

**FONTES LIPÍDICAS DA DIETA NO  
TROPISMO INTESTINAL E  
TRIACILGLICERÓIS NO SANGUE DE  
CAMUNDONGOS TRATADOS COM  
CITARABINA**

**MARIA LETÍCIA TOSTES GAZZINELLI**

**2006**

**MARIA LETÍCIA TOSTES GAZZINELLI**

**FONTES LIPÍDICAS DA DIETA NO TROFISMO INTESTINAL E  
TRIACILGLICERÓIS NO SANGUE DE CAMUNDONGOS TRATADOS  
COM CITARABINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profa. Dra. Maria de Fátima Pícolo Barcelos

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Gazzinelli, Maria Leticia Tostes.

Fontes lipídicas da dieta no trofismo intestinal e triacilgliceróis no sangue de camundongos tratados com citarabina / Maria Leticia Tostes Gazzinelli. – Lavras : UFLA, 2006.

65 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2006.

Orientador: Maria de Fátima Piccolo Barcelos.

Bibliografia.

1. Lipídeos. 2. Trofismo intestinal. 3. Dieta. 4. Quimioterapia. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 641.14

**MARIA LETÍCIA TOSTES GAZZINELLI**

**FONTES LIPÍDICAS DA DIETA NO TROFISMO INTESTINAL E  
TRIACILGLICERÓIS NO SANGUE DE CAMUNDONGOS TRATADOS  
COM CITARABINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 31 de agosto de 2006

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa UFLA

Prof. Dr. José Luis Contado UFLA

Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu UFLA

Profª. Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

## **OFEREÇO**

Às professoras Jacqueline e Fátima, pelo apoio constante, não deixando que eu desistisse.

Aos meus filhos, Ivan, Andressa, Tomás, Alef e Adélia, pela alegria, apesar de minha ausência.

Ao Daniel, pelo apoio e incentivo.

## **DEDICO**

Ao meu pai, Ramayana, por me ensinar o gosto pela ciência e à minha mãe, Alzira, por me ensinar a ter paciência e a esperar o momento certo.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) e a todos os seus servidores, docentes e servidores técnico-administrativos, pelo acolhimento e pela contribuição à minha formação acadêmica.

À Universidade Federal de Minas Gerais e Departamento de Bioquímica e Imunologia, por permitir a realização do experimento.

A minha orientadora, professora Dra. Maria de Fátima Pícolo Barcelos, por ser quem é, profissional completa, competente, técnica e humana. Sem a sua orientação, o seu grande apoio, compreensão e incentivo, eu não teria chegado ao fim.

A minha coorientadora, professora Dra. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite, pela tolerância com minhas dificuldades, por ter me incentivado desde o início, me recebido em seu laboratório e compartilhado seus conhecimentos e ambiente agradável de trabalho.

Ao meu irmão, professor, Dr. Ricardo Tostes Gazzinelli por deixar seu laboratório sempre disponível e pelo exemplo de dedicação a ciência, de que as mudanças podem ser realizadas e não devemos desistir nunca.

Às laboratoristas Tina, Cidinha, Creusa e Sandra (da UFLA), pelos ensinamentos durante o curso e convivência agradável. À secretária Rafaela, pela ajuda em todos os momentos em que precisei. Às técnicas de laboratório da UFMG, Maria Helena, pelos ensinamentos nos cuidados com os camundongos e alegria no trabalho e Eneida, pelo exemplo de organização.

Ao Marcelo Angelo Cirillo, pela grande orientação em estatística.

A todos os colegas do Labin, pela paciência de ensinar e ajudar, pelo aprendizado nos seminários e pelo prazer de conviver. Em especial a Lu Enéas,

Érica e Séphora que tanto me ajudaram no experimento e me ouviram, com uma disponibilidade que me fez continuar.

Aos companheiros de curso na UFLA, Luis Gustavo, Anderson, Peter, Masson, Fabianos, Danila e toda a turma das quintas-feiras, pelo grande apoio, nas horas de estudo e nos dias difíceis e, acima de tudo, pelos momentos de descontração e alegria. Em especial, a Viviane, Andreliisa, Merce e João Vicente, cuja amizade levarei sempre comigo.

Aos meus colegas médicos, pela disponibilidade de trocar plantão e me apoiar.

A Marilene, Eva e Marli cuja ajuda me permitiu sair e estudar novamente.

Aos meus irmãos Gustavo e Elisa, por me ouvirem quando precisei e por acreditarem sempre.

Ao Daniel, por me ensinar a acreditar que eu sou capaz, a vencer meus medos e por ser pai e mãe durante esse período.

Aos meus filhos Ivan, Andressa, Tomás, Alef e Adélia, que são a alegria da minha vida e que toleraram sem reclamar a minha ausência. Eu amo vocês.

Aos meus pais, Ramayana e Alzira, pelo exemplo de vida, amor e prazer pelo trabalho.

Enfim, a todos que colaboraram para a realização deste trabalho. Se esqueci de citar alguém nominalmente, por favor, me perdoem.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 A estrutura química dos ácidos graxos.....	4
2.2 Composição em ácidos graxos das fontes lipídicas utilizadas.....	7
2.3 Funções os ácidos graxos no organismo.....	12
2.4 O quimioterápico citarabina e alguns de seus efeitos no organismo.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Animais experimentais.....	22
3.2 Preparo da dieta.....	22
3.3 Delineamento experimental.....	24
3.4 Tratamento com o agente quimioterápico.....	25
3.5 Análises sanguíneas.....	27
3.6 Morfometria da altura das vilosidades intestinais.....	27
3.7 Dosagens de proteínas da mucosa intestinal.....	28
3.8 Dosagem de DNA da mucosa intestinal.....	29
3.9 Medida da atividade de N-acetilglicosaminidase (NAG) no intestino delgado.....	29
3.10 Análises estatísticas.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32

4.1 Consumo de ração.....	32
4.2 Peso dos animais.....	33
4.3 Análises sanguíneas.....	35
4.4 Morfometria da altura das vilosidades intestinais.....	37
4.6 Proteínas na mucosa intestinal.....	41
4.7 DNA da mucosa intestinal.....	43
4.8 N-acetilglicosaminidase (NAG).....	46
5 CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXOS.....	59

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Página</b>
FIGURA 1	Fluxograma dos procedimentos gerais do trabalho.....	26
FIGURA 2	Cortes do intestino delgado.....	27
FIGURA 3	Consumo médio (g/dia) de dietas, com diferentes fontes lipídicas, (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) por camundongo, submetido ou não a administração de ara-C.....	32
FIGURA 4	Peso médio (g) dos camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) e submetido ou não à administração de ara-C, no início do experimento, início da quimioterapia e antes do sacrifício nos dias (D): D0, D7 e D9 – 1 <sup>a</sup> , 2 <sup>a</sup> e 3 <sup>a</sup> barras do gráfico, respectivamente.....	33
FIGURA 5	Peso médio (g) dos camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) e submetido ou não à administração de ara-C, no início do experimento, início da quimioterapia e antes do sacrifício nos dias (D): D0, D7 e D9 – 1 <sup>a</sup> , 2 <sup>a</sup> e 3 <sup>a</sup> barras do gráfico, respectivamente.....	34
FIGURA 6	Médias dos triacilgliceróis séricos (mg/dL), dos camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas	

	(óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C.....	36
FIGURA 7	Histologia 1ª porção do intestino delgado grupo óleo de linhaça (com citarabina).....	37
FIGURA 8	Histologia 1ª porção do intestino delgado grupo gordura de coco (com citarabina).....	38
FIGURA 9	Histologia 1ª porção do intestino delgado grupo gordura hidrogenada (com citarabina).....	38
FIGURA 10	Histologia 1ª porção do intestino delgado grupo óleo de soja (com citarabina).....	39
FIGURA 11	Histologia 1ª porção do intestino delgado grupo controle (óleo de soja sem citarabina).....	39
FIGURA 12	Média das alturas das vilosidades intestinais ( $\mu$ m) na 1ª metade do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C.....	40
FIGURA 13	Média das proteínas dosadas (em mg/5 cm) na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C.....	42
FIGURA 14	Proteínas (mg/g) dosadas na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de	

	linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) e submetidos ou não à administração de ara-C.....	43
FIGURA 15	DNA (mg/5cm) dosado na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.....	44
FIGURA 16	DNA (mg/g) dosado na mucosa dos 5 cm proximais do intestinal delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.....	45
FIGURA 17	Relação proteína/DNA encontrada na mucosa intestinal de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.....	46
FIGURA 18	Macrófagos (células x 10 <sup>3</sup> /g de tecido) dosados por meio da NAG, em segmento da 1 <sup>a</sup> porção do intestino delgado de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.....	47
FIGURA 19	Macrófagos (células x 10 <sup>3</sup> /g de tecido) dosados por meio da NAG, em segmento da 1 <sup>a</sup> porção do intestino	

delgado de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C..... 48

## LISTA DE TABELAS

		<b>Página</b>
TABELA 1	Composição de ácidos graxos do óleo de soja, por cromatografia.....	9
TABELA 2	Composição de ácidos graxos em gorduras vegetais hidrogenadas, por cromatografia.....	11
TABELA 3	Composição de ácidos graxos das fonte lipídicas utilizadas, em percentual.....	12
TABELA 4	Formulação das dietas oferecidas aos animais experimentais, caracterizadas pelas diferentes fontes lipídicas, elaboradas conforme AIN-93 com modificações.....	23
TABELA 5	Proporção água (ml) / ração (g) das dietas utilizadas....	24

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido aracdônico
ALA	Ácido $\alpha$ -linolênico
AGE	Ácidos graxos poli-insaturados essenciais
AIN-93	American Institut Nutrition (1993)
Ara -CTP	Análogo de pirimidina - CTP
Ara-C	Citarabina
C	Carbono
CETEA	Comissão de Ètica em Experimentação Animal
CLA	Ácido linoleico conjugado
DHA	Ácido docosahexaenoico
DNA	Ácido desoxiribonucleico
DSS	Dextran sulfato de sódio
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EPA	Ácido eicosapentaenoico
GH	Gordura hidrogenada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IgA	Imunoglobulina A
IP	Intraperitonealmente
IUAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MPO	Mieloperoxidase
NAG	N-acetilglicosaminidase
PUFA	Ácidos graxos poli-insaturados
RNA	Ácido ribonucleico

rpm	Rotações por minuto
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCC	Triacilgliceróis de cadeia curta
TCL	Triacilgliceróis de cadeia longa
TCM	Triacilgliceróis de cadeia média
Tr	Trans
TNBS	Ácido trinitrobenzenosulfônico
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
$\omega 3$	Ômega 3
$\omega 6$	Ômega 6
$\omega 9$	Ômega 9

## RESUMO

GAZZINELLI, Maria Letícia Tostes. **Fontes lipídicas da dieta no trofismo intestinal e triacilgliceróis do sangue de camundongos tratados com citarabina.** 2006. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras<sup>1</sup>.

Os lipídeos são componentes importantes do organismo, desempenham papel no metabolismo, na composição estrutural e na função imunológica, dentre outras. Os tipos de ácidos graxos que compõem os lipídeos são fundamentais na forma como eles exercem suas funções, como a proliferação e o aumento do trofismo em células intestinais e estimulação do sistema imune. Os agentes antineoplásicos são drogas amplamente utilizadas no tratamento de diversos tipos de câncer, tratamento este que, muitas vezes, resulta em efeitos colaterais que restringem a dose, o tempo e o sucesso da quimioterapia. Assim, dietas que protegem dos efeitos deletérios da quimioterapia podem ser utilizadas como coadjuvantes no tratamento do câncer. Este estudo foi realizado com o objetivo de verificar o teor de triacilgliceróis do sangue e o trofismo intestinal de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas, oferecidas previamente e durante a quimioterapia com citarabina. As dietas utilizadas foram confeccionadas com as seguintes fontes lipídicas: óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada e óleo de soja (fontes ricas em ácido  $\alpha$ -linolênico, triacilgliceróis de cadeia média, ácidos graxos insaturados com ligações *trans* e ácido linoleico, respectivamente). Analisando o efeito da citarabina neste estudo, verificou-se que esta droga agrediu o organismo, causando perda de peso dos camundongos, diminuição do DNA da mucosa intestinal e diminuição da migração de macrófagos. Comparando-se as diferentes fontes lipídicas oferecidas aos animais, foi observado que o óleo de soja causou pior evolução, com maior perda ponderal dos camundongos, maior redução de DNA e do conteúdo proteico da mucosa intestinal após tratamento com citarabina. Ao analisar-se a dosagem de triacilgliceróis e diversos parâmetros indicativos do trofismo intestinal (altura das vilosidades, dosagem de proteínas, DNA, relação proteína DNA e atividade de N acetilglicosaminidase), não foram encontradas diferenças significativas. Os resultados do presente estudo sugerem, dentro das condições em que foi realizado, não haver vantagens ou desvantagens na

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (Orientadora), Jacqueline Izaura Alvarez-Leite – UFMG e Marcelo Angelo Cirillo – UFLA

utilização das fontes lipídicas citadas concomitantemente à aplicação da citarabina, exceto pelo óleo de soja que, pela sua riqueza em ácidos graxos ômega 6, pode aumentar a inflamação decorrente da quimioterapia.

## ABSTRACT

GAZZINELLI, Maria Leticia Tostes. **Effects of different dietary lipid sources on intestinal trophism and serum composition of mice treated with chemotherapy.** 2006. 65p. Dissertation (Master in Food Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras<sup>2</sup>.

Lipids are components of organisms, that perform an important role in the metabolism, cell structure composition and immune functions, among others. The fatty acids that compose the lipids are essential in the way they execute their functions, such as growth proliferation and stimulation of epithelial cells of small intestine and immune system stimulation. The chemotherapeutic agents are drugs largely used in the treatment of different kinds of cancer, sometimes presenting side effects, which contribute to intolerance to treatment. Sometimes, it is necessary to reduce the time or dosage of chemotherapy administration, impairing the therapeutic success. As such, diets, which protect from the negative effects of chemotherapy, are beneficial in cancer treatment. The aim of this study was to verify the level of serum triacylglycerols and intestinal trophism in swiss mice consuming different lipid sources, offered previous to and during cytarabine (Ara-C) treatment. The diets used were made up of the following lipid sources: linseed oil, coconut oil, hydrogenated soy fat and soybean oil (rich in  $\alpha$ -linolenic fatty acid, medium chain fatty acids, *trans* unsaturated fatty acids and linoleic fatty acid, respectively). The citarabine effect was analyzed in this research and it was determined that this drug damages the mouse organism causing weight loss, a decrease of intestinal mucosa nucleotides and a decrease of macrophage migration. Comparing the different lipid sources, it was observed that soybean oil caused the worst evolution, with animals presenting higher weight loss, DNA reduction and relative protein content. However, significant benefits of consuming other lipid sources (coconut oils, hydrogenated fat or linseed were not found. This study suggests that among the lipid sources tested, soybean oil was linked to the worse profile, while no improvement on the mucosa parameter was seen with the other lipid sources.

---

<sup>2</sup> Guidance Committee: Maria de Fátima Piccolo Barcelos – UFLA (Adviser), Jacqueline Izaura Alvarez-Leite – UFMG e Marcelo Angelo Cirillo – UFLA

## 1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos são ácidos orgânicos com cadeias hidrocarbonadas de comprimento entre 4 e 36 carbonos (C4 a C36). Os mais frequentes na natureza contêm números pares de átomos de carbono em cadeias não-ramificadas de 12 a 24 carbonos. Eles podem ser liberados por hidrólise das gorduras naturais, utilizadas, quase universalmente, como forma de armazenamento de energia (Nelson & Cox, 2002). Além do fornecimento de energia, alguns ácidos graxos possuem uma série de funções específicas, chegando a ser estudados como coadjuvantes no tratamento do câncer (Witzig et al., 2000).

