

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Sara Isabel Ribeiro de Sousa

Outubro de 2015

Orientação: Doutora Valentina Domingues
Co-Orientação: Doutora Conceição Calhau

Agradecimentos

Neste espaço, queria agradecer a todos que de alguma forma contribuíram no meu percurso até este momento.

Especialmente à Doutora Valentina Domingues, pelo apoio, incentivo, dedicação, compreensão, e principalmente pela confiança que sempre depositou em mim.

À Doutora Conceição Calhau por todo o apoio, orientação e disponibilidade.

A Luísa Correia de Sá e Diana Teixeira por toda a ajuda, tempo e disponibilidade.

Aos meus colegas e amigos, sem os quais o percurso até aqui teria sido muito mais difícil.

Aos meus pais e irmão por todo o amor, carinho, incentivo e apoio que me deram nesta e em outras fases da minha vida.

Resumo

Os ácidos gordos desempenham um papel fisiológico importante como componentes indispensáveis na estrutura celular, bem como fontes de energia. Nas últimas décadas, tem havido um aumento notável do interesse público nos ácidos gordos polinsaturados ómeegas 3 e 6 e no seu impacto sobre a saúde humana, especialmente em doenças metabólicas e cardiovasculares. Estes ácidos gordos específicos podem prevenir e/ou tratar várias patologias metabólicas, atuando nomeadamente como compostos anti-inflamatórios.

A menopausa é um fator de risco para doença cardiovascular, a diminuição de estrogénio, que ocorre neste estado fisiológico, provoca disfunção endotelial e stresse oxidativo. Consequentemente há uma redução dos níveis de ácidos gordos polinsaturados ómeegas 3, o que contribui para o aparecimento de aterosclerose e doença cardiovascular.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar e caracterizar o perfil lipídico de ácidos gordos de uma amostra de mulheres pós-menopausa e com este, estudar as associações entre o perfil lipídico determinado e parâmetros metabólicos de risco (parâmetros clínicos e bioquímicos).

Inicialmente, os ácidos gordos foram extraídos da matriz plasmática através da derivatização destes e a sua composição percentual no plasma foi determinada com recurso a cromatografia gasosa com deteção de ionização de chama. De seguida, através do software *IBM SPSS Statistics 21*, foram estabelecidas associações entre os parâmetros clínicos e bioquímicos e o perfil lipídico determinado.

A população em estudo foi dividida em dois grupos consoante o período de entrada na menopausa (há menos de 7 anos e há 7 anos ou mais). Não há conhecimento de estudos semelhantes ao apresentado, que relacionem todo o perfil de ácidos gordos com parâmetros metabólicos de risco considerando o estado menopausal.

Os resultados obtidos mostram que o perfil lipídico influencia vários marcadores metabólicos / endócrinos com relevância clínica que devem ser explorados em futuros ensaios clínicos.

Para as mulheres na menopausa há menos de 7 anos foram estabelecidas as seguintes relações: i) entre os ácidos gordos saturados e insaturados *cis* e os níveis de ALP; ii) entre os ácidos gordos mono e polinsaturados *cis* e os níveis de GGT, IL10 e estradiol; iii) entre os ácidos gordos polinsaturados *trans* e o IMC e os níveis de IL6; iv) entre os ómeegas 3 e os níveis de IL10 e ácido úrico; v) entre os ómeegas 6 e os níveis de estradiol, ALP e GGT; vi) entre os ómeegas 9 e os níveis de estradiol e GGT; vii) entre os ácidos gordos de curta cadeia e os níveis de colesterol total, LDL, triglicérideos e IL10; viii) entre os ácidos gordos

saturados de cadeia longa e o Σ Ácido láurico, mirístico, palmítico e esteárico e os níveis de triglicerídeos, ALP e GGT; viii) os níveis de IL10 podem ser simultaneamente associados com os ácidos gordos de curta cadeia e os ómeegas 3.

Para as mulheres na menopausa há 7 anos ou mais foram estabelecidas relações: i) entre os ómeegas 3 e o IMC e os níveis de triglicerídeos; ii) entre os ácidos gordos monoinsaturados *cis* e os ómeegas 9 com os níveis de ALT.

