

## Ácido Esteárico (mas não o Ácido Palmítico) está Associado a Biomarcadores Inflamatórios e de Disfunção Endotelial em Indivíduos em Risco Cardiovascular

*Stearic Acid, but not Palmitic Acid, is Associated with Inflammatory and Endothelial Dysfunction Biomarkers in Individuals at Cardiovascular Risk*

Gustavo Henrique Ferreira Gonçalves,<sup>1</sup> Geni Rodrigues Sampaio,<sup>1</sup> Rosana Aparecida Manólio Soares-Freitas,<sup>1</sup> Nágila Raquel Teixeira Damasceno<sup>1</sup>

Universidade de São Paulo – Departamento de Nutrição,<sup>1</sup> São Paulo, SP – Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Vários estudos têm associado o consumo de ácidos graxos saturados (AGSs) com risco cardiovascular, mas ainda existem muitas controvérsias. A maioria desses estudos avaliou os efeitos do ácido palmítico sobre lipídios circulantes. O ácido esteárico geralmente apresenta um efeito neutro sobre os lipídios sanguíneos, mas faltam estudos clínicos avaliando sua relação com marcadores de inflamação e de disfunção endotelial.

**Objetivos:** Avaliar a associação de AGSs das hemácias (ácido palmítico e ácido esteárico) com biomarcadores inflamatórios e de disfunção endotelial circulantes.

**Métodos:** Estudo transversal que incluiu 79 adultos de ambos os sexos com pelo menos um fator de risco cardiovascular, mas sem eventos prévios (infarto agudo do miocárdio ou acidente vascular cerebral). Biomarcadores plasmáticos – lipídios, marcadores glicometabólicos, proteína C ultrasensível (PCR-us), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 10 (IL-10), Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Proteína quimioatraente de Monócitos 1 (MCP-1) – e ácidos graxos das hemácias (ácido palmítico e esteárico) foram analisados. As associações foram avaliadas por análises de correlações e regressões lineares múltiplas, com significância estatística estabelecida em  $p < 0,05$ .

**Resultados:** O ácido palmítico não apresentou associações com fatores de risco cardiovasculares ou com marcadores inflamatórios. Por outro lado, o ácido esteárico foi inversamente correlacionado com PCR-us, IL-6 e TNF- $\alpha$ , mas independentemente associado com PCR-us, IL-6, e TNF- $\alpha$ .

**Conclusão:** O ácido esteárico está associado com biomarcadores inflamatórios e disfunção endotelial em indivíduos com um ou mais fatores de risco cardiovascular.

**Palavras-chave:** Ácidos Graxos; Endotélio; Inflamação; Biomarcadores; Doenças Cardiovasculares.

### Abstract

**Background:** Several studies have associated dietary saturated fatty acids (SFAs) with cardiovascular risk but there are still many controversies. Most of these studies have focused on the effects of palmitic acid on circulating lipids. Stearic acid usually shows a neutral effect on blood lipids, however, there is a lack of clinical studies assessing the link with inflammatory and endothelial dysfunction markers.

**Objective:** To evaluate the association of red blood cell (RBC) SFA (palmitic and stearic acids) with circulating inflammatory and endothelial dysfunction biomarkers.

**Methods:** Cross-sectional study of 79 adults of both sexes with at least one cardiovascular risk factor but without previous events (acute myocardial infarction or stroke). Plasma biomarkers – lipids, glucometabolic markers, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) – and RBC palmitic and stearic fatty acids were analyzed. The associations were assessed by correlation and multiple linear regression analyses, with statistical significance set at  $p < 0.05$ .

**Results:** Palmitic acid showed no significant associations with traditional cardiovascular risk factors or inflammatory markers. Stearic acid, on the other hand, was inversely correlated with blood cholesterol and triglycerides, but independently associated with hs-CRP, IL-6, and TNF- $\alpha$ .

**Correspondência:** Gustavo Henrique Ferreira Gonçalves •

Universidade de São Paulo Instituto do Coração – Cardiologia – Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 44. CEP 05403-900, Cerqueira César, São Paulo, SP – Brasil  
E-mail: gustavo.goncalinho@usp.br

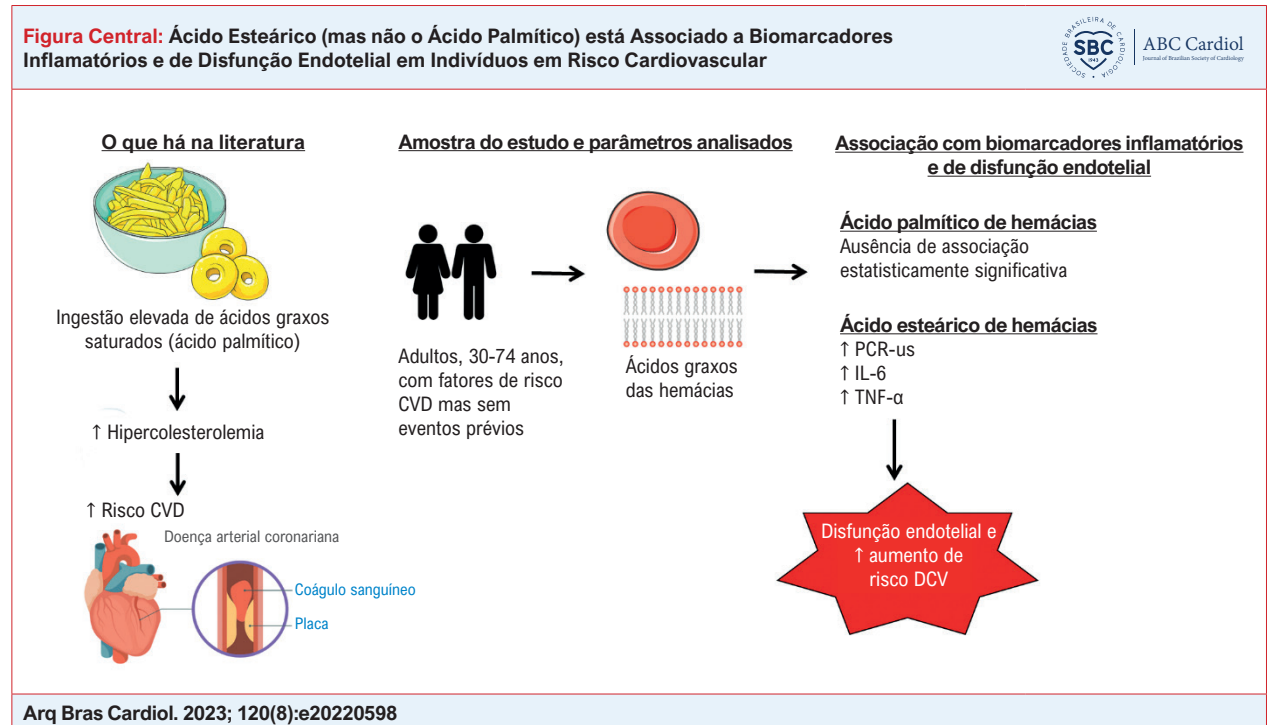
Artigo recebido em 31/08/2022, revisado em 22/05/2023, aceito em 14/06/2023

**DOI:** <https://doi.org/10.36660/abc.20220598>

**Conclusion:** Stearic acid is associated with inflammatory and endothelial dysfunction biomarkers in individuals with at least one cardiovascular risk factor.