A mucosa intestinal, importante barreira contra patógenos e toxinas, em condições normais, está em constante processo de renovação celular, sendo responsável por manter sua morfologia e função. A proliferação diminuída das células do epitélio intestinal e a atrofia da mucosa podem ser potencialmente danosas em diversas situações (Kissmeyer-Nielsen et al., 1995), tais como a desnutrição, o jejum prolongado (Goodlad et al., 1987), a sepsis (Tramonte et al., 2004), a administração de nutrição parenteral total ou alimentação com dietas elementares (Hosoda et al., 1989), em certas doenças, como a retocolite ulcerativa e doença de Crohn, e na quimioterapia antineoplásica (Ibrahim et al., 2000).

A resposta do organismo de indivíduos com câncer e submetidos a drogas quimioterápicas, por determinado período de tempo, mais especificamente no que diz respeito ao trofismo intestinal e à composição lipídica do soro, pode variar conforme a fonte lipídica consumida anteriormente e durante as aplicações do quimioterápico (Ramos, 2003).

Os efeitos colaterais intestinais da quimioterapia podem ser tão graves, a ponto de impedir sua eficácia clínica. A citarabina (1-β-D-

arabinofuranosylcytosine, ara-C) é uma droga análoga à pirimidina, que interage com DNA, prevenindo a proliferação celular. É um quimioterápico, largamente utilizado em pacientes com leucemia e outros tipos de câncer, que age especificamente em células de proliferação rápida. Sua administração provoca lesões na mucosa intestinal, importante fator na intolerância ao tratamento, mal-absorção e síndromes septicêmicas causadas por translocação bacteriana. Esses pacientes já debilitados e sofrendo má absorção são frequentemente submetidos a suporte nutricional enteral, que pode contribuir para hipotrofia intestinal (Ramos et al., 1997).

O estudo de diferentes lipídeos presentes na dieta tem sido feito no sentido de proteger o trofismo intestinal, evitando as reduções que ocorrem em diversas enfermidades. As fontes lipídicas com efeito protetor citadas na literatura são os triacilgliceróis de cadeia média (TCM), em modelos animais submetidos à nutrição parenteral (Waitzberg et al., 2002), ácidos graxos ômega 3 na proteção da toxicidade por metotrexato (Mitsugi, 2004) e ácidos graxos de cadeia curta na mucosite causada por citarabina (Ramos et al., 1999).

Os triacilgliceróis de cadeia média são encontrados no coco, no babaçu, na amêndoa e, em pequena quantidade, no leite. Dois ácidos graxos poli-insaturados são considerados essenciais, um deles da família ômega 6, o ácido linoleico e o outro da família ômega 3, o ácido  $\alpha$ -linolênico, ALA, os quais, quando ingeridos, originam vários outros ácidos graxos de extrema importância funcional para o organismo. O ácido graxo linoleico ( $\omega$  6) é encontrado em óleos e sementes vegetais (soja, milho, algodão e girassol) e em pequeno teor no leite e na carne; já o linolênico ( $\omega$  3), em óleos de peixe, de linhaça, de noz, de canola, e, em menor quantidade, no óleo de soja. A maioria dos ácidos graxos poli-insaturados de configuração *trans* promove ações deletérias para o organismo e é encontrada em gorduras vegetais hidrogenadas, margarinas,

cremes vegetais e após o aquecimento dos óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados (Assis, 1997; Alvarez-Leite & Peluzio, 2003).

Diante do exposto, o presente estudo foi realizado com o objetivo geral de analisar os efeitos do consumo de quatro diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada e óleo de soja) no trofismo intestinal de camundongos suíços tratados com quimioterápico citarabina (Ara-C).

Os objetivos específicos foram:

- administrar citarabina em camundongos suíços, que receberam óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada ou óleo de soja e avaliar:
- alterações do ganho de peso dos camundongos;
- alterações de triacilgliceróis séricos, conseqüentes a inflamação intestinal;
- alterações do trofismo intestinal pela medida histológica da altura das vilosidades, da concentração de DNA e proteínas intestinais;
- atividade da N-acetilglicosaminidase (NAG) intestinal, como indicadora de migração de macrófagos.

A hipótese deste trabalho é: ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 e triacilgliceróis de cadeia média têm efeito protetor da mucosa intestinal mediante a ação de agentes agressores. As gorduras trans, de maneira inversa, têm efeito deletério.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A estrutura química dos ácidos graxos

Os ácidos graxos fazem parte de um amplo grupo de compostos, os lipídeos, que são solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água, ou quase totalmente insolúveis. Na forma de ésteres de glicerol, representam elevado percentual das gorduras de origem animal e vegetal. Podem também estar ligados ao ácido fosfórico, formando os fosfolipídeos.

A classificação dos ácidos graxos estabelece que saturados não possuam duplas ligações e que as denominações monoinsaturados e poli-insaturados refiram-se à presença e à quantidade de duplas ligações. O comprimento da cadeia é, também, determinante de diversas propriedades desses compostos, como comportamento na fusão e na solidificação, fundamentais na sua identificação. Havendo predominância de ésteres de ácidos graxos insaturados, encontram-se na forma líquida e são chamados de óleos (Nawar, 1993; Jones & Kubow, 2003). Uma forma de medir as insaturações dos ácidos graxos é o índice de iodo, análise baseada na capacidade do iodo e de outros halogênios de se adicionar nas duplas ligações da cadeia insaturada dos ácidos graxos. Os índices de iodo (gramas de iodo adicionadas em 100g de amostra) do óleo de linhaça, gordura de coco e óleo de soja são de 155 a 205; 7,5 a 10 e 120 a 141, respectivamente (American Oil Chemicals – AOC's, 1988; Cecchi, 1999).

Os triacilgliceróis podem ser classificados, de acordo com o comprimento da cadeia, em: cadeia curta (TCC), quando possuem até 6 carbonos na sua estrutura; cadeia média (TCM), quando possuem de 8 a 12 carbonos e cadeia longa (TCL), de 14 em diante (Krummell, 1998). Existem controvérsias quanto a esta classificação, pois Curi et al. (2002) e o Recommended ... (1989) consideram ácidos graxos de cadeia média aqueles que

possuem até 10 átomos de carbono e Klein et al. (2003) e Waitzberg & Borges (2002), cadeias de 6 a 12 átomos de carbono. Alvarez-Leite & Pelúzio (2003) classificam ácidos graxos de cadeia média aqueles que possuem de 8 a 14 átomos de carbono.

O comprimento da cadeia de hidrocarboneto é fundamental nas propriedades físicas e funcionais dos ácidos graxos e dos compostos que o contém; quanto mais curta a cadeia, menor o ponto de fusão e maior a solubilidade em água (Nelson & Cox, 2002), permitindo, quando com cadeias menores que 12 átomos de carbono, sua absorção passiva pela mucosa intestinal, sendo assimilados diretamente pela veia porta (Jones & Kubow, 2003; Alvarez-Leite & Peluzio, 2003).

A oxidação dos ácidos graxos livres é a fonte energética mais importante do organismo. Independentemente de os ácidos graxos serem saturados, monoinsaturados ou polinsaturados e de as duplas ligações serem *cis* ou *trans*, são *beta* oxidados em uma única via pela rota do acetato, o que explica sua equivalência calórica (Baur, 1999).

O nome sistemático do ácido graxo é determinado pelo número de átomos de carbono, o número, a posição e a configuração geométrica das duplas ligações. A forma mais simples de especificar a localização é colocar, antes do nome do ácido, o número do primeiro carbono de cada dupla ligação. Em alguns casos, é conveniente distinguir os ácidos graxos insaturados pela localização da primeira dupla ligação, contada a partir do grupo metila terminal da molécula, o carbono ômega. Assim, o ácido linolênico (ácido 9,12,15-octadecatrienoico ou 18:3  $\Delta^{9,12,15}$  ou abreviadamente Ln) pode também ser classificado como 18:3  $\omega^3$  (Mahan & Escott-Stump, 2005; Nelson & Cox, 2002; Nawar, 1993).

A configuração geométrica da dupla ligação é designada pelos prefixos latinos *cis* (do mesmo lado) e *trans* (em posição transversa, em lados opostos), que indicam se os grupos aqui estão do mesmo lado ou em lados diferentes das

moléculas. Na natureza, geralmente, os compostos se apresentam na forma *cis*; já a forma *trans* é a termodinamicamente mais favorável, muito encontrada na indústria alimentícia após hidrogenação de óleos vegetais líquidos, que consiste, basicamente, na adição de hidrogênio às ligações duplas dos ácidos graxos insaturados. Nesta reação, convertem-se óleos e gorduras líquidas em gorduras semissólidas, visando à produção de margarinas e gorduras plásticas para fins especiais, com melhora da cor do produto final à oxidação (Nawar, 1993; Wong, 1995; Turatti et al., 2002 citado por Pereira, 2003).

A maioria dos ácidos graxos *trans* da dieta apresenta comprimento de 18 carbonos, sendo o principal deles o ácido elaídico. Os ácidos graxos contendo ligações duplas em configuração *trans* possuem algumas ações metabólicas diferenciadas em relação aos de seus isômeros *cis*, sendo uma delas a capacidade de elevarem os níveis de colesterol sanguíneo. Portanto, seu consumo em excesso deve ser evitado (Nawar, 1993; Assis, 1997; Baur, 1999; Ferreira, 1999; Alvarez-Leite & Peluzio, 2003; Jones & Kubow, 2003).

Nos primeiros estudos, a separação das principais classes de triacilgliceróis era baseada nas insaturações (monoinsaturados, di-insaturados e tri-insaturados), mediante cristalização fracionada e métodos de oxidação e isolamento. Mais recentemente, técnicas de análise estereoespecíficas tornaram possíveis determinações detalhadas da posição de cada dupla ligação dos ácidos graxos individuais existentes nos triacilgliceróis de muitos materiais lipídicos (Bonatto, 1990; Nawar, 1993; Collins & Braga, 1999; Mondello et al., 2004).

A grande maioria dos lipídeos da dieta é absorvida da mucosa intestinal para o sistema linfático. Apenas os ácidos graxos de cadeia curta e média são absorvidos diretamente para o sistema portal, sendo os primeiros geralmente metabolizados e utilizados pelos próprios colonócitos. Os lipídeos são conduzidos até o fígado ou transportados para o tecido adiposo. Em poucas horas, os quilomícrons são removidos do sangue pela lipase lipoproteica, que

hidrolisa os triacilgliceróis e fosfolípídeos em ácidos graxos, glicerol e substâncias contendo fósforo que, dentro da célula adiposa, serão reesterificados em triacilgliceróis e fosfolípídeos para armazenamento (David et al., 2001; Curi et al., 2002).

## **2.2 Composição em ácidos graxos das fontes lipídicas utilizadas**

Os ácidos graxos de cadeia média (TCM) para consumo humano são encontrados, principalmente, nos óleos obtidos de palmeiras, dentre eles, o azeite de dendê, do dendezeiro ou da palmeira oleosa (*Elais guineensis*), o óleo de coco (*Cocos nucífera*) e o de babaçu (*Orbigniyas speciosa*). O componente principal dessas gorduras é o ácido duodecanoico (46%-47%). Os percentuais de ácidos graxos destas fontes são similares, exceto pelo percentual de ácido oleico, que é menor na gordura de coco (7%), em relação às outras fontes citadas (14%).

As gorduras de coco e as sementes das palmeiras oleosa e babaçu são componentes importantes das margarinas vegetais, contribuindo para a sua consistência sólida à temperatura ambiente (Belitz & Grosch, 1988). Lawson (1999) relata que a gordura de coco é composta pelos ácidos nos seguintes percentuais: 8% octanoico (caprílico), 6% hexanoico (cáprico), 49% duodecanoico (láurico), 18% tetradecanoico (mirístico), 8% hexadecanoico (palmítico), 3% octadecanoico (esteárico), 7% octadecenoico (oleico) e 2% octadecadienoico (linoleico). Existem formas comerciais de módulos de lipídeos, ou seja, produtos para suplementação dietética de composição lipídica predeterminada, descritos como compostos exclusivamente por TCM e são formados dos seguintes ácidos: cáprico 28%, caprílico 68%, caproico (decanoico) 1% e láurico 3% (Support, 2006).

Muitos óleos vegetais, como os de soja, milho, canola, semente de girassol, açafrão e nozes, são ricos em ácidos graxos ômega 6, como o ácido linoleico (Assis, 1997).

A família dos ácidos graxos ômega 3 é encontrada nos óleos de peixe, de linhaça, de semente do linho (*Linum usitatissimum*), de noz, de canola (10%), de soja (7%) e em carnes como a de peru (Assis, 1997; Campos et al., 2002), assim como em alguns vegetais de folhas verdes, como o ora-pro-nobis ou beldroega-grande (*Talinum Paniculatum*) (Mahan & Escott-Stump, 2005). Os óleos de peixe mais ricos em ômega 3 são aqueles provenientes de água salgada e fria, como salmão, cavalinha, sardinha (Assis, 1997) e o óleo de fígado de bacalhau, seguidos do caranguejo, camarão e ostras. O teor de ácidos graxos ômega 3 dos peixes também varia conforme as diferentes espécies, sua dieta e origem, se selvagem ou proveniente de criatórios. Estudos têm sido realizados para aumentar a concentração dos ácidos graxos ômega 3 nos alimentos, como nos ovos de galinhas alimentadas com dietas ricas em farinha de peixe e óleo de linhaça, chegando a um teor de 350 mg por ovo (Mahan & Escott-Stump, 2005). O óleo de linhaça, por seu elevado teor em ácido  $\alpha$ -linolênico, se autoxida facilmente, o que lhe confere um sabor amargo. Mas, uma pequena parte, prensada a frio, pode ser empregada como óleo comestível (Belitz & Grosch, 1988).

Medeiros (2002 citado por Soglia, 2003), relata a média de 53,3% de ácido linolênico e 12,7% ácido linoleico no óleo de linhaça, em contraposição com 6,8% de ácido linolênico e 51,5% ácido linoleico no óleo de soja. Mercadante & Rodriguez-Amaya (1996) encontraram de 5,7% a 8,6% de ácido linolênico ( $\omega$ 3) em três marcas de óleo de soja e de 49,8% a 58,8% de ácido linoleico ( $\omega$ 6). Lawson (1999) cita, como presentes no óleo de soja, traços de ácido mirístico, 12% de ácido palmítico, 4% de ácido esteárico, 23% de ácido oleico, 53% de ácido linoleico e 8% de ácido linolênico.

Diversos autores já analisaram a composição dos diversos ácidos graxos no óleo de soja. Dentre eles, Mondello et al. (2004) verificaram os resultados comparando cromatografia convencional e rápida e Pereira (2003), em análise

por cromatografia gasosa, relata a composição em óleo de soja demonstrada na Tabela 1.

TABELA 1 Composição de ácidos graxos do óleo de soja por cromatografia

Denominação		Fórmula	Ácidos graxos do óleo de soja (%)	
Usual	IUPAC**		Pereira (2003)	Mondello et al. (2004)
Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico	14:0		0,06
Ácido palmítico	Ácido hexadecanoico	16:0	11,61	9,79
Ácido palmitoleico	Ácido hexadecenoico	16:1 $\omega$ 7	0,06	0,06
	Ácido heptadecanoico	17:0		0,07
	Ácido heptadecenoico	17:1		0,05
Ácido oleico	Ácido hexadecenoico	18:1 $\omega$ 9	16,15	21,05
Ácido linoleico	Ácido octadecadienoico	18:2 $\omega$ 6	56,07	58,74
Ácido $\alpha$ -linolênico	Ácido octadecatrienoico	18:3 $\omega$ 3	7,48	5,61
		18:3 $\omega$ 6	1,32	
Ácido araquídico	Ácido eicosanoico	20:0	0,17	0,39
Ácido gadoleico	Ácido eicosenoico	20:1 $\omega$ 7	0,52	0,15
Ác. araquidonico	Ácido eicosatetraenoico	20:4 $\omega$ 6	0,77	
EPA	Ácido eicosapentaenoico	20:5 $\omega$ 3	0,53	
Ácido beênico	Ácido docosanoico	22:0		0,50
	Ácido docosadienoico	22:2 $\omega$ 6	0,25	
DHA	Ácido docosaheptaenoico	22:6 $\omega$ 3	0,51	

\*\*International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

Fonte: Voet et al. (2000), Curi et al. (2002), Pereira (2003) e Mondello et al. (2004).

