGNER et al, 1994). É estimado que aproximadamente 60 moléculas de ácido linoléico ($18:2 \Delta^{9,12}$) e 200 de ácido araquidônico ($20:4 \Delta^{5,8,11,14}$) (os ácidos graxos poliinsaturados mais abundantes em nossas células) são consumidas por oxidante que reage com a bicamada lipídica (HOWARD, 1973). Essa oxidação, que pode ser enzimática ou não-enzimática, desencadeia uma cascata autocatalítica que gera numerosas substâncias genotóxicas (MARNETT & PLASTARAS, 2001), tais danos aos lipídios têm grandes implicações para a integridade do DNA (BARTSCH et al, 1999).

É importante mencionar que a oxidação enzimática do ácido araquidônico, que ocorre durante a síntese de eicosanóides, é uma importante fonte de espécies reativas de oxigênio. Além dos eicosanóides envolvidos na sinalização intra- e intercelular, radicais de oxigênio e hidroperóxidos lipídicos são gerados durante as reações catalisadas por ciclooxigenases ou lipoxigenases (MARNETT, 1994).

Os peróxidos cíclicos formados pelos radicais peroxil podem propagar a peroxidação lipídica e, no caso da oxidação dos ácidos araquidônico, docosahexaenóico ($22:6 \Delta^{4,7,10,13,16,19}$) e eicosapentaenóico ($20:5 \Delta^{5,8,11,14,17}$), podem levar à formação de isoprostanos (YIN & PORTER, 2005). Os isoprostanos são uma classe de produtos tóxicos isômeros dos leucotrienos e prostaglandinas e são

utilizados como biomarcadores de peroxidação lipídica. Eles estão presentes em plasma e urina de seres humanos saudáveis, o que indica que a peroxidação lipídica é um processo que ocorre continuamente (ROBERTS & MORROW, 1997; LAWSON et al, 1999).

Tem sido demonstrado que as EROs e ERNs desempenham um importante papel na iniciação e progressão da carcinogênese (ABDI & ALI, 1999; GATTI et al, 2004). Dentre os vários alvos destas espécies, o DNA parece ser o mais importante para o desenvolvimento do tumor, cuja interação com o radical hidroxila (OH \cdot) pode induzir mudança conformacional, incluindo quebra da dupla fita, modificações de bases, assim como lesão no gene supressor de tumor e aumento da expressão de protooncogenes (ABDI & ALI, 1999).

A atuação pró-cancerígena do ácido linoléico parece estar relacionada à sua atividade com o aumento da síntese de prostaglandinas, uma vez que os tumores de mamíferos convertem o ácido linoléico em araquidonato que formam os eicosanóides da série E2. Estas atuam promovendo crescimento tumoral, vasodilatação, aumento da dor e edema (CALDER, 2003).

Alguns pesquisadores relatam que os produtos do ácido araquidônico, via lipooxigenase, como 5(S)-HETE, 12(S)-HETE e 15(S)-HETE, exercem vários efeitos moduladores, incluindo o aumento da adesão de células tumorais ao endotélio, subendotélio e outros componentes extracelulares que aumentam o potencial metastático das células tumorais (HONN et al, 1994). Outros autores sugerem que o ácido araquidônico tem um potencial anti-tumorigênico, visto que os derivados da via lipooxigenase (5(S)-HETE, 12(S)-HETE e 15(S)-HETE) e da via ciclooxigenase (PGE $_2$), agem como sinais intracelulares, propiciando mecanismos apoptóticos via (nuclear caspase activation) e por fragmentação de DNA (LaBELLE et al, 2002).

Além dos efeitos diretos sobre a oxidação de lipoproteínas e fragmentação do DNA, vários estudos têm mostrado que a hiperglicemia pode ser induzida pelo estresse oxidativo, ativando vários sinais que desencadeiam as complicações do diabetes mellitus (BROWNLEE, 2001; WAY et al, 2001). Recentes evidências de estudos laboratoriais e clínicos demonstram que a aterosclerose diabética não é simplesmente uma doença de hiperlipidemia, mas também uma desordem inflamatória envolvendo múltiplos mediadores como proteína C-reativa, citocinas como fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6) (LIBBY & PLUTZKY, 2002; RIDKER et al, 2002; JIALAL et al, 2002).

O metabolismo do ácido araquidônico também parece estar relacionado ao aparecimento do Mal de Parkinson e outras doenças neurológicas, envolvendo o neurotransmissor dopamina. Sugere-se que a via do ácido araquidônico pode regular a concentração (extra)sináptica de dopamina. A inibição ou estimulação da liberação de dopamina pelo ácido araquidônico é semelhante aos efeitos reportados sobre outros transportadores de neurotransmissores (CHEN et al, 2003).

Os estudos mostram ainda que o alto consumo de ácido araquidônico ou do seu precursor, ácido linoléico, com baixa ingestão de ácido α -linolênico (n-3) também pode alterar o período de gestação em humanos. Ao estudar mulheres grávidas, REECE et al (1997) verificaram que aquelas que tiveram partos prematuros apresentavam quantidades elevadas de ácido araquidônico e ácido linoléico tanto nas membranas eritrocitárias como nos fosfolípides plasmáticos.

Outro fator relacionando ingestão de ácidos graxos e gestação é a pré-eclâmpsia. Sabe-se que ela está associada com stress oxidativo e níveis elevados de ácido linoléico no plasma (HUBBEL, 1999; SHOUK et al, 1999). LEIK & WALSH (2004) observaram a expressão aumentada da citocina inflamatória interleucina 8

(IL-8) na musculatura lisa vascular de mulheres com pré-eclâmpsia. Considerando que a IL-8 é uma citocina potente, sua expressão aumentada nessa população foi associada com infiltração de neutrófilos na musculatura vascular. A IL-8 é regulada pelo fator nuclear B, um fator de transcrição que ativa os genes envolvidos nas respostas imunes e inflamatórias (BALDWIN, 1996; BARNES & KARIN, 1997).

Uma dieta enriquecida com ácidos graxos n-6 tem mostrado aumentar o comportamento agressivo em roedores, enquanto que uma enriquecida com n-3 tem reduzido o estresse e melhorado o aprendizado e a memória (RAYGADA et al, 1998; IKEMOTO et al, 2001). Sabe-se que a resposta inflamatória iniciada ou atenuada pelos PUFAs está ligada à síntese das citocinas pró ou anti-inflamatórias, como já descrito anteriormente. A interleucina 1 (IL-1), citocina anti-inflamatória mais potente, tem sido relatada por induzir o estresse e o comportamento ligado à ansiedade em roedores (SONG et al, 1999; SONG, 2002). Essa citocina estimula o hipotálamo a liberar o “fator liberador de corticotropina”, que, via hormônio adrenocorticotrópico, induz a secreção de glicocorticóides das glândulas adrenais. A IL-1 também ativa os neurotransmissores centrais, liberando noradrenalina, serotonina e dopamina em camundongos (LACOSTA et al, 1998).

O número de doenças nas quais se sugere o envolvimento das EROs é cada vez maior. Portanto, torna-se essencial o entendimento dos processos dependentes destas espécies reativas de oxigênio envolvidos na fisiopatologia dessas doenças.

3.4 O EXERCÍCIO FÍSICO E SUAS CONSEQÜÊNCIAS PARA A SAÚDE

O exercício físico é recomendado como uma das alternativas viáveis para reduzir o ganho de peso e melhorar o risco de hiperlipidemias e outros efeitos deletérios da alta ingestão de gordura (BELL et al, 1997).

Animais exercitados alimentados com dietas pobres em gordura reduziram a gordura corporal significativamente quando comparados com animais alimentados com dietas ricas em gordura (GLEESON & WARING, 1986; LAPACHET et al, 1996).

Estudos experimentais têm demonstrado que o nível de gordura dietética dos animais pode influenciar na eficácia do exercício sobre a melhora do perfil lipídico, redução do peso corporal e da adiposidade (GLEESON & WARING, 1986), e os tipos de ácidos graxos também afetam os resultados do exercício (PELLIZZON et al, 2002).

Os ácidos graxos saturados produzem maior ganho de peso e adiposidade. Entretanto, estudos relatam, contrariamente, que os PUFA n-6 quando comparados com os saturados, induzem a um maior ganho de peso, hipertrofia ou hiperplasia das células de gordura e aumento da atividade das enzimas hepáticas lipogênicas (CURI et al, 2002). Já as dietas ricas em PUFA n-3 tendem a reduzir o ganho de peso e o acúmulo de gordura quando comparadas com outros tipos de óleos (HILL et al, 1993).

Um dos possíveis mecanismos responsáveis por esses efeitos diferentes dos ácidos graxos sobre o ganho de peso podem ser as relações de oxidação dos mesmos (PELLIZZON et al, 2002). LEYTON et al (1987) reportaram que os ratos alimentados com ácidos graxos de diferentes tamanhos de cadeia carbônica e graus de saturação tiveram variação na oxidação, sendo que os ácidos graxos saturados

oxidaram mais lentamente que os poliinsaturados. Entre os PUFAs, o ácido linolênico é oxidado mais eficientemente que o ácido linoléico (DeLANY et al, 2000).

COYLE (1995) descreve que os exercícios de intensidade leve a moderada facilitam a mobilização das gorduras por não levar ao acúmulo de lactato e conseqüentemente à reesterificação dos ácidos graxos; além de recrutarem menor quantidade de fibras do tipo II, que são glicolíticas; e não prejudicam o fluxo sanguíneo dos adipócitos, estimulando a lipase hormônio sensível de forma mais acentuada.

Sugere-se ainda que o treinamento de exercícios diminua os níveis plasmáticos de colesterol total e de LDL-c, aumente os níveis de HDL-c e reduza a concentração de triglicérides (BROOKS et al, 1999).

Os músculos esqueléticos têm preferência pelos ácidos graxos em exercícios físicos de longa duração, já que os lipídios armazenados no organismo na forma de triacilglicerol (TG) representam o principal estoque de energia disponível (NEWSHOLME, 1983). Por outro lado, o glicogênio, imprescindível durante o exercício físico, possui um estoque relativamente limitado, que necessita ser preservado para continuar sendo utilizado concomitantemente aos ácidos graxos, porém, em menor proporção até o final do esforço (CURI et al, 2003).

As reservas de TG estão armazenadas principalmente no tecido adiposo, músculo esquelético e plasma. O total de energia armazenado na forma de TG é cerca de 60 vezes maior que aquele como glicogênio. Desta forma, a oxidação dos AG durante o exercício possibilita manter a atividade física por períodos mais prolongados e retarda a depleção do glicogênio e a hipoglicemia (CURI et al, 2003).

Os substratos energéticos utilizados durante o exercício sugerem que o tipo de exercício que mais atua no metabolismo lipídico é o aeróbio (RIQUE et al, 2002).

A atividade lipolítica do tecido adiposo aumenta com esse tipo de exercício, resultando em um aumento significativo no número e na atividade das mitocôndrias, além de um aumento na oxidação de ácidos graxos livres (CURI et al, 2003).

A natação, como exemplo de programa aeróbico, é um exercício de intensidade moderada e sua prática tem-se acentuado, sendo prescrita, inclusive como tratamento não-farmacológico adjuvante em casos de hipertensão arterial, obesidade e coronariopatias (CURI et al, 2003).

Contudo, nem sempre é válida a proposição de que o treinamento aumenta a eficiência de utilização dos ácidos graxos durante o exercício.

Um ciclo de interação entre carboidratos e lipídeos, chamado Ciclo de Randle ou Ciclo glicose-ácidos graxos pode ocorrer durante o exercício. Ao aumentar a disponibilidade de ácidos graxos pela dieta, pode haver redução dos estoques endógenos de glicogênio e menor utilização de glicose, com aumento da mobilização e oxidação dos ácidos graxos. No entanto, quando há reposição de carboidratos, reduz-se a concentração plasmática de ácidos graxos. Isso se dá em resposta a uma menor mobilização a partir de tecido adiposo e uma maior captação pelo fígado, ocasionando uma maior utilização de glicose pelo músculo (NEWSHOLME, 1996).

Diante desse mecanismo, a perda de peso só aconteceria quando a dieta apresentasse altas quantidades de gordura em detrimento acentuado de carboidrato, podendo assim levar à mobilização dos ácidos graxos e à conseqüente manutenção das concentrações de glicogênio hepático e muscular.

Outros autores sugerem que a oxidação dos ácidos graxos pelos músculos esqueléticos durante o exercício físico advém de um aumento da atividade de degradação dos triglicerídeos intramusculares em relação ao armazenado no tecido

adiposo (WATT et al, 2002a), porém em treinamentos de longa duração (90-120 minutos) (WATT et al, 2002b).

Estudos (PARADIS et al, 2001; REUE et al, 2000) descreveram ainda que o treinamento físico poderia prevenir o acúmulo hepático de gordura em situações de consumo de dietas ricas em gordura. Entretanto, outros estudos não observaram efeitos do exercício físico, em ratos, sobre a redução do acúmulo hepático de gordura quando há consumo de dietas hiperlipídicas (TERAO et al, 1987).

STRACZKOWSKI et al (2001) relatam que o treinamento físico, em ratos, apesar de melhorar os níveis séricos de triglicerídeos, não previne o acúmulo hepático de lipídeos advindos de uma dieta hiperlipídica. Sugere-se que esses efeitos se devem à função dos PUFAs n-3 de reduzir a liberação hepática de VLDL, reduzindo concomitantemente a apoproteína B e a proteína transportadora de triacilglicerol microssomal. Essa redução leva ao aumento dos níveis de colesterol e triglicerídeos no fígado (ZHENG et al, 2001; BOTHAM et al, 2001).

Além da possível ineficácia do exercício físico sobre a prevenção da esteatose hepática em indivíduos com dieta hiperlipídica, também tem-se estudado os níveis de peroxidação lipídica advindos do treinamento físico. É evidenciado que o exercício físico também interfere no surgimento do estresse oxidativo, podendo alterar os efeitos das enzimas antioxidantes (VENKATRAMAN et al, 1998; SALMINEN & VIHKO, 1983).

Sabe-se que durante o treinamento físico ocorrem diversas adaptações fisiológicas, sendo necessários ajustes cardiovasculares e respiratórios para compensar e manter o esforço realizado. O exercício físico intenso induz à formação excessiva de EROs associadas ao metabolismo energético acelerado. Essas

espécies podem contribuir para danos tissulares e celulares (KOURY & DONANGELO, 2003).

Durante o exercício, são ativadas as vias de formação de espécies reativas de oxigênio: a produção mitocondrial, a produção citoplasmática e a produção favorecida pelos íons livres ferro e cobre. A elevação na produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio no organismo se dá pelo aumento de duas a quatro vezes a atividade das enzimas reguladoras (citrato sintetase, isocitrato desidrogenase e oxoglutarato desidrogenase) do Ciclo de Krebs no músculo esquelético (LEHNINGER & NELSON, 2002).

Na atividade física intensa há um aumento de 10 a 20 vezes no consumo total de oxigênio do organismo e um aumento de 100 a 200 vezes na captação de oxigênio pelo tecido muscular (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1991), favorecendo o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio. As modalidades esportivas que obtêm energia através do metabolismo aeróbio apresentam, portanto, mais facilidade de promover a liberação dessas substâncias em comparação com aquelas que obtêm energia através do metabolismo anaeróbio. Com isso os indivíduos ligados a modalidades aeróbias sofrem mais as conseqüências da presença de espécies reativas de oxigênio (GOLDFARB, 1999).

O envolvimento de exercícios de alta intensidade no estresse oxidativo tem sido demonstrado através da detecção direta de radicais livres, da demonstração de aumento na peroxidação lipídica e ainda pela diminuição dos níveis de antioxidantes em diversos órgãos após atividade física intensa (DAVIES et al, 1982, ALESSIO, 1993).

A peroxidação lipídica parece ser um importante mecanismo pelo qual o exercício induz lesão e pode ser monitorada através da determinação da

concentração de marcadores bioquímicos tais como, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e dienos conjugados (URSO & CLARKSON, 2003). Contudo, há ainda divergências sobre o papel da peroxidação lipídica na lesão muscular induzida por exercício intenso.

Tem sido relatado aumento na peroxidação lipídica, detectado através da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), após exercícios de intensidades alta e moderada (ALESSIO,1993). KANTER et al (1988) observaram aumento de 77% na concentração de TBARS no plasma de humanos após corrida exaustiva e no músculo e fígado de ratos após exercício intenso (DAVIES et al, 1982; LIU et al, 2000). Tem sido também demonstrado acúmulo de TBARS no cérebro de ratos após a atividade física (SUZUKI et al, 1983). Por outro lado, alguns trabalhos não relataram diferença significativa na peroxidação lipídica após o exercício (SACHECK & BLUMBERG, 2001). SELMAN et al (2002) analisaram a concentração de TBARS em músculo de roedores submetidos à corrida voluntária nos períodos de 1 e 7 h após o exercício, não sendo evidenciado aumento na concentração de TBARS muscular. Nenhuma diferença significativa na concentração de TBARS foi observada no músculo gastrocnêmio de ratos submetidos à natação, quando comparados ao grupo de animais sedentários (RADÁK et al, 1999b).