**Keywords:** Fatty Acids; Endothelium; Inflammation; Biomarkers; Cardiovascular Diseases.

Full texts in English - <https://abccardiol.org/en/>



DCV: doença cardiovascular; PCR-us: proteína C ultrasensível; IL-6: Interleucina 6.

## Introdução

O papel da inflamação nas doenças cardiovasculares (DCVs) tem ganhado bastante ênfase na literatura. Pacientes em terapia hipolipemiante intensiva com estatinas, ezetimiba, e inibidores de PCSK9 podem apresentar o chamado “risco inflamatório residual”, no qual pacientes com níveis mais altos de marcadores inflamatórios, tais como fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR), mesmo com redução dos níveis de colesterol, podem apresentar mais eventos cardiovasculares em comparação a pacientes com níveis mais baixos.<sup>1</sup> Vários biomarcadores de inflamação foram associados com a incidência, a prevalência, a gravidade, e o prognóstico de DCVs. Eles podem refletir a DCV de uma perspectiva diferente daquela de fatores de risco tradicionais, uma vez que muitos estudos mostraram independência na associação desses marcadores.<sup>2</sup> Ainda, o aumento desses marcadores inflamatórios circulantes foi associado com níveis elevados de molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), e E-selectina, indicadores de disfunção endotelial. Tal fato pode explicar a relação entre inflamação e DCV;<sup>3,4</sup> assim, marcadores inflamatórios como PCR e IL-6 também podem indicar disfunção endotelial.<sup>2-4</sup>

A evidência atual sugere que a ingestão elevada de ácidos graxos saturados (AGSs) está associada a um risco cardiovascular aumentado,<sup>5</sup> e limitar o consumo de AGSs para redução desse risco é ainda recomendado pelas diretrizes de nutrição da American Heart Association<sup>6</sup> e da Sociedade Brasileira de Cardiologia.<sup>7</sup> Os mecanismos pelos quais os AGSs contribuem para a progressão da aterosclerose incluem principalmente o aumento nos níveis sanguíneos de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL), e triglicerídeos,<sup>8</sup> e a inflamação.<sup>9-11</sup>

Entre os mecanismos relatados na literatura, mostrou-se que os AGSs são ativadores de receptores do tipo Toll (TLRs) em macrófagos, ativando a via de sinalização inflamatória e, subsequentemente, disfunções imunometabólicas encontradas nas doenças cardiometabólicas.<sup>12</sup> Evidência clínica de como os AGSs influenciam a inflamação e consequentemente o risco cardiovascular permanece controverso devido aos diferentes métodos aplicados,<sup>12</sup> e faltam estudos sobre a influência desse AGS sobre biomarcadores da função endotelial e inflamação.<sup>12</sup> Inquéritos alimentares, comumente usados em estudos que avaliaram os efeitos dos AGSs sobre a saúde, contêm vários vieses, e os ácidos graxos das hemácias têm sido usados como biomarcadores do estado nutricional desses nutrientes,<sup>13</sup>

podendo fornecer evidências mais consistentes sobre como os AGSs estão associados com inflamação e função endotelial em humanos.

Assim, o objetivo do presente estudo é avaliar a associação dos AGSs das hemácias (ácidos palmítico e esteárico) com biomarcadores circulantes da inflamação e disfunção endotelial em indivíduos com fatores de risco cardiovasculares, mas sem DCV estabelecida.

## Métodos

### Delineamento e participantes do estudo

Este foi um estudo transversal dos dados basais do ensaio clínico CARDIONUTRI ((ReBEC: RBR-2vfhfv). Os participantes foram recrutados do ambulatório do hospital da Universidade de São Paulo. Os critérios de inclusão foram indivíduos de ambos os sexos, idade entre 30 e 74 anos, com ao menos um fator de risco cardiovascular, e sem eventos cardiovasculares prévios (infarto agudo do miocárdio ou acidente vascular cerebral). Os critérios de exclusão foram indivíduos com doenças agudas ou doenças crônicas graves, doenças infecciosas, mulheres grávidas e/ou lactantes. Os indivíduos rastreados passaram por uma breve entrevista por telefone para avaliação dos critérios de inclusão e exclusão. Ainda, os indivíduos foram submetidos a uma eletrocardiografia conduzida por um cardiologista, e aqueles com alterações sugestivas de eventos cardiovasculares prévios foram excluídos. Um total de 374 indivíduos foram recrutados para o estudo em 2011 e 2012. Dois indivíduos recusaram a participar após serem informados sobre o delineamento do estudo. Quatorze pacientes foram excluídos por apresentarem alterações no eletrocardiograma e dois por diagnóstico recente de infecção pelo HIV. Ao final do recrutamento, 356 indivíduos foram incluídos no ensaio CARDIONUTRI. Para a análise do presente estudo, foram incluídos somente pacientes com informações laboratoriais sobre marcadores inflamatórios (citoquinas plasmáticas), resultando em 79 indivíduos (Figura 1).

### Avaliação clínica e nutricional

A história clínica de doenças crônicas não transmissíveis e uso atual de medicamentos foram relatadas pelos pacientes. O exame físico incluiu medida do Índice de Massa Corporal (IMC), circunferência da cintura, e pressão arterial. A ingestão dietética foi obtida por três recordatórios alimentares de 24 horas e avaliada no programa Food Processor (ESHA Research, 2012), com subsequente ajuste quanto à energia.<sup>14</sup> O risco cardiovascular foi avaliado pelo escore de risco Framingham,<sup>15,16</sup> e os indivíduos foram classificados com risco baixo, moderado ou alto. Diabetes foi considerado um equivalente da Doença Arterial Coronariana (DAC).<sup>17</sup>

### Análise bioquímica

Amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas em tubos contendo EDTA (1.0 mg/mL), e os eritrócitos foram separados do plasma por centrifugação, e ambos congelados a -80°C, imediatamente após a coleta. Inibidores de protease (10 µg/mL de aprotinina, 10 µg/mL de