Os ácidos graxos *trans* são encontrados naturalmente no sebo (gordura bovina) e gordura do leite, em níveis de 2% a 7%, como resultado da biohidrogenação dos animais ruminantes. Mas, a maior fonte alimentar desses ácidos graxos são produtos da hidrogenação industrial de óleos vegetais (Baur, 1999). Segundo Belitz & Grosch (1988), Normann, em 1902, desenvolveu o método para hidrogenação desses óleos utilizando o níquel como catalisador. Devido às desvantagens das gorduras *trans* no organismo, tem sido desenvolvidas outras técnicas para a solidificação dos óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, como a esterificação. Outra técnica empregada para diminuir a necessidade de hidrogenação de óleos vegetais é o desenvolvimento de espécies vegetais com teores de ácidos graxos diferente, como variedades da canola rica em ácido oleico e pobre em ácido linolênico (Laga et al., 2004). Mais de 30% dos óleos e gorduras vegetais produzidos no mundo são hidrogenados, segundo Haumann (1994). No processo de hidrogenação industrial de óleos ocorre a formação de grande quantidade de ácidos graxos *trans*, podendo variar de 13,02% a 53,09% (Basso et al., 1999).

A composição em ácidos graxos em gorduras vegetais hidrogenadas, segundo Pereira (2003), é mostrada na Tabela 2.

TABELA 2 Composição de ácidos graxos em gorduras vegetais hidrogenadas por cromatografia

Denominação		Fórmula e família	Ácidos graxos do óleo de soja (%)
Usual	IUPAC		Pereira (2003)
Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico	14:0	0,14
Ácido palmítico	Ácido hexadecanoico	16:0	13,53
Ác. palmitoleico	Ácido hexadecenoico	16:1 $\omega$ 7	0,06
Ácido esteárico	Ácido octadecanoico	18:0	
Ácido	Ácido octadecenoico	18:1	39,1
Ácido $\alpha$ -linoleico	Ácido octadecadienoico	18:2 $\omega$ 6	12,97
Ácido $\alpha$ -linolênico	Ácido octadecatrienoico	18:3 $\omega$ 3	0,11
Ácido araquídico	Ácido eicosanoico	20:0	0,21
Ácido lignocérico	Ácido anoico	24:0	0,59

Fontes: Voet et al. (2000), Curi et al. (2002) e Pereira (2003).

A composição em ácidos graxos, segundo Belitz & Grosch (1988), Mahan & Escott-Stump (2005) e Nawar (1993), de algumas fontes lipídicas de origem vegetal, utilizadas no presente estudo, é mostrada na Tabela 3.

TABELA 3 Composição de ácidos graxos das fontes lipídicas utilizadas, em percentual

		Óleo de linhaça <i>Linum usitatissim</i>	Gordura de coco <i>Cocos nucifera</i>	Gordura hidrogenada	Óleo de soja <i>Glycine Max.</i>
Ácido caprílico	8:0		8,0		
Ácido cáprico	10:0		6,0		
Ácido láurico	12:0		47,0		
Ácido mirístico	14:0		18,0		
Ácido palmítico	16:0	6,5	9,0	10,0	10,0
Ácido esteárico	18:0	3,5	2,5	4,2	3,5
Ácido oleico	18:1(9)	18,0	7,0	30,4	21,0
Ácido elaídico	18:1*			5,5	0,0
Ácido linoleico	18:2(9,12)	14,0	2,5	42,5	56,0
Vide nota abaixo	18:2**			0,7	0,0
Vide nota abaixo	18:2***			5,2	0,0
Ácido $\alpha$ -linolênico	18:3(9,12,15)	58,0		0,7	8,0
Ácido araquídico	20:0	0,0			0,5
Ácido gadoleico	20:1 ou 20:2	0,0			0,5

\*contém ácidos graxos trans 18:1(7 tr) até 18:1(14 tr), sendo os principais 18:1 (10 tr) e 18:1 (11 tr)

\*\* diversos ácidos graxos conjugados

\*\*\* ácido isolinoleico e ácido isoelaídico

Fontes: Belitz & Grosch (1988), Mahan & Escott-Stump (2005), Nawar (1993) - modificado

### 2.3 Funções os ácidos graxos no organismo

Os ácidos graxos de cadeia média necessitam de menos sais biliares para a sua solubilização, não são reesterificados nos enterócitos, são transportados diretamente pela veia porta, prescindindo da presença de micelas para a absorção intestinal. Os referidos ácidos graxos livres independem da ligação plasmática

com a albumina para transporte e, quando ativados na mitocôndria, não necessitam do transporte pela carnitina. São fontes preferenciais de energia aos TCL, pois são digeridos rapidamente, considerando-se que o fluxo portal é 250 vezes mais rápido do que o linfático e não são tão afetados pelos fatores intestinais que prejudicam a absorção de gordura (Waitzberg et al., 2002; Mahan & Escott-Stump, 2005). Estas características têm levado à sua utilização como fonte lipídica alternativa, geralmente associada a ácidos graxos de cadeia longa, na forma de triacilgliceróis estruturados, com o objetivo de melhorar a função imune e metabólica de pacientes hospitalizados.

O emprego de lipídeos estruturados na fabricação de margarina, queijo e outros alimentos, com o objetivo de melhorar a função imune, o balanço nitrogenado, prevenir trombose, diminuir os níveis de colesterol e o risco de câncer, tem sido objeto de estudos (Bell et al., 1991). A indústria de dietas especializadas tem fabricado produtos, entre eles módulos de lipídeos, cuja composição de lipídeos é total ou parcialmente na forma de TCM, indicados, principalmente, para uso em pacientes com dificuldade digestiva ou absorptiva (esteatorreia), distúrbios do transporte linfático, doenças que induzem à desnutrição, estresse metabólico e hipermetabolismo, tais como o câncer e a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), e pacientes que necessitam de dieta cetogênica (Mahan & Escott-Stump, 2005; Dias, 2005; Support, 2006). A indicação do seu uso tem se estendido a outras situações clínicas e estudos mostram seu efeito no combate à bacteremia, acarretando menor produção de eicosanoides do que o óleo de milho (Kono et al., 2004).

A enterocolite em pacientes oncológicos representa mais um aspecto do quadro clínico patológico desses pacientes (Wetering et al., 2003). Dieta oral com ácidos graxos de cadeia curta oferecida a camundongos, antes do tratamento com o quimioterápico citostático ara-C (citarabina), diminuiu os danos (atrofia inflamação e necrose) causados por esta droga ao intestino

delgado e cólon, representando potencial fator de melhora de pacientes com mucosite causada pelo tratamento do câncer (Ramos et al., 1997).

Após administração de lipopolissacarídeos bacterianos, aumento de imunoglobulina A (IgA) secretória ileal sugere proteção intestinal por imunomodulação em ratos, tratados previamente com TCM enteral (comparados ao óleo de milho). Segundo Kono et al. (2004), houve redução dos danos intestinais e diminuição da resposta por citocinas pró-inflamatórias nos animais alimentados com TCM por gavagem, comparados aos que receberam óleo de milho.

Em relação aos TCM, são também relatados aumento dos lipídeos totais triacilgliceróis, lipoproteínas LDL + VLDL-colesterol, substâncias reativas ao ácido tiobabítúrico (TBARS) e glutathione reduzida no plasma de camundongos alimentados com dieta contendo gordura de coco, quando comparadas com óleo de soja como fonte de lipídeos. Os macrófagos dos camundongos que receberam gordura de coco tinham também níveis aumentados das concentrações de colesterol total, colesterol livre e esterificado, triacilgliceróis e TBARS, mas o conteúdo total de fosfolipídeos foi semelhante nos dois grupos (Oliveros et al., 2004).

Quanto aos ácidos graxos poli-insaturados essenciais (AGE), ácido linoleico ( $\omega 6$ ) e ácido  $\alpha$ -linolênico ( $\omega 3$ ), sua presença na composição da membrana celular confere a ela a fluidez e a viscosidade específicas, que permitem a difusão de diversas substâncias fundamentais para o metabolismo celular e resposta imunológica. Diferença nas gorduras dietéticas ingeridas influencia na composição lipídica da membrana por meio de mudanças nas quantidades de ácidos graxos saturados que compõem os fosfolipídeos e parecem estar relacionados à fluidez da membrana. O consumo elevado de  $\omega 3$  e  $\omega 6$  na dieta pode levar ao aumento de teores desses na membrana, sendo o primeiro de forma mais lenta (Mahan & Escott-Stump, 2005).

A importância dos AGE também é justificada pela sua participação em reações inflamatórias diretamente relacionadas à resistência imunológica, distúrbios metabólicos, processos trombóticos e doenças neoplásicas, por serem precursores da síntese de eicosanoides, mais ou menos potentes. O ácido linoleico (18:2 $\omega$ 6) forma o  $\gamma$ -linolênico (18:3 $\omega$ 6), que é convertido em ácido araquidônico (20:4 $\omega$ 6). Este é precursor da síntese de eicosanoides, especificamente das prostaglandinas da série 2, tromboxano A2 e leucotrienos da série 4, mediadores potentes envolvidos na inflamação, infecção, lesão tecidual, modulação do sistema imune e agregação plaquetária. Em outra via, o ácido  $\alpha$ -linolênico (18:3 $\omega$ 3), que é convertido de forma lenta em ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA), precursores de mediadores químicos menos potentes, as prostaglandinas da série 3, tromboxano A3 e leucotrienos da série 5. A proporção dos derivados do ácido araquidônico e ácido eicosapentaenoico diretamente ligados à oferta de ácidos graxos poli-insaturados essenciais  $\omega$ 6 e  $\omega$ 3 (AGE) é importante regulador do sistema imune, em que se considera que  $\omega$ 3 tem papel maior no mecanismo de defesa do sistema imune e  $\omega$ 6 participa mais no desencadeamento e na manutenção da resposta inflamatória (Mahan & Escott-Stump, 2005; Yoshida et al., 2003; Waitzberg et al., 2002).

Para permitir o metabolismo normal dos ácidos graxos  $\omega$ 6, mesmo quando o fornecimento deste é suficiente, parece ser necessária ingestão mínima de  $\omega$ 3. A deficiência de ácidos graxos poli-insaturados essenciais  $\omega$ 6 e  $\omega$ 3 causa uma série de problemas que serão descritos posteriormente e pode ser verificada a partir do aumento plasmático de  $\omega$ 9, que ocorre por metabolização do ácido oleico ( $\omega$ 9) e seus derivados na ausência do fornecimento de  $\omega$ 6. Acredita-se que os derivados de  $\omega$ 9 possam suprir parcialmente as funções do  $\omega$ 6 na composição das membranas celulares, porém, os mediadores lipídicos  $\omega$ 6, como

os eicosanoides, não são os mesmos e, portanto, não têm as mesmas funções biológicas que aqueles produzidos a partir do  $\omega$ 9 (Waitzberg et al., 2002).

O efeito benéfico do uso de ácidos graxos  $\omega$ 3, notadamente de ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA), tem sido descrito na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares, na retocolite ulcerativa, em alterações imunológicas e, mais recentemente, nas doenças pulmonares, como a deficiência de surfactante pulmonar (Leite & Peluzio, 2003). Os ácidos graxos  $\omega$ 3 são também fundamentais para o desenvolvimento e o funcionamento do sistema nervoso central. Sua deficiência pode levar à diminuição da capacidade de aprendizado e da acuidade visual, por ser importante componente da composição lipídica do sistema nervoso central e da retina (Curi et al., 2002).

Muitos dos mediadores inflamatórios associados à infecção generalizada, sepse e à disfunção de múltiplos órgãos e sistemas incluem a síntese de prostaglandinas, leucotrienos e fatores plaquetários, que são metabólitos de ácidos graxos  $\omega$ 6. As respostas biológicas de eicosanoides formados a partir de ácidos graxos  $\omega$ 3 são menos potentes, inclusive a produção de citocinas e respostas inflamatórias. Estudos clínicos bem controlados mostram que intervenção dietética com quantidades aumentadas de ácidos graxos  $\omega$ 3 altera o desenvolvimento de doença cardiovascular, processos inflamatórios, desordens autoimunes, infecção, rejeição a enxertos e doenças renais.

Não existe consenso a respeito das doses de lipídeos na composição dietética e a proporção destes ácidos graxos. Especula-se uma relação, entre  $\omega$ 6: $\omega$ 3, de 3 a 10:1, diferente da taxa encontrada na alimentação ocidental que fica entre 15-20:1. Alguns autores chegam a mencionar a proporção  $\omega$ 6: $\omega$ 3 ótima de 2 a 3:1, mais próxima da proporção da dieta da era paleolítica que se aproximava de 1:1 (Baur, 1999; David et al., 2001; Camuesco et al., 2005, Mahan & Escott-Stump, 2005).

Modelos animais para estudo de queimadura comprovaram que a composição dietética pode afetar a evolução clínica e ter efeitos poupadores de proteína. Efeitos benéficos são observados com a oferta de dietas pobres em gorduras, ricas em ômega 3 (óleo de peixe) com ácidos saturados e triacilgliceróis estruturados. A maioria dos estudos descritos pesquisa o acréscimo dos ácidos graxos  $\omega$ 3, juntamente com outros possíveis imunomoduladores, sendo ainda controverso qual o efeito real de cada um deles (Waitzberg et al., 2002).

Estudos do uso de ácidos graxos  $\omega$ 3 em doenças inflamatórias intestinais vêm sendo feitos há muitos anos, baseados na baixa incidência destas em esquimós. Segundo Belluzzi et al. (1996), houve redução das recidivas de doença de Crohn, com o uso de preparação óleo de peixe rico em ômega-3; já em revisão recente, Belluzzi et al. (2000) relatam controvérsias quanto às vantagens do uso de ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ 3 nas doenças inflamatórias intestinais (colite ulcerativa e doença de Crohn), pois são dependentes dos efeitos colaterais do tratamento, da forma de seleção dos pacientes, das fórmulas e dosagens usadas nos diversos estudos. Têm sido realizados estudos com ácidos graxos no trofismo intestinal e imunomodulação em diversas situações.

O uso de agressores químicos, como ácido acético, ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) e dextran sulfato de sódio (DSS), causando lesões intestinais semelhantes às doenças inflamatórias intestinais, para avaliar o efeito protetor de ácidos graxos ômega 3, tem ocorrido em modelos animais. A maioria destes estudos relata um efeito anti-inflamatório desses ácidos graxos. Camuesco et al. (2005) informam que, em colite induzida por DSS, em ratos tratados com dieta baseada em azeite de oliva, suplementado ou não com óleo de peixe, *versus* dieta com óleo de soja, ocorreu uma menor resposta inflamatória colônica nos ratos alimentados com dieta baseada em azeite. Este efeito benéfico

foi maior na dieta enriquecida com óleo de peixe (rico em ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ 3). Avaliaram-se perda de peso, consistência das fezes, sangramento retal, ulceração na mucosa epitelial, diminuição de muco e atividade mitótica nas criptas, infiltrado mononuclear e granulocítico na lâmina própria e submucosa, edema submucoso e vascularização.

Campos et al. (2002) mostraram redução de diarreia, atenuação das consequências morfológicas e diminuição da concentração de mediadores inflamatórios, em ratos Wistar com colite aguda induzida por ácido acético e tratados com emulsão lipídica parenteral enriquecida com ácidos graxos  $\omega$ 3. Almallah et al. (2000) avaliaram o efeito de dietas suplementadas com PUFA  $\omega$ -3 (EPA e DHA), na forma de óleo de peixe *versus* óleo de girassol, pelo período de 6 meses, em pacientes portadores de proctocolite por colite ulcerativa, demonstrando evidências de supressão da reação imune *in situ* e redução da atividade da doença nos pacientes que receberam PUFA  $\omega$ -3.