Relações independentes do estado menopausal também foram estabelecidas, nomeadamente: i) entre os ácidos gordos polinsaturados *cis* e ómeegas 6 e os níveis de ALT, triglicerídeos e AST; ii) entre os níveis de ácidos gordos monoinsaturados *cis* e ómeegas 9 e os níveis de AST e triglicerídeos.

O perfil lipídico de ácidos gordos pode ser considerado um biomarcador para a condição de saúde da mulher na menopausa.

Palavras-Chave: ácidos gordos, menopausa, estrogénio, perfil lipídico, perfil metabólico, cromatografia gasosa

Abstract

Fatty acids play an important physiological role as indispensable components in the cell structure as well as energy sources. In the last decades, has been an increase in public interest in polyunsaturated omegas 3 and 6 and their impact on human health, especially in metabolic and cardiovascular disease. These specific fatty acids that can prevent and / or treat various metabolic conditions, acting in particular as anti-inflammatory compounds.

Menopause is a risk factor for cardiovascular disease, the reduction of estrogen that occurs in this physiological state, causes endothelial dysfunction and oxidative stress. Consequently there is a reduction in levels of polyunsaturated fatty acids omegas 3, which contributes to the risk of atherosclerosis and cardiovascular disease.

In this context, the aim of this study was to evaluate and characterize lipid fatty acid profile of a sample of postmenopausal women and with this, study the associations between certain lipid profile and metabolic risk parameters (clinical and biochemical parameters).

Initially, the fatty acids were extracted from the plasma matrix, after fatty acids derivatization, and their composition in plasma was determined using gas chromatography with flame ionization detection. Then, resorting to *IBM SPSS Statistics 21* software, associations were established between the clinical and biochemical parameters and the lipid profile.

The study population was divided into two groups according to menopausal evolution (less than 7 years and 7 years or more). As far as the authors know there is no study correlating the fatty acids profile and risk metabolic parameters, either considering menopausal state.

The results show that lipid profile influence several key metabolic/endocrine markers with clinical relevance which must be explored in future clinical trials.

For women in with menopausal evolution lower than 7 years were established the following relations: i) with saturated and unsaturated *cis* fatty acids and ALP levels; ii) with mono and polyunsaturated *cis* fatty acids and GGT, IL10 and estradiol levels; iii) with polyunsaturated *trans* fatty acids and BMI and IL6 levels; iv) with omegas 3 and IL10 and uric acid levels; v) with omegas 6 and estradiol, ALP and GGT levels; vi) with omegas 9 and estradiol and GGT levels; vi) with short chain fatty acids and total cholesterol, LDL, triglycerides and IL10 levels; vii) with long chain saturated fatty acids and ΣÁcido lauric, myristic, palmitic and stearic acids and triglycerides, ALP and GGT levels; viii) IL10 levels can be simultaneously associated with short chain fatty acids and omegas 3.

For women with menopausal evolution higher than 7 years the following relations have been established: i) with omegas 3 and BMI and triglyceride levels; ii) with monounsaturated *cis* fatty acids and omegas 9 with ALT levels.

Relations independent of menopausal status were also established, namely: i) with polyunsaturated *cis* fatty acids and omegas 6 and ALT, triglycerides and AST levels; ii) with monounsaturated *cis* fatty acids and omegas 9 and AST and triglyceride levels levels.

The fatty acids lipid profile can be considered a biomarker of health situation in menopause women.