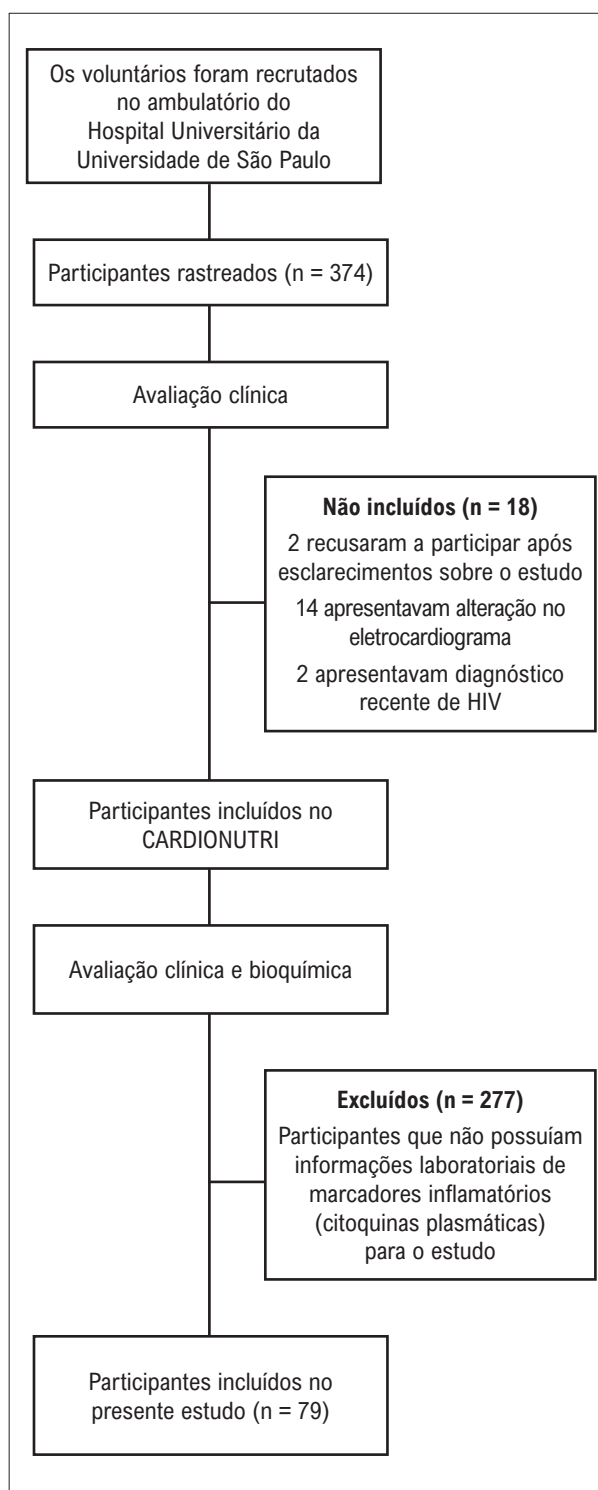


Figura 1 – Gráfico do estudo.

benzamidina, e 5 µg/mL de fenilmetilsulfonil) e hidroxitolueno butilado (BHT, 100 µg/mL) foram adicionados para preservar as amostras. Todas as amostras foram divididas em alíquotas para evitar ciclos repetidos de degelo e armazenadas a -80°C até as análises. Concentrações plasmáticas de colesterol total,

lipoproteína de alta densidade (HDL), triglicerídeos, glicose, (Labtest Diagnostica SA, MG, Brasil), ácidos graxos não esterificados (AGNEs), apolipoproteínas (Apo) A-I e B (Wako Chemicals USA Inc., Richmond, VA, USA), e proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) foram medidas usando kits comerciais. Valores plasmáticos de Interleucina (IL)-6, IL-10, proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1) e Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) foram medidos usando um kit de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) Bio-Plex™ Human Cytokine 17-plex (Bio-Rad Laboratories, CA, EUA). A insulina sérica foi medida pelo kit de ELISA para insulina humana (Life Technologies, NY, EUA). O LDL foi calculado usando a equação de Friedewald.<sup>18</sup> A sensibilidade à insulina foi medida pelo modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (HOMA-IR), e resistência insulínica foi diagnosticada se os indivíduos apresentassem qualquer das seguintes condições:  $IMC > 28,9 \text{ Kg/m}^2$ ,  $HOMA-IR > 4,65$ , ou  $IMC > 27,5 \text{ Kg/m}^2$  e  $HOMA-IR > 3,60$ .<sup>19</sup>

### Análise dos ácidos graxos das hemácias

A análise dos ácidos graxos de hemácias foi realizada por cromatografia gasosa conforme descrito em outro estudo.<sup>13</sup> Após a separação do plasma, 300mL de hemácias foram lavadas quatro vezes com 5 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4). O precipitado foi transferido para tubos com tampas de rosca, aos quais foram adicionados 1,75 mL de metanol, 50  $\mu\text{L}$  de solução padrão interna contendo ácido tetradecanoico (C13:0)/1 mL hexano, e 100  $\mu\text{L}$  de cloreto de acetila. A solução foi agitada em um vórtex e aquecida em banho maria a 90°C por uma hora. Em seguida, 1,5 mL de hexano foi adicionado, e a solução homogeneizada por um minuto. As amostras foram centrifugadas a 1500  $\times$  g, a 4 °C por dois minutos, e 800  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi transferido para outro tubo. Essa etapa foi repetida com a adição de 750  $\mu\text{L}$  de hexano. Os tubos contendo os sobrenadantes coletados foram colocados em um concentrador centrífugo a 40 °C por 20 minutos. Em seguida, ésteres metílicos de ácidos graxo foram dissolvidos em 150  $\mu\text{L}$  de hexano e transferidos a um *insert* de vidro encaixado em um *vial*. No total, 19 ácidos graxos de hemácias foram descritos, os quais incluíram AGSs, ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI). Entre os ácidos graxos de hemácias, analisamos os ácidos palmítico, esteárico, eicosanoico, docosanoico, lignocérico, palmitoleico, oleico, gondoico, erúcido, nervônico, linoleico,  $\gamma$ -linoleico, eicosadienoico, dihomog- $\gamma$ -linolênico, araquidônico, 13,16-docosadienoico,  $\alpha$ -linoleico, eicosapentaenoico, e ácido docosahexaenoico. No presente estudo, focamos nossas análises nos AGSs, mais especificamente nos ácidos esteárico e palmítico, os quais foram os AGSs mais predominantes nos eritrócitos.

### Análise estatística

A distribuição das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As características das amostras são apresentadas em média e desvio padrão (DP) ou mediana e intervalo interquartil (IIQ) para as variáveis quantitativas, dependendo da distribuição das variáveis, e como frequência (n) e porcentagem (%) para as variáveis categóricas.

A relação dos AGSs com os parâmetros cardiometabólicos e citocinas foi avaliada por correlações de Pearson e de Spearman, dependendo da distribuição das variáveis.

Para avaliar a influência dos ácidos palmítico e esteárico sobre biomarcadores de inflamação, foram aplicadas múltiplas regressões lineares usando os biomarcadores inflamatórios (PCR-us, IL-6, IL-10, MCP-1, TNF- $\alpha$ ) como variáveis dependentes, e o ácido palmítico ou esteárico como a variável independente além das variáveis de ajuste (idade, sexo, tabagismo, colesterol total, pressão arterial sistólica, glicemia e IMC). Todos os pressupostos da regressão foram preenchidos (isto é, ausência de multicolinearidade, homoscedasticidade, erros independentes e com distribuição normal, independência das variáveis de desfechos, e linearidade das variáveis).

Todos os testes foram bicaudais, com  $p < 0,05$  considerado como estatisticamente significativo, e conduzidos no programa SPSS versão 20.0.

## Resultados

As características dos participantes estão resumidas nas Tabelas 1 e S1. A amostra foi composta predominantemente por mulheres (59,5%), e a idade média foi  $51,0 \pm 10,3$  anos. A prevalência de doenças crônicas autorrelatadas na amostra foi de 60,8 % de indivíduos com hipertensão, 52,2% de dislipidemia, e 25,3% de diabetes mellitus tipo 2.

Quanto ao escore de risco Framingham, a maioria dos participantes foi classificada como em alto risco cardiovascular (51,9%), seguido de risco moderado (34,2%) e baixo risco (13,9%). A amostra apresentou vários fatores de risco cardiovasculares, tais como valores elevados de IMC, circunferência da cintura, colesterolemia, glicemia, insulinemia, PCR-us e HOMA-IR, e baixo HDL (Tabela 1).

O perfil dos ácidos graxos das hemácias está descrito na Tabela 2. Os ácidos graxos mais abundantes foram os ácidos palmítico e esteárico. O AGMI mais abundante foi o ácido oleico (C18:1 n-9). Entre os AGPI, os mais frequentes foram o ácido linoleico e o ácido araquidônico da família n-6 e o ácido docosahexaenoico da família n-3.