Estudos experimentais utilizando diversos quimioterápicos para agressão da mucosa intestinal, efeito colateral presente no tratamento com antineoplásicos, também têm sido realizados para avaliar o efeito protetor dos ácidos graxos ômega 3. Fórmulas enriquecidas com soja e ácidos graxos  $\omega$ 3 preveniram a perda das vilosidades intestinais em ratos tratados com o quimioterápico metotrexato, comparativamente à dieta com caseína (Mitsugi et al., 2004). Outro trabalho semelhante mostra que dietas suplementadas com ácido graxo poli-insaturado doco-hesahexaenoico ( $\omega$ 3) protegem contra lesões intestinais produzidas pela droga antitumoral 5-fluorouacil (5-FU) (Gomez De Segura et al., 2004).

O mecanismo exato do efeito dos lipídeos no sistema imune ainda não é bem conhecido, mas existem evidências de que muitas funções dos macrófagos dependem de sua composição lipídica. A recepção de sinais, transdução, fagocitose e síntese de lipídeos oxidados e outros mediadores inflamatórios

pelos linfócitos e macrófagos são algumas das funções dependentes da composição lipídica, fatores esses que parecem estar ligados à comunicação entre as células e a eficiência de defesa do organismo. A transferência das moléculas lipídicas, muitas vezes, independe de receptores de membrana, mas ainda não está totalmente elucidado o papel fisiológico da transferência de lipídeos e quais as classes lipídicas mais importantes neste mecanismo (Curi et al., 2002; Oliveros et al., 2004).

Os ácidos graxos *trans* se comprimem na biomembrana, devido à sua conformação química, como se estivessem totalmente saturados, aumentando seu potencial de fluidez. Tal característica parece estar ligada a um maior risco de coronariopatias e outras doenças crônicas, quando seu consumo é aumentado. A dessaturação e o alongamento dos ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico para formar AGE também é inibida pelos ácidos graxos *trans*, possivelmente prejudicando o desenvolvimento cerebral e de outros órgãos fetais (Mahan & Escott-Stump, 2005).

No entanto, os efeitos dos ácidos graxos *trans* na saúde humana devem ser revisados, uma vez que existem alguns destes com efeitos benéficos, como é o caso do ácido linoleico conjugado (CLA) com isomeria *trans* (Sanhueza et al., 2002 citado por Pereira, 2003). Hoje têm sido desenvolvidos produtos acrescentando fitosteróis e fitoestanois às margarinas para baixar os níveis séricos de colesterol total e em LDL, efeito esse conseguido sem afetar os níveis plasmáticos do colesterol HDL (Hicks & Moreau, 2001; Alvarez-Leite & Peluzio, 2003).

#### **2.4 O quimioterápico citarabina e alguns de seus efeitos no organismo**

O citarabina ou ara-C é um antimetabólito, análogo do nucleosídeo 2'-desoxicidina, de ocorrência natural. Ela apresenta, no carbono 2' da pentose, o grupamento 2'hidroxila em posição *trans*, formando a arabinose no lugar de

ribose, encontrada na citidina, ou desoxirribose. A citarabina pode também ser chamada de citosina arabinosídeo, arabinosilcitosina ou, mais adequadamente, de 1-beta-D-arabinofuranosilcitosina. É usado como antineoplásico no tratamento de leucemia aguda, especialmente agranulocítica em adultos. Seu mecanismo de ação é a inibição da DNA-polimerase, impedindo a síntese de DNA, após sua conversão no metabólito ativo ara-CTP. Ela pode também ser incorporada ao DNA e ao RNA, fator este relacionado com morte celular (Calabresi & Parks, 1983).

A citarabina é considerada específica para a fase S (replicação do DNA) do ciclo celular, portanto, é ativa apenas em células em divisão, sendo incapaz de causar a morte de células que não se dividem. Apresenta alta toxicidade em células em altos níveis de proliferação, como as tumorais (Skipper et al., 1967). Sua toxicidade é responsável por vários efeitos colaterais no trato gastrointestinal, como náuseas, vômitos, anorexia, dor abdominal, diarreia, febre, estomatite, mucosite e aversão alimentar. Esses efeitos afetam diretamente a ingestão alimentar e outros nutrientes e também são causados por outros antineoplásicos (Aracytin®, 2000; Dias, 2005).

Em camundongos, dosagens terapêuticas ótimas de ara-C, administradas intraperitonealmente (IP), 15mg/kg/dose, a cada 3 horas por 24 horas, causam lesões das células epiteliais da mucosa intestinal. A lesão é mais grave nas primeiras 4 horas que seguem as aplicações, recuperando-se completamente em 72 horas. A manutenção das doses, por mais de 24 horas, causa lesões progressivas da mucosa intestinal e mudanças nos tecidos hematopoiéticos até aplasia da medula óssea, quando a dose letal (360 mg/kg em 72 horas) é atingida ou ultrapassada (Leach et al., 1969).

Ramos (2003) causou lesões no intestino delgado, mucosite em camundongos suíços utilizando ara-C na dose intraperitoneal de 1,8 mg/animal,

duas vezes por dia, durante 2 ou 4 dias. Os camundongos pesavam em torno de 25 g.

O efeito do ara-C em células cancerígenas do colon intestinal pode ser potencializado *in vitro* pelo uso de doses pequenas de DHA, comparado com ácido aracdônico (AA). A agressão as células normais também é aumentada pelo DHA, porém, em uma proporção muito menor (Cha et al., 2005).

A agressão da mucosa intestinal por quimioterápicos, como a citarabina ou outros farmacoterápicos, pode ser avaliada por diversos parâmetros, dentre eles o aspecto histológico e a morfometria de vilosidades intestinais. Podem ser estudadas a presença de macrófagos na superfície basal do epitélio, a hiperplasticidade das criptas, o conteúdo proteico e de DNA das células da mucosa, a ruptura da membrana basal e a diminuição da altura das vilosidades intestinais (Ramos, 2003; Seago et al., 1995).

A lesão inflamatória da mucosa intestinal pode ser avaliada por outros parâmetros, como os níveis de granulócitos e macrófagos, estimados pela dosagem da atividade de mieloperoxidase (MPO) e N-acetil-D-glicosaminidase (NAG), respectivamente. Em porquinhos-da-índia com ileíte, causada por injeção intraluminal de etanol a 50%, houve um aumento dos níveis de NAG ( $p < 0,05$ ) no 7º e no 14º dia ( $p < 0,01$ ), após o tratamento com etanol, sendo maiores no 14º dia (Seago et al., 1995).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido em conjunto entre o Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras e o Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A parte experimental foi executada no Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABIN) do ICB-UFMG, após aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFMG.

#### 3.1 Animais experimentais

Foram utilizados camundongos suíços (linhagem Swiss/NIH), fêmeas, com 8 semanas de idade, pesando  $35,3 \pm 5,1$ g e mantidas em gaiolas coletivas em salas de ciclo de luz controlado no biotério do LABIN.

#### 3.2 Preparo da dieta

As dietas foram preparadas segundo o padrão do American Institute Nutrition (AIN-93), descrito por Reeves et al. (1993) com modificações em relação às fontes e ao teor de lipídeos, contendo 10% destes em quatro padrões. Os ácidos graxos utilizados foram óleo de linhaça (rico em ômega 3), gordura de coco (fonte de triacilgliceróis de cadeia média, TCM), gordura vegetal hidrogenada *shortening* (rica em ácidos graxos *trans*) e óleo de soja como grupo testemunha. Os componentes lipídicos foram adquiridos no comércio da cidade de Belo Horizonte e cedidos pelo Laboratório de Bioquímica Nutricional, do Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

A dieta foi preparada colocando-se, primeiro, os ingredientes de menor peso, sucessivamente, exceto pela mistura de vitaminas, que foi colocada por último, devido à fotolabilidade. A gordura hidrogenada foi aquecida, até adquirir consistência líquida, em micro-ondas (4 minutos, na potência para descongelar), para melhor incorporação. Os demais ingredientes foram acrescentados à temperatura ambiente. Em seguida, foi peneirada cinco vezes e congelada.

TABELA 4 Formulação das dietas oferecidas aos animais experimentais, caracterizadas pelas diferentes fontes lipídicas, elaboradas conforme AIN-93 com modificações

Componentes	Dieta AIN 93 modificada (isoproteica e isoenergetica)					AIN 93	
	Linhaça	Coco	Gord. Hidr.	Soja	kcal/kg	g/kg	kcal/kg
Caseína	193,0	193,0	193,0	193,0	774	200,0	800
Metionina + cistina	2,9	2,9	2,9	2,9	12	3,0	12
Amido de milho	512,4	512,4	512,4	512,4	2050	529,5	2118
Sacarose	96,8	96,8	96,8	96,8	387	100,0	400
Celulose	48,4	48,4	48,4	48,4	0	50,0	0
BHT	0,0135	0,0135	0,0135	0,0135	0	0,0140	0
MM*	33,8	33,8	33,8	33,8	0	35,0	0
MV**	9,6	9,6	9,6	9,6	0	10,0	0
Bitartarato de colina	2,4	2,4	2,4	2,4	0	2,5	0
Óleo de soja	0,0	0,0	0,0	100,0	} T 900   —	70,0	630
Óleo de linhaça	100,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0
Gordura de coco	0,0	100,0	0,0	0,0		0,0	0
GorduraHidrogenada	0,0	0,0	100,0	0,0		0,0	0
<b>Total</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>4122</b>	<b>1000</b>	<b>3960</b>

\* pré mix de minerais - AIN 93 \*\*pré mix de vitaminas - AIN 93.

A quantidade de água incorporada à dieta foi calculada, acrescentando-se água cuidadosamente até obter a consistência de *pelet*. No preparo dos *pelets* seguintes foi colocado o mesmo volume de água já calculado. Os *pelets* foram embalados em papel alumínio e congelados até o uso. A água foi incorporada, após peneirar por três vezes a ração, já congelada, nas proporções descritas na Tabela 5, de maneira que as dietas elaboradas permanecessem isoenergéticas e isoproteicas.

TABELA 5 Proporção água (mL) / ração (g) das dietas utilizadas

<b>Nutrientes</b>	<b>Linhaça</b>	<b>Coco</b>	<b>Gord. Hidr</b>	<b>Soja</b>
Ração (g)	500,0	500,0	500,0	500,0
Água (mL)	247,0	250,0	235,5	244,0

### 3.3 Delineamento experimental

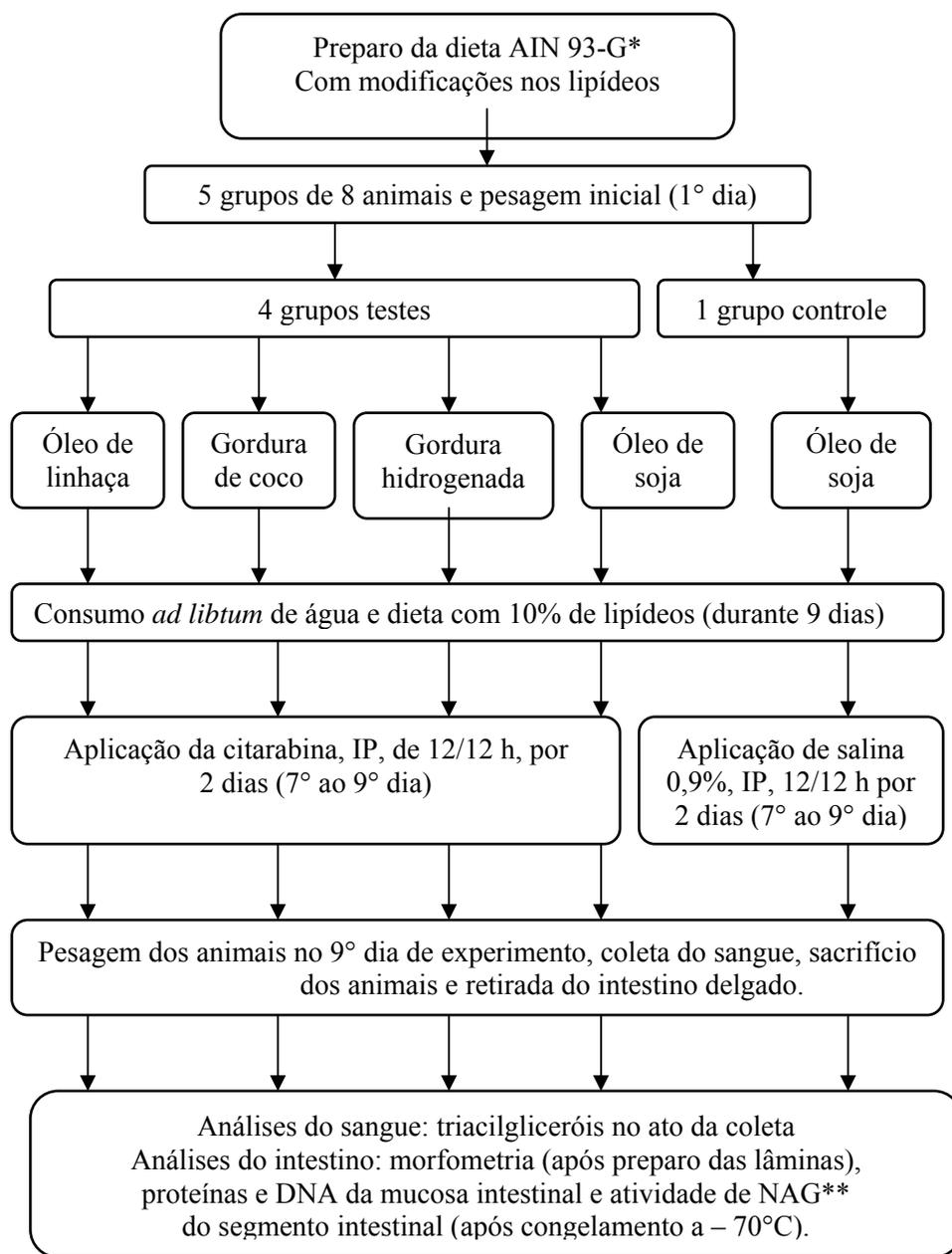
Camundongos suíços criados no LABIN, pesando 35,3±5,1 g, foram colocados em gaiolas coletivas, com acesso livre à água e à dieta confeccionada segundo AIN-93 G, com modificações. Os camundongos foram divididos em 5 grupos de 8 animais. A ingestão de alimentos foi quantificada diariamente. A partir do 7º dia, foi administrado, intraperitonealmente (IP), ara-C (1-β-D-arabinofuranosilcitosina/Aracytin®, citarabina, da Pfizer S/A, Rhodia Farma Ltda., Brasil), exceto no grupo controle. Os animais foram sacrificados no 9º dia, sob anestesia (xilazina, 10 mg/kg, e ketamina, 80 mg/kg, intraperitonealmente) conforme protocolo Comissão de Ética em Experimentação Animais (Comitê de Ética em Experimentação Animal – CETEA, 2006) para a retirada de sangue. Os

intestinos foram removidos após sacrifício e cuidadosamente lavados em solução salina a 0,9%.

### **3.4 Tratamento com o agente quimioterápico**

As quatro doses de ara-C foram administradas, intraperitonealmente (IP), em intervalos de 12 horas (iniciando às 20 horas do 8º dia). A dose foi calculada conforme o peso do camundongo antes da administração, 0,15 mg/10 g de peso/dia. A droga foi diluída em solução salina (100mg/5.330µL), no momento do uso e permanecia em geladeira, a 4°C, por, no máximo, 24 horas. No grupo controle foi administrada, intraperitonealmente, solução salina, no mesmo volume da citarabina.

O fluxograma dos procedimentos gerais do trabalho está descrito na Figura 1.