Já a concentração de malondialdeído no plasma de indivíduos submetidos à atividade física moderada não apresentou alterações significativas em relação ao estado de repouso (SACHECK & BLUMBERG, 2001; URSO & CLARKSON, 2003).

Pode-se observar que o exercício físico tem seus efeitos benéficos potencializados quando a alimentação mostra-se equilibrada. Portanto, alto consumo de gorduras favorece formação de EROs e com isso influencia os efeitos prejudiciais da prática contínua de exercício físico.

A prescrição da natação para a redução dos níveis séricos de triglicérides, colesterol e LDL-colesterol, deveria levar em consideração o aumento da formação de EROs nesse mesmo tipo de exercício. Desta forma, o conhecimento do efeito do treinamento físico com natação sobre o comportamento cardiovascular e hepático é iminente e notório (DAMASO, 2001).

As evidências contrastantes dos benefícios de gorduras específicas encontradas na dieta e da prática de exercício físico sobre estados patológicos como doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer levam às indagações e instigam investigações dos efeitos da combinação desses dois fatores (dieta hiperlipídica e exercício físico) sobre o metabolismo lipídico e conseqüentemente à maior ou menor predisposição a certas doenças.

2 OBJETIVOS

À vista do exposto, o trabalho teve como objetivos:

OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos de diferentes níveis de gorduras na forma de triglicerídeos fornecidos pela dieta experimental sobre os parâmetros lipídicos e a peroxidação comparando animais sedentários e exercitados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os efeitos de dieta normolipídica e de dieta hiperlipídica em ratos submetidos ao exercício físico;
- Analisar o perfil lipídico dos ratos alimentados com diferentes níveis de óleos, determinando colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides;
- Analisar o estresse oxidativo advindos da peroxidação lipídica das fontes alimentares e/ou do exercício físico nos animais sedentários e exercitados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

No estudo foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, obtidos do Biotério Central da Faculdade de Medicina da UNESP-Botucatu, com peso médio de 88g. Inicialmente todos os animais foram submetidos a uma adaptação de três dias ao ambiente experimental, recebendo dieta padrão de laboratório. Posteriormente, foram divididos em 04 grupos de 10 (dez) ratos:

NS: dieta normolipídica sem exercício

NE: dieta normolipídica com exercício

HS: dieta hiperlipídica sem exercício

HE: dieta hiperlipídica com exercício

No período do experimento, os animais foram mantidos com consumo de água e dieta *ad libitum* e as condições ambientais foram controladas sob temperatura de 22°C, umidade relativa de 65% e ciclo de claro e escuro de 12 horas por oito semanas. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP (Processo nº23/2005).

3.2 DIETA EXPERIMENTAL

Foram utilizados dois tipos de dieta, a controle e a hiperlipídica. A dieta controle foi formulada com base nas normas do American Institute of Nutrition (AIN), segundo REEVES et al (1993). A dieta hiperlipídica foi similar à composição da dieta controle, excetuando a quantidade de gordura utilizada, que foi de 14%.

A composição energética da dieta controle foi de 4,15Kcal/g e da dieta experimental de 4,5kcal/g, com 15,2% e 28% do total calórico sob a forma de gorduras, respectivamente.

A confecção das dietas foi realizada dentro do próprio Laboratório de Nutrição, por meio da mistura inicial dos ingredientes secos de menor quantidade até o término do último componente da dieta. Posteriormente à homogeneização dos componentes secos, foi adicionado o óleo gradativamente para que a mistura ficasse uniforme. Após esse processo, foi-se adicionando água potável durante a “sova” da massa para que se chegasse ao ponto correto para a peletização. Os pellets foram acondicionados em tabuleiros de inox e levados à estufa com circulação de ar a 40°C por 24 hs para secagem.

Ao serem retirados da estufa, eram armazenados em sacos plásticos identificados (lote e data) e levados ao congelador, onde eram utilizados segundo a regra PEPS (primeiro a entrar, primeiro a sair).

Os compostos e as respectivas quantidades utilizadas para a elaboração das dietas são mostrados no Quadro II.

Quadro II. Composição das dietas utilizadas durante o período experimental (g/Kg de dieta)

Ingredientes	Dieta controle	Dieta Hiperlipídica
Amido de Milho	579,48	509,48
Caseína 86% de Proteína	200,00	200,00
Sacarose	100,00	100,00
Mistura Mineral	35,00	35,00
Mistura Vitamínica	10,00	10,00
L-Cistina	3,00	3,00
Bitartarato de colina	2,50	2,50
BHT*	0,014	0,014
Óleo de Soja	70,00	140,00
TOTAL	1000,0	1000,00

*Butil-hidroxi-tolueno

3.3 ANÁLISE QUÍMICA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

A composição de alguns nutrientes das dietas foi realizada após a preparação de cada novo lote, segundo os métodos descritos no Quadro III.

Quadro III. Métodos utilizados para determinação dos componentes das dietas experimentais

Proteínas	Método de Micro-Kjedahl (AOAC, 1995)
Gorduras	Bligh e Dyer (1959)
Umidade	Método de secagem em estufa à 105°C até peso constante (AOAC, 1995)

3.4 EXERCÍCIO

Os ratos foram treinados em tanques de 50cm de diâmetro e 1,20m de comprimento em sessões de 60 minutos, cinco vezes por semana, segundo sistema de natação adaptado para ratos (LANCHA JR, 1993; VIEIRA, 1988), com a água aquecida, variando de 28° a 32°C. O protocolo, considerado de intensidade moderada, encontrava-se entre 25% a 65% do máximo consumo de oxigênio (CURI *et al.*, 2003). Antes de iniciar o período de experimento, os animais passaram por adaptação durante uma semana, em que o tempo das sessões foi aumentado gradualmente até atingir o estipulado no protocolo. A sobrecarga de trabalho (peso na cauda - % da massa corporal) também foi aumentada gradualmente até que atingisse 5% da massa corporal. Os animais sedentários foram mantidos na gaiola durante o exercício dos grupos treinados e a alimentação foi retirada durante as sessões de exercício.

O modelo da sobrecarga utilizada na cauda do animal e do tanque utilizado nas sessões de exercício físico são expostos nas Figuras 5 e 6.



Figura 5. Animal com sobrecarga de trabalho amarrada à cauda



Figura 6. Tanque utilizado nas sessões de exercício físico

3.5 INGESTÃO ALIMENTAR E PESO CORPORAL

A ingestão das dietas foi verificada diariamente, sendo computada pela subtração das sobras de dieta do dia anterior. O peso dos animais também foi mensurado diariamente por balança semi-analítica Gehaka BG 2000.

3.6 EUTANÁSIA

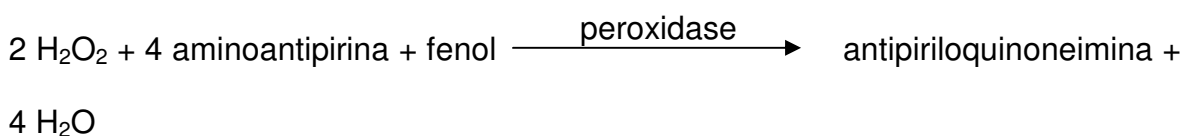
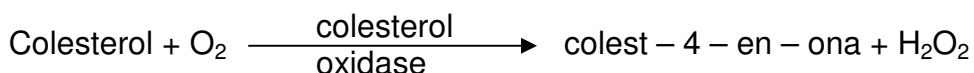
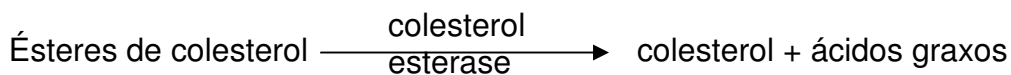
Ao final de 8 semanas de natação, os ratos foram deixados em jejum durante a noite (12 horas) e em seguida submetidos ao procedimento de eutanásia por decapitação seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2004). Os animais sedentários foram mortos no mesmo período do dia que os animais exercitados, seguindo o mesmo período de jejum. Foi coletado, em tubos vacoutainer BD, 8mL de sangue/animal, centrifugando a 3000 rpm por 10 minutos para separação do soro para as análises de triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol.

3.7 ANÁLISES SÉRICAS

Para as dosagens de colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides foram utilizados kits comerciais das marcas Serachek-Tecnicon-Bayer e Labtest, automatizados em equipamento RAXT-Technicon (CRD-Nac-Unesp), Araraquara-SP.

3.7.1 Determinação do colesterol total

O colesterol total foi determinado por método enzimático de acordo com as seguintes reações:



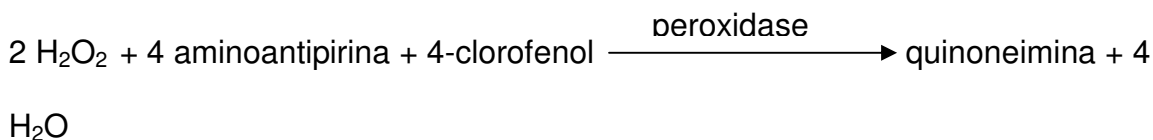
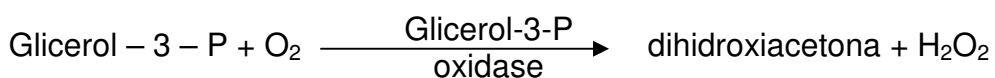
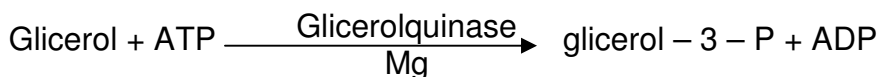
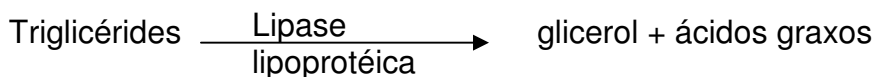
A intensidade da cor vermelha da quinoneimina formada é diretamente proporcional à concentração de colesterol na amostra (ALAIN et al, 1974).

3.7.2 Determinação do HDL-colesterol

O colesterol em HDL foi determinado por precipitação dos quilomícrons, VLDL e LDL com ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio. Após a centrifugação a 4000 rpm, por 10 minutos, a fração HDL permanece no sobrenadante, sendo determinada utilizando-se a metodologia descrita anteriormente para o colesterol total.

3.7.3 Determinação de triglicérides

Os triglicérides foram determinados de acordo com as seguintes reações:



A intensidade da cor vermelha da quinoneimina formada é diretamente proporcional à concentração de triglicérides na amostra (FOSSATI & PRENCIPE, 1982).

3.8 PESO DO FÍGADO

Os fígados extraídos foram pesados logo após o sacrifício dos animais e imersos em solução salina 0,9% para retirar o excesso de sangue. Foram colocados sobre papel alumínio previamente tarado e pesados em balança analítica Gehaka BG2000. Posteriormente, o tecido hepático foi subdividido e cada nova fração foi pesada. As frações foram acondicionadas separadamente

em papéis-alumínio para as análises de malondialdeído e glutathiona reduzida e armazenadas em biofreezer a -80°C .

3.9 Análise da peroxidação lipídica no fígado dos animais

3.9.1 Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A avaliação do estresse oxidativo foi realizada por meio da determinação dos produtos resultantes da peroxidação lipídica. As análises foram realizadas em parceria com o Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Universidade de São Paulo, seguindo a metodologia de BUEGE & AUST (1978).

O ensaio TBARS foi realizado em várias etapas. Primeiramente, foi preparada uma solução de KCl 1,15%. Pesou-se 1,15g de KCl, adicionou-se 90mL de água até dissolução completa do KCl. O volume foi completado para 100mL.

Posteriormente, uma solução de ácido tricloroacético, ácido tiobarbitúrico e ácido clorídrico foi realizada, conforme exposto no Quadro IV.

Quadro IV. Valores para preparação de 100mL e 50mL de solução de TCA-TBA-HCl

15% TCA	15 g	7,5 g
0,375% TBA	0,375 g	0,1875 g
0,25 N HCl	2,08 ml	1,04 ml
Água qsp	100 ml	50 ml

Após a preparação dos reagentes, o tecido hepático foi pesado (100mg). Adicionou-se a ele 1mL de KCl 1,15%, sendo então homogeneizado. Em seguida, foi acrescentado 2mL de solução de TBA-TCA-HCl. Aqueceu-se por 15 minutos em banho de água fervente com posterior esfriamento. O preparado foi centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm a temperatura ambiente (RT), utilizando então o sobrenadante para leitura em espectrofotômetro a 535 nm. A concentração foi calculada utilizando o fator 192,3.

3.10 Análise do sistema antioxidante hepático

3.10.1 Glutathiona total (GSH)

A glutathiona total foi analisada por meio do tecido hepático seguindo a metodologia de SEDLAK & LINDSAY (1968).

Foram preparados reagentes de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,02M; ácido tricloroacético 50%; tampão tris-HCl 0,4M pH 8,9; ácido ditionitrobenzólico 0,01M em metanol e glutathiona 0,002M em EDTA 0,02M, que serviu como o padrão de GSH.

Posteriormente, uma curva padrão, em duplicata, foi feita conforme exposto na Tabela 1.

Tabela 1. Valores utilizados para a realização da curva padrão da análise de GSH

1. 1ml de EDTA 0,02 M	0 nmol/ mL
2. 975 µL de EDTA 0,02 M + 25 µL de padrão de GSH	16,7 nmol/mL
3. 950 µL de EDTA 0,02 M + 50 µL de padrão de GSH	33,3 nmol/mL
4. 900 µL de EDTA 0,02 M + 100 µL de padrão de GSH	66,6 nmol/mL

A cada um dos tubos acima, adicionou-se 2mL de Tris-HCl 0,4M pH 8,9 e 50 μ L de ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB). Após 5 minutos, leu-se a absorbância em espectrofotômetro a 412nm. Ao realizar a leitura da curva padrão, procedeu-se o cálculo do fator a ser utilizado para descobrir a concentração das amostras.

Esse cálculo foi feito a partir da divisão da concentração da amostra pela média das absorbâncias da mesma amostra. Os valores encontrados na divisão passaram novamente por uma média, encontrando-se portanto, o fator a ser utilizado.

Após a realização da curva padrão e do fator de conversão, adicionou-se 2mL de EDTA 0,02M a 100mg do tecido hepático, em gelo. O tecido foi macerado e a ele foi adicionando mais 2mL de EDTA 0,02M. Retirou-se 2,5mL do homogenato, transferiu-o para um novo tubo e adicionou-se 2mL de água e 0,5mL de TCA 50%. Aguardando 15 minutos, na metade do tempo, os tubos foram agitados, antes de serem centrifugados a 4000 rpm x 15 minutos a temperatura ambiente (RT). Transferiu-se 1 ml do sobrenadante para um tubo de vidro menor, adicionando 2mL de TRIS –HCl 0,4 M pH 8,9 e 50 μ L de DTNB. Após aguardar 5 minutos, registrou-se a absorbância em espectrofotômetro a 412nm contra um branco composto por: 1mL de EDTA 0,02M, 2mL de de TRIS –HCl 0,4M pH 8,9 e 50 μ L de DTNB.

O cálculo da concentração das amostras foi realizado conforme o exposto abaixo, no Quadro V.

Quadro V. Cálculo ilustrativo da concentração das amostras para análise de GSH

Concentração da amostra (nmol/ml) = Leitura da amostra x fator	
Então 100 mg de amostra -----	4 ml de EDTA
25 mg de amostra -----	1 ml de EDTA
Conc. Amostra = 0,3523 x 70,7	
Conc. Amostra = 24,9086 nmol/ml	
$\mu\text{mol GSH} / \text{g prot} = \frac{\text{nmol} / \text{ml} \times 4,79}{\text{mg prot} / \text{ml}}$	

3.11 GORDURA INTERNA

Imediatamente após o sacrifício, toda a gordura visível na cavidade abdominal dos animais foi retirada, colocada em papel alumínio previamente tarado e pesada em balança analítica GEHAKA BG 2000. A gordura retirada foi designada como gordura interna. Após a pesagem, o material foi descartado.