A composição nutricional da dieta dos participantes e a sua correlação com os marcadores inflamatórios estão descritas nas Tabelas S2 e S3. O consumo médio de AGSs foi  $10,2 \pm 3,9\%$ , sendo o consumo de ácido palmítico de  $6,4 \pm 4,0\%$  e o de ácido esteárico  $3,0 \pm 2,4\%$ . Não houve correlação estatisticamente significativa entre AGS dietético e marcadores inflamatórios.

As correlações entre AGS das hemácias (ácidos palmítico e esteárico) estão descritas na Tabela 3. Colesterol total, colesterol não-HDL, razão colesterol total: colesterol HDL, apoB, e triglicerídeos correlacionaram-se inversamente com o ácido esteárico. No entanto, PCR-us, IL-6, IL-10, MCP-1 e TNF- $\alpha$  correlacionaram-se positivamente com o ácido esteárico.

Nos modelos de regressão linear múltipla (Tabela 4), o ácido palmítico não apresentou associação estatisticamente significativa com nenhum dos biomarcadores inflamatórios, ao passo que o ácido esteárico foi um fator independentemente

**Tabela 1 – Características clínicas e bioquímicas dos participantes do estudo**

Variáveis	Média/Mediana	DP/IQ
Idade, anos	51,0	10,3
Índice de massa corporal, Kg/m <sup>2</sup>	31,5	6,1
Circunferência da cintura, cm	101,5	13,1
Pressão arterial sistólica, mmHg	135,2	19,2
Pressão arterial diastólica, mmHg	81,8	9,9
Frequência cardíaca, bpm	67,8	13,0
Colesterol total, mg/dL	199,8	43,9
HDL-c, mg/dL	35,8	10,2
LDL-c, mg/dL	134,8	41,4
Colesterol total:HDL-c	6,0	4,0 – 7,0
Colesterol não-HDL, mg/dL	164,4	45,0
ApoA-I, mg/dL	126,9	25,7
ApoB, mg/dL	101,8	26,9
Triglicerídeos, mg/dL	129,0	94,0 – 188,0
Ácidos graxos não esterificados, mEq/dL	0,62	0,25
Glicose, mg/dL	96,0	89,0 – 108,0
Insulina, µU/mL	17,7	8,4
HOMA-IR	4,4	2,4
PCR-us, mg/L	2,8	1,2 – 5,6
IL-6, pg/mL	5,3	3,3 – 9,0
IL-10, pg/mL	4,0	2,8 – 10,5
MCP-1, pg/mL	15,1	10,5 – 21,6
TNF-α, pg/mL	15,2	8,2 – 25,9

HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; Apo: apolipoproteína; HOMA-IR: modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; IL: interleucina; PCR-us: proteína C Reativa Ultrassensível; TNF-α: fator de necrose tumoral-α; MCP-1: proteína quimioatraente de Monócitos 1; DP: desvio padrão; IQ: intervalo interquartil.

associado PCR-us, IL-6, e TNF-α quando ajustado por idade, sexo, tabagismo, colesterol total, pressão arterial sistólica, glicemia e IMC.

## Discussão

O principal achado de nosso estudo (Figura Central) foi que a associação independente entre ácido esteárico e biomarcadores de disfunção endotelial e inflamação, apesar das correlações inversas com lipídios aterogênicos em indivíduos com fatores de risco cardiovascular sem DCV.

**Tabela 2 – Perfil dos ácidos graxos das hemácias dos participantes do estudo**

Variáveis	Média/Mediana	DP/IQ
<b>AGS, %</b>		
C16:0 (ácido palmítico)	44,02	4,87
C18:0 (ácido esteárico)	26,12	4,45
C20:0 (ácido eicosanoico)	0,73	0,18
C22:0 (ácido docosanoico)	1,29	0,51
C24:0 (ácido lignocérico)	0,27	0,14 – 0,77
<b>AGMI, %</b>		
C16:1 n-7 (ácido palmitoleico)	0,33	0,22 – 0,76
C18:1 n-9 (ácido oleico acid)	8,99	3,71
C20:1 n-9 (ácido gondoico)	0,08	0,05 – 0,14
C22:1 n-9 (ácido erúcido)	0,14	0,10 – 0,21
C24:1 n-9 (ácido nervônico)	1,36	0,67
<b>AGPI n-6, %</b>		
C18:2 n-6 (ácido linoleico)	4,34	1,91
C18:3 n-6 (ácido γ-linoleico)	0,17	0,12 – 0,24
C20:2 n-6 (ácido eicosadienoico)	0,10	0,07 – 0,17
C20:3 n-6 (ácido dihomo-γ-linolênico)	0,54	0,36
C20:4 n-6 (ácido araquidônico)	3,43	2,60
C22:2 n-6 (ácido 13,16-docosadienoico)	0,39	0,21
n-6 total	9,18	4,07
<b>AGPI n-3, %</b>		
C18:3 n-3 (ácido α-linolênico)	1,64	1,01 – 2,28
C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenoico)	0,24	0,14
C22:6 n-3 (ácido docosahexaenoico)	3,91	1,31
n-3 total	6,16	2,03

AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; DP: desvio padrão; IQ: intervalo interquartil.

Ainda, o ácido palmítico não mostrou associação significativa com nenhum dos biomarcadores avaliados.

Limitar a ingestão de AGS para diminuir o risco cardiovascular é uma recomendação das diretrizes nutricionais recentemente publicadas.<sup>6,7</sup> Uma meta-análise de Ensaios Clínicos Randomizados (ECRs) mostrou que a ingestão de óleo de palma rico em ácido palmítico aumentou os níveis de LDL em 9mg/dL em comparação a óleos vegetais pobres em AGS.<sup>20</sup> Tal fato pode ser traduzido em um risco 6% maior de Doença Arterial Coronariana (DAC).<sup>21</sup> Outra meta-análise

**Tabela 3 – Correlações entre ácidos graxos das hemácias e biomarcadores cardiovasculares**

Variáveis	Ácido palmítico		Ácido esteárico	
	r	Valor p	r	Valor p
Sexo	0,079	0,490	0,197	0,082
Idade, anos	0,062	0,585	0,163	0,151
Índice de massa corporal, Kg/m <sup>2</sup>	0,013	0,907	-0,036	0,756
Circunferência da cintura, cm	0,021	0,857	-0,076	0,506
Pressão arterial sistólica, mmHg	0,034	0,767	-0,113	0,323
Pressão arterial diastólica, mmHg	0,024	0,833	-0,151	0,184
Frequência cardíaca, bpm	0,049	0,667	0,072	0,531
Colesterol total, mg/dL*	-0,032	0,779	-0,253	0,024
HDL-c, mg/dL	0,089	0,434	0,198	0,080
LDL-c, mg/dL	-0,088	0,453	-0,211	0,069
Colesterol total:HDL-c	-0,083	0,468	-0,330	0,003
Colesterol não-HDL, mg/dL	-0,052	0,649	-0,292	0,009
ApoA-I, mg/dL	0,155	0,173	-0,023	0,843
ApoB, mg/dL	0,009	0,936	-0,290	0,009
Triglicerídeos, mg/dL*	-0,011	0,927	-0,244	0,030
Ácidos graxos não esterificados, mEq/dL	0,283	0,016	-0,007	0,954
Glicose, mg/dL*	-0,114	0,317	-0,034	0,768
Insulina, µUI/mL	0,133	0,298	-0,220	0,083
HOMA-IR	0,093	0,467	-0,210	0,099
PCR-us, mg/L*	0,114	0,325	0,286	0,012
IL-6, pg/mL*	0,017	0,881	0,340	0,002
IL-10, pg/mL*	0,029	0,833	0,357	0,007
MCP-1, pg/mL*	0,034	0,769	0,245	0,030
TNF-α, pg/mL*	0,009	0,938	0,364	0,002