\* American Institut Nutrition (1993) \*\* N-acetilglicosaminidase

FIGURA 1 Fluxograma dos procedimentos gerais do trabalho

### 3.5 Análises sanguíneas

Amostras sanguíneas foram coletadas antes do sacrifício e foi analisado o teor de triacilgliceróis, no mesmo dia do sacrifício, utilizando kits enzimáticos colorimétricos (glicerol oxidase) da Katal Biotecnológica Ltda., após diluição 1:25.

### 3.6 Morfometria da altura das vilosidades intestinais

Excluídos os 6 cm proximais e 1 cm medial do intestino delgado, o restante foi dividido em duas porções, parte proximal e distal, que foram separadas para morfometria. O tecido foi fixado em formaldeído a 10% e incluído em parafina. Fatias histológicas de 3-5  $\mu\text{m}$  foram coradas com hematoxilina e eosina e examinadas por uma única observadora. A identificação dos grupos foi feita apenas após as medidas de morfometria.

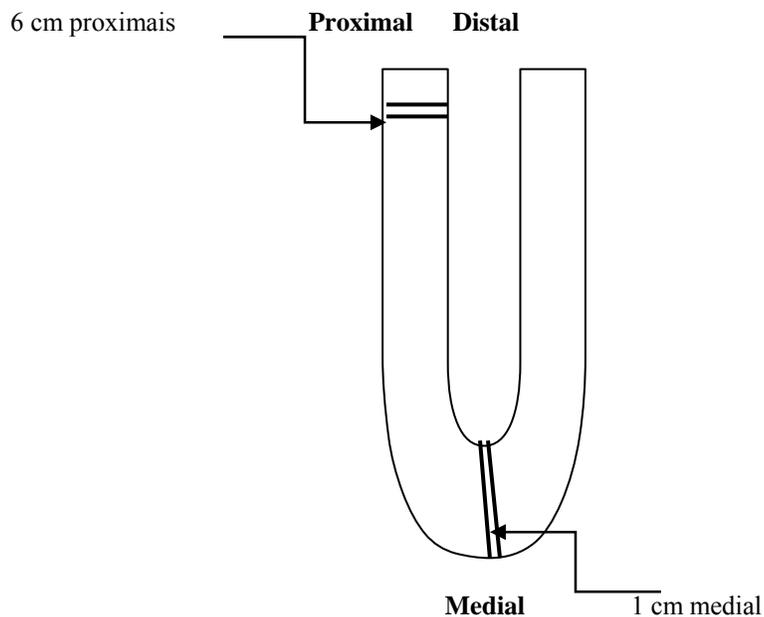


FIGURA 2 Cortes do intestino delgado

As medidas morfométricas foram realizadas utilizando-se um microscópio com uma objetiva 10X, acoplada a uma lente 10X. Foram fotografados 8 campos por lâmina, contendo seções verticais das vilosidades e criptas, sendo medida a altura de três vilosidades intestinais, por campo fotografado. Os resultados relatados foram as médias das medidas realizadas nos 8 animais de cada grupo.

### **3.7 Dosagens de proteínas da mucosa intestinal**

Os primeiros 5 cm proximais do intestino delgado foram abertos em papel de filtro e delicadamente raspados, para remover a mucosa, que foi coletada, pesada e congelada a  $-70^{\circ}\text{C}$ , até as medidas de proteína e nucleotídeo total.

A dosagem de proteínas foi feita de acordo com o método descrito por Lowry et al. (1951). As amostras intestinais foram pesadas, diluídas em 2 mL de NaCl a 0,9%, homogeneizadas com triturador e conservadas no congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Colocaram-se 50  $\mu\text{L}$  da amostra diluída 1:5 e completou-se o volume para 200 $\mu\text{L}$  com NaOH 0,5M. Esperou-se 15 minutos e colocou-se 1 mL da solução A (1 parte de  $\text{CuSO}_4$  4:1 parte de tartarato de sódio:100 partes de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), em todos os tubos. Adicionaram-se 100 $\mu\text{L}$  de Folin 1:1 (em  $\text{H}_2\text{O}$  destilada) em cada tubo e agitou-se imediatamente após a aplicação, colocando-se em placas para leitura em leitor de espectrofotômetro, ELISA. Esperou-se 30 minutos e leu-se no espectrofotômetro a 660nm. A curva padrão foi feita variando-se a diluição do padrão de albumina com concentração de 1mg/mL. A concentração de proteínas foi expressa em mg/g de mucosa intestinal e mg/5 cm de mucosa intestinal.

### **3.8 Dosagem de DNA da mucosa intestinal**

Os 5 cm proximais do intestino delgado foram abertos em papel de filtro e delicadamente raspados para remover a mucosa que foi coletada, pesada e congelada, a  $-70^{\circ}\text{C}$ , até as medidas de proteína e nucleotídeo total.

A dosagem de DNA foi feita de acordo com o método descrito por Prasad et al. (1972). As amostras intestinais foram pesadas, diluídas em 2 mL de NaCl 0,9%, homogeneizadas com triturador e conservadas no congelador, a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Foi colocado 0,1 mL da amostra diluídas 1:2,5 em um tubo de ensaio e o volume completado com 0,4 mL com tampão Tris/NaCl (0,1 M tris/ 0,1 M NaCl), ajustado para pH 7,5 a 8,8. Depois, foi colocado 0,5 mL de solução de brometo de etídio a  $20\mu\text{g/ml}$  em cada tubo e acrescentados 10  $\mu\text{L}$  de RNase a 20 mg/mL em cada tubo para a eliminação do RNA. Os tubos foram incubados por 1 hora, a  $53^{\circ}\text{C}$  e, depois, feita a leitura em fluorímetro (365 nm de excitação e 590 nm de emissão). A curva padrão foi feita variando-se a concentração do padrão de DNA. A concentração de DNA foi expressa em mg/g de mucosa intestinal e mg/5cm de mucosa intestinal.

### **3.9 Medida da atividade de N-acetilglicosaminidase (NAG) no intestino delgado**

A medida de atividade de NAG, cuja atividade está relacionada com presença de macrófagos, foi feita de acordo com o método descrito por Bailey (1988), em duas amostras de 1 cm, das regiões proximal e medial do intestino delgado, que foram retiradas e congeladas ( $-70^{\circ}\text{C}$ ).

As amostras foram pesadas e foi acrescentado tampão 1 (1,9 mL/100mg de amostra) gelado, (homogeneizadas) e, em seguida, centrifugadas a 5.000 rotações por minuto, durante 20 minutos, a  $4^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante foi desprezado e o precipitado remanescente suspenso em NaCl a 0,2% gelado (1,5 mL/100

mg do peso inicial do tecido). Aguardou-se 30 segundos e adicionou-se NaCl a 1,6% gelado (1,5 mL/100 mg). Homogeneizou-se e centrifugou-se por 20 minutos a 5.000 rpm, a 4°C. Desprezou-se o sobrenadante e acrescentou-se tampão 2 (1,9 mL/100 mg de tecido inicial). Dividiu-se em duas aliquotas e acrescentaram-se 2 mL de Triton x-100 0,1% gelado. Homogeneizou-se e congelou-se novamente.

Centrifugou-se o homogeneizado, a 4°C, por 10 minutos, a 3.000 rpm. A seguir, adicionaram-se 100 µL das amostras diluídas 1:2 em tampão citrato/fosfato pH 4,5 a uma placa de 96 poços em duplicata (o tampão citrato fosfato - 100 µL corresponde ao branco). Às amostras, adicionaram-se 100 µL do substrato (p-nitrofenil-N-acetil-β-D-glicosaminida), incubou-se a 37°C, por 10 minutos. Após esse período, foram adicionados 100 µL de tampão glicina 0,2M, pH 10,6. A absorbância foi medida por espectrofotometria em comprimento de onda de 400 nm.

### **3.10 Análises estatísticas**

Dados referentes a ganho de peso e ingestão alimentar dos camundongos, triacilgliceróis no soro, morfometria da altura da vilosidade intestinal, conteúdo de DNA e proteínas na mucosa intestinal e atividade de NAG no tecido intestinal foram avaliados pela análise de variância para comparação entre os grupos, com um limite de confiança de 5%.

A análise estatística dos experimentos foi feita considerando-se o delineamento inteiramente casualizado. No experimento foram utilizados cinco grupos, que foram classificados conforme os tratamentos: óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada e óleo de soja, divididos em duas classes, caracterizadas pela presença e a ausência de citarabina, sendo este denominado tratamento controle, utilizando o óleo de soja.

A técnica estatística utilizada foi dada pela análise de variância, seguindo o modelo inteiramente casualizado (Pimentel, 1990). Porém, pelo fato de alguns tratamentos terem apresentado perda de repetições diferentes, procedeu-se com a análise desbalanceada. Com base nesses resultados, para as variáveis que apresentaram significância ( $P < 0,05$ ), realizou-se a comparação dos tratamentos por meio do teste de Tukey, considerando um nível de significância fixado em 5%. No caso da comparação dos tratamentos classificados com ou sem ara, realizou-se a estimação via contrastes ortogonais.

Para a realização dos procedimentos mencionados anteriormente, utilizou-se o software SAS versão 8.0, mais especificamente o proc glm.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Consumo de ração

No gráfico da Figura 3 observa-se a média do consumo diário de ração AIN 93 modificada, preparada com gordura hidrogenada (GH), gordura de coco e os óleos de linhaça e soja, pelos camundongos, em gramas por dia, durante o período experimental.

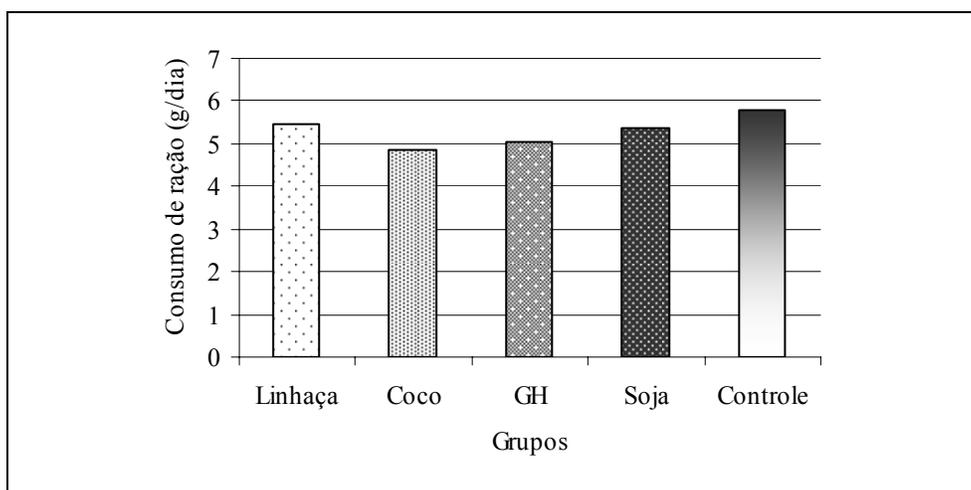


FIGURA 3 Consumo médio (g/dia) de dietas, com diferentes fontes lipídicas, (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) por camundongo, submetido ou não a administração de ara-C.

A fonte lipídica e/ou a presença da citarabina não afetaram o consumo de alimentos pelos camundongos de forma significativa, não tendo interferido nos resultados do presente trabalho, como foi demonstrado na Figura 2.

#### 4.2 Peso dos animais

Os pesos médios dos animais, em gramas, no início do experimento (D0), início da quimioterapia (D7) e dia do sacrifício (D9), são mostrados na Figura 4.

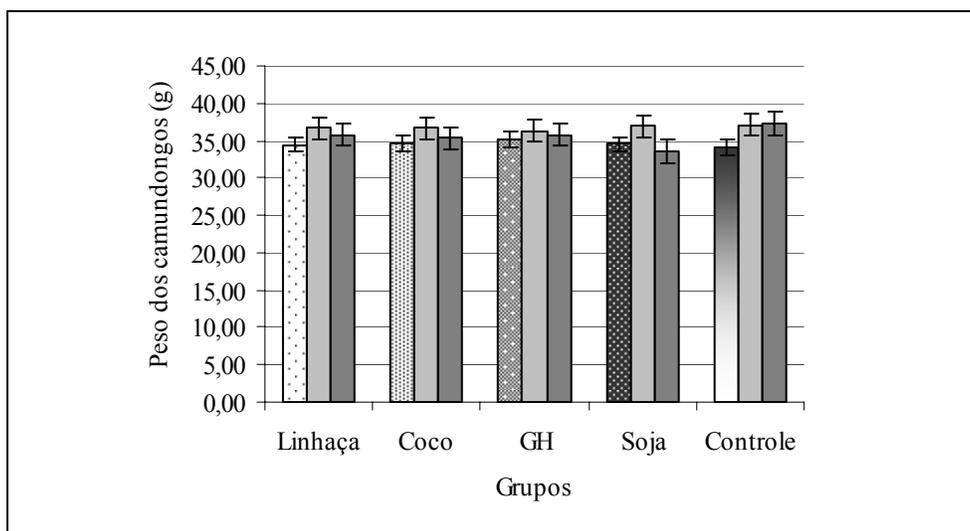


FIGURA 4 Peso médio (g) dos camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) e submetido ou não à administração de ara-C, no início do experimento, início da quimioterapia e antes do sacrifício nos dias (D): D0, D7 e D9 – 1ª, 2ª e 3ª barras do gráfico, respectivamente.

Não foram observadas, no peso dos camundongos, nas datas especificadas acima, diferenças ( $P>0,05$ ) entre os grupos submetidos ao tratamento com ara-C e o grupo controle, que recebeu óleo de soja e não foi submetido à quimioterapia. Também não houve diferença significativa, quando foram comparados os quatro grupos, que receberam citarabina, entre si.

As diferentes dietas oferecidas eram isocalóricas e isoproteicas, conforme mostrado na Tabela 2, justificando-se a manutenção de pesos semelhantes. Camundongos com diferentes pesos poderiam ter proporção diferente dos parâmetros avaliados, dificultando a interpretação dos resultados.

A média de ganho ponderal dos camundongos entre o início do tratamento com citarabina (D7) e o dia do sacrifício (D9) é apresentada na Figura 5.

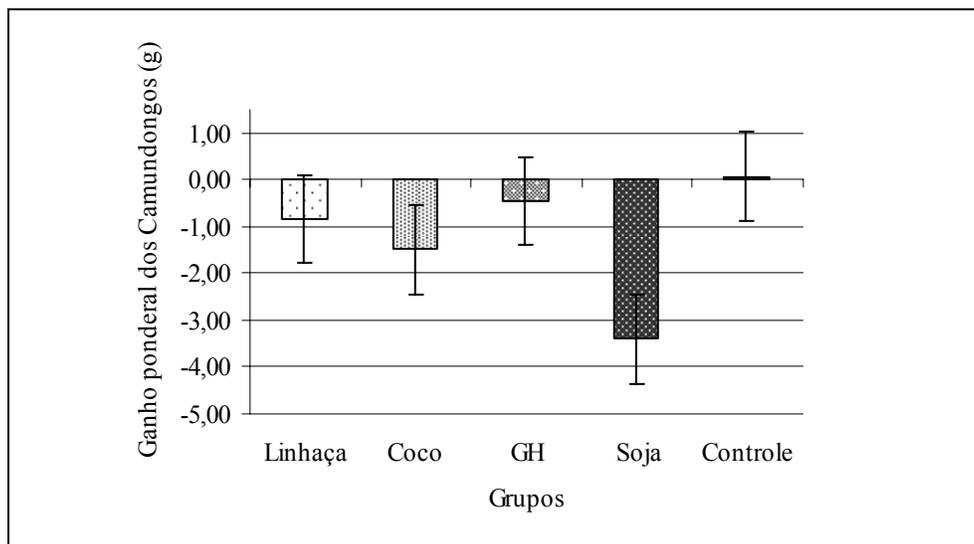


FIGURA 5 Ganho ponderal médio (g) dos camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C, entre o início da quimioterapia e dia do sacrifício.