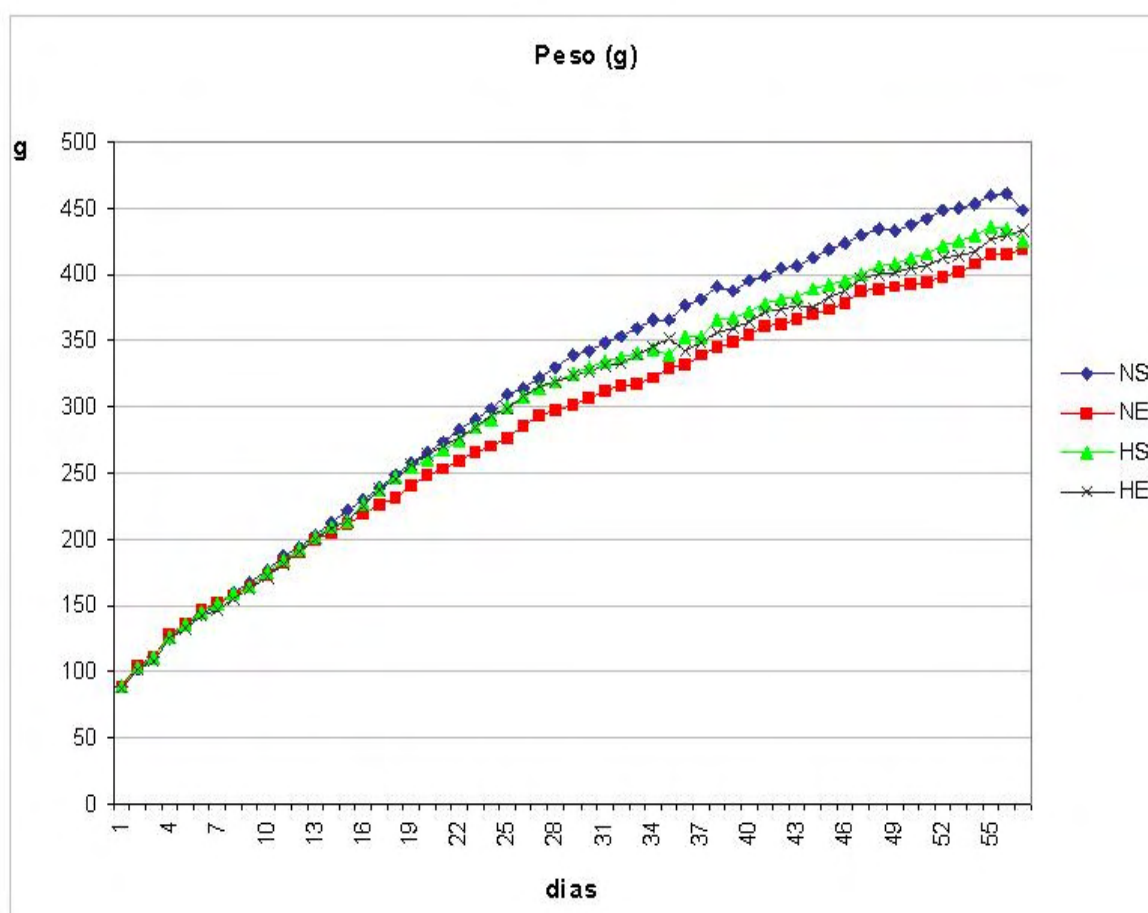
3.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para verificar a influência dos fatores dieta e exercício físico sobre os valores de peso corporal, consumo alimentar, colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL), triglicérides (TG), peso dos fígados, malondialdeído (MDA), glutathiona reduzida (GSH) e peso da gordura interna, realizou-se a análise de variância a um fator (ANOVA). Quando a análise de variância apontou diferença estatisticamente significativa procedeu-se a comparação das médias pelo Teste de Tukey. Os testes foram aplicados considerando-se um nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Peso corporal

O peso corporal dos animais apresentou crescimento durante o período experimental, como mostrado na Figura 7. Entretanto, ao final das 8 semanas, a média dos pesos mostrou diferenças não-significativas entre os grupos sedentários e exercitados, assim como entre os grupos que receberam dieta normolipídica e hiperlipídica ($p=0,5605$).



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 7. Evolução ponderal dos grupos experimentais durante as 8 semanas de estudo

Os pesos do grupo NE foram estatisticamente semelhantes ao seu controle NS, assim como os pesos do grupo HE em relação ao grupo HS, ainda que os valores absolutos tenham mostrado redução do ganho de peso entre os animais exercitados normo e hiperlipídicos, considerando que iniciaram com o mesmo peso dos animais sedentários.

Os efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre o peso corporal dos ratos são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre a média de peso corporal dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

	GRUPOS			
	NS	NE	HS	HE
PESO (g)	$312,44 \pm 14,78$	$285,32 \pm 12,50$	$298,91 \pm 13,43$	$295,57 \pm 13,19$

NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado.

A média de peso (g) e a estimativa por intervalo de confiança são indicadas na Figura 8.

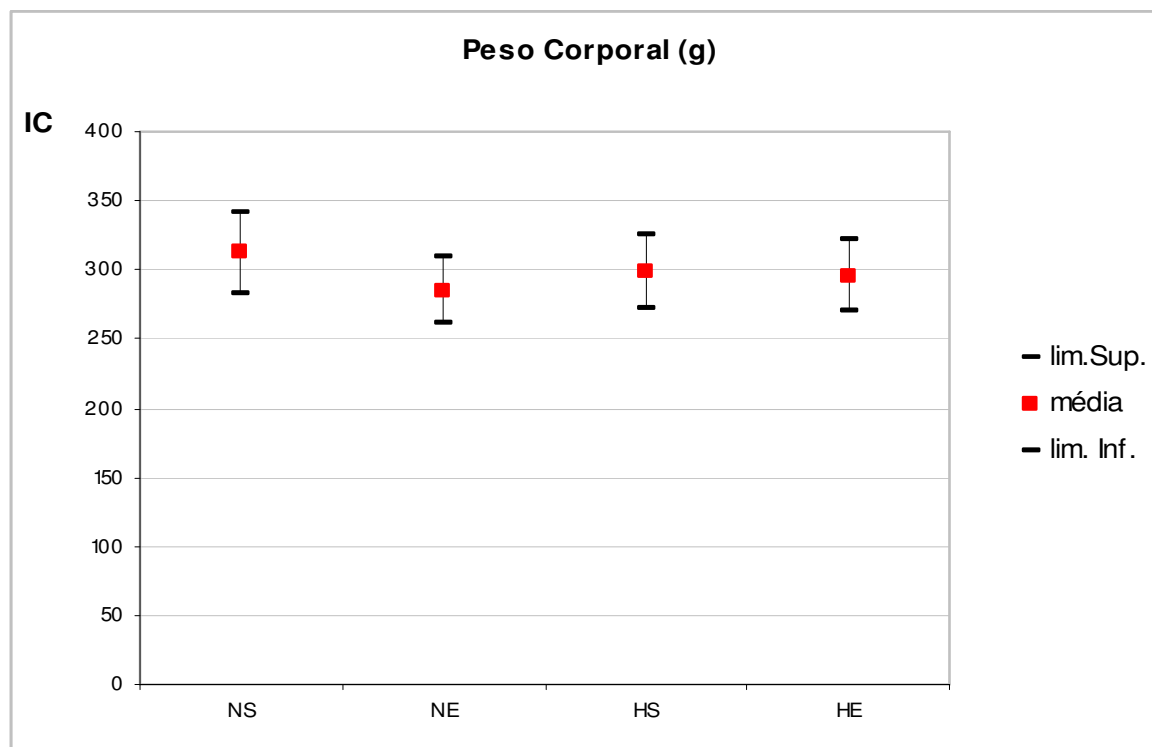


Figura 8. Evolução do peso dos grupos experimentais ao fim de 8 semanas de estudo.

4.2 Consumo Alimentar

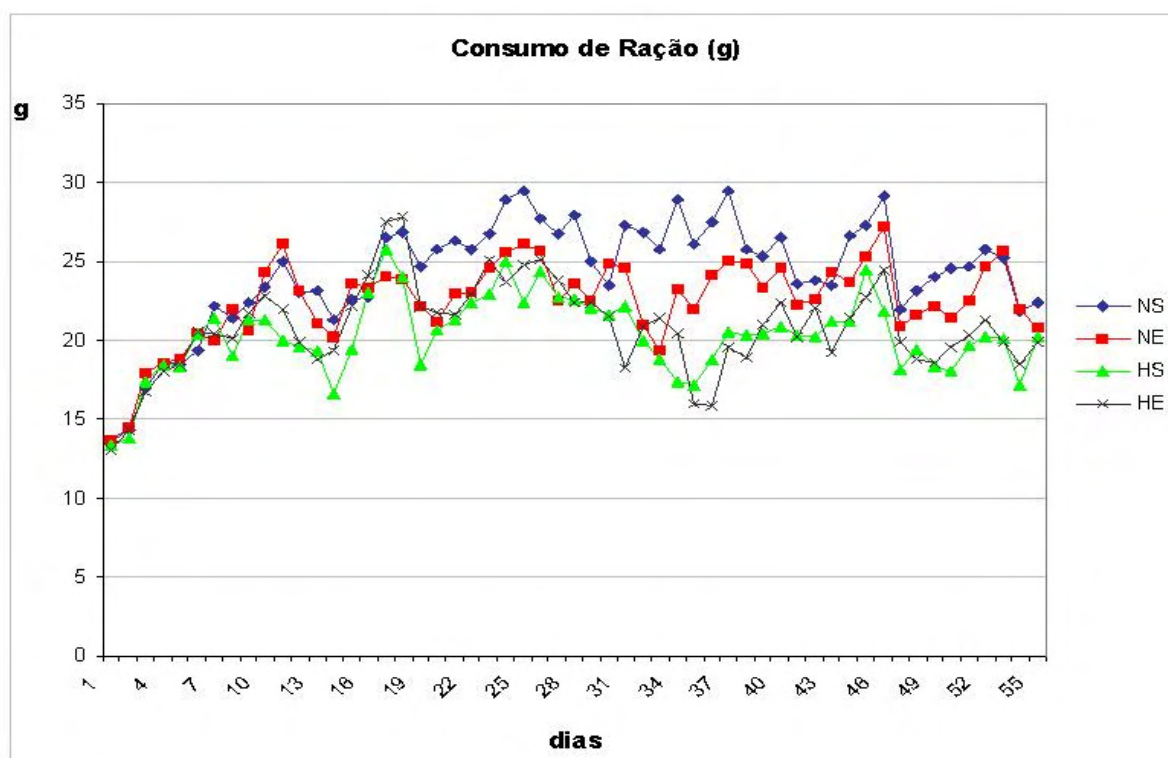
A média e o erro-padrão do consumo alimentar dos grupos estudados, em valores absolutos, é exposta na Tabela 3.

Tabela 3. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre o consumo alimentar diário dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

	GRUPOS			
	NS	NE	HS	HE
CONSUMO(g)	$24,31 \pm 0,47$	$22,55 \pm 0,36$	$20,29 \pm 0,33$	$20,85 \pm 0,38$

NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado.

A Figura 9 indica a variação do consumo de ração verificada durante as oito semanas do experimento.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

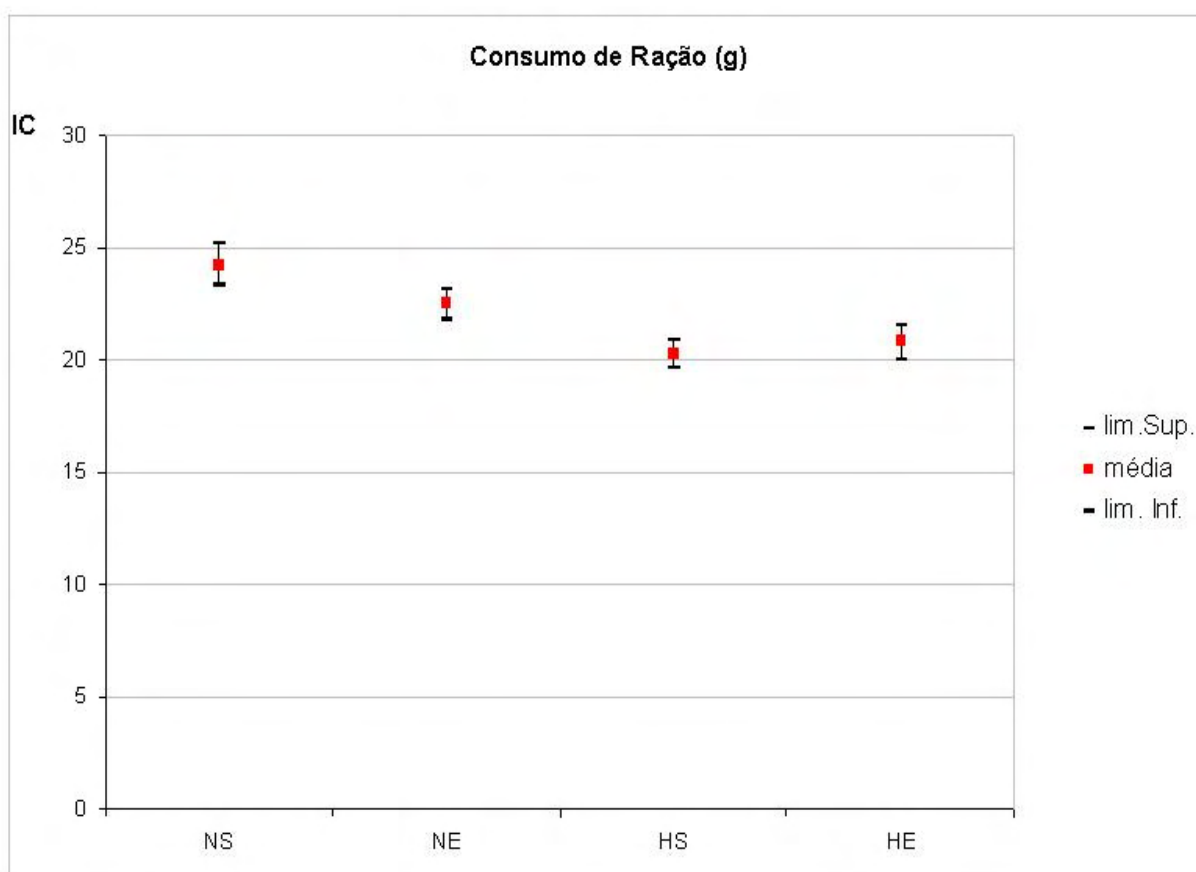
Figura 9. Evolução do consumo alimentar dos grupos experimentais durante as 8 semanas de estudo.

Verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos sedentários (NS e HS), entre os grupos exercitados (NE e HE) e entre os grupos normolipídicos (NS e NE) ($p=0,0000$).

Houve redução significativa de consumo alimentar no grupo exercitado normolipídico em comparação com seu respectivo grupo sedentário.

Observou-se ainda que os grupos que receberam dieta hiperlipídica, independente da situação de exercício ou sedentarismo apresentaram consumo alimentar significativamente menor que os grupos com dieta normolipídica.

A Figura 10 indica os dados de consumo alimentar entre os grupos estudados.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 10. Níveis de consumo alimentar dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

4.3 Análises séricas

Os valores absolutos dos parâmetros séricos analisados são dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre os parâmetros séricos colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL) e triglicérides (TG) dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

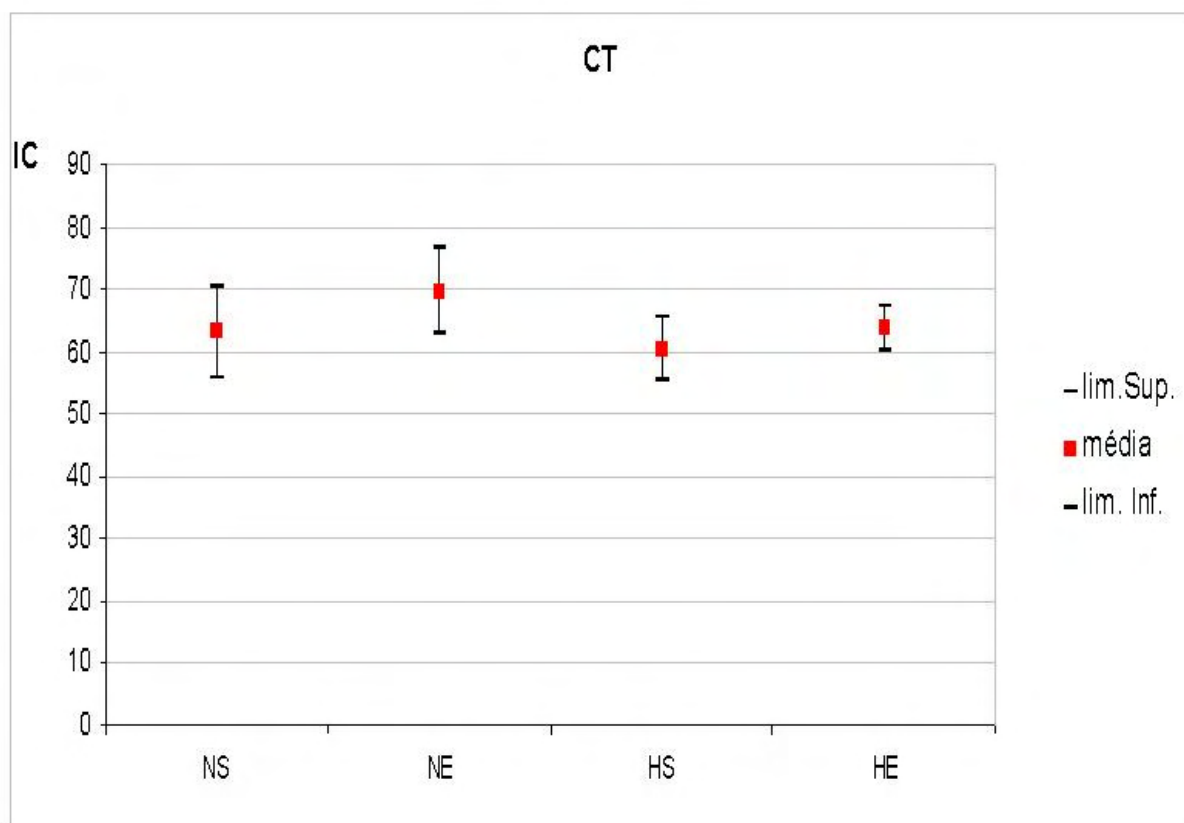
	Grupos			
	NS	NE	HS	HE
CT (mg/dL)	63,25 ± 3,804	69,70 ± 3,471	60,42 ± 2,563	64,00 ± 1,801
HDL (mg/dL)	23,75 ± 1,366	28,30 ± 0,616	22,58 ± 0,793	25,9 ± 1,159
TG (mg/dL)	227,0 ± 12,868	181,4 ± 13,090	178,50 ± 11,009	160,6 ± 17,415

NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado.