A análise de correlação foi realizada usando o teste de Pearson para variáveis paramétricas e o teste de Spearman (\*) para variáveis não paramétricas. HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; Apo: apolipoproteína; HOMA-IR: modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; IL: interleucina; PCR-us: proteína C reativa ultrasensível; TNF-α: fator de necrose tumoral-α; MCP-1: proteína quimioatraente de Monócitos 1; DP: desvio padrão; IIQ: intervalo interquartil.

mostrou que uma redução no consumo de AGSs diminuiu o nível de LDL em 5mg/dL em crianças e adolescentes.<sup>22</sup> O mais importante, esses efeitos ocorrem quando a faixa de ingestão dos ácidos graxos encontra-se entre 20 e 30% do total de energia ingerida. Quando a ingestão de ácidos graxos é maior que 30%, a magnitude do efeito do AGS de elevar os níveis de LDL aumentou para 24 mg/dL.<sup>20</sup> Contudo, outros estudos mostraram fracas associações entre a ingestão de AGS e desfechos cardiovasculares.<sup>23,24</sup> Tais controvérsias poderiam ser explicadas pela substituição dos AGSs por carboidratos refinados,<sup>25</sup> e a comparação dos efeitos dos AGSs com os de ácidos graxos trans, gordura animal, ou óleo de coco,<sup>20</sup> dificultaria a avaliação do real efeito dos AGSs. Ainda, a maioria dos estudos observacionais não distinguem os efeitos do ácido palmítico e do ácido esteárico, os quais são encontrados mais no óleo de palma, e na manteiga e na banha, respectivamente.<sup>26</sup>

Em nosso estudo, contudo, o ácido palmítico não apresentou correlação significativa com colesterol sanguíneo. Esse foi um resultado inesperado, uma vez que é sabido que o ácido palmítico aumenta os níveis de colesterol total e de LDL.<sup>27</sup> Embora os AGSs de hemácias reflitam a ingestão de AGS,<sup>28</sup> sabe-se também que carboidratos dietéticos modulam os níveis de AGSs circulantes por meio da lipogênese *de novo*, levando a uma discrepância entre o estado nutricional e a ingestão de AGSs.<sup>12</sup> A lipogênese *de novo* encontra-se elevada na obesidade,<sup>12</sup> o que poderia explicar a falta de associação entre ácidos graxos dietéticos e das hemácias, observada no presente estudo (Tabela S3). Ainda, a ingestão de ácidos graxos totais e AGSs não foi elevada (29,7 % e 10,2 % da ingestão de energia, respectivamente) e, portanto, a possibilidade de que o ácido palmítico cause hipercolesterolemia nesses níveis de ingestão é baixa.<sup>20</sup>

Por outro lado, o ácido esteárico mostrou uma correlação inversa significativa com o colesterol total, colesterol não-HDL, apoB, e triglicerídeos. Um ECR relatou que os efeitos dos ácidos esteárico, oleico, e linoleico não apresentaram diferença, sugerindo que o ácido esteárico, diferentemente do ácido palmítico, não aumenta os níveis de LDL.<sup>29</sup> Uma metanálise recente mostrou que a substituição do ácido palmítico com ácido esteárico teve pouco ou nenhum efeito sobre o colesterol total, LDL, e apo B.<sup>27</sup> Ainda, a substituição dietética do ácido esteárico com AGMI ou AGPI não afetou sobre as concentrações de LDL, HDL, colesterol total ou triglicerídeos, diferentemente da substituição do ácido palmítico com AGMI ou AMPI. Tal fato corrobora a hipótese de que o ácido esteárico dietético pode ser menos deletério que o ácido palmítico quanto aos efeitos sobre o perfil lipídico. Assim, nossos resultados corroboram essa hipótese, uma vez que o ácido esteárico das hemácias mostrou melhor correlação com os lipídios sanguíneos em comparação ao ácido palmítico.

A associação entre AGS circulante e risco cardiovascular tem sido controversa. A metanálise de Chowdhury et al.<sup>23</sup> não encontraram relação entre biomarcadores do status de AGS e desfechos coronarianos. Contudo, esses resultados foram criticados,<sup>30</sup> uma vez que a meta-análise incluiu estudos que utilizaram diferentes frações lipídicas, que refletem a ingestão de ácidos graxos de diferentes maneiras (por exemplo, os níveis de ácidos graxos plasmáticos de

Tabela 4 – Associações entre ácidos graxos das hemácias e biomarcadores de inflamação e de disfunção endotelial circulantes

Variáveis dependentes	R2	β	SE	IC95% para β		Valor p
				Inferior	Superior	
<b>Ácido palmítico (C16:0)</b>						
PCR-us	0,079	0,165	0,162	-0,158	0,489	0,311
IL-6	0,110	0,132	1,789	-3,438	3,702	0,941
IL-10	0,127	0,728	2,134	-3,589	5,024	0,735
MCP-1	0,091	0,399	2,184	-3,957	4,756	0,855
TNF-α	0,127	0,112	1,279	-2,445	2,669	0,930
<b>Ácido esteárico (C18:0)</b>						
PCR-us	0,162	0,545	0,194	0,157	0,933	<b>0,007</b>
IL-6	0,173	4,620	2,026	0,577	8,664	<b>0,026</b>
IL-10	0,186	4,370	2,359	-0,379	9,120	0,070
MCP-1	0,116	3,584	2,526	-1,454	8,623	0,160
TNF-α	0,194	3,230	1,443	0,345	6,116	0,029

Modelos de regressão linear múltipla ajustados por idade, sexo, tabagismo, colesterol total, pressão arterial sistólica, pressão arterial, glicemia, e índice de massa corporal. Os modelos foram compostos por uma das variáveis dependentes – Proteína C Reativa Ultrassensível (PCR-us), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Proteína quimioatraente de Monócitos 1 (MCP-1) e Fator de Necrose Tumoral-α (TNF-α) e variáveis independentes (ácido palmítico ou ácido esteárico e variáveis de ajuste). IC95%: intervalo de confiança de 95%.

jejum refletem o consumo dos últimos 3-4 dias, enquanto os níveis de ácidos graxos derivados de fosfolípidios refletem a ingestão nos últimos meses).<sup>23,30</sup> Dos oito estudos incluídos na meta-análise,<sup>23</sup> quatro estudos que analisaram fosfolípidios plasmáticos mostraram associações significativas com DAC e mortalidade,<sup>31-34</sup> sendo as associações mais fortes com ácido palmítico e esteárico.