Quando foi avaliado o ganho ponderal após o início da citarabina notou-se que os camundongos tratados com citarabina tiveram uma perda ponderal, enquanto os não tratados mantiveram o ganho ponderal. Os tratados com citarabina e alimentados com ração contendo óleo de soja apresentaram perda ponderal significativamente maior ( $p < 0,05$ ). A maior perda ponderal dos animais tratados com citarabina e alimentados com ração contendo óleo de soja pode ser explicada por menor proteção pelo óleo de soja, pela ação pró-inflamatória dos eicosanoides ou pela lesão afetar mais a absorção de ácidos graxos poli-insaturados.

A perda de peso pode refletir o efeito da ara-C, que tem como conhecidas reações colaterais: perturbações gastrintestinais (enjoo, anorexia, dor abdominal, diarreia), febre, disfunção hepática e inflamação da mucosa oral com odinofagia (Aracytin<sup>®</sup>, 2000). Estes fatores levam, por si só, à diminuição da ingestão alimentar e à perda ponderal, independente de mucosite ou de diminuição da absorção intestinal.

#### **4.3 Análises sanguíneas**

As médias dos triacilglicéris séricos, em mg/dL, dos camundongos, estão apresentadas na Figura 6.

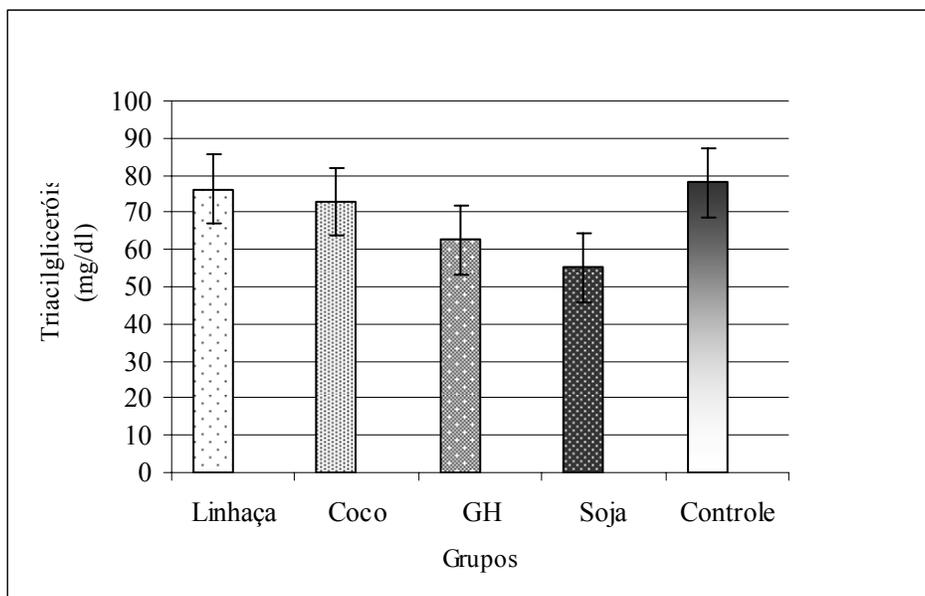


FIGURA 6 Médias dos triacilgliceróis séricos (mg/dL), dos camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C.

Os níveis de triacilgliceróis totais no soro dos camundongos mantiveram-se estatisticamente semelhantes, independente da fonte lipídica e do tratamento ou não com citarabina. Isso demonstra que a fonte lipídica ou o tempo de tratamento não foram suficientes para provocar mudanças nos níveis de triacilgliceróis do sangue. É importante salientar que os animais permaneceram em jejum por 4 horas, antes da coleta do sangue.

Este resultado foi diferente do encontrado por Oliveros et al. (2004), que relataram aumento dos níveis de triacilgliceróis em camundongos tratados com gordura de coco em relação ao óleo de soja. Isso pode ter acontecido devido a algumas diferenças no desenho experimental. Os autores citados usaram camundongos C57BL/6 com 21 dias de idade, pelo período de 6 semanas e o

conteúdo de gorduras em cada dieta foi de 15%, ou seja, foram cepas e idades de camundongos diferentes, um maior tempo de tratamento e maior concentração de lipídeos na dieta.

#### **4.4 Morfometria da altura das vilosidades intestinais**

Fotografias de cortes que demonstram o aspecto histológico das vilosidades intestinais nos 5 tratamentos, utilizadas para a realização das medidas morfométricas da altura das vilosidades intestinais, são apresentadas nas Figuras 7 a 10.



FIGURA 7 Histologia 1ª porção do intestino delgado, grupo óleo de linhaça (com citarabina)

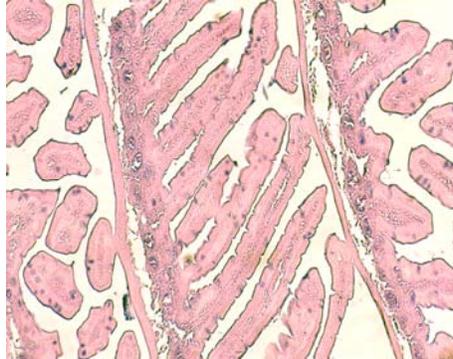


FIGURA 8 Histologia 1ª porção do intestino delgado, grupo gordura de coco (com citarabina)



FIGURA 9 Histologia 1ª porção do intestino delgado, grupo gordura hidrogenada (com citarabina)

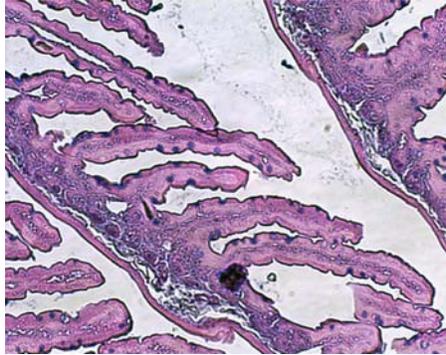


FIGURA 10 Histologia 1ª porção do intestino delgado, grupo óleo de soja (com citarabina)



FIGURA 11 Histologia 1ª porção do intestino delgado, grupo controle (óleo de soja sem citarabina)

No gráfico da Figura 12 observa-se a média da altura das vilosidades intestinais da primeira porção do intestino delgado dos camundongos, em micrômetros.

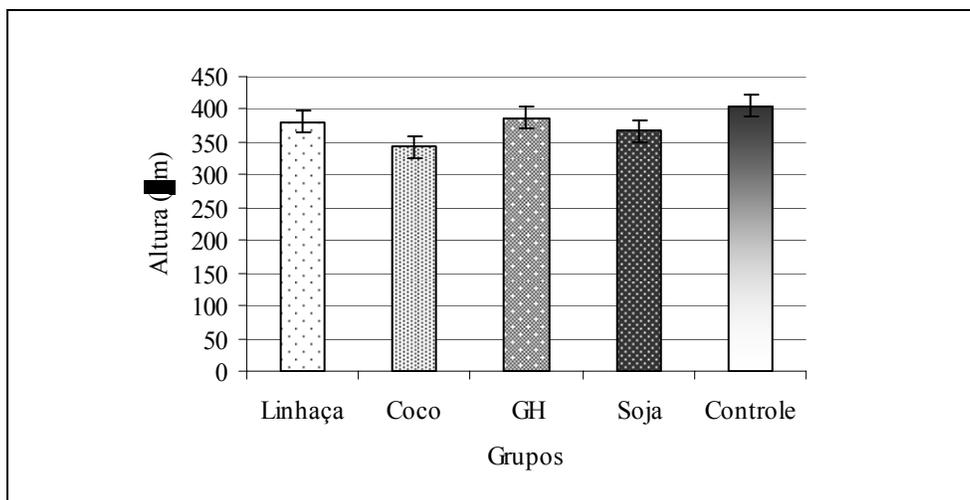


FIGURA 12 Média das alturas das vilosidades intestinais ( $\mu\text{m}$ ) na 1ª metade do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C.

A altura das vilosidades intestinais foi semelhante ( $p > 0,05$ ) nos grupos tratados ou não com citarabina. Também não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre a altura das vilosidades intestinais, considerando-se os quatro tipos de lipídeos utilizados.

Ramos et al. (1997), utilizando uma dose de citarabina de 3,6 mg/dia em camundongos suíços com peso médio de  $30 \pm 2$  g (NMRI) por dois dias, observaram redução significativa ( $p < 0,05$ ) do trofismo intestinal, que foi menos intensa no grupo que recebeu ácido graxos de cadeia curta por via oral. Os mesmos autores verificaram maior redução do trofismo intestinal quando administraram a citarabina por 4 dias, mas parte dos camundongos não resistiu e morreu antes de se completar 4 dias do tratamento.

Apesar de ter sido administrada uma dose maior (média de 5,25 mg/camundongo/dia ou 1,5 mg/10 g de animal/dia) de citarabina, quando se

compara com a utilizada por Ramos (2003) (3,6 mg/camundongo/dia ou 1,2g de animal/dia), a agressão na mucosa intestinal foi menor neste experimento. A diferença observada entre os estudos pode ter ocorrido pela utilização de camundongos isentos de germes (*germefree*), portanto, sem uma flora intestinal protetora e camundongos mais jovens, de linhagem diferente e com menor peso por Ramos (2003). Além desses fatores, a dieta utilizada era uma ração comercial com menor teor de lípidos (3%) e de proteína. Assim, os animais experimentais poderiam estar com uma desnutrição incipiente, potencializando o efeito do ara-C no intestino.

Ao se comparar o efeito protetor dos TCC relatados por Ramos (2003) com os efeitos observados neste trabalho, deve-se considerar que, apesar de os TCM e TCC terem digestão e absorção semelhantes, suas atividades biológicas no trato digestório, provavelmente, são diferentes, podendo não ter o mesmo efeito de proteção. A gordura de coco não contém ácidos graxos de cadeia curta. Alguns autores, inclusive, não consideram o ácido láurico, C<sub>12:0</sub> (47% de sua composição) como ácido graxo de cadeia média.

#### **4.6 Proteínas na mucosa intestinal**

A média das proteínas dosadas na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado dos camundongos é mostrada na Figura 13.

A média das proteínas na mucosa intestinal, corrigidas para o que seria encontrado em 1 grama de mucosa, pode ser observada no gráfico da Figura 14.

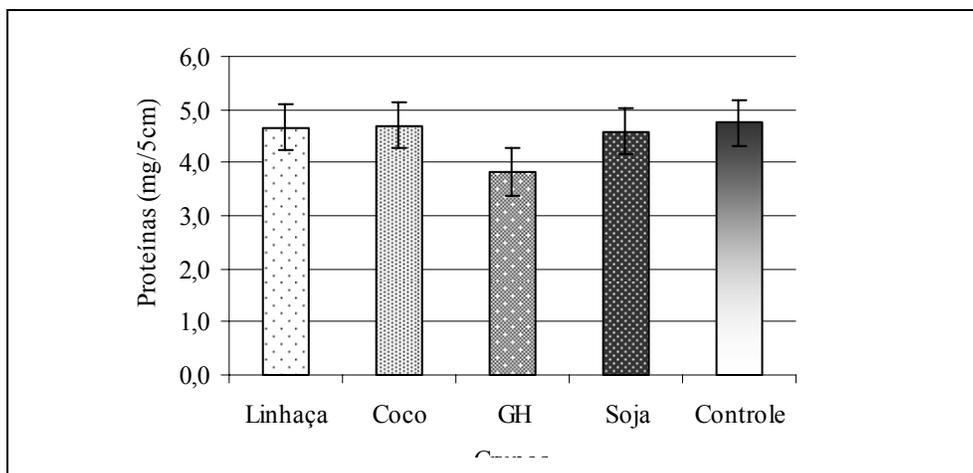


FIGURA 13 Média das proteínas dosadas (em mg/5 cm) na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não a administração de ara-C.

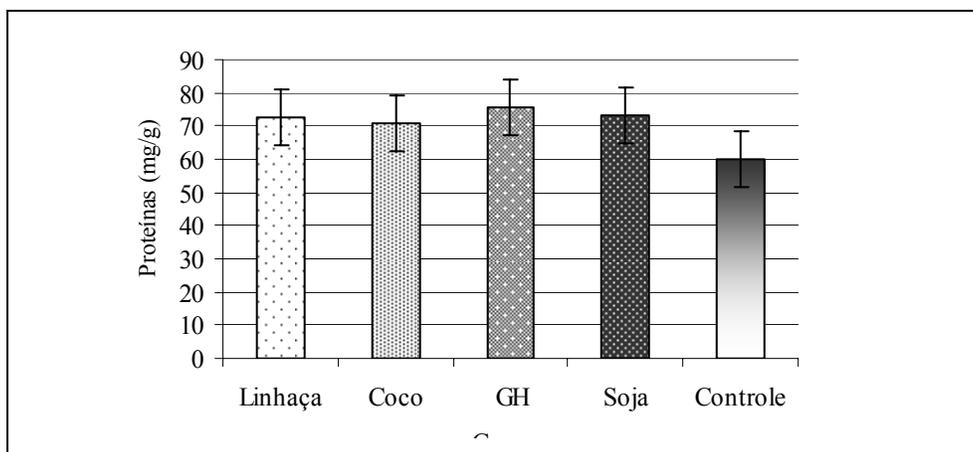


FIGURA 14 Proteínas (mg/g) dosadas na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja) e submetidos ou não à administração de ara-C.

A quantidade de proteína encontrada na mucosa intestinal dos camundongos mostrou-se igual ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos, tanto para proteínas em miligrama por 5 cm de mucosa intestinal, como em miligrama por grama de mucosa intestinal (Figuras 12 e 13, respectivamente). Este fator pode estar relacionado à presença de moléculas inflamatórias ou à perda da integridade celular. Foi utilizada a unidade de mg por cm, ao serem analisadas as dosagens, pois o intestino atrófico tem menor quantidade de células. Assim, ao se corrigir para gramas, estariam sendo superestimadas a mucosa e sua celularidade, distorcendo o valor real.

Ramos (2003) relatou uma menor quantidade de proteína ( $p<0,05$ ) na mucosa intestinal em camundongos tratados com citarabina por 2 dias em relação ao grupo controle. Esta diferença foi maior ainda quando o tratamento se estendia para 4 dias. Camundongos de idades, peso e linhagens diferentes e recebendo dietas com conteúdo proteico menor justificam a diferença dos resultados apresentados neste trabalho.

#### **4.7 DNA da mucosa intestinal**

A média do DNA dosado na da mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado dos camundongos é apresentada na Figura 15.

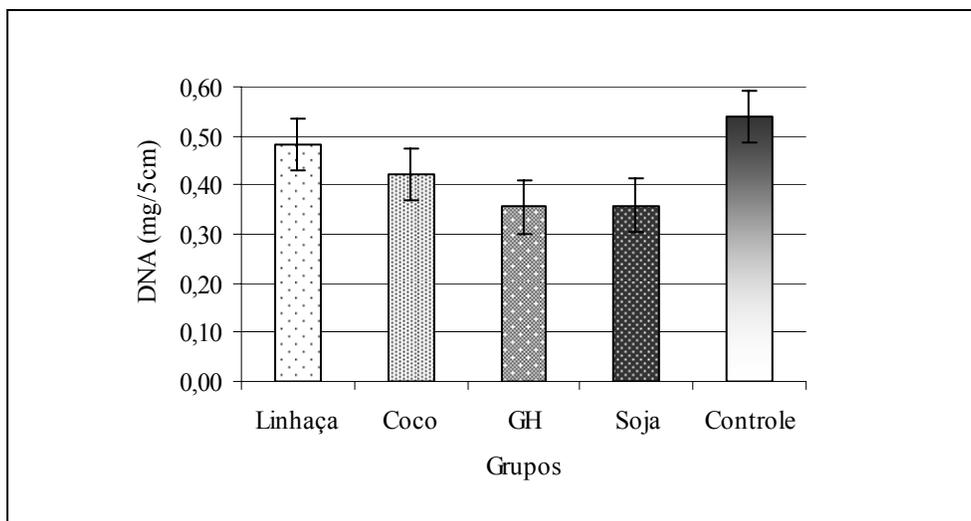


FIGURA 15 DNA (mg/5cm) dosado na mucosa dos 5 cm proximais do intestino delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.