4.3.1 Colesterol Total

Os níveis de colesterol total dos grupos experimentais são demonstrados na Figura 11.

Observou-se redução dos valores absolutos nos grupos hiperlipídicos em comparação com os grupos normolipídicos com a mesma situação de exercício ou sedentarismo, entretanto houve diferenças não-significativas. O resumo da análise de variância para essa variável é exposto na Tabela 5.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 11. Níveis de colesterol total (CT) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo

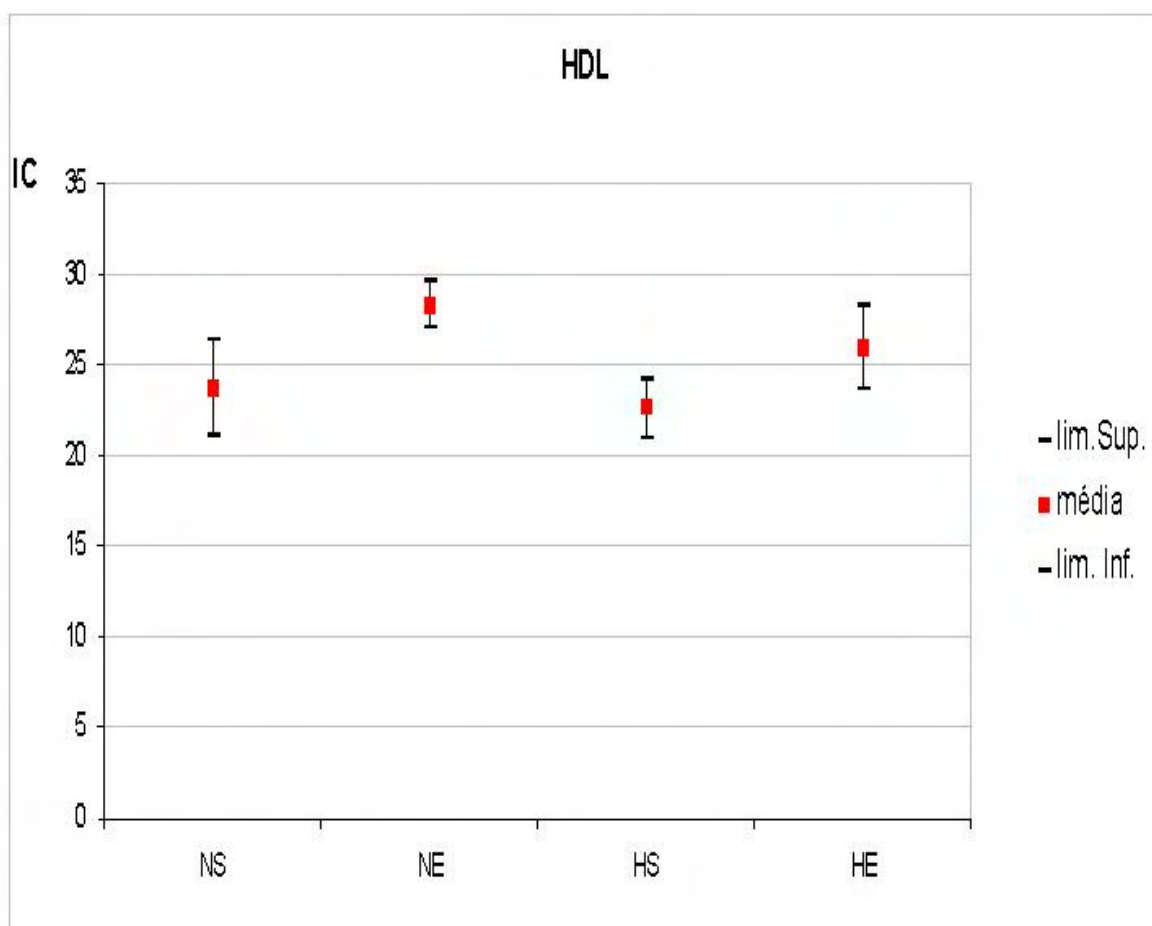
Tabela 5. Resumo da análise de variância para o teor de colesterol total (mg/dl) dos animais dos diferentes grupos (NS, NE, HS, HE)

Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	Valor-p	F crítico
Entre grupos	485,1652	3	161,7217	1,557537526	0,214674	2,838745
Dentro dos grupos	4153,267	40	103,8317			
Total	4638,432	43				

4.3.2 HDL-colesterol

Com relação ao teor de HDL-colesterol (mg/dL), expõe-se na Figura 12 a variação dos níveis entre os grupos, salientando a diferença significativa entre o grupo NS e o grupo NE ($p=0,0025$).

O grupo HE, em comparação com o seu controle HS, também apresentou aumento dos níveis de HDL-c; no entanto, mostrou diferenças não-significativas.



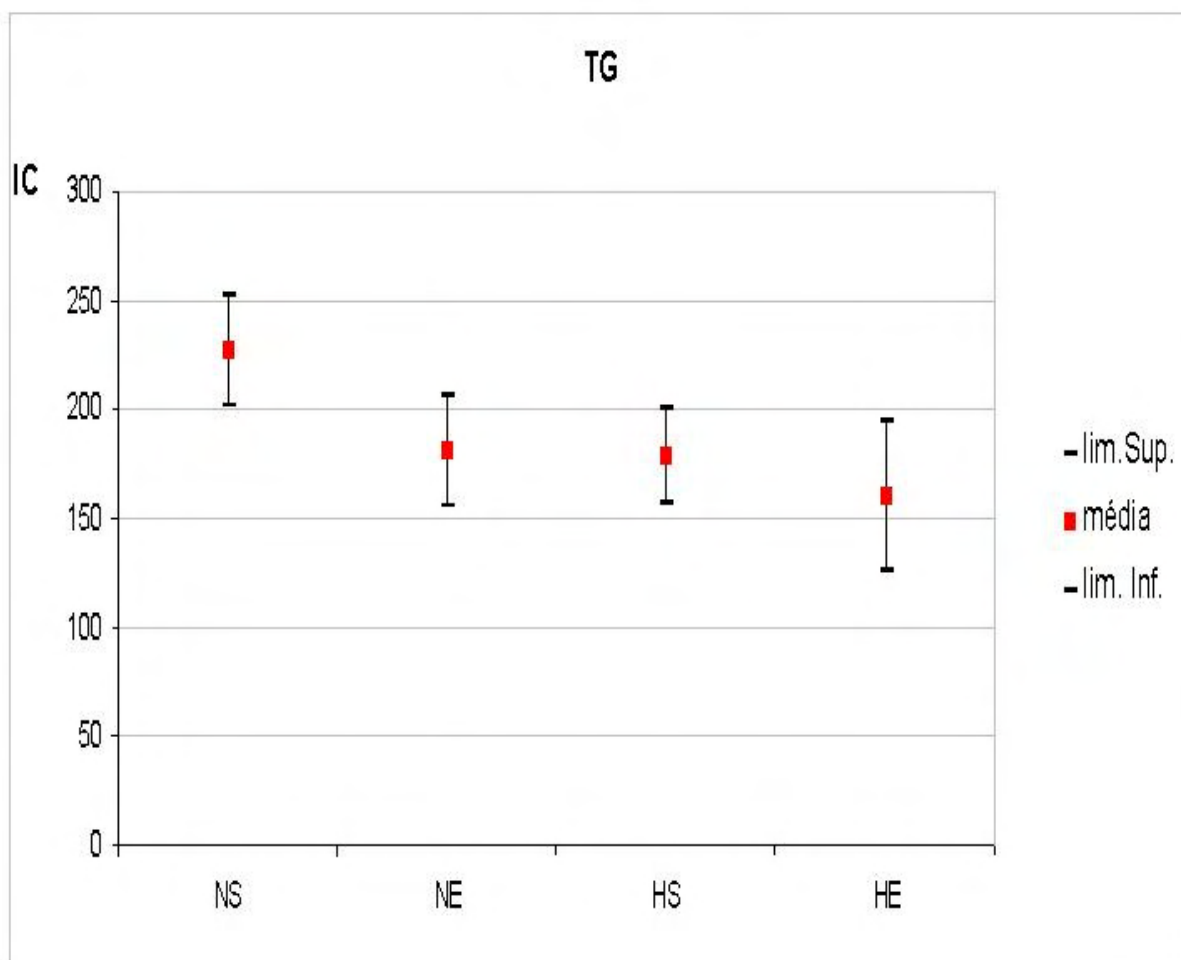
NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 12. Níveis de HDL-colesterol (HDL-c) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo.

4.3.3 Triglicérides

Os níveis de triglicérides foram reduzidos com o exercício físico tanto nos grupos com dieta normolipídica como nos grupos com dieta hiperlipídica, porém sem diferenças estatisticamente significantes. Observou-se diferença significativa no teor de triglicérides apenas entre os grupos NS e HE ($p=0,008$).

A estimativa por intervalo de confiança do teor de triglicérides (mg/dL) aferido em cada grupo avaliado encontra-se na Figura 13.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 13. Níveis de triglicérides (TG) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo.

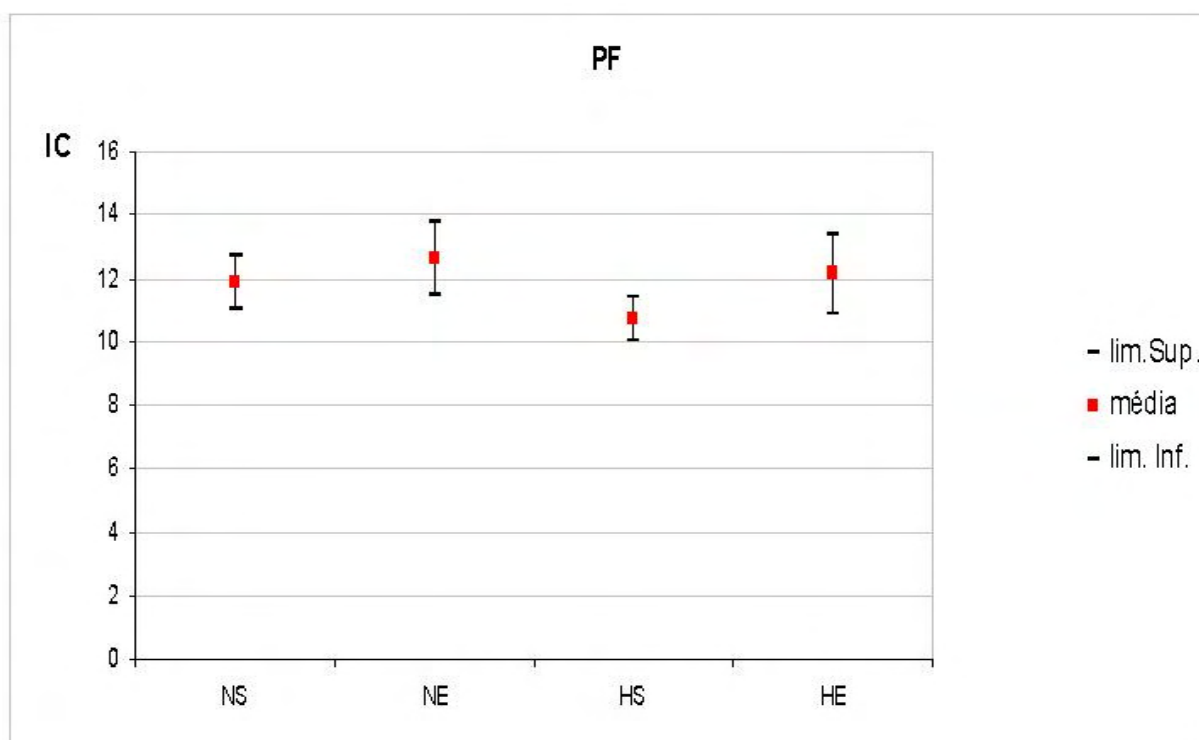
4.4 Peso do fígado (PF)

Os fígados dos diferentes grupos apresentaram pesos semelhantes (Tabela 6), com pesos não-significativos ($p=0,0577$). Deve-se ressaltar que a diferença não-significativa encontra-se no limiar de significância, provavelmente devido à influência dos grupos NE e HS, como demonstrado na Figura 14.

Tabela 6. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre o peso dos fígados dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

	GRUPOS			
	NS	NE	HS	HE
FÍGADO (g)	$11,88 \pm 0,41$	$12,64 \pm 0,6$	$10,74 \pm 0,33$	$12,16 \pm 0,649$

NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 14. Média de peso dos fígados (PF) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo.

4.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A análise de peroxidação lipídica foi determinada pela formação de malondialdeído (MDA), produto secundário da oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados, através do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A média e o erro padrão de MDA encontrados nos grupos analisados são expostos na Tabela 7.

Tabela 7. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre os níveis de TBARS ao fim de 8 semanas de experimento

	Grupos			
	NS	NE	HS	HE
MDA (nmol/g prot.)	0,08 ± 0,009	0,05 ± 0,004	0,12 ± 0,007	0,12 ± 0,006

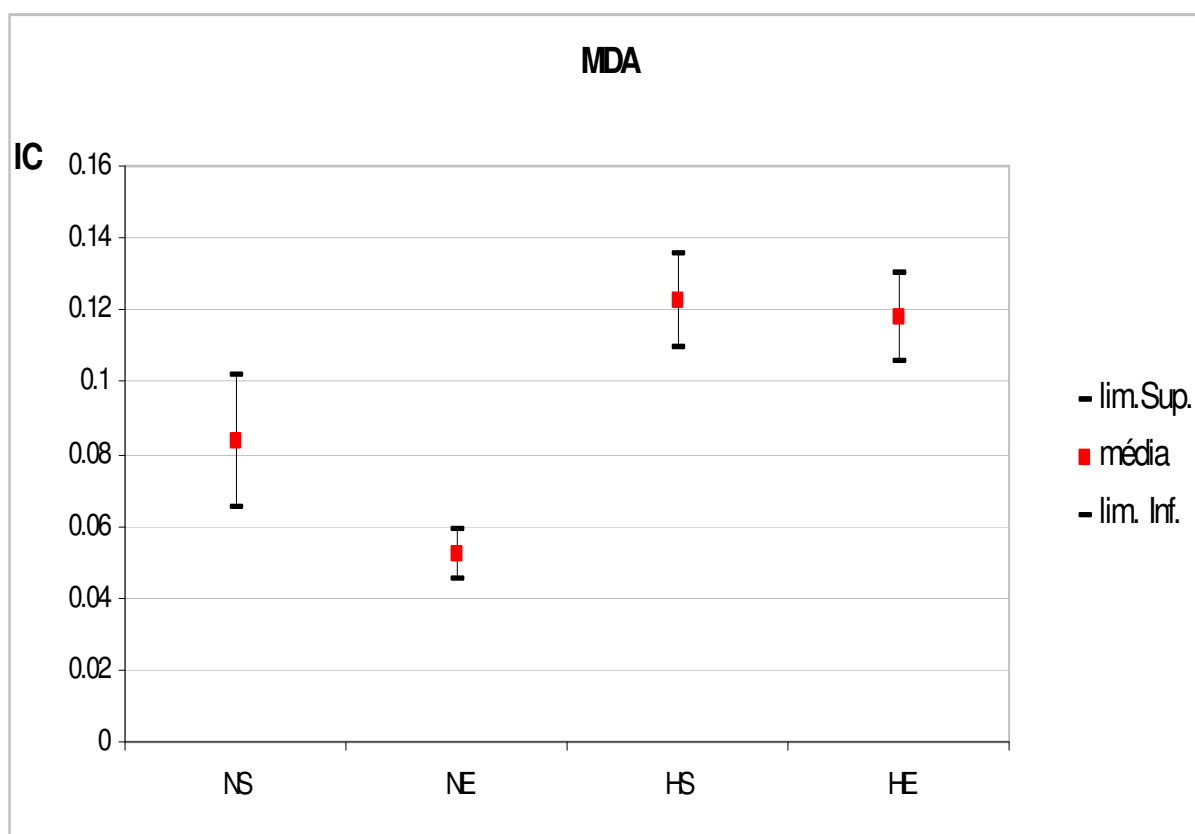
NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado.