Keywords: fatty acids, menopause, estrogen, lipid profile, metabolic profile, gas chromatography

Índice

Introdução.....	1
1.1. Enquadramento do trabalho e importância do estudo	1
1.2. Os ácidos gordos	2
1.3. Oxidação dos ácidos gordos	5
1.4. O papel dos ácidos gordos na saúde	7
1.4.1. Ácidos gordos essenciais	7
1.4.1.1. Ómeegas 3	8
1.4.1.2. Ómeegas 3 na prevenção de Doenças Cardiovasculares	9
1.4.1.3. Ómeegas 6	9
1.4.1.4. Equilíbrio ómega 3 e 6	10
1.4.2. Ácidos gordos não essenciais.....	10
1.4.2.1. Ómeegas 9	10
1.4.2.2. Ácidos gordos de curta cadeia	11
1.4.2.3. Ácidos gordos saturados de cadeia longa	11
Capítulo 2: Parte experimental e Análise Estatística.....	15
2.1. Parte experimental.....	15
2.1.1. Esterificação e Transesterificação dos Ácidos Gordos	15
2.1.1.1. Catálise ácida	15
2.1.1.2. Catálise básica.....	16
2.1.2. Cromatografia	17
2.1.2.1. Cromatografia Gasosa e Detetor de Ionização de Chama.....	17
2.1.3. Procedimento experimental.....	18
2.1.3.1. Reagentes	18
2.1.3.2. Material	19
2.1.3.3. Equipamento	19
2.1.3.4. Resumo do processo.....	19
2.1.4. Preparação de soluções.....	20

2.1.4.1.	Metóxido de sódio a 0,5M.....	20
2.1.4.2.	Solução de padrão interno C13:0 em metanol a 100 µg/mL.....	20
2.1.4.3.	Solução de hidroxitolueno butilado em n-hexano a 0,02%	20
2.1.4.4.	Solução de cloreto de sódio	21
2.2.	Análise Estatística.....	21
2.2.1.	Análise Univariável e Multivariável.....	21
2.2.2.	Métodos do modelo de Regressão Linear	21
2.2.3.	Condições necessárias ao modelo de Regressão Linear	22
2.2.4.	Perfil metabólico da população	23
Capítulo 3:	Resultados e Discussão	25
3.1.	Resultados da injeção de padrão	25
3.2.	Breve contextualização à análise dos resultados	26
3.3.	Resultados da análise cromatográfica e estatística.....	29
3.3.1.	A relação do perfil de ácidos gordos e a metainflamação em mulheres pós-menopausa	30
3.3.2.	Caracterização da população e resultados da análise cromatográfica e estatística à população geral.....	45
3.3.3.	Conclusões da análise estatística	50
Conclusões e Sugestões para Trabalho Futuro		53
Glossário.....		55
Referências bibliográficas		59
Anexos.....		67
A.	Informação clínica e social da população estudada	67
A.1.	Dados Clínicos, Bioquímicos e Sociais.....	67
A.2.	Caracterização clínica, bioquímica e social da população	77
B.	Diagrama do processo experimental.....	81
C.	Certificado de análise – Mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos C37	83
D.	Material Suplementar - A relação do perfil de ácidos gordos e a metainflamação em mulheres pós-menopausa.....	85
E.	Resultados da análise cromatográfica nas amostras de mulheres pós-menopausa	91

E.1.	Resultados preliminares	91
E.2.	Resultados finais	100
E.3.	Caracterização lipídica da população	102
F.	Resultados da análise estatística	105