Além da modulação do metabolismo das lipoproteínas, os AGSs podem influenciar o risco cardiovascular por meio da inflamação.<sup>12</sup> Os AGSs atuam como agonistas não microbianos do receptor do tipo Toll 4 (TLR4), ativando vias inflamatórias por meio do o fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB), que exerce um papel crucial na indução de mediadores inflamatórios tais como IL-1β, IL-6, MCP1, TNF-α, entre outros.<sup>35</sup> Os AGSs também induzem indiretamente a ativação de TLR4 por meio da produção elevada de lipopolissacarídeos e toxinas urêmicas pela microbiota intestinal após a ingestão de uma dieta hiperlipídica. Essa endotoxemia metabólica leva a um estresse oxidativo, e à produção de lipídios aterogênicos, LDL oxidado (LDLox) e fosfolípidios oxidados – que levam à resposta inflamatória do complexo CD36-TLR4-TLR6.<sup>35,36</sup> Ainda, o consumo elevado de AGSs aumenta os níveis de lipídios, de LDL minimamente modificada e de LDLox, que ativam a via inflamatória CD14-TLR4-MD2.<sup>35</sup> O consumo elevado de AGSs também pode alterar a composição lipídica do HDL e a capacidade de efluxo do colesterol, diminuindo sua função e aumentando o risco cardiovascular.<sup>37,38</sup>

Nosso estudo corrobora esse fato, ao mostrar que os AGSs das hemácias associam-se independentemente com marcadores inflamatórios. No entanto, essa associação restringiu-se ao ácido esteárico. Sabe-se que o ácido

esteárico induz a resposta inflamatória.<sup>35</sup> Em uma análise de uma subamostra do PREDIMED, os AGSs plasmáticos e, especificamente, o ácido palmítico, mostraram uma associação positiva com níveis mais altos de moléculas pró-inflamatórias circulantes, particularmente IL-6.<sup>39</sup> Por outro lado, Voon et al.<sup>40</sup> mostraram que uma dieta rica em ácido palmítico não modificou os níveis de biomarcadores. Contudo, biomarcadores do status de AGSs não foram medidos no estudo. Outros estudos mostraram que AGSs totais estão associados a níveis mais elevados de marcadores inflamatórios, tais como PCR-us e IL-6,<sup>33,34,41,42</sup> e risco cardiovascular mais alto.<sup>31-34</sup> Porém, quando analisados separadamente, as associações tendem a ser mais significativas e mais fortes com o ácido esteárico, sugerindo que o ácido palmítico isoladamente não altera o risco cardiovascular na mesma magnitude que o ácido esteárico.<sup>31-34,42</sup>

Devido ao seu efeito neutro sobre o metabolismo de lipoproteínas, o ácido esteárico tem sido considerado um substituto dietético para os ácidos graxos *trans* visando redução no risco cardiovascular.<sup>43</sup> Contudo, o risco cardiovascular não se resume aos fatores de risco tradicionais principais,<sup>13</sup> e vários biomarcadores cardiovasculares potenciais que refletem diferentes aspectos da saúde cardiovascular tem sido estudados.<sup>3,44</sup> A associação independente do ácido esteárico das hemácias com a PCR-us, IL-6 e TNF-α encontrada em nosso estudo sugere uma ação pró-inflamatória dos ácidos graxos, que leva à disfunção endotelial e ao aumento do risco cardiovascular, independentemente dos efeitos sobre o metabolismo das lipoproteínas, corroborando estudos anteriores.<sup>31-34,42</sup> Contudo, a maioria dos estudos são observacionais. Um ECR recente comparando uma dieta

rica em ácido palmítico e uma dieta rica em ácido esteárico mostrou que, apesar dos melhores efeitos sobre o metabolismo lipídico, o ácido esteárico aumentou os níveis de marcadores inflamatórios de baixo grau circulantes.<sup>45</sup> Estudos laboratoriais mostram que o ácido esteárico tem efeitos comparáveis aos do ácido palmítico em ativar a cascata de resposta inflamatória TLR4/Nf- $\kappa$ B.<sup>46</sup> Um estudo prévio mostrou que o ácido esteárico é um fator contribuinte importante para a lipotoxicidade nas células beta de camundongos, mostrando efeitos mais deletérios que o ácido palmítico na sobrevivência de células beta e controle glicometabólico.<sup>47</sup> Entretanto, não observamos nenhuma associação entre os AGSs e marcadores glicometabólicos no estudo. Também foi demonstrado que o tratamento de macrófagos polarizados M1 com ácido esteárico aumenta sua susceptibilidade à inflamação e estresse de retículo endoplasmático por meio da inflamação independente de TLR4/2.<sup>48</sup> Ainda, o ácido esteárico, em concentrações fisiológicas, mas não o ácido palmítico, induz efeitos lipotóxicos sobre células angiogênicas circulantes, reduzindo, assim sua capacidade de reparo endotelial.<sup>49</sup> Além disso, a expressão de genes pró-inflamatórios, induzida por ácido esteárico, aumenta o estresse de retículo endoplasmático e apoptose de células angiogênicas, o que poderia estar associado com dano e disfunção vascular aumentados.<sup>49</sup> A associação do ácido esteárico encontrada no presente estudo também pode ser explicada por seu efeito de aumentar a atividade de esteroil-CoA 1 (SCD1), uma enzima lipogênica associada à disfunção metabólica e inflamação crônica de baixo grau, embora os mecanismos pelos quais a SCD1 aumenta a inflamação sejam desconhecidas.<sup>50</sup> Contudo, não avaliamos polimorfismos de nucleotídeo único ou atividade da SCD1 em nosso estudo.

Em conjunto, os resultados de nosso estudo e da literatura corroboram o efeito pró-inflamatório do ácido esteárico. Sabe-se que a PCR-us, o IL-6, e o TNF- $\alpha$  não são apenas marcadores do sistema de inflamação, como também biomarcadores da disfunção endotelial.<sup>51,52</sup> A disfunção endotelial é o principal marco de DCV e está associada com pior prognóstico independentemente dos fatores de risco.<sup>1</sup> De fato, níveis elevados de ácido esteárico podem aumentar o risco inflamatório cardiovascular, independentemente dos níveis de colesterol sanguíneo. Nosso estudo tem limitações devido à sua natureza transversal, o tamanho amostral, e a falta de desfechos clínicos. Os pontos fortes do estudo incluem o uso de ácidos graxos das hemácias como um biomarcador do status de AGS, e o uso de biomarcadores de inflamação e de disfunção endotelial. A razão pelo qual os ácidos graxos de hemácias não se correlacionaram com ácidos graxos da dieta pode ser atribuída a vários vieses inerentes aos

inquéritos alimentares, sugerindo a vantagem de se utilizar biomarcadores do status de ácidos graxos, particularmente ácidos graxos das hemácias, que refletem a ingestão de ácidos graxos nos últimos três meses aproximadamente.

## Conclusões

Nossos resultados mostraram que o ácido esteárico de hemácias associa-se independentemente com biomarcadores de inflamação e de disfunção endotelial em indivíduos com um ou mais fator de risco cardiovascular.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Sra. Elizabeth Torres por disponibilizar o cromatógrafo a gás para o estudo.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa e Obtenção de financiamento: Damasceno NRT; Obtenção de dados: Gonçalinho GHF, Sampaio GR, Soares-Freitas RAM, Damasceno NRT; Análise e interpretação dos dados: Gonçalinho GHF, Sampaio GR, Soares-Freitas RAM; Análise estatística e Redação do manuscrito e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Gonçalinho GHF.

## Potencial conflito de interesse

Não há conflito com o presente artigo.

## Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pela CAPES nº 8882.330835/2019-1 e FAPESP nº 2016/24531-3 e 2011/12523-2.

## Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de mestrado de Gustavo Henrique Ferreira Gonçalinho pela Universidade de São Paulo – Departamento de Nutrição.