4.5.1 Malondialdeído (MDA)

Observou-se que os níveis de MDA foram estatisticamente diferentes entre os grupos que receberam dieta normolipídica em comparação com aqueles que receberam dieta hiperlipídica ($p=0,000$), sendo que os grupos hiperlipídicos apresentaram teores maiores que os grupos normolipídicos, tanto entre os sedentários quanto entre os exercitados.

A diferença significativa desse parâmetro para a variável exercício só ocorreu entre os grupos que se alimentaram com dieta normolipídica. O grupo NE apresentou níveis de MDA menores que o grupo NS.

A estimativa por intervalo de confiança do teor de malondialdeído (MDA) (nmol/g de proteína) é exposto na Figura 15.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 15. Níveis de malondialdeído (MDA) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo.

4.6 Análise do sistema antioxidante

A média e o erro padrão de GSH encontrados nos grupos analisados são expostos na Tabela 8.

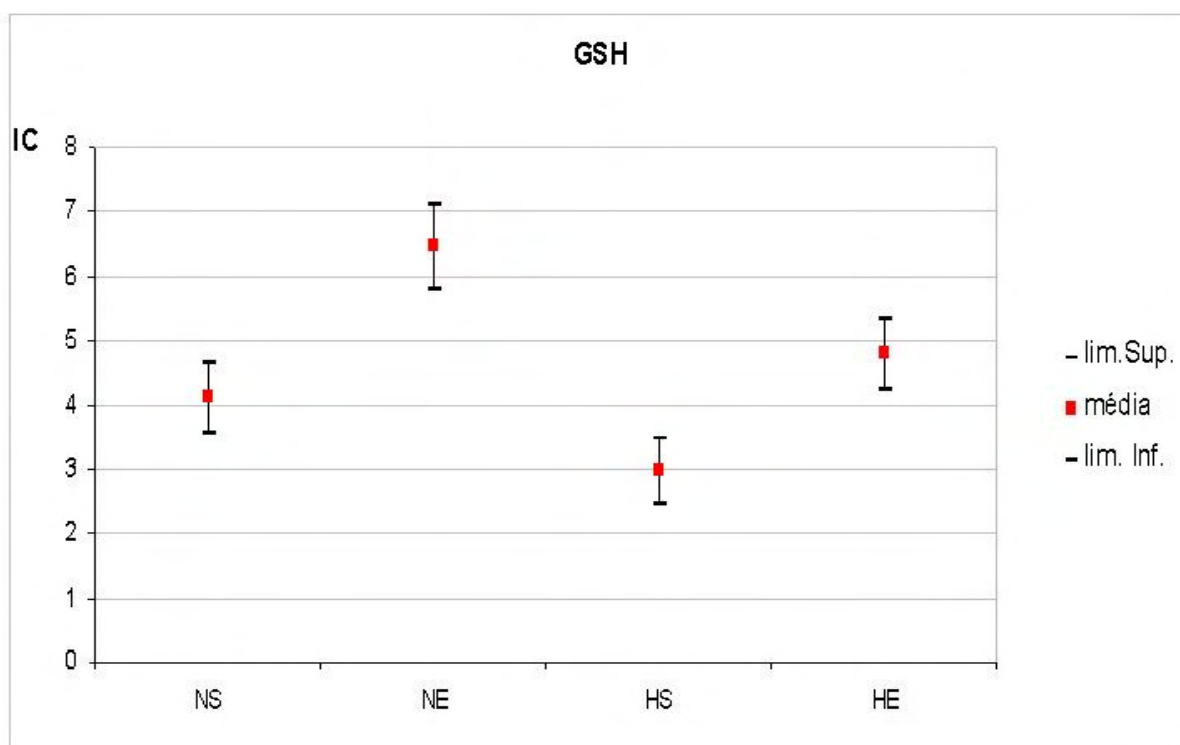
Tabela 8. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre os níveis de glutatona reduzida (GSH) hepática ao fim de 8 semanas de experimento

	Grupos			
	NS	NE	HS	HE
GSH (mmol/ g prot.)	$4,13 \pm 0,279$	$6,48 \pm 0,338$	$2,98 \pm 0,260$	$4,8 \pm 0,283$

NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado.

4.6.1 Glutationa (GSH)

Os níveis de glutatona (GSH) mostraram diferenças significativas entre os grupos sedentários e exercitados ($p=0,000$), sendo que aqueles que foram treinados tiveram valores mais altos (NE e HE) em relação aos sedentários com a mesma dieta (NS e HS). Os dados de GSH obtidos são expostos na Figura 16.



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 16. Níveis de glutatona (GSH) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo.

Os animais com dieta hiperlipídica apresentaram valores de GSH menores tanto entre os sedentários (HS) quanto entre os exercitados (HE) quando comparados com os animais que consumiram dieta normolipídica com a mesma situação de exercício (NE) ou sedentarismo (NS).

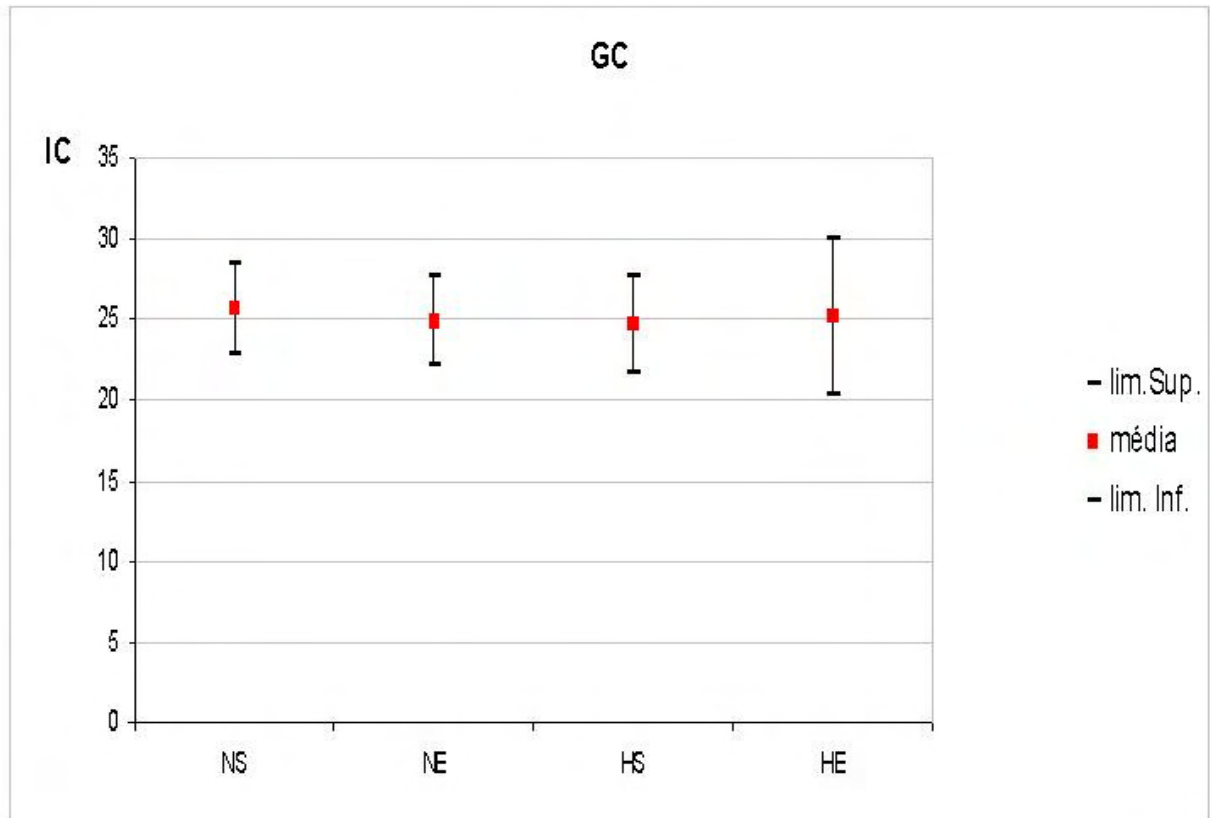
4.7 Gordura Interna

O peso da gordura interna mostrou-se não-significativo ($p=0,9811$) entre todos os grupos, como exposto em valores absolutos na Tabela 9 e em intervalos de confiança na Figura 17.

Tabela 9. Efeitos dos lipídeos dietéticos e do exercício físico sobre a gordura interna dos ratos ao fim de 8 semanas de experimento

	GRUPOS			
	NS	NE	HS	HE
GORDURA (g)	$25,64 \pm 1,439^a$	$24,96 \pm 1,41^a$	$24,72 \pm 1,508^a$	$25,29 \pm 2,457^a$

NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado



NS: normolipídico sedentário; NE: normolipídico exercitado; HS: hiperlipídico sedentário; HE: hiperlipídico exercitado

Figura 17. Níveis de gordura interna (GC) dos grupos experimentais ao fim das 8 semanas de estudo.

5 DISCUSSÃO

Muitos estudos relacionados com o metabolismo lipídico, que estudam os ácidos graxos n-6 e n-3, têm usado diferentes óleos comestíveis, como óleo de canola, óleo de girassol, óleo de milho e óleo de peixe (FEOLI et al, 2003; GAÍVA et al, 2003, JEN et al, 2003, PELLIZZON et al, 2002).

No entanto, o óleo de soja, utilizado em nosso estudo, é o mais consumido na maioria dos países, sendo que no Brasil, representa 82% do consumo nacional de óleos vegetais de acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2005). Ele é um dos poucos óleos vegetais que contém quantidades significativas de n-3 e ao mesmo tempo é uma fonte importante de ácidos graxos n-6.

No presente estudo, o peso corporal dos animais dos grupos analisados mostrou diferenças não-significativas. Frente a esses resultados, pode-se supor que a diferença na quantidade de calorias das duas dietas utilizadas, as quais apresentavam 4,15Kcal/g (controle) e 4,5Kcal/g (hiperlipídica), não foi suficiente para induzir a obesidade nos animais. Os percentuais de gordura utilizados em relação ao valor calórico total das dietas, que foram de 15,2% na dieta controle e 28% na dieta hiperlipídica, também não apresentaram influência sobre o ganho de peso dos animais, ainda que tenha sido acrescido à dieta do grupo hiperlipídico, o dobro da necessidade de gordura recomendada para a espécie (REEVES, 1993).

Assim como o peso corporal, os níveis de gordura interna mostraram-se semelhantes em todos os grupos experimentais, resultado também influenciado pela semelhança de densidade calórica entre as duas dietas.

Numerosos estudos têm mostrado que dietas hiperlipídicas devem conter 30% ou mais de energia na forma de gordura para aumentar o acúmulo lipídico em roedores (HILL et al, 2000).

Alguns estudos com ratos mostraram que o aumento do acúmulo lipídico independe da idade e do sexo dos animais. No entanto, a genética pode influenciar na retenção lipídica (ELLIS et al, 2002).

Além da quantidade de gordura ou do valor calórico das dietas utilizadas em nosso experimento, a composição e/ou a relação dos ácidos graxos do óleo de soja também podem ter influenciado os resultados ponderais.

JEN et al (2003), estudando os efeitos de diferentes fontes de ácidos graxos poliinsaturados sobre a regulação do peso corporal de ratas, verificaram que a dieta hiperlipídica que apresenta como fonte lipídica o óleo de soja induziu maior ganho de peso que outras fontes de gordura.

Essa situação também foi verificada por IKEMOTO et al (1996), em que roedores que consumiram óleo de soja, com composição principal em ácidos graxos n-6, ou óleo de palma, composto principalmente de ácidos graxos saturados, ganharam mais peso que roedores alimentados com dieta baseada em óleo de peixe, rico em ácidos graxos n-3.

Pode-se supor que o consumo elevado de ácidos graxos n-6, advindos do óleo de soja, tenha influenciado na não-redução do peso nos animais hiperlipídicos exercitados. Tem sido reportado que os PUFAs n-6 induzem maior ganho de peso (HILL et al, 1992), aumentando o número de células de gordura e ampliando as atividades das enzimas hepáticas lipogênicas, como: ácido graxo sintase, glicose-6-fosfato desidrogenase e lipase triacilglicerol quando comparados aos ácidos graxos saturados (CLEARY et al, 1999).

Embora os nossos resultados tenham indicado diferenças não-significativas entre os grupos para a evolução ponderal, alguns estudos verificaram efeitos distintos sobre o tamanho das células de gordura e também sobre o número dessas células em animais alimentados com dietas hiperlipídicas (ELLIS et al, 2002). SHILLABEER & LAU (1994) demonstraram que dietas ricas em ácidos graxos saturados promovem a hiperplasia, ou seja, a replicação de adipócitos. A indução da hiperplasia com o consumo dessas dietas levaria a efeitos potencialmente mais prejudiciais que a hipertrofia (aumento do volume das células), a qual é induzida pelas dietas ricas em ácidos graxos insaturados.

É bem aceito que o número de células de gordura pode aumentar durante algumas etapas da vida. O número de células não aumenta até que o tamanho máximo da mesma tenha sido alcançado e não diminui com a perda de peso. Após a perda de peso, a célula reduzida procurará restaurar o volume normal. Por isso, os indivíduos com adipócitos aumentados, porém parcialmente preenchidos, ou seja, que passaram por um processo de hipertrofia, podem ter menos riscos de ganhar o peso já perdido que os indivíduos com muitos adipócitos pequenos e preenchidos, ou seja, que passaram pelo processo de hiperplasia (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2002).

Apesar da não-significância, foram observadas diferenças na evolução ponderal dos grupos exercitados. Eles apresentaram menor ganho de peso absoluto em comparação aos grupos sedentários.

Sabe-se que a prática de exercício físico regular pode levar a modificações da composição corporal, aumentando a massa muscular e reduzindo a gordura corporal. Durante a prática de exercícios aeróbios, as reservas de glicogênio são utilizadas nos primeiros minutos de atividade e, à medida que o exercício

prossegue, há redução na utilização do glicogênio com aumento concomitante na utilização das gorduras (COYLE, 1997). Sendo assim, acreditamos que o treinamento físico empregado tenha levado ao aumento do metabolismo aeróbio dos animais treinados, reduzindo o ganho de peso corporal dos mesmos, ainda que não-significativamente.

Alguns estudos também verificaram esse menor ganho de peso produzido pelo exercício físico. BELL et al (1997), ao estudarem os efeitos de ácidos graxos monoinsaturados advindos de dieta rica em óleo de canola e de exercício físico, verificaram que o ganho de peso desses animais foi reduzido em comparação ao peso de animais exercitados que consumiram dieta rica em ácidos graxos saturados.

Dados de JEN et al (2003), realizando protocolo semelhante ao nosso, porém durante 6 semanas, mostraram redução do peso corporal dos animais exercitados com dieta normolipídica e hiperlipídica em comparação com os sedentários, ainda que não tenham sido resultados estatisticamente significativos.

Já os dados de PELLIZZON et al (2002) mostram que os ratos alimentados com dieta normolipídica à base de óleo de soja e treinados com natação por seis semanas apresentaram-se mais pesados que ratos com dieta hiperlipídica, supondo que o exercício freqüente de natação foi capaz de elevar a massa muscular dos animais com dieta controle.

O protocolo utilizado em nosso estudo, em que estipulava como tempo de experimento um período de 8 semanas, pode ter influenciado na ausência de diferenças relevantes no peso corporal dos diferentes grupos analisados. No entanto, estudos como o citado acima, utilizaram protocolos mais curtos e apresentaram resultados ponderais significativos.

Corroborando com o nosso tempo de experimento de oito semanas, QUILES et al (2003) estudaram as interações do treinamento físico em esteira e da dieta normolipídica com fontes poliinsaturadas. Eles verificaram diferenças significativas de peso corporal entre os grupos, sendo que os animais sedentários mostraram-se mais pesados que os exercitados ao fim do estudo. A análise de variância realizada por eles confirma que o exercício físico foi o único fator responsável pelas diferenças de ganho de peso nos ratos. A dieta utilizada por eles, a qual continha 80g de fonte lipídica por quilo de ração, valor intermediando as nossas dietas controle e hiperlipídica, não foi suficiente para elevar ou reduzir o peso dos animais.

A partir dos trabalhos descritos acima, nota-se que os parâmetros ponderais podem ter influências bastante variáveis. O tipo da dieta, as quantidades de macronutrientes fornecidos, a densidade calórica, o tipo de exercício, a intensidade e o tempo de treinamento, assim como as condições ambientais podem influenciar nos resultados encontrados.

Além dessas variáveis, é relatado ainda na literatura científica que os ratos podem ser diferentemente resistentes ou susceptíveis ao ganho de peso corporal com uma dieta rica em gordura dependendo da variação genética (ROLLAND et al, 2002; HILL et al, 1992).

Espécies de ratos como Osborn-Mendel, S5B/P1, Zucker, Wistar e Sprague-Dawle têm susceptibilidades variáveis para ganho de peso. ELLIS et al (2002), ao estudar ratas Sprague-Dawle em fase de crescimento, verificou ganho de peso de 16 a 35% nos grupos alimentados com dietas ricas em gordura em comparação com dietas hipolipídicas.