Analisando o contraste entre os grupos tratados com citarabina e sem citarabina, foi detectada uma diferença significativa, com maior conteúdo de DNA no grupo que não sofreu a quimioterapia. Embora anatomicamente (histologia) o efeito do ara-C não tenha sido visto, a redução de DNA reflete uma alteração funcional na mucosa intestinal e diminuição do número de células (quanto maior o número de DNA, maior o número de células). Portanto, este resultado confirma a redução do trofismo intestinal. No entanto, não ocorreu diferença estatística entre os grupos tratados com diferentes fontes lipídicas e citarabina, sugerindo que o tratamento com essas diferentes dietas não altera a mucosa intestinal em relação aos dos efeitos da citarabina.

No gráfico da Figura 16 mostra-se o DNA dosado na mucosa intestinal em mg/g de mucosa.

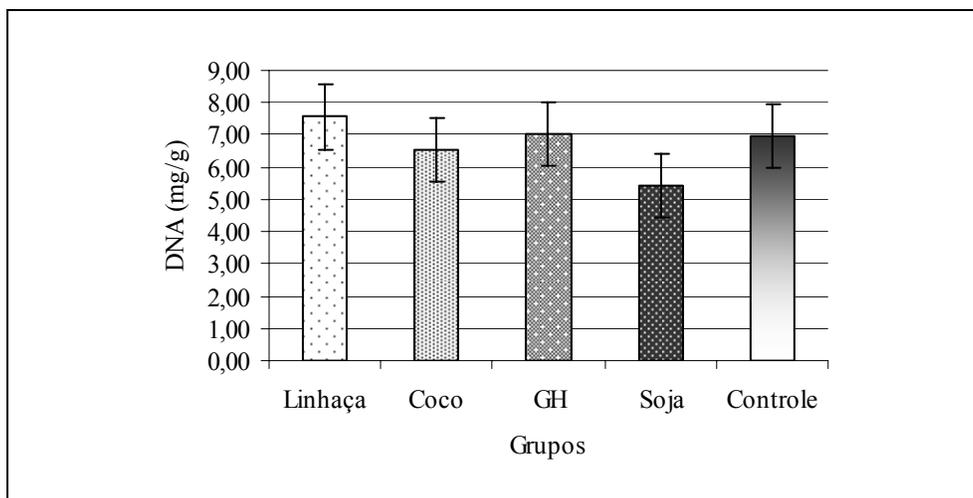


FIGURA 16 DNA (mg/g) dosado na mucosa dos 5 cm proximais do intestinal delgado de camundongos, consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos com e sem citarabina, nem entre os grupos tratados com diferentes lipídeos. Não há controvérsia entre os resultados, este e o discutido anteriormente, pois o DNA deve ser proporcional à quantidade de mucosa raspada, que está diminuída na atrofia intestinal. Se esta quantidade for corrigida, também será aumentada a quantidade de DNA, distorcendo o resultado real.

O gráfico da Figura 17 ilustra a relação proteína/DNA, encontrada na mucosa intestinal.

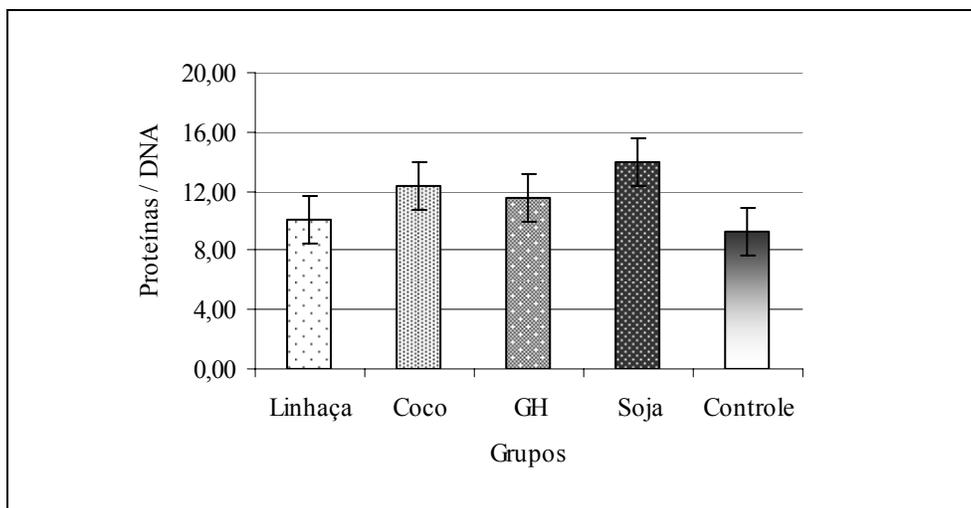


FIGURA 17 Relação proteína/DNA encontrada na mucosa intestinal de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.

Não houve diferença estatística entre os grupos tratados com e sem citarabina, nem entre os grupos tratados com diferentes lipídeos.

#### 4.8 N-acetilglicosaminidase (NAG)

A quantidade de NAG dosada na primeira porção do tecido intestinal, expressa na forma de células, macrófagos, por grama de tecido, é mostrada na Figura 18.

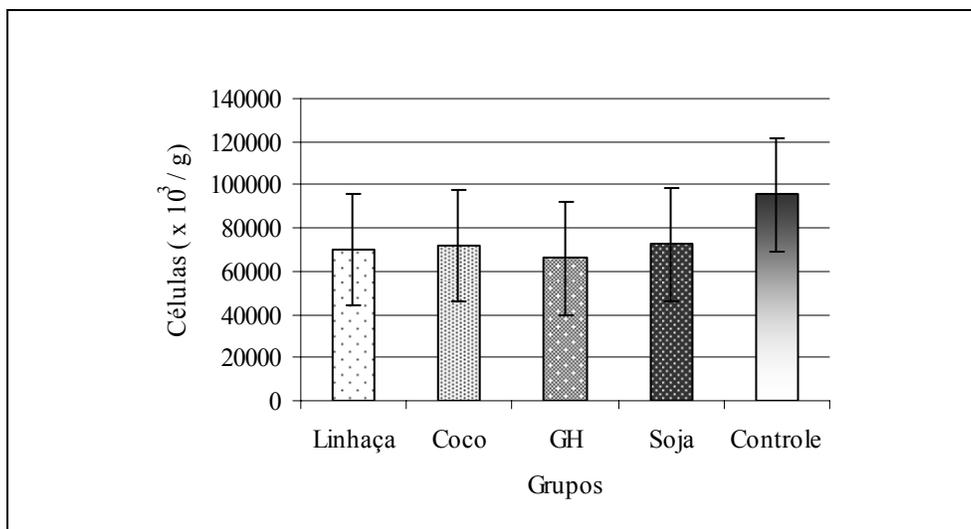


FIGURA 18 Macrófagos (células x 10<sup>3</sup>/g de tecido) dosados por meio da NAG, em segmento da 1<sup>a</sup> porção do intestino delgado de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.

Foi encontrada maior quantidade de macrófagos na primeira porção do intestino delgado do grupo que não recebeu citarabina ( $p < 0,05$ ). Os grupos que receberam diferentes lipídeos e citarabina tiveram comportamento semelhante em relação à presença de macrófagos na primeira porção do intestino delgado.

A migração de macrófagos, que pode ser avaliada pela medida da atividade de N-acetilglicosaminidase (NAG), é de extrema importância para a vitalidade das mucosas. A presença de mais de um tipo NAG em células da mucosa intestinal já foi relatada por alguns autores (Mian et al., 1979). Este fator pode significar que a NAG, no caso das mucosas intestinais, não seja um bom parâmetro para avaliar a migração de macrófagos em tecidos com alterações tróficas. A diminuição da atividade de NAG no tecido intestinal de camundongos tratados com citarabina pode ser interpretada como mais um dado

sugestivo de uma alteração funcional do intestino desses animais, refletindo indiretamente a diminuição do trofismo intestinal pelo quimioterápico.

No gráfico da Figura 19 observa-se a quantidade de NAG dosada na segunda porção do tecido intestinal, expressa na forma de células, macrófagos, por grama de tecido.

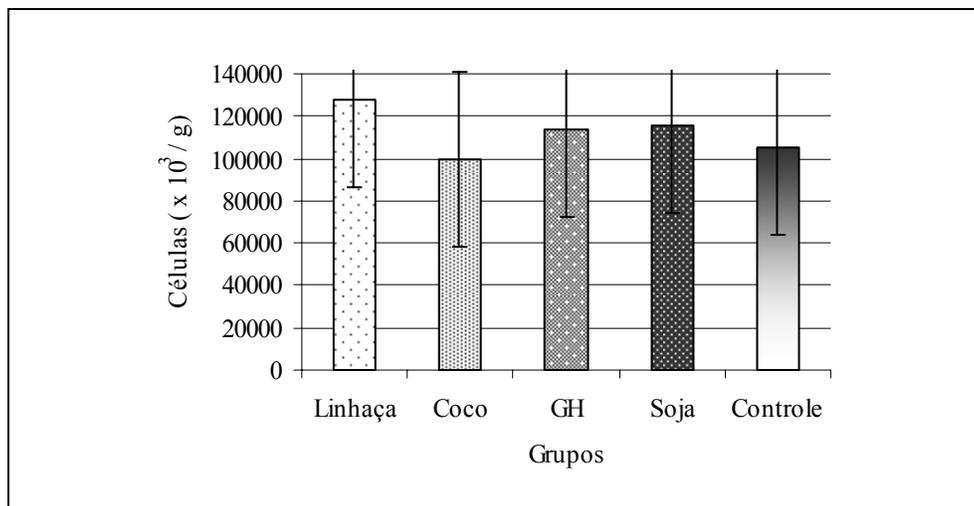


FIGURA 19 Macrófagos (cels x 10<sup>3</sup>/g de tecido) dosados, por meio do NAG, em segmento da 2ª porção do intestino delgado de camundongos consumindo diferentes fontes lipídicas (óleo de linhaça, gordura de coco, gordura hidrogenada, óleo de soja) e controle (óleo de soja), submetidos ou não à administração de ara-C.

Na segunda porção do intestino delgado, obteve-se um resultado diferente ao encontrado na primeira porção, ou seja, não foi encontrada maior quantidade de macrófagos no grupo que não recebeu citarabina ( $p < 0,05$ ). Os grupos que receberam diferentes lipídeos e citarabina tiveram comportamento semelhante em relação à presença de macrófagos.

Apesar das diferentes características de cada fonte lipídica e de vários estudos mostrarem um efeito pró-inflamatório dos ácidos graxos n-6 (linoleico), nas condições experimentais estudadas, não foram encontrados tais efeitos. Também não foi identificada ação anti-inflamatória no grupo que recebeu dieta rica em ácido graxo ômega-3, gordura *trans*, também fonte de n-6, inerte e a gordura de coco também sem efeito.

## 5 CONCLUSÕES

A dose e a duração do tratamento com citarabina foram suficientes para reduzir o peso, a concentração de DNA e a migração de macrófagos, mas, alterações anatômicas na mucosa intestinal não puderam ser detectadas.

O modelo experimental utilizado sugere que as diferentes fontes lipídicas não apresentam características específicas (benéficas ou maléficas) que possam indicar ou restringir seu uso concomitante com citarabina. Trabalhos com maiores doses, número de ciclos ou tempo de tratamento com ara-C são necessários para conclusões mais consistentes a esse respeito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMALLAH, Y. Z.; EWEN, S. W.; EL-TAHIR, A.; MOWAT, N. A G.; BRUNT, P. W.; SINCLAIR, T. S.; HEYS, S. D.; EREMIN, O. Distal proctocolitis and n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs): the mucosal effect *in situ*. **Journal of Clinical Immunology**, New York, v. 20, n. 1, p. 68-75, 2000.

ALVAREZ-LEITE, J. I.; PELUZIO, M. C. G. Lipídeos. In: TEIXEIRA NETO, F. T. **Nutrição clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 8-19.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETYS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists**. 3. ed. Champaign, 1988. v. 1-2.

ARACYTIN®: frasco ampola. Responsável técnico: José Francisco Bonfim. Milano, Itálie: Laboratório Pfizer, Rhodia Farma, 2000. Bula de remédio.

ASSIS, M. A. A. **Consulta de nutrição**: controle e prevenção do colesterol elevado. Florianópolis: Insular, 1997. 168 p.

BAILEY, P. J. Sponge implants as models. **Methods in Enzimology**, Sandiego, v. 162, n. 29, p. 327-334, 1988.

BASSO, R.; GONÇALVES, I. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação qualitativa e quantitativa dos ácidos graxos trans em gorduras vegetais hidrogenadas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 57-63, jan./jun. 1999.

BAUR, F. J. Aspectos nutricionales de aceites y grasas. In: LAWSON, H. **Aceites y grasas alimentarias**: tecnologia, utilizaction e nutricion. Zaragoza: Acribia, 1999. p. 201-276.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química en los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1988. 803 p.

BELL, S. J.; MASCIOLI, E. A.; BISTRAN, B. R.; BABAYAN, V. K.; BLACKBURN, G. L. Alternative lipid sources for enteral and parenteral nutrition: long and medium-chain triglycerides, structured triglycerides and fish oils. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 91, n. 1, p. 74-78, 1991.

BELLUZZI, A.; BOSCHI, S.; BRIGNOLA, C.; MUNARINI, A.; CARIANI, G.; MIGLIO, F. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory bowel disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 71, n. 1, p. 339-342, Jan. 2000.

BELLUZZI, A.; BRIGNOLA, C.; CAMPIERI, M.; PERA, A.; MIGLIOLI, M. Effect of an enteric-coated fish oil preparation relapses in Crohn disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 334, n. 24, p. 1557-1560, June 1996.

BONATTO, P. S. Cromatografia gasosa. In: COLLINS, C. H.; BRAGA, L. G.; BONATO, P. **Introdução aos métodos cromatográficos**. 4. ed. Campinas: Unicamp, 1990. p. 141-181.

CALABRESI, P.; PARKS, R. E. J. Agentes antiproliferativos e substâncias imunossupressoras. In: GILMAN, G. A.; GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. v. 2, p. 1100-1148.

CAMPOS, F. G.; WAITZBERG, D. L.; HABR-GAMA, A.; LOGULLO, A. F.; NORONHA, I. L.; JANCAR, S.; TORRINHAS, R. S.; FURST, P. Impact of parenteral n3 fatty acids on experimental acute colitis. **Brazilian Journal of Nutrition**, São Paulo, v. 87, n. 1, p. 83-88, Jan. 2002.

CAMUESCO, D.; GÁLVEZ, J.; NIETO, A.; COMALADA, M.; RODRÍGUEZ-CABEZAS, M. E.; CONCHA, A.; XAUS, J.; ZARZUELO, A. Dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA e DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, attenuates colonic inflammation in rats with DSS-induced colitis. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 135, p. 687-694, Apr. 2005.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Unicamp, 1999. 212 p.

CHA, M. C.; LIN, A.; MECKLING, K. A. Low dose docosahexaenoic acid protects normal colonic epithelial cells from araC toxicity. **BMC Pharmacology**, London, v. 5, Mar. 2005. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcenter&artic>>. Acesso em: 10 jul. 2006.

COMITE DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Universidade Federal de Minas Gerais. **Protocolos anestésicos**: protocolos em animais de pequeno porte. Belo Horizonte, 2006. Disponível em: <[http://www.ufmg.br/bioetica/cetea/index.php?option=com\\_content&task=view&id=22](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea/index.php?option=com_content&task=view&id=22)>. Acesso em: 10 jul. 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: Unicamp, 1999. 212 p.

CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura**: os ácidos graxos. São Paulo: Manole, 2002. 580 p.

DAVID, C. M.; KORTEBA, E.; FONTE, J. C. M.; RIBEIRO, P.; ROCHA, R. G. A. **Terapia nutricional no paciente grave**. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 244 p.