## Aprovação ética e consentimento informado

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital da Universidade de São Paulo sob o número de protocolo 0063.0.207.198-11. Todos os procedimentos envolvidos nesse estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, atualizada em 2013. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes incluídos no estudo.

## Referências

1. Geovanini GR, Libby P. Atherosclerosis and Inflammation: Overview and Updates. *Clin Sci*. 2018;132(12):1243-52. doi: 10.1042/CS20180306.
2. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511. doi: 10.1161/01.cir.0000052939.59093.45.
3. Wang L, Cheng CK, Yi M, Lui KO, Huang Y. Targeting Endothelial Dysfunction and Inflammation. *J Mol Cell Cardiol*. 2022;168:58-67. doi: 10.1016/j.yjmcc.2022.04.011.



4. Taghizadeh S, Izadi A, Shirazi S, Parizad M, Pourghassem Gargari B. The Effect of Coenzyme Q10 Supplementation on Inflammatory and Endothelial Dysfunction Markers in Overweight/Obese Polycystic Ovary Syndrome patients. *Gynecol Endocrinol.* 2021;37(1):26-30. doi: 10.1080/09513590.2020.1779689.
5. Hooper L, Martin N, Jimoh OF, Kirk C, Foster E, Abdelhamid AS. Reduction in Saturated Fat Intake for Cardiovascular Disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;5(5):CD011737. doi: 10.1002/14651858.CD011737.pub2.
6. Lichtenstein AH, Appel LJ, Vadiveloo M, Hu FB, Kris-Etherton PM, Rebholz CM, et al. 2021 Dietary Guidance to Improve Cardiovascular Health: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2021;144(23):e472-e487. doi: 10.1161/CIR.0000000000001031.
7. Izar MCO, Lottenberg AM, Giraldez VZR, Santos RDD Filho, Machado RM, Bertolami A, et al. Position Statement on Fat Consumption and Cardiovascular Health - 2021. *Arq Bras Cardiol.* 2021;116(1):160-212. doi: 10.36660/abc.20201340.
8. Mensink RP, Katan MB. Effect of Dietary Fatty Acids on Serum Lipids and Lipoproteins. A Meta-Analysis of 27 Trials. *Arterioscler Thromb.* 1992;12(8):911-9. doi: 10.1161/01.atv.12.8.911.
9. Chait A, Kim F. Saturated Fatty Acids and Inflammation: Who Pays the Toll? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(4):692-3. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.203984.
10. Ajuwon KM, Spurlock ME. Palmitate Activates the NF-kappaB Transcription Factor and Induces IL-6 and TNFalpha Expression in 3T3-L1 Adipocytes. *J Nutr.* 2005;135(8):1841-6. doi: 10.1093/jn/135.8.1841.
11. Libby P, Buring JE, Badimon L, Hansson GK, Deanfield J, Bittencourt MS, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2019;5(1):56. doi: 10.1038/s41572-019-0106-z.
12. Ruiz-Núñez B, Dijck-Brouwer DA, Muskiet FA. The Relation of Saturated Fatty Acids with Low-Grade Inflammation and Cardiovascular Disease. *J Nutr Biochem.* 2016;36:1-20. doi: 10.1016/j.jnutbio.2015.12.007.
13. Gonçálinho GHF, Sampaio GR, Soares-Freitas RAM, Damasceno NRT. Omega-3 Fatty Acids in Erythrocyte Membranes as Predictors of Lower Cardiovascular Risk in Adults without Previous Cardiovascular Events. *Nutrients.* 2021;13(6):1919. doi: 10.3390/nu13061919.
14. Willett WC, Howe GR, Kushi LH. Adjustment for Total Energy Intake in Epidemiologic Studies. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(4 Suppl):1220S-1228S. doi: 10.1093/ajcn/65.4.1220S. doi: 10.1093/ajcn/65.4.1220S.
15. D'Agostino RB Sr, Vasán RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General Cardiovascular Risk Profile for Use in Primary Care: The Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008;117(6):743-53. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.699579.
16. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, et al. Effectiveness-Based Guidelines for the Prevention of Cardiovascular Disease in Women—2011 Update: A Guideline from the American Heart Association. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(12):1404-23. doi: 10.1016/j.jacc.2011.02.005.
17. Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis.* 2011;217(1):3-46. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.028.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
19. Stern SE, Williams K, Ferrannini E, DeFronzo RA, Bogardus C, Stern MP. Identification of Individuals with Insulin Resistance Using Routine Clinical Measurements. *Diabetes.* 2005;54(2):333-9. doi: 10.2337/diabetes.54.2.333.
20. Sun Y, Neelakantan N, Wu Y, Lote-Oke R, Pan A, van Dam RM. Palm Oil Consumption Increases LDL Cholesterol Compared with Vegetable Oils Low in Saturated Fat in a Meta-Analysis of Clinical Trials. *J Nutr.* 2015;145(7):1549-58. doi: 10.3945/jn.115.210575.
21. Gould AL, Davies GM, Alemáio E, Yin DD, Cook JR. Cholesterol Reduction Yields Clinical Benefits: Meta-Analysis Including Recent Trials. *Clin Ther.* 2007;29(5):778-94. doi: 10.1016/j.clinthera.2007.05.012.
22. Te Morenga L, Montez JM. Health Effects of Saturated and Trans-Fatty Acid Intake in Children and Adolescents: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2017;12(11):e0186672. doi: 10.1371/journal.pone.0186672.
23. Chowdhury R et al. Association of Dietary, Circulating, and Supplement Fatty Acids With Coronary Risk. *Ann. Intern. Med.* 160, 398 (2014).
24. Souza RJ, Mente A, Maroleanu A, Cozma AI, Ha V, Kishibe T, et al. Intake of Saturated and Trans Unsaturated Fatty Acids and Risk of All Cause Mortality, Cardiovascular Disease, and Type 2 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *BMJ.* 2015;351:h3978. doi: 10.1136/bmj.h3978.
25. Siri-Tarino PW, Sun Q, Hu FB, Krauss RM. Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: Modulation by Replacement Nutrients. *Curr Atheroscler Rep.* 2010;12(6):384-90. doi: 10.1007/s11883-010-0131-6.
26. Gupta SV, Khosla P. Palmitic and stearic Acids Similarly Affect Plasma Lipoprotein Metabolism in Cynomolgus Monkeys Fed Diets with Adequate Levels of Linoleic Acid. *J Nutr.* 2001;131(8):2115-20. doi: 10.1093/jn/131.8.2115.
27. Sellem L, Flourakis M, Jackson KG, Joris PJ, Lumley J, Lohner S, et al. Impact of Replacement of Individual Dietary SFAs on Circulating Lipids and Other Biomarkers of Cardiometabolic Health: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials in Humans. *Adv Nutr.* 2022;13(4):1200-25. doi: 10.1093/advances/nmab143.
28. Hodson L, Eyles HC, McLachlan KJ, Bell ML, Green TJ, Skeaff CM. Plasma and Erythrocyte Fatty Acids Reflect Intakes of Saturated and n-6 PUFA Within a Similar Time Frame. *J Nutr.* 2014;144(1):33-41. doi: 10.3945/jn.113.183749.
29. Thijssen MA, Mensink RP. Small Differences in the Effects of Stearic Acid, Oleic Acid, and Linoleic Acid on the Serum Lipoprotein Profile of Humans. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(3):510-6. doi: 10.1093/ajcn.82.3.510.
30. Dawczynski C, Kleber ME, März W, Jahreis G, Lorkowski S. Association of Dietary, Circulating, and Supplement Fatty Acids with Coronary Risk. *Ann Intern Med.* 2014;161(6):453-4. doi: 10.7326/L14-5018-2.
31. Wang L, Folsom AR, Eckfeldt JH. Plasma Fatty Acid Composition and Incidence of Coronary Heart Disease in Middle Aged Adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2003;13(5):256-66. doi: 10.1016/s0939-4753(03)80029-7.
32. Khaw KT, Friesen MD, Riboli E, Luben R, Wareham N. Plasma Phospholipid Fatty Acid Concentration and Incident Coronary Heart Disease in Men and Women: The EPIC-Norfolk Prospective Study. *PLoS Med.* 2012;9(7):e1001255. doi: 10.1371/journal.pmed.1001255.
33. Warensjö E, Sundström J, Vessby B, Cederholm T, Risérus U. Markers of Dietary Fat Quality and Fatty Acid Desaturation as Predictors of Total and Cardiovascular Mortality: A Population-Based Prospective Study. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(1):203-9. doi: 10.1093/ajcn/88.1.203.
34. Clarke R, Shipley M, Armitage J, Collins R, Harris W. Plasma Phospholipid Fatty Acids and CHD in Older Men: Whitehall Study of London Civil Servants. *Br J Nutr.* 2009;102(2):279-84. doi: 10.1017/S0007114508143562.
35. Rocha DM, Caldas AP, Oliveira LL, Bressan J, Hermsdorff HH. Saturated Fatty Acids Trigger TLR4-Mediated Inflammatory Response. *Atherosclerosis.* 2016;244:211-5. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.015.
36. Kemp JA, Esgalhado M, Macedo RA, Regis B, Damasceno NRT, Torres EA, et al. A Possible Link between Polyunsaturated Fatty Acids and Uremic Toxins from the Gut Microbiota in Hemodialysis Patients: A Hypothesis. *Hemodial Int.* 2019;23(2):189-97. doi: 10.1111/hdi.12725.
37. Fernández-Castillejo S, Rubió L, Hernáez Á, Catalán Ú, Pedret A, Valls RM, et al. Determinants of HDL Cholesterol Efflux Capacity after Virgin Olive Oil Ingestion: Interrelationships with Fluidity of HDL Monolayer. *Mol Nutr Food Res.* 2017;61(12):10.1002/mnfr.201700445. doi: 10.1002/mnfr.201700445.