Já LOH et al (1998) reporta um ganho de peso de 4 a 9% em ratos Zucker machos obesos e em ratos jovens magros. Em ratos alimentados com dietas ricas, em comparação com dietas pobres em gordura, o peso corporal aumentou de 8-50%, dependendo da espécie (PARK et al, 1997).

O efeito ergogênico da dieta rica em gordura, auxiliando o desempenho físico e conseqüentemente levando à redução do peso não foi confirmado em nosso experimento. Conforme CHENG et al (1994), os efeitos ergogênicos dos lipídeos podem ser dose-dependentes, assim como podem estar relacionados com o tipo de gordura fornecido pela dieta.

Segundo NEWSHOLME (1996), um aumento do consumo de gordura pela dieta durante o exercício só aumentaria a mobilização e oxidação dos ácidos graxos se houvesse conjuntamente um baixo consumo de carboidratos. A reposição de carboidratos pela dieta leva à redução da concentração plasmática de ácidos graxos e com isso ocorre uma menor mobilização a partir de tecido adiposo e uma maior captação pelo fígado, ocasionando uma maior utilização de glicose pelo músculo.

Diante desse mecanismo, a perda de peso só aconteceria quando a dieta apresentasse altas quantidades de gordura em detrimento acentuado de carboidrato, podendo assim levar à mobilização dos ácidos graxos.

A eficácia do exercício aeróbio na perda de peso pelo aumento no número e na atividade das mitocôndrias tem sido contrastada em outros estudos. STICH et al (2000) demonstraram que, trabalhos aeróbios intermitentes (com períodos de repouso semelhantes entre uma sessão e outra) são mais eficientes na mobilização dos ácidos graxos que uma sessão única de esforço físico, como o utilizado no protocolo do nosso estudo.

Dessa forma, o que pode ter ocorrido, de acordo com ROMIJN et al (1993) é que a lipólise e conseqüente liberação de ácidos graxos para a circulação é mais elevada durante exercícios de baixa intensidade. No entanto, a hipótese de maior oxidação de triglicerídeos intramusculares durante o exercício e não daqueles armazenados nos adipócitos refletem elevada lipólise desses triglicerídeos com o aumento da intensidade do exercício (ROMIJN, 2000). Portanto, pode-se supor que para efeito de redução de peso seria necessário um exercício de intensidade moderada e um maior tempo de duração.

Com relação aos resultados do consumo alimentar, verificou-se diferenças significativas entre os grupos sedentários (NS e HS) e os grupos exercitados (NE e HE). Houve diminuição significativa nos grupos HE e HS em relação aos respectivos normolipídicos (NE e NS), apontando a dieta hiperlipídica como fator responsável pela redução do consumo alimentar.

Em nosso estudo, também houve diferença significativa entre os grupos normolipídicos (NS e NE), em que o grupo NE apresentou menor consumo alimentar que o grupo NS. Os dados de BERNARDES et al (2004) observaram, contrariamente, que o treinamento de natação promoveu diminuição significativa do consumo alimentar somente para os animais que receberam dieta hipercalórica. A partir dos nossos resultados, verificou-se que o exercício físico teve influência sobre o consumo alimentar, no entanto, apenas nos animais que consumiram dieta normolipídica.

A diferença estatisticamente significativa de consumo alimentar nos grupos estudados sugere aumento da saciedade naqueles que consumiram dieta rica em gordura (HS e HE) e no grupo com dieta normolipídica e treinado (NE).

Esses achados assemelham-se a estudos prévios, indicando que dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados têm alta eficiência e reduzem, assim, a ingestão alimentar (GAÍVA et al, 2001).

Com relação à redução do consumo e a prática de exercício físico entre os animais com dieta normolipídica, existem vários dados controversos. A contribuição da duração e da intensidade dos exercícios no aumento ou redução do apetite ainda é inconclusiva.

Parece natural que a queima de energia leve a uma maior carência por alimentos. Entretanto, um estudo com roedores mostrou que nos animais, a sessão aguda de exercícios potencializa o efeito dos hormônios leptina e insulina no hipotálamo, o qual é responsável pelo controle da fome (FLORES et al, 2006). Segundo FLORES et al (2006), os resultados indicam que o exercício físico interfere diretamente no hipotálamo e no controle do apetite. A elevação da leptina e da insulina durante o exercício físico levam à diminuição do apetite por serem hormônios anorexigênicos e estão relacionados portanto com o controle do peso corporal.

FLORES et al (2006) observou ainda que o exercício modula a ingestão alimentar devido às ações da interleucina 6 (IL-6), que é liberada pelo músculo em contração e interage com as “substâncias” do hipotálamo dos animais, potencializando suas ações.

A partir do exposto sobre consumo alimentar, pode-se sugerir como alternativa benéfica de perda de peso, uma dieta equilibrada normolipídica e a prática de exercício aeróbio moderado e contínuo com o objetivo de aumentar a saciedade.

Com relação aos níveis séricos de colesterol total, foram verificadas diferenças não-significativas entre os grupos analisados. Observou-se uma elevação, apesar de não-significativa, nos grupos exercitados em comparação com os grupos sedentários.

BERNARDES et al (2004) também verificaram aumento da concentração de colesterol total entre grupos treinados com natação em relação aos sedentários, ambos alimentados com dieta hipercalórica. Eles relatam que a constante utilização de gordura como substrato energético pode acelerar a sua biossíntese (HANSON et al, 1967).

Entretanto, QUILES et al (2003) mostraram que o exercício físico concomitante ao consumo de dieta composta de fonte lipídica monoinsaturada, como óleo de oliva, reduz os níveis de colesterol plasmáticos.

Foi observada também a redução dos níveis séricos de colesterol, ainda que não-significativa, nos grupos hiperlipídicos em relação aos normolipídicos com a mesma situação de exercício ou sedentarismo (HS x NS e HE x NE).

MORAIS et al (2003) observaram uma redução significativa dos níveis de colesterol quando o nível de lipídios da dieta passou de 7 para 14%. CHAMPE & HARVEY (2000) relatam que o nível de colesterol é moderadamente reduzido quando dietas pobres em colesterol são consumidas.

Essa ligeira redução dos níveis de colesterol entre os grupos hiperlipídicos, apesar de não ter sido fornecido fontes de colesterol pela dieta, pode ter ocorrido também por mecanismos atribuídos ao alto consumo de ácidos graxos poliinsaturados. Sabe-se que os ácidos graxos poliinsaturados, se comparados com gordura saturada em dietas experimentais, induzem um grande acúmulo de colesterol hepático, principalmente na forma de éster de colesterol.

Simultaneamente, ocorre aumento da razão da atividade de acil-coenzima A/colesterol aciltransferase, função atribuída aos ácidos graxos n-6. Esses ácidos graxos também favorecem o aumento da razão entre síntese de ácidos biliares e remoção de quilomícrons remanescentes do sangue. A alta concentração de éster de colesterol leva à diminuição da concentração de colesterol livre no fígado e conseqüentemente ocorre aumento na síntese de receptores de LDL e redução dos níveis séricos de colesterol (ELLIS et al, 2002).

Essa ação poderia sugerir que apesar de não ter sido observado diferenças significativas nos níveis séricos de colesterol, os níveis hepáticos poderiam estar aumentados em decorrência do consumo de dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados.

Os resultados de HDL-colesterol apresentaram-se semelhantes em ambos os tipos de dietas fornecidas, dados corroborados pelo estudo de MORAIS et al (2003). Eles observaram diferenças não-significativas nos animais alimentados com dieta normolipídica à base de óleo de soja, com teores iguais aos utilizados no presente estudo. No entanto, os animais que consumiram a dieta hiperlipídica tiveram aumento dos níveis de HDL-colesterol, o que não foi observado em nosso estudo.

Foi verificado que as diferenças significativas ocorreram apenas nos animais com dieta normolipídica, contrariando o que cita KATAN (1998), que também sugere que a fração HDL-colesterol relaciona-se proporcionalmente ao conteúdo de gordura da dieta.

O exercício físico mostrou-se eficaz em elevar os níveis de HDL-c, corroborando com os achados de BERNARDES et al (2004) e COUILLARD et al (2001). A diferença significativa dos níveis de HDL-c entre os grupos NS e NE

($p=0,0025$), apontaram que o grupo exercitado (NE) apresentou níveis de HDL-c mais elevados que o grupo sedentário (NS).

É bem estabelecido que o exercício físico favorece o aumento dos níveis da lipoproteína HDL-colesterol. Isso se faz importante devido ao fato de a HDL-c ser a única lipoproteína capaz de realizar o transporte reverso do colesterol, retirando o excesso de colesterol livre não só de membranas celulares como do próprio subendotélio e transportando até o fígado para ser degradado (SHILS et al, 2005).

O aumento da concentração das HDL foi observado em função da freqüência e intensidade do exercício aeróbio (COUILLARD et al, 2001; KRAUS et al, 2002). Tal evento advém do estímulo à lipoproteína lipase, considerando-se que a geração de partículas de HDL é um processo inerente ao metabolismo das lipoproteínas ricas em triglicérides (DESPRES et al, 1999), bem como da redução no catabolismo da apolipoproteína A-I e diminuição da atividade da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) (FERGUNSON et al, 1998).

No entanto, o papel do exercício sobre a elevação da concentração plasmática de HDL parece estar condicionado a diversos fatores, tais como: melhora na resistência à insulina, redução de peso corporal e trigliceridemia, sexo, idade, perfil lipídico prévio e polimorfismos genéticos de enzimas e proteínas envolvidas no metabolismo das HDL (ARDERN et al, 2004). Tais fatores são responsáveis pela grande variabilidade da resposta do HDL colesterol frente ao exercício físico.

Os níveis séricos de triglicérides apresentaram diferenças significativas apenas entre os grupos NS e HE. A diferença significativa observada apenas

entre esses grupos pode ter ocorrido devido às características díspares desses grupos, em que as condições de dieta e exercício são inteiramente distintas.

Não houve diferenças significantes entre os grupos normolipídicos e hiperlipídicos, apesar de os grupos normolipídicos apresentarem teores absolutos de triglicérides maiores que os grupos hiperlipídicos.

JEN et al (2003), ao estudar diferentes dietas hiperlipídicas, também observaram diferenças não-significativas nos níveis séricos de triglicérides no grupo com dieta normolipídica e no grupo com dieta hiperlipídica, num experimento com duração de 6 semanas.

MORAIS et al (2003) atribuem o fato de maiores níveis de triglicérides entre os normolipídicos, devido ao aumento dos níveis de ácido linoléico e α -linolênico na dieta, os quais têm apresentado efeitos hipotrigliceridêmicos e se fazem presentes no óleo de soja, o que também foi verificado por NEVES (1997).

JONG (1996), quando aumentou a concentração de 7% para 30% de lipídeos insaturados na dieta, também observou redução nos níveis de triacilgliceróis. Os resultados relacionando alto consumo de ácidos graxos poliinsaturados e benefícios em diversas situações patológicas, como já mencionado nesse trabalho, ainda apontam controvérsias. Portanto, dizer que o consumo de 30% de ácidos graxos insaturados traz benefícios potenciais por apresentar efeitos hipotrigliceridêmicos é inadequado, podendo comprometer outras funções metabólicas como o acúmulo hepático de gordura e o aumento da peroxidação lipídica.

Nota-se ainda que o exercício físico não foi capaz de reduzir significativamente os níveis séricos de triglicérides tanto nos animais com dieta

normocalórica (NS x NE) quanto nos animais com dieta hipercalórica (HS x HE), ainda que, em valores absolutos, essa redução tenha acontecido.

STRACZKOWSKI et al (2001) observaram, contrariamente, que o treinamento físico em ratos, favoreceu a melhora dos níveis séricos de triglicerídeos. No entanto, não previne o acúmulo hepático de lipídeos advindos de uma dieta hiperlipídica. Sugere-se que esses efeitos se devem à função dos PUFAs n-3 de reduzir a liberação hepática de VLDL, reduzindo concomitantemente a apoproteína B e a proteína transportadora de triacilglicerol microsomal. Essa redução leva ao aumento dos níveis de colesterol e triglicerídeos no fígado (ZHENG et al, 2001; BOTHAM et al, 2001).

Contrariamente aos resultados encontrados no presente estudo, QUILES et al (2003) observaram, a partir de estudos em ratos treinados com corrida em esteira - 65 a 70% do máximo consumo de oxigênio - que uma menor intensidade de exercício é insuficiente para reduzir os níveis séricos de triglicérides.

Considera-se, portanto, que o treinamento moderado de natação utilizado, que apresenta 25 a 65% do máximo consumo de oxigênio, não seria capaz de apresentar efeitos hipotrigliceridêmicos nos animais experimentais.

O peso dos fígados dos grupos experimentais mostraram-se semelhantes, com diferenças não-significativas, contrastando com os dados de GAÍVA et al (2003), onde ratos alimentados com dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados advindos da combinação de óleo de soja e óleo de peixe apresentaram maior peso do fígado que ratos alimentados com dietas que tinham como fonte lipídica apenas o óleo de soja ou o óleo de peixe.

A peroxidação lipídica é freqüentemente usada como um indicador do estresse oxidativo resultante do ataque dos radicais livres sobre a membrana

celular. Entretanto, vários fatores podem influenciar a peroxidação lipídica depois do consumo de ácidos graxos insaturados, incluindo as atividades das enzimas antioxidantes (VENKATRAMAN et al, 1998).

A análise de peroxidação lipídica foi determinada pela formação de malondialdeído (MDA), um produto secundário da oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados, através do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Esse método é comumente usado na prática clínica para mensurar o nível de estresse oxidativo devido à sua simplicidade e sensibilidade (JANERO, 1990; HALLIWELL & CHIRICO, 1993).

Observou-se que os níveis de MDA foram estatisticamente diferentes entre os grupos que receberam dieta normolipídica (NS e NE) em comparação com aqueles que receberam dieta hiperlipídica (HS e HE).

Pode-se verificar que a dieta hiperlipídica potencializou os níveis de MDA, não levando em consideração a variável exercício. Sugere-se que o maior grau de insaturação da dieta hiperlipídica tenha influenciado na elevação da produção desses metabólitos do estresse oxidativo (WAGNER et al, 1994).

O consumo aumentado de ácidos graxos poliinsaturados sem uma proteção antioxidante adequada favorece a peroxidação lipídica *in vivo*. A minimização desses riscos só acontece a partir da utilização de níveis apropriados de antioxidantes (MEYDANI, 1996).

A diferença significativa desse parâmetro para a variável exercício só ocorreu entre os grupos que se alimentaram com dieta normolipídica. O exercício físico moderado imposto aos animais levou à redução dos níveis de MDA em relação aos sedentários (NS x NE).

Pode-se sugerir que entre os animais que consumiram dieta hiperlipídica e foram expostos ao treinamento físico, o acúmulo de agentes oxidantes (alto grau lipídico da dieta e exercício físico) preponderou sobre os níveis de estresse oxidativo avaliados a partir do malondialdeído.

JORDÃO JR. et al (1998) descrevem que quando existe maior ocorrência de eventos oxidativos, o sistema tende para o lado pró-oxidativo, o que pode afetar os níveis de antioxidantes, tendo, como resultado final, o dano oxidativo em lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos. A severidade deste processo pode levar à morte celular.

Estudos têm demonstrado níveis elevados de peróxidos lipídicos advindos de atividades físicas agudas em indivíduos treinados e não treinados (KANTER et al, 1993) e em animais com atividade física contínua (DAVIES et al, 1982).

Segundo VIÑA et al (2000), o grau de estresse oxidativo não depende da intensidade absoluta do exercício, mas do grau de exaustão do indivíduo ou animal que realiza o exercício, ou seja, depende do grau de exposição a um maior fluxo de oxigênio.

Entretanto, estudos ainda relacionam a intensidade do exercício com o grau de estresse. KAYATEKIN et al (2002) verificaram que o exercício intenso de curta duração (*sprint*) não modificou o nível de TBARS hepáticas.

LEAF et al (1997) sugerem que em indivíduos saudáveis, o exercício físico induz a peroxidação lipídica transitoriamente e que existe remoção dos produtos da lipoperoxidação durante a fase de recuperação, ocorrendo adaptação das atividades das enzimas antioxidantes.

O processo de peroxidação lipídica pode causar modificações em alguns aminoácidos como triptofano, cisteína, histidina e tirosina, responsáveis pela

formação de algumas proteínas, gerando doenças mutagênicas. O resíduo de triptofano, quando atacado por espécies radicalares, perde o grupamento aromático e conseqüentemente não participa mais no processo bioquímico normal. Assim, a manutenção dos níveis de glutathiona pode fornecer importantes informações bioquímicas do balanço oxidante-antioxidante no organismo (LEAF et al, 1997).

A glutathiona (GSH), parâmetro utilizado para avaliar o sistema de defesa antioxidante dos animais, apresentou-se significativamente diferente entre os grupos sedentários e exercitados. Nos grupos treinados, os níveis de GSH foram mais altos em relação aos sedentários com a mesma dieta (NE x NS e HE x HS).