DIAS, M. C. G. Câncer. In: SCHOR, N. (Ed.). **Nutrição**: nutrição clínica no adulto. 2. ed. São Paulo: Manole, 2005. p. 243-256. UNIFESP-Escola Paulista de Medicina. Guias de Medicina Ambulatória e Hospitalar.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Aurélio século XXI**: o dicionário da língua portuguesa. 3. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1999. 2128 p.

GOMEZ DE SEGURA, I. A.; VALDERRABANO, S.; VAZQES, I.; VALLEJO-CREMADES, M. T.; GOMEZ-GARCIA, L.; SANCHEZ, M.; MIGUEL, E. de. Protective effects of dietary enrichment with docosahexaenoic acid plus protein in 5-fluorouracil-induced intestinal injury in the rat. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, London, v. 16, n. 5, p. 479-485, May 2004.

GOODLAD, R. A.; LENTON, W.; GHATEI, M. A.; ADRIAN, T. E.; BLOOM, S. R.; HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Effect of an elemental diet, inert bulk and different types of dietary fibre on the response of the intestinal epithelium to the refeeding in the rat and relationship to plasma gastrin, enteroglucagon, and PYY concentrations. **Gut**, London, n. 59, p. 171-180, 1987.

HAUMANN, B. F. Tool: hydrogenation, interstification. **Inform**, Silver Spring, v. 5, n. 4, p. 346-363, 1994.

HICKS, K. B.; MOREAU, R. A. Phytosterols and phitostanols: functional food cholesterol busters. **Food Technology**, Chicago, v. 55, n. 1, p. 63-67, Jan. 2001.

HOSODA, N.; NISCHI, M.; NAKAGAWA, M.; HIRAMATSU, Y.; HIOKI, K.; YAMAMOTO, M. Structural and functional alterations in the gut of parenterally or enterally fed rats. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 47, p. 129-133, Aug. 1989.

IBRAHIN, N. K.; SAHIN, A. A.; DUBROW, R. A.; LYNCH, P. M.; BOENHNKE-MICHAUD, L.; VALERO, V.; BUZDAR, A. U.; HORTOBAGYI, G. N. Colitis associated with docetaxel-based chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. The **Lancet**, London, v. 355, p. 281-283, Jan. 2000.

JONES, P. J. H.; KUBOW, S. Lipídios, esteróis e seus metabólitos. In: SHILLS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 71-101.

KISSMEYER-NIELSEN, P.; MORTENSEN, F.; LAUBERG, S.; HESSOV, I. Transmural trophic affect of short chain fatty acid infusions on atrophic, defunctioned rat colon. **Diseases of the Colon and Rectum**, Philadelphia, v. 38, n. 9, p. 946-995, Sept. 1995.

KLEIN, S.; COHN, S. M.; ALPERS, D. H. O trato alimentar em nutrição: um guia. In: SHILLS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 647-672.

KONO, H.; FUJII, H.; ASAKAWA, M.; MAKI, A.; AMEMIYA, H.; HIRAI, Y.; MATSUDA, M.; YAMAMOTO, M. Medium-chain triglycerides enhance secretory Ig a expression in rat intestine after administration of endotoxin. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, Bethesda, v. 286, n. 6, p. 1081-1089, June 2004.

KRUMMELL, D. Lipídeos. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998. p. 49-62.

LAGA, B.; SEURINCK, J.; VERHOYE, T.; LAMBERT, B. Molecular breeding for high oleic and low linolenic fatty acid composition in *Brassica napus*. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, Leverkusen, v. 57, p. 87-92, Feb. 2004.

LAWSON, H. La química básica de los aceites y grasas. In: \_\_\_\_\_. **Aceites y grasas alimentarias**: tecnología, utilización e nutrición. Zaragoza: Acribia, 1999. p. 3-14.

LEACH, W. B.; LASTER, W. R. J.; MAYO, J. G.; GRISWOLD, D. P. J.; SCHABEL, F. M. J. Toxicity studies in mice treated with 1- $\beta$ -D-Arabinofuranosylcytosine (Ara-C). **Cancer Research**, Baltimore, v. 29, p. 529-535, Mar. 1969.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 193, p. 265-275, May 1951.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause**: alimentos, nutrição & dietoterapia. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242 p.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação da composição de ácidos graxos comestíveis. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1/2, p. 29-40, jan./jun. 1996.

MIAN, N.; HERRIES, D. G.; COWEN, D. M.; BATTE, A. E. The multiple forms and kinetic properties of the N-acetyl-betaD-hexosaminidases from colonic tumours and mucosa of rats treated with 1,2-dimethylhydrazine. **The Biochemical Journal**, London, v. 177, n. 1, p. 319-330, Jan. 1979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1186371/?page=1>>. Acesso em: 10 jul. 2006.

MITSUGI, K.; NAKAMURA, T.; KASHIWABARA, N.; ARIYAMA, H.; TANAKA, R.; BABA, E.; NAKAMURA, M.; HARADA, M.; NAKANO, S. Protection against metotrexato toxicity by a soybean protein and omega 3 fatty acid containing diet: comparative study with a casein containing diet. **Oncology Reports**, Athens, v. 12, n. 1, p. 41-45, July 2004.

MONDELLO, L.; CASILLI, A.; TRANCHIDA, P. Q.; COSTA, R.; CHIOFALO, B.; DUGO, P.; DUGO, G. Evaluation of gás chromatography and gas chromatografy mass spectrometry in the analysis of lipid. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1035, p. 237-47, Feb. 2004. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/chroma>>. Acesso em: 11 maio 2004.

NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 225-319.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger**: princípios de bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

OLIVEROS, L. B.; VIDELA, A. M.; GIMENEZ, M. S. Effect of dietary fat saturation on lipid metabolism arachidonic acid turnorver and peritoneal macrophage oxidative in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 37, n. 3, p. 311-320, Mar. 2004.

PEREIRA, M. C. de A. **Características de fontes lipídicas comerciais e seus efeitos sobre o perfil lipídico plasmático, hepático e cerebral de ratos**. 2003. 125 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PIMENTEL, G. F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.

PRASAD, A. S.; DUMOUCHELLE, E.; KONIUCH, D.; OBERLEAS, D. A simple fluorometric method for the determination of RNA and DNA in tissues. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v. 80, p. 598-602, 1972.

RAMOS, M. G.; ALVAREZ-LEITE, J. I.; BAMBIRRA, E. A.; NICOLI, J. R.; VIEIRA, E. C. Protection by short-chain fatty acids against 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine-induced intestinal lesions in germfree mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 43, n. 4, p. 950-953, Apr. 1999.

RAMOS, M. G. **Associação de AGCC com agentes quimioterápicos-papel no trofismo intestinal e apoptose**. 2003. 157 p. Tese (Doutorado em Bioquímica-Imunologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RAMOS, M. G.; BAMBIRRA, E. A.; CARA, D. C.; VIEIRA, E. C.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Oral administration of short-chain fatty acids reduces the intestinal mucositis caused by treatment with Ara-C in mice fed commercial or elemental diets. **Nutrition and Cancer**, London, v. 28, n. 2, p. 212-217, 1997.

RECOMMENDED dietary allowances. 10. ed. Washington: National Academy, 1989, 286 p.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEEY, G. C. 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. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

SEAGO, N. D.; THOMPSON, J. H.; ZHANG, X. J.; ELOBY-CHILDRESS, S.; SADOWSKA-KROWICKA, H.; ROSSI, J. L.; CURRIE, M. G.; MANNING, P. T.; CLARK, D. A.; MILLER, M. J. S. Inducible nitric oxid synthase and guinea-pig ileitis induced by adjuvant. **Mediators of Inflammation**, Sylvania, v. 4, n. 1, p. 19-24, Jan. 1995.

SKIPPER, H. E.; SCHABE, F. M.; WILCOX, W. S. Experimental evaluation of potential anticancer agents. Scheduling of arabinosylcytosine to take advantage of its S-phase XXI specificity against leukemia cells. **Cancer Chemotherapy Reports**, Bethesda, v. 51, p. 125-165, 1967.

SOGLIA, S. L. **Perfil de ácidos graxos e concentração de ácido linoleico conjugado (CLA) na gordura de leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de lipídeos**. 2003. 75 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SUPPORT. **Trigliceril CM** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <letgazzi@ig.com.br> em ago. 2006.

TRAMONTE, R.; CARVALHO, R. O. M.; FARIAS, D. C.; SERAFIM, J. D. M.; ORTELLADO, D. K.; ACAMPORA, A. J. Alterações da mucosa intestinal em ratos. Estudo morfométrico em tres diferentes tratamentos após indução experimental de sepse abdominal aguda. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 2, Mar./Apr. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.hpp>>. Acesso em: 02 set. 2006.

VOET, D.; VOET, J. V.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica**. São Paulo: Artmed, 2000. 931 p.

YOSHIDA, S. H.; KEEN, C. L.; ANSARI, A. A.; GERSHWIN, M. E. Nutrição e sistema imunológico. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 773-800.

WAITZBERG, D. L.; BORGES, V. C. Gorduras. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. v. 1, p. 55-94.

WAITZBERG, D. L.; SANCHEZ NETO, R.; IEIRI, R. H. Queimadura. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. v. 2, p. 1395-1404.

WETERING, M. D.; KUIJPERS, T. W.; TAMINIAU, J. A.; TEM KATE, F. J.; CARON, H. N. Pseudomembranous and neutropenic enterocolitis in pediatric oncology patients. **Supportive Care in Cancer**, Berlin, v. 11, n. 9, p. 581-586, Sept. 2003.

WITZIG, T. E.; TIMM, M.; STENSON, M.; SVINGEN, P. A.; KAUFMANN, S. H. Induction of apoptosis in malignant b cells by phenilbutyrate or phenilacetate in combination with chemoterapeutic. Agents. **Clinical Cancer Research**, Philadelphia, v. 6, p. 681-692, Feb. 2000.

WONG, D. W. S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoria**. Zaragoza: Acribia, 1995. 476 p.

## ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo das análises de variância do peso dos camundongos para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.....	61
TABELA 2A	Resumo das análises de variância da diferença do peso dos camundongos, entre o início da quimioterapia e o sacrifício, para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.....	61
TABELA 3A	Resumo da análise de variância dos triacilgliceróis no soro para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.....	62
TABELA 4A	Resumo das análises de variâncias da morfometria das vilosidades intestinais para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.....	62
TABELA 5A	Resumo das análises de variâncias da dosagem das proteínas na mucosa intestinal para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina..	63
TABELA 6A	Resumo das análises de variâncias da dosagem do DNA e da relação proteína/DNA para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina..	63
TABELA 7A	Resumo das análises de variâncias da dosagem da N-acetilglicosaminidase (NAG) para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina...	64
TABELA 8A	Teste de Tukey para as médias dos tratamentos das variáveis significativas encontradas na Tabela 2A.....	64

TABELA 9A	Teste de Tukey para as médias dos tratamentos das variáveis significativas encontradas na Tabela 7A.....	65
TABELA 10A	Contrastes entre grupos de tratamento com citarabina versus sem citarabina.....	65

TABELA 1A Resumo das análises de variância do peso dos camundongos para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

Peso animal (em g) no dia inicial – D0 (Cv=8,180)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	1,09253375	0,9676
Erro	35	7,9894907	
Peso animal (em g) no início da citarabina – D7 (Cv=11,161)			
Tratamento	4	0,80679125	0,9949
Erro	35	16,8036007	
Peso animal (em g) no dia do sacrifício – D9 (Cv=12,283)			
Tratamento	4	14,26977875	0,5650
Erro	35	19,0389464	

\* Significativo a 5%

TABELA 2A Resumo da análise de variância da diferença dos pesos dos camundongos entre o dia do início da quimioterapia e o sacrifício, para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

Diferença do peso (em g) (Cv=150,0234)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	14,43092125	0,0063
Erro	35	3,3691950	

\* Significativo a 5%

TABELA 3A Resumo da análise de variância da dosagem dos triacilgliceróis do soro para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

Triacilgliceróis (em mg/dl) (Cv=37,632)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	765,2857500	0,3523
Erro	35	669,21786	

\* Significativo a 5%

TABELA 4A Resumo da análise de variância da morfometria das vilosidades intestinais para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

Morfometria (Cv=13,128)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	2352,975000	0,4512
Erro	35	2497,62500	

\* Significativo a 5%

TABELA 5A Resumo das análises de variância da dosagem das proteínas na mucosa intestinal para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

Proteínas (em mg/g de tecido) (Cv=33,813)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	287,541448	0,7304
Erro	35	566,41899	
Proteínas (em mg/5 cm de tecido) (Cv=27,323)			
Tratamento	4	1,17145625	0,5498
Erro	35	1,51420036	

\* Significativo a 5%

TABELA 6A Resumo das análises de variância da dosagem do DNA na mucosa intestinal e relação proteína/DNA para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

DNA (em mg/g de tecido) (Cv=41,909)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	5,15049625	0,6297
Erro	35	7,9056164	
DNA (em mg/5cm de tecido) (Cv=36,518)			
Tratamento	4	0,05107760	0,0924
Erro	35	0,02351143	
Relação proteína/DNA (Cv=40,353)			
Tratamento	4	27,6440838	0,2909
Erro	35	21,3496161	

\* Significativo a 5%

TABELA 7A Resumo das análises de variâncias da dosagem da N-acetilglicosaminidase (NAG) para os tratamentos com diferentes fontes lipídicas, com e sem citarabina.

NAG na 1ª porção do intestino1 (em cels/g de tecido) (Cv=8,180)			
FV	GL	QM	p-valor
Tratamento	4	4,3719761E15	0,0609
Erro	36	5,3903324E14	
NAG na 2ª porção do intestino (em cels/g de tecido) (Cv=32,485)			
Tratamento	4	7.3671428E14	0,7036
Erro	36	1.35140688E15	

\* Significativo a 5%

TABELA 8A Teste de Tukey para as médias dos tratamentos das variáveis significativas encontradas na Tabela 2A.

Diferença de peso (em g) entre a data de sacrifício e o início da quimioterapia	
Tratamento	médias
Soja sem citarabina	0,0750a
Gordura hidrogenada com citarabina	-0,4650a
Linhaça com citarabina	-0,8362a
Coco com citarabina	-1,4925ab
Soja com citarabina	-3,3987c

\*Significativo a 5%

TABELA 9A Teste de Tukey para as médias dos tratamentos das variáveis significativas encontradas na Tabela 7A

NAG na 1ª porção do intestino ( em cels/g de tecido)	
Tratamento	médias
Soja sem citarabina	6858619a
Soja com citarabina	4042509b
Gordura hidrogenada com citarabina	4532274b
Coco com citarabina	3802677b
Linhaça com citarabina	3732878b

\* Significativo a 5%

TABELA 10A Contrastes entre grupos de tratamento com citarabina versus sem citarabina.

Contraste	GL	QM	p-valor
Peso animal (em g) D0	1	2,30160062	0,5949
Peso animal (em g) D0	1	1,72848062	0,7503
Peso animal (em g) D0	1	28,67095563	0,2280
<b>Diferença de peso (D9-D7)</b>	<b>1</b>	<b>16,86102250</b>	<b>0,0318</b>
Tracilgliceróis (em mg/dl)	1	812,2515625	0,2781
Morfometria	1	6039,306250	0,1289
Proteínas (em mg/5cm)	1	0,58201562	0,5393
Proteínas (em mg/g)	1	1058,480881	0,1803
<b>DNA (em mg/5 cm)</b>	<b>1</b>	<b>0,11647806</b>	<b>0,0326</b>
DNA (em mg/g)	1	0,76176000	0,7581
Relação proteínas/DNA	1	47,48041000	0,1448
<b>NAG 1 ( em cels/g)</b>	<b>1</b>	<b>4.1882171E15</b>	<b>0,0085</b>
NAG 2 ( em cels/g)	1	6.2273342E14	0,5016

\* Significativo a 5%