Índice de figuras

Figura 1. 1 - Estrutura molecular de ácidos gordos fisicamente relevantes [6].	2
Figura 1. 2 - Isomeria geométrica [8].	3
Figura 1. 3 - Classificação dos AG consoante o nível de saturação e o tamanho da cadeia.	4
Figura 1. 4 – Empacotamento de AG saturados (a) e de uma mistura de AG saturados e insaturados (b) [14].	5
Figura 1. 5 – Migração dos AG para a matriz mitocondrial e ciclo de β -oxidação (adaptado) [17].	6
Figura 1. 6 - Ciclo da β -oxidação de AG (adaptado) [16,17].	7
Figura 1. 7 – Processos fisiológicos nos quais os ómeegas 3 têm influência.	8
Figura 1. 8 – Previsões da evolução da concentração de lipoproteínas, quando 10% da energia obtida por hidratos de carbono é substituída por AG [30].	12
Figura 1. 9 - Efeito de AG saturados específicos na concentração de lipoproteínas LDL, quando 10% da energia obtida por hidratos de carbono é substituída por estes AG saturados específicos [30].	13
Figura 2. 1 - Esterificação via catálise ácida [36].	15
Figura 2. 2 - Transesterificação via catálise ácida [36].	16
Figura 2. 3 - Transesterificação via catálise básica [36].	17
Figura 2. 4 - Representação de um sistema GC-FID. Adaptado [39].	18
Figura 3. 1 – Cromatograma da injeção da mistura de AGME C37.	25
Figura 3. 2 - Frequências da evolução da menopausa em anos.	45
Figura 3. 3 - Razões para o ganho de peso.	45
Figura 3. 4 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa estudadas.	46
Figura 3. 5 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa segundo grupo de AG.	47
Figura 3. 6 - Representação esquemática das associações encontradas entre o perfil lipídico de AG e os parâmetros bioquímicos e clínicos.	50
Figura 3. 7 - Representação esquemática das associações encontradas entre o perfil lipídico de AG e os parâmetros bioquímicos e clínicos para mulheres na menopausa há menos de 7 anos.	51
Figura 3. 8 - Representação esquemática das associações encontradas entre o perfil lipídico de AG e os parâmetros bioquímicos e clínicos para mulheres na menopausa há 7 anos ou mais.	52

Figura B 1 - Representação esquemática do processo experimental. 81

Figura C 1 - Certificado de análise de mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos..... 83

Índice de tabelas

Tabela 1. 1 - Nomenclatura dos AG relevantes para o estudo [9–13].....	3
Tabela 3. 1 - Tempos de Retenção dos AG.	26
Tabela 3. 2 – Correlações univariáveis obtidas entre o perfil lipídico de AG e o perfil metabólico para a população global. (Teste efetuado: regressões lineares pelo método <i>Stepwise</i>).....	49
Tabela A 1 - Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada.....	68
Tabela A 2 - Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).....	69
Tabela A 3 - Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).....	71
Tabela A 4 - Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada.....	72
Tabela A 5 - Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).....	74
Tabela A 6 - Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).....	75
Tabela A 7 - Caracterização clínica e bioquímica da população global.....	77
Tabela A 8 - Caracterização clínica da população (continuação).....	78
Tabela A 9 - Caracterização social da população.....	78
Tabela A 10 - Caracterização clínica e bioquímica da população segundo a evolução da menopausa.....	79
Tabela D 1 – (Table S 1) The eleven sub-groups of fatty acids profile studied, according to the chemical classification.....	85
Tabela D 2 – (Table S 2) Characterization of the studied population.	86
Tabela D 3 – (Table S 3) Characterization of the studied population according to menopausal evolution.	88
Tabela D 4 – (Table S 4) Univariable correlation achieved between groups of fatty acid and biochemical parameters in menopause lower than 7 years.....	89

Tabela D 5 – (Table S 5) Univariable correlation achieved between groups of fatty acid and biochemical parameters in women in menopause equal or higher than 7 years.	90
Tabela D 6 – (Table S 6) Multivariable correlation achieved between interleukin 10 and omega 3 and short-chain FA. (Performed test: linear regressions by stepwise method).....	90
Tabela E 1 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C4:0 a C15:1 ω 5.....	91
Tabela E 2 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C16:0 a C18:2 ω 6c.....	93
Tabela E 3- Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C18:3 ω 6 a C20:4 ω 6.....	96
Tabela E 4- Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C23:0 a C22:6 ω 3.....	99
Tabela E 5 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa, segundo grupos de AG.	100
Tabela E 6 - Caracterização lipídica da população global.	102
Tabela E 7 - Caracterização lipídica da população consoante a evolução da menopausa.	103
Tabela F 1- Resultado da análise univariável à população geral.	105