Para proteger as células contra o estresse oxidativo provocado pelo exercício físico intenso, as enzimas antioxidantes (superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e GPX) parecem responder de maneira adaptativa, elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de animais e humanos treinados, semelhante ao que foi verificado em nosso estudo. Entretanto, esta adaptação parece ser insuficiente para proteger do estresse oxidativo quando provocado por exercício físico intenso (PEREIRA, 1994).

O trabalho de VENDITTI & DI MEO (1997), com ratos adultos submetidos a um programa de treinamento regular de natação com duração de um ano, comprovou a hipótese de que tal treinamento prolonga a capacidade de resistência aeróbia e aumenta as defesas antioxidantes, limitando assim o dano tecidual causado por radicais livres.

É bem estabelecido que o exercício físico regular aumenta a atividade da GPx, necessitando, portanto de maiores quantidades do substrato GSH. No entanto, foi proposto por MARGARITIS et al (1997) que a magnitude da melhora

do sistema de defesa antioxidante depende das cargas de treinamento, sendo que quanto mais alto o consumo máximo de oxigênio, mais alta é a atividade da enzima antioxidante GPx, protegendo o organismo do dano à membrana celular.

Ao observar os níveis de GSH levando em consideração a variável dieta, verificou-se que os animais com dieta hiperlipídica apresentaram níveis significativamente menores tanto entre os sedentários quanto entre os exercitados quando comparados aos animais que consumiram dieta normolipídica com a mesma situação de exercício ou sedentarismo (HS x NS e HE x NE).

As concentrações baixas de GSH entre os animais hiperlipídicos podem estar associadas a maior risco de estresse oxidativo. Esse decréscimo de GSH pode refletir o aumento na produção de antioxidantes para combater o maior grau de estresse oxidativo, como demonstrado pelos altos níveis de MDA nesses animais. Entretanto, a alta produção de glutathiona peroxidase e das outras enzimas que a utilizam como substrato, excederia a capacidade de detoxificação do GSH, permanecendo na forma oxidada e não sendo novamente reduzida (UHLIG & WENDEL, 1992).

Em situações em que o sistema de óxido-redução está íntegro, há recuperação da GSH. Entretanto, sob condições de excesso de agentes oxidantes, como a prática contínua de exercício físico intenso e o consumo de dieta hiperlipídica, e/ou deficiência do sistema protetor, pode ocorrer desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de GSSG (JORDÃO JR. et al, 1998).

Ao expor alguns tecidos, cronicamente, a um elevado estresse oxidativo, pode ocorrer uma adaptação das defesas antioxidantes, especialmente da atividade enzimática. De acordo com JENKINS (1988) e JI et al (1992), o

exercício físico promove um aumento das defesas antioxidantes, incluindo a SOD, CAT e GPx na musculatura esquelética e fígado.

Observou-se, em nosso estudo, que o exercício físico aeróbio de intensidade moderada potencializou o funcionamento antioxidante endógeno observado pelos níveis significativamente maiores de GSH entre os animais com dieta normolipídica e hiperlipídica. Isso era esperado, visto que, durante o exercício as enzimas antioxidantes têm suas atividades aumentadas a fim de combaterem o maior nível de estresse oxidativo facilitado pela exposição contínua ao exercício físico.

No entanto, ao comparar os níveis de MDA e GSH, observa-se que o sistema antioxidante foi estatisticamente eficaz na redução do estresse oxidativo apenas entre os animais que consumiram dieta normolipídica.

As controvérsias sobre os efeitos do exercício sobre a capacidade antioxidante hepática são inúmeras (ALESSIO & GOLDFARB, 1988; JI, 1993), provavelmente, devido às diferentes intensidades e durações dos protocolos de exercício.

6 CONCLUSÕES

- O consumo elevado de ácidos graxos n-6, advindos do óleo de soja, pode ter influenciado na não-redução do peso dos animais hiperlipídicos exercitados. Tem sido reportado que os PUFA n-6 induzem maior ganho de peso, aumentando o número de células de gordura e ampliando as atividades das enzimas hepáticas lipogênicas.
- Os efeitos ergogênicos vinculados à dieta hiperlipídica não foram evidenciados. O tipo do exercício utilizado, a intensidade e o tempo podem ter sido os fatores que interferiram nessa inalteração de peso nos animais. Essas características de ergogenicidade e conseqüente função de desempenho e perda de peso só aconteceria se a dieta apresentasse altas quantidades de gordura em detrimento acentuado de carboidrato por um longo período de tempo, levando assim à mobilização dos ácidos graxos. Pode-se propor ainda que para efeito de redução de peso seria necessário um exercício de intensidade moderada e um maior tempo de duração e exposição ao exercício.
- A redução significativa do consumo alimentar entre os animais normolipídicos exercitados possibilita propor, como alternativa benéfica de perda de peso, uma dieta equilibrada normolipídica e a prática de exercício aeróbio moderado e contínuo com o objetivo de aumentar a saciedade.

- Os mecanismos hipocolesterolêmicos atribuídos aos PUFAs foram detectados a partir da ligeira redução dos níveis de colesterol entre os grupos hiperlipídicos, apesar de não ter sido fornecido fontes de colesterol pela dieta.
- Essa ação poderia sugerir que apesar de não ter sido observado diferenças significativas nos níveis séricos de colesterol, os níveis hepáticos poderiam estar aumentados em decorrência do consumo de dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados.
- A semelhança dos níveis de triglicérides entre os grupos expõe os efeitos hipotrigliceridêmicos dos PUFAs. A interação dieta hiperlipídica – exercício, entretanto, não foi capaz de reduzir os níveis séricos de triglicérides em comparação com os sedentários. Considera-se, portanto, que o treinamento moderado de natação utilizado - 25 a 65% do máximo consumo de oxigênio - não seria capaz de apresentar efeitos hipotrigliceridêmicos nos animais experimentais.
- O aumento significativo de HDL-colesterol com a prática de exercício físico só é válido quando o indivíduo consome dieta normolipídica em relação ao nossos resultados.
- A dieta hiperlipídica composta de quantidades elevadas de ácidos graxos poliinsaturados facilitou o aparecimento do estresse oxidativo. A prática de exercício físico aeróbio de intensidade moderada propiciou a redução do

malondialdeído apenas entre os animais que consumiram dieta normolipídica. Entretanto, o exercício físico aeróbio de intensidade moderada potencializou o funcionamento antioxidante endógeno.

- O sistema antioxidante foi estatisticamente eficaz na redução do estresse oxidativo apenas entre os animais que consumiram dieta normolipídica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aikawa J. Efeito da suplementação com óleo de peixe sobre a caquexia, o crescimento tumoral e o sistema imunitário em ratos F2. [Dissertação de Mestrado em Biologia Celular e Molecular]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná, 2004.

Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 1993; 25(2):218-24.

Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 1974; 20(4):470-5.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official Methods of Analysis.* 16th.ed, 1995.

Ardern CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, Leon AS, Wilmore JH, Skinner JS, et al. Race and sex similarities in exercise-induced changes in blood lipids and fatness. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(9):1610-5.

Atalay M, Laaksonen DE, Khanna S, Kaliste-Korhonen E, Hanninen O, Sen CK. Vitamin E regulates changes in tissue antioxidants induced by fish oil and acute exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32(3):601-7.

Austin MA. Epidemiology of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 1999; 83(9B):13F-16F.

Balcão VM, Kempinm A, Malcata FX, Kalo PJ. Modification of butterfat by selective hydrolysis and interesterification by lipase: Process and product characterization. *J Am Oil Chem Soc.* 1998; 75(10):1347-58.

Baldwin AS, Jr. The NF-kappa B and I kappa B proteins: New discoveries and insights. *Annu Rev Immunol.* 1996; 14:649-83.

Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med.* 1997; 336(15):1066-71.

Bartsch H, Nair J, Owen RW. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis* 1999; 20(12): 2209-18.

Bell RR, Spencer MJ, Sherriff JL. Voluntary exercise and monounsaturated canola oil reduce fat gain in mice fed diets high in fat. *J Nutr.* 1997; 127(10):2006-10.

Bernardes D, Manzoni MSJ, Sousa CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Rev Bras Educ Fis Esp.* 2004; 18:191-200.

Berkow R. Manual Merck de Medicina: Diagnóstico e tratamento. São Paulo: Roca, 1989.

Bligh EG, Dyer WJ. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37(8):911-7.

Botham KM, Maldonado EN, Chico Y, Zheng X, Avella M, Ochoa B. The influence of chylomicron remnants on cholesteryl ester metabolism in cultured rat hepatocytes: comparison of the effects of particles enriched in n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta.* 2001; 1534(2-3):96-109.

Brooks GA, Fahey TD, White TP, Baldwin KM. *Exercise physiology. Human bioenergetics and its applications*, 3ed. Mountain View, California: Mayfield Publishing Company, 1999.

Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414:813–820.

Buege JA, Aust SD. Microsomal Lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52:302-10.

Calder PC. N-3 polynsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fish tale? *Nutr Res.* 2001; 21(1-2): 309-341.

Calder PC. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potencial application in surgical and trauma patients. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36(4): 433-46.

Calder PC, Deckelbaum RJ. Fats in the new millennium: more complexity but understanding? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001; 4(2): 89-91.

Calderón RO, Glocker MT, Eynard AR. Lipids and fatty acid composition of different fractions from rat urinary transitional epithelium. *Lipids* 1998; 33(10):1017-22.

Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW Jr. Body mass index and mortality in a prospective cohort of US adults. *N Engl J Med.* 1999; 341(15): 1097-105.

Carneiro G, Faria AN, Ribeiro Filho FF, Guimarães A, Lerário D, Ferreira SRG et al. Influence of body fat distribution on the prevalence of arterial hypertension and other cardiovascular risk factors in obese patients. *Rev Assoc Med Bras* 2003; 49(3): 306-311.

Carvalho PO, Campos PRB, Noffs MA, Oliveira JG, Shimizu JT, Silva DM. Aplicação de Lipases Microbianas na Obtenção de Concentrados de Ácidos Graxos Poliinsaturados. *Quim Nova* 2003; 26(1): 75-80.

Champe PC, Harvey RA. *Bioquímica ilustrada*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 446 p.

Chen N, Appell M, Berfield JL, Reith MEA. Inhibition by arachidonic acid and other fatty acids of dopamine uptake at the human dopamine transporter. *Eur J Pharmacol.* 2003; 478 (2-3): 89– 95.

Cheng B, Karamizerak O, Noakes TD, Dennis SC, Lambert EV. Time course of changes in muscle enzymes involved in fat oxidation following exercise training and a high fat diet. *Clin Sci.* 1994;87(Supplement).

Cleary MP, Phillips FC, Morton RA. Genotype and diet effects in lean and obese Zucker rats fed either safflower or coconut oil diets. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999; 220(3):153-61.

COBEA. Princípios éticos na experimentação animal. Disponível em : <http://www.cobea.org.br/>. Acesso em outubro de 2004.

Costa RP, Silva CC. Doenças Cardiovasculares. In: Cuppari L. Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar / Nutrição Clínica no Adulto. Barueri: Manole, 2002. p.263-88.

Couillard C, Despres JP, Lamarche B, Bergeron J, Gagnon J, Leon AS, et al. Effects of endurance exercise training on plasma HDL cholesterol levels depend on levels of triglycerides: evidence from men of the health risk factors, exercise training and genetics (HERITAGE) family study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(7):1226-32.

Coyle EE. Fat metabolism during exercise. *Gatorade Sport Science Exchange.* 1995; 8:1-6.

Coyle EF. Metabolismo lipídico durante o exercício. *Sports Science Exchange* 1997;15:20-6.

Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procópio JM. Entendendo a Gordura - Os Ácidos Graxos. Barueri: Manole, 2002. 580p.

Curi R, Lagranha CJ, Hirabara SM, Folador A, Tchaikovski Jr O, Fernandes LC et al. Uma etapa limitante para a oxidação de ácidos graxos durante o exercício aeróbio: o ciclo de Krebs. *R. Bras. Ci. e Mov.* 2003; 11(2):87-94.

Damaso A. *Nutrição e Exercício na Prevenção de Doenças.* São Paulo: Medsi, 2001. 433p.

Davies KJA, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982; 107(4):1198-205.

DeLany J, Windhauser M, Champagne C, Bray G. Differential oxidation of individual dietary fat acids in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(4):905–11.

Despres JP, Gagnon J, Bergeron J, Couillard C, Leon AS, Rao DC, et al. Plasma post-heparin lipase activities in the HERITAGE Family Study: the reproducibility, gender differences, and associations with lipoprotein levels. *Health, Risk factors, exercise Training and Genetics. Clin Biochem.* 1999; 32(3):157-65.

Dommels YEM, Alink GM, Bladeren PJ, Ommen B. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis: results from cultured colon cells, animal models and human studies. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2002; 12(4): 233-44.

Doyle EI, Feldman RHL. Factors affecting nutrition behavior among middle-class adolescents in urban area of Northern region of Brazil. *Rev Saúde Pública* 1997; 31(4): 342-50.

Durak, I, Akyol O, Basesme E, Canbolat O, Kavutcum M. Reduced erythrocyte defense mechanism against free radical toxicity in patients with chronic renal failure. *Nephron.* 1994; 66(1): 76-80.

Ellis J, Lake A, Hoover-Plow J. Monounsaturated canola oil reduces fat deposition in growing female rats fed a high or low fat diet. *Nutr Res.* 2002; 22:609-21.

Facioli NL, Barrera AD. Optimization of enzymatic sterification of soybean oil deodorizer distillate. *J Sci Food Agric.* 2001; 81(12):1193–1198.

Faria EA, Leles MIG, Ionashiro M, Zuppa TO, Antoniosi Filho NR. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. *Eclet Quím.* 2002; 27:111-19.

Feoli AM, Roehrig C, Rotta LN, Kruger AH, Souza KB, Kessler AM, et al. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. *Nutrition* 2003; 19(9):789-93.

Ferguson MA, Alderson NL, Trost SG, Essig DA, Burke JR, Durstine JL. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. *J Appl Physiol.* 1998; 85(3):1169-74.

Fisberg RM, Villar BS, Colucci ACA, Philippi ST. Alimentação Equilibrada na Promoção da Saúde. In: Cuppari L. *Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar / Nutrição Clínica no Adulto.* Barueri: Manole, 2002. p.47-54.

Flores MBS; Fernandes MF; Ropelle E; Faria MC; Ueno M; Velloso LA. et al . Exercise improves insulin and leptin sensitivity in hypothalamus of wistar rats. *Diabetes* 2006; 55(9): 2254-61.

Fossati P. Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem.* 1982; 28(10):2077-80.

Fuster V, Gotto AM, Libby P, Loscalzo J, McGill HC. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. Task Force 1. Pathogenesis of coronary disease: the biologic role of risk factors. *J Am Coll Cardiol*. 1996; 27(5):964-76.

Gaíva MHG, Couto RC, Oyama LM, Couto GE, Silveira VL, Ribeiro EB, et al. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. *Br J Nutr*. 2001;86(3):371-7.

Gaíva MH, Couto RC, Oyama LM, Couto GEC, Silveira VLF, Ribeiro EB, et al. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. *Nutr*. 2003; 19(2):144-9.

Gibson RA. Docosa-hexaenoic acid (DHA) accumulation is regulated by the polyunsaturated fat content of the diet: Is it synthesis or is it incorporation? *Asia Pac J Clin Nutr*. 2004; 13(Suppl):S78.

Gleeson M, Waring J. Influence of diet on the storage, mobilization and utilization of energy reserves in trained and untrained rats. *Comp Biochem Physiol*. 1986; 85(3):411-5.

Goldfarb AH. Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol*. 1999; 24(3): 249-66.

Guyton AC & Hall JE. *Tratado de fisiologia médica*. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014 p.

Hall JE. Pathophysiology of obesity hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2000; 2:139-47.

Halliwel B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.*, 1 ed., 1987, p. 358-364.

Halliwel B, Gutteridge JMC. *Free radical in biology and medicine*. 2nd ed. New York: Clarendon Press; 1991. p.198.

Halliwel B, Chirico S. Lipid peroxidation: is mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57(5Suppl):715S-24S.

Hanson DL, Lorenzen JA, Morris AE, Ahrens RA, Wilson JE Jr. Effects of fat intake and exercise on serum cholesterol and body composition of rats. *Am J Physiol*. 1967;213(2):347-52.

Hill JO, Lin D, Yakubu F, Peters JC. Development of dietary obesity in rats: Influence of amount and composition of dietary fat. *Int J Obes*. 1992;16(5):321-33.

Hill J, Peters J, Lin D, Yakubu F, Greene H, Swift L. Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1993; 17(4):223-36.

Hill JO, Melanson EL, Wyatt HT. Dietary fat intake and regulation of energy balance: implications for obesity. *J Nutr.* 2000; 130(2S Suppl):284S-8S.