38. Leal DP, Gonçalinho GHF, Tavoni TM, Kuwabara KL, Paccanaro AP, Freitas FR, et al. The Interplay of Sirtuin-1, LDL-Cholesterol, and HDL Function: A Randomized Controlled Trial Comparing the Effects of Energy Restriction and Atorvastatin on Women with Premature Coronary Artery Disease. *Antioxidants*. 2022;11(12):2363. doi: 10.3390/antiox11122363.
39. Domínguez-López I, Arancibia-Riveros C, Casas R, Tresserra-Rimbau A, Razquin C, Martínez-González MÁ, et al. Changes in Plasma Total Saturated Fatty Acids and Palmitic Acid are Related to Pro-Inflammatory Molecule IL-6 Concentrations after Nutritional Intervention for One Year. *Biomed Pharmacother*. 2022;150:113028. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113028.
40. Voon PT, Ng TK, Lee VK, Nesaretnam K. Diets High in Palmitic Acid (16:0), Lauric and Myristic Acids (12:0 + 14:0), or Oleic Acid (18:1) do Not Alter Postprandial or Fasting Plasma Homocysteine and Inflammatory Markers in Healthy Malaysian Adults. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(6):1451-7. doi: 10.3945/ajcn.111.020107.
41. Kalogeropoulos N, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Rousinou G, Toutouza M, et al. Unsaturated Fatty Acids are Inversely Associated and n-6/n-3 Ratios are Positively Related to Inflammation and Coagulation Markers in Plasma of Apparently Healthy Adults. *Clin Chim Acta*. 2010;411(7-8):584-91. doi: 10.1016/j.cca.2010.01.023.
42. Mu L, Mukamal KJ, Naqvi AZ. Erythrocyte Saturated Fatty Acids and Systemic Inflammation in Adults. *Nutrition*. 2014;30(11-12):1404-8. doi: 10.1016/j.nut.2014.04.020.
43. Kris-Etherton PM, Griel AE, Psota TL, Gebauer SK, Zhang J, Etherton TD. Dietary Stearic Acid and Risk of Cardiovascular Disease: Intake, Sources, Digestion, and Absorption. *Lipids*. 2005;40(12):1193-200. doi: 10.1007/s11745-005-1485-y.
44. Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cifková R, Cosentino F, et al. The Role of Vascular Biomarkers for Primary and Secondary Prevention. A Position Paper from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation: Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):507-32. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.007.
45. van Rooijen MA, Plat J, Zock PL, Blom WAM, Mensink RP. Effects of Two Consecutive Mixed Meals High in Palmitic Acid or Stearic Acid on 8-h Postprandial Lipemia and Glycemia in Healthy-Weight and Overweight Men and Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *Eur J Nutr*. 2021;60(7):6659-667. doi: 10.1007/s00394-021-02530-2.
46. Li B, Leung JCK, Chan LYY, Yiu WH, Tang SCW. A Global Perspective on the Crosstalk between Saturated Fatty Acids and Toll-Like Receptor 4 in the Etiology of Inflammation and Insulin Resistance. *Prog Lipid Res*. 2020;77:101020. doi: 10.1016/j.plipres.2019.101020.
47. Lu H, Hao L, Li S, Lin S, Lv L, Chen Y, et al. Elevated Circulating Stearic Acid Leads to a Major Lipotoxic Effect on Mouse Pancreatic Beta Cells in Hyperlipidaemia Via a miR-34a-5p-mediated PERK/p53-dependent Pathway. *Diabetologia*. 2016;59(6):1247-57. doi: 10.1007/s00125-016-3900-0.
48. Anderson EK, Hill AA, Hasty AH. Stearic Acid Accumulation in Macrophages Induces Toll-Like Receptor 4/2-Independent Inflammation Leading to Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(7):1687-95. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.250142.
49. Spigoni V, Fantuzzi F, Fontana A, Cito M, Derlindati E, Zavaroni I, et al. Stearic Acid at Physiologic Concentrations Induces in Vitro Lipotoxicity in Circulating Angiogenic Cells. *Atherosclerosis*. 2017;265:162-71. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.09.004.
50. Stryjecki C, Roke K, Clarke S, Nielsen D, Badawi A, El-Sohemy A, et al. Enzymatic Activity and Genetic Variation in SCD1 Modulate the Relationship between Fatty Acids and Inflammation. *Mol Genet Metab*. 2012;105(3):421-7. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.12.003.
51. Marcos-Ramiro B, García-Weber D, Millán J. TNF-Induced Endothelial Barrier Disruption: Beyond Actin and Rho. *Thromb Haemost*. 2014;112(6):1088-102. doi: 10.1160/TH14-04-0299.
52. Lee J, Lee S, Zhang H, Hill MA, Zhang C, Park Y. Interaction of IL-6 and TNF- $\alpha$  Contributes to Endothelial Dysfunction in Type 2 Diabetic Mouse Hearts. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187189. doi: 10.1371/journal.pone.0187189.

#### \*Material suplementar

Para informação adicional, por favor, clique aqui.