Honn KV, Tang D, Grossi I, Duniec ZM, Timar J, Renaud C, et al. Tumor cell-derived 12(s)- hydroxyeicosatetraenoic acid induces microvascular endothelial cell retraction. *Cancer Res.* 1994; 54(2):565–74.

Hornstra G. Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. *Eur J Sci Lipids Technol.* 2001; 103:3379-89.

Howard, J. A.; *Free Radicals*. Wiley-Interscience: New York, 1973, p. 3.

Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222(3):222–35.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares (Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil). Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 22 jun. 2005.

Ikeda I, Cha JY, Yanagita T, Nakatani N, Oogami K, Imaizumi K, et al. Effects of dietary α -linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on hepatic lipogenesis and β -oxidation in rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1998; 62(4): 675-80.

Ikemoto S, Takahashi M, Tsunoda N, Maruyama K, Itakura H, Ezaki O. High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: Differential effects of dietary oils. *Metabolism* 1996;45(12):1539-46.

Ikemoto A, Ohishi M, Sato Y, Hata N, Misawa Y, Fujii Y, Okuyama H. Reversibility of n-3 fatty acid deficiency-induced alterations of learning behavior in the rat: level of n-6 fatty acids as another critical factor. *J. Lipid Res.* 2001; 42(10): 1655–63.

Iritani N, Komiya M, Fukuda H, Sugimoto T. Lipogenic enzyme gene expression is quickly suppressed in rats by a small amount of exogenous polyunsaturated fatty acids. *J Nutr.*1998; 128(6): 967-72.

Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9(6):515-40.

Jen KLC, Buison A, Pellizzon M, Ordiz Jr. F, Ana LS, Brown J. Differential Effects of Fatty Acids and Exercise on Body Weight Regulation and Metabolism in Female Wistar Rats. *Exp Biol Med.* 2003; 228(7):843-9.

Jenkins RR. Free radical chemistry relationship to exercise. *Sports Med* 1988; 5(3):156-70.

Ji LL, Fu R, Mitchell EW. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol.* 1992; 73(5):1854-9.

Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc.* 1993; 25(2):225-31.

Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. Oxidative stress, inflammation and diabetic vasculopathies: the role of alpha tocopherol therapy. *Free Radic Res.* 2002; 36(12):1331-36.

Jong EV. Influência de dietas normo e hiperlipídicas sobre o perfil nutricional, parâmetros bioquímicos séricos e estruturais de ratos Wistar. 1996. 140f. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

Jordão Jr AA, Chiarello PG, Bernardes MSM, Vanucchi H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutathione reduzida e da vitamina E. *Medicina, Ribeirão Preto* 1998; 31: 434-49.

Jump DB. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem.* 2002; 277(11):8755-8.

Katan MB. Effect of low-fat diets on plasma high-density lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr.* 1998;67(3Suppl):573S-76S.

Kayatekin BM, Gonenc S, Acikgoz O, Uysal N, Dayi A. Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *Eur J Appl Physiol.* 2002; 87(2):141-4.

Kinsella JE. Food components with potential therapeutic benefits: the n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils. *Food Technol.* 1986; 40: 89-97.

Koury JC, Donangelo CM. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Rev Nutr.* 2003; 16(4):433-441.

Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med.* 2002; 347(19):1483-92.

LaBelle EF, Wilson K, Pilane C. Apoptosis in vascular smooth muscle accompanied by increases in arachidonic acid. *Adv Exp Med Biol.* 2002; 507: 433-437.

Lacosta S, Merali Z, Anisman H. Influence of interleukin- 1beta on exploratory behaviors, plasma ACTH, corticosterone, and central biogenic amines in mice. *Psychopharmacology* 1998; 137(4): 351-61.

Lancha Junior AH. Resistência ao esforço físico: efeito da suplementação nutricional de carnitina, aspartato e asparagina. [Dissertação de Mestrado em Educação Física]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo, 1991.

Lapachet R, Miller W, Arnall D. Body fat and exercise endurance in trained rats adapted to a high-fat and/or highcarbohydrate diet. *J Appl Physiol*. 1996;80:1173–9.

Lawson JA, Rokach J, FitzGerald GA. Isoprostanes: formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation in vivo. *J Biol Chem*. 1999; 274(35):24441-4.

Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med Sci Sports Exerc*. 1997; 29(8):1036-9.

Lehninger AL, Nelson DL, COX MM. *Lehninger: princípios de bioquímica*. 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975p.

Leik CE, Walsh SW. Neutrophils infiltrate resistance-sized vessels of subcutaneous fat in women with preeclampsia. *Hypertension*. 2004; 44(1):72–7.

Leyton J, Drury P, Crawford M. Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. *Br J Nutr*. 1987; 57(3):383–93.

Libby P, Plutzky J. Diabetic macrovascular disease. The glucose paradox? *Circulation*. 2002(22); 106:2760–63.

Loh MY, Flatt WD, Martin RJ, Hausman DB. Dietary fat type and level influence adiposity development in obese but not lean Zucker rats. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1998; 218(1):38-44.

Lombardo YB, Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans: a review. *J Nutr Biochem*. 2006;17(1):1-13.

Lu YF, Lu S. Influence of dietary fat saturation on lipid peroxidation of serum and low density lipoprotein in rats. *Nutr Res*. 2002; 22:463-72.

Mahan LK, Escott-Stump, S. *Krause alimentos, alimentação e dietoterapia*. 10^a ed. São Paulo: Roca, 2002. 1157p.

Margaritis I, Tessier F, M-J Richard, Marconnet P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int J Sports Med* 1997;18: 186-90.

Marnett LJ. Generation of mutagens during arachidonic acid metabolism. *Cancer Metastasis Rev* 1994; 13(3-4):303-8.

Marnett LJ, and Plataras JP. Endogenous DNA damage and mutation. *Trends Genet* 2001; 17(4):214-21.

McGrath LT, Douglas AF, McClean E, Brown JH, Doherty CC, Johnston GD et al. Oxidative stress and erythrocyte membrane fluidity in patients undergoing regular dialysis. *Clinica Chimica Acta*. 1995; 235(2): 179-88.

Meydani SN. Effect of (n-3) polyunsaturated fatty acids on cytokine production and their biologic function. *Nutrition*. 1996; 12 (Suppl):S8-14.

Miyasaka CK, Mancini J, Lajolo FM, Curi R. Implicações clínicas e nutricionais dos ácidos graxos poliinsaturados w-3 dos óleos de peixe. *Laes & Haes* 1996; 1(98): 68-75.

Mondini L, Monteiro CA. Mudanças no padrão de alimentação. In: *Velhos e Novos Males da Saúde no Brasil. A Evolução do País e de suas Doenças* (C. A. Monteiro, org.), pp. 79-89, São Paulo: Editora Hucitec/Núcleo de Pesquisas Epidemiológicas em Nutrição e Saúde, Universidade de São Paulo, 1995.

Morais CSN, Barcelos MFP, Sousa RV, Lima HM, Lima AL. Efeitos das fontes e níveis de lipídeos nas dietas de ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) sobre frações lipídicas do sangue. *Cienc Agrotec*. 2003;5:1082-88.

Moretto E & Fett, R. *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos*. São Paulo: Varela, 1998.

Murray RK, Granner DL, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper: Bioquímica* São Paulo: Atheneu, 2002. 919p.

Navarro J, Obrador E, Carretero J, Petschen I, Avino J, Perez P, et al. Changes in glutathione status and the antioxidant system in blood and in cancer cells associate with tumour growth in vivo. *Free Rad. Biol. Med*. 1999; 26(3-4); 410-8.

NCEP 2001. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Journal of American Medical Association*. 2001; 285:2486-96.

Neves NM. *Nutrição e doença cardiovascular*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 477p.

Newsholme EA, Leech AR. *Biochemistry for the Medical Sciences*. New York: John Wiley & Sons, 1983.

Newsholme EA. An introduction to the roles of the glucose-fatty acid cycle in sustained exercise. In: Maughan RJ, Shirreffs SM, editors. *Biochemistry of exercise IX*, Human Kinetics Publishers: Champaign, 1996.

Nieto N, Torres MI, Ríos A, Gil A. Dietary polyunsaturated fatty acids improve histological and biochemical alterations in rats with experimental ulcerative colitis. *J Nutr*. 2002; 132(1):1-9.

Ongajooth L, Ongajyooth S, Likidlilid A, Chantachum Y, Shayakul C, Nilwarangkur S. Role of lipid peroxidation, trace elements and antioxidant enzymes in chronic renal disease patients. *J Med Assoc Thailand*. 1996; 79(12):791- 800.

Panzetta O, Cominacini L, Garbin U, Fratta PA, Gammara L, Bianco F et al. Increased susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients on maintenance hemodialysis: effects of fish oil and vitamin E administration. *Clinical Nephrology*. 1995; 44(5):303-09.

Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, Dargere D, Parfait B, Vidaud M, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2001; 34(4Pt1): 738–44.

Park EI, Paisley EA, Mangian HJ, Swartz DA, Wu M, O'Morchoe, PJ. et al. Lipid level and type alter stearyl CoA desaturase mRNA abundance differently in mice with distinct susceptibilities to diet-influenced diseases. *J Nutr*. 1997; 127(4):566-73.

Pasqualini ME, Berraa MA, Calderon RO, Cremonezia DC, Giraudob C, Eynarda AR. Dietary lipids modulate eicosanoid release and apoptosis of cells of a murine lung alveolar carcinoma. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 72(4):235–40.

Pellizzon M, Buisson A, Ordiz F, Jr LSA, Jen KLC. Effects of Dietary Fatty Acids and Exercise on Body-Weight Regulation and Metabolism in Rats. *Obes Res*. 2002; 10(9):947-55.

Pereira, B. Exercício físico como pró-oxidante. *Rev. Paul. Ed. Fís*. 1994; 8:77-89.

Proença CR. Desafios Contemporâneos com Relação a Alimentação Humana. *Nutrição em Pauta* 2002; 10(52):32-36.

Quiles JL, Huertas JR, Ochoa JJ, Battino M, Mataix J, Manàs M. Dietary Fat (Virgin Olive Oil or Sunflower Oil) and Physical Training Interactions on Blood Lipids in the Rat. *Nutrition*. 2003; 19(4):363–68.

Raygada M, E Cho, Hilakivi-Clarke L. High maternal intake of polyunsaturated fatty acids during pregnancy in mice alters offsprings' aggressive behavior, immobility in the swim test, locomotor activity and brain protein kinase C activity. *J. Nutr*. 1998; 128(12):2505–11.

Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities—the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Engl J Med* 1996; 334: 374-81.

Reece MS, McGregor JA, Allen KGD, Harris MA. Maternal and perinatal long chain fatty acids: possible roles in preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 176(4):907– 14.

Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123(11):1939-51.

Reue K, Xu P, Wang XP, and Slavin BG. Adipose tissue deficiency, glucose intolerance, and increased atherosclerosis result from mutation in the mouse fatty liver dystrophy (fld) gene. *J Lipid Res.* 2000; 41(7):1067–76.

Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002; 347(20):1557–65.

Roberts LJ, Morrow JD. The generation and actions of isoprostanes. *Biochim Biophys Acta.* 1997; 1345(2):121-35.

Rolland V, Roseau S, Fromentin G, Nicolaidis S, Tomé D, Even PC. Body weight, body composition, and energy metabolism in lean and obese Zucker rats fed soybean oil or butter. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(1):21-30.

Romano M. Lipid mediators: lipoxin and aspirin-triggered 15-epi-lipoxins. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2006; 5(2):81-90.

Romijn JA, Coyle, EF, Sidossis L. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol.* 1993; 265(3Pt1):E380-E391.

Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Rosenblatt J, Wolfe RR. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *J Appl Physiol.* 2000; 88(5):1707-14.

Ross BM. Phospholipid and eicosanoid signaling disturbances in schizophrenia Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids. 2003; 69(6): 407–12.

Rover Jr, L, Höehr NF, Vellasco AP. Sistema Antioxidante Envolvendo o Ciclo Metabólico da Glutathiona associado a Métodos Eletroanalíticos na Avaliação do Estresse Oxidativo. *Quim. Nova.* 2001; 24(1):112-19.

Salem Jr N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. *Backgrounder* 1999; 3(1): 1-8.

Salgado, JM. *Faça do alimento o seu medicamento.* 3. ed. São Paulo: Madras, 2000.

Sedlak J. and Lindsay R. H. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman' s reagent. *Anal Biochem.* 1968; 25(1):192-205.

Shillabeer G, Lau DC. Regulation of new fat cell formation in rats: the role of dietary fats. *J Lipid Res.* 1994; 35(4):592-600.

Shils ME, Shike M, Olson JA. *Modern Nutrition In Health and Disease.* 10 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Shoda R, Matsueda K, Yamato S, Umeda N. Epidemiologic analysis of Crohn's disease in Japan: increased dietary intake of (n-6) polyunsaturated fatty acids and animal protein relates to the increased incidence of Crohn's disease in Japan. *Am J Clin Nutr.* 1996; 63(5):741-5.

Shouk TA, Omar MN, Fayed ST. Essential fatty acids profile and lipid peroxides in severe pre-eclampsia. *Ann Clin Biochem.* 1999; 36(Pt 1):62-5.

Sijben JW, Nieuwland MG, Kemp B, Parmentier HK, Scrama JW. Interactions and antigen dependence of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on antibody responsiveness in growing layer hens. *Poult Sci.* 2001; 80(7):885-93.

Simopoulos AP, Leaf A, Salem Jr N. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann Nutr Metab.* 1999; 43(2):127-130.

Skosnik PD, Yao JK. From membrane phospholipid defects to altered neurotransmission: is arachidonic acid a nexus in the pathophysiology of schizophrenia? *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2003; 69(6): 367-84.

Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.* 1984; 222(1):1-15.

Slyper AH. Low-density lipoprotein and atherosclerosis: unraveling the connection. *J Am Med Assoc.* 1994; 272(4): 305-308.

Song C, Merali Z, Anisman H. Variations of nucleus accumbens dopamine and serotonin following systemic interleukin-1, interleukin-2 or interleukin-6 treatment. *Neuroscience.* 1999; 88(3): 823-36.

Song C. The effect of thymectomy and IL-1 on memory: implications for the relationship between immunity and depression. *Brain Behav Immun.* 2002; 16(5):557-68.

Stich V, de Glisezinski I, Berlan M, Bulow J, Galitzky J, Harant I. Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic exercise. *J Appl Physiol.* 2000; 88(4):1277-83.

Straczkowski M, Kowalska I, Dzienis-Straczkowska S, Kinalski M, Gorski J, and Kinalska I. The effect of exercise training on glucose tolerance and skeletal muscle triacylglycerol content in rats fed with a high-fat diet. *Diabetes Metab.* 2001; 27(1): 19-23.

Terao T, Fujise T, Nakano S. Effects of long-term exercise and high-cholesterol diet on lipid-lipoprotein metabolism in rats. *Tokai J Exp Clin Med.* 1987; 12(4): 243-57.

Uauy R, Valenzuela, A. Marine oils: the health benefits of n-3 fatty acids. *Nutr.* 2000; 16(7-8):680-84.

Uhlig S, Wendel A. The physiological consequences of glutathione variations. *Life Sci.* 1992; 51(14): 1083-94.

Venditti P, Di Meo S. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *Int J Sports Med.* 1997; 18(7):497-502.

Venkatraman JT, Angkeow MSP, Satsangi N, Fernandes G. Effects of Dietary n-6 and n-3 Lipids on Antioxidant Defense System in Livers of Exercised Rats. *J Am Coll Nutr.* 1998; 17(6): 586-94.

Vieira R, Haebisch H, Kokubun E, Hell NS, Curi R. Sistema de natação para exercício físico de ratos. *Arquivo de Biologia e Tecnologia* 1988; 31(3): 387- 94.

Viña J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Miñana JB, Pallardo FV, et al. Free radical in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life* 2000; 50:271-7.

Wagner BA, Buettner GR, Burns CP. Free radical-mediated lipid peroxidation in cells: oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content. *Biochemistry* 1994; 33(15):4449-53.

Watt MJ, Heigenhauser GJ, Stellingwerff T, Hargreaves M, Spriet LL. Carbohydrate ingestion reduces skeletal muscle acetylcarnitine availability but has no effect on substrate phosphorylation at the onset of exercise in man. *J Physiol.* 2002a; 544(Pt 3):949-56.

Watt MJ, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Intramuscular triacylglycerol utilization in human skeletal muscle during exercise: is there a controversy? *J Appl Physiol.* 2002b; 93(4):1185-95.

Way KJ, Katai N, King GL. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabet Med* 2001; 18:945–959.

Yin H, Porter NA. New insights regarding the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal.* 2005; 7(1-2):170-84.

Yoshida H, Mawatani M, Ikeda I, Imaizumi K, Seto A, Tsuji H. Effect of dietary seal and fish oils on triacylglycerol metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1999; 45(4): 411-21.

Zheng X, Avella M, Botham KM. Comparison of the effects of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on very-low-density lipoprotein secretion when delivered to hepatocytes in chylomicron remnants. *Biochem J.* 2001; 357 (Pt 2):481-7.