Lista de abreviaturas

- AA – Ácido araquidónico (do inglês arachidonic acid)
- Acil-CoA – Acil-Coezima A
- ACO - Anticoncepcionais Orais
- ADO - Antidiabéticos Orais
- AG – Ácidos gordos
- AGE – Ácido gordo essencial
- AGME – Ácidos gordos ésteres metílicos
- AIQ – Amplitude Interquartil
- ALA – Ácido α -linolénico (do inglês α -linolenic acid)
- ALP - Fosfatase Alcalina (do inglês Alkaline Phosphatase)
- ALT - Alanina Aminotransferase
- AST - Aspartato Aminotransferase
- ATP – Adenosina-trifosfato (do inglês Adenosine Triphosphate)
- CoA – Coenzima A
- CPT 1 – Enzima Carnitina Aciltransferase 1 (do inglês Carnitine Palmitoyltransferase 1)
- CPT 2 – Enzima Carnitina Aciltransferase 2 (do inglês Carnitine Palmitoyltransferase 2)
- CVD – Doenças Cardiovasculares (do inglês cardiovascular diseases)
- DCC – Doença Cardíaca Coronária
- DHA – Ácido decosahexaenóico (do inglês docosahexaenoic)
- DHEAs - Sulfato Dehidroepiandrosterona (do inglês Dehydroepiandrosterone sulfate)
- DIU – Diapositivo Intrauterino
- DP – Desvio Padrão Absoluto
- EPA – Ácido eicosapentaenóico (do inglês eicosapentaenoic)
- FAD – Dinucleótido de Flavina e Adenina (do inglês Flavin Adenine Dinucleotide)
- FID – Detetor de Ionização de Chama (do inglês Flame Ionization Detector)
- FSH – Hormona Folículo Estimulante (do inglês Follicle-stimulating Hormone)
- GC – Cromatografia Gasosa
- GGT - Gama Glutamil Transferase
- GnRH - Hormona de Libertação de Gonadotrofinas (do inglês Gonadotropin-Releasing Hormone)
- HDL - Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês High Density Lipoprotein)
- IL6 – Interceulina 6
- IL10 – Interceulina 10
- IMC – Índice de massa corporal

LA – Ácido linoleico (do inglês linoleic acid)

LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade (do inglês Low Density Lipoprotein)

LH – Hormona Luteinizante (do inglês Luteinizing Hormone)

Ln – Logaritmo neperiano

MCP1 - Proteína Quimiotática de Monócitos 1 (do inglês Monocyte Chemotactic Protein
1)

NAD – Dinucleótido de nicotinamida e adenina (do inglês Nicotinamide Adenine
Dinucleótide)

SHBG - Globulina de ligação das hormonas sexuais (do inglês Sex Hormone-Binding
Globulin)

Introdução

1.1. Enquadramento do trabalho e importância do estudo

Os ácidos gordos (AG) desempenham um papel fundamental na fisiologia humana. Tanto como fontes de energia (principais constituintes da gordura armazenada na forma de triglicerídeos), como parte integrante da membrana celular, tornando-a fluída, de forma a permitir e melhorar as funções das proteínas associadas à membrana (recetores, canais iónicos, enzimas, transportadores) quer como precursores para a síntese de lípidos bioativos [1–3]. Estes não são apenas importantes substratos metabólicos e o principal constituinte dos lípidos, mas são também cada vez mais reconhecidos pelo seu papel como moduladores numa ampla variedade de processos celulares [4].

Com o objetivo de discutir os efeitos fisiológicos dos AG para além das suas funções óbvias como nutrientes e como componentes de lípidos complexos, teve lugar em 1992 a primeira Mesa Redonda Internacional (*International Round Table*) sobre "Ácidos gordos e Sinalização Celular". Assim os AG, por si só, podem ser vistos como moléculas de sinalização autacoide (com efeitos na própria célula – autócrina, ou nas células vizinhas – parácrinas) e ainda como moléculas com afinidade para recetores nucleares, capazes de modular a expressão de diversos genes com relevância em diferentes metabolismos. A manipulação de AG poderá ser a abordagem terapêutica para doenças crónicas caracterizadas por perturbações no metabolismo de AG [4]. Dr. David Horrobin (1939–2003) foi um dos primeiros cientistas a reconhecer e estudar o papel dos AG na fisiologia humana, inspirado no trabalho de Dr. Hugh Sinclair (1910–1990) com AG essenciais. Este cientista acreditava que muitas doenças envolviam a falta de precursores de AG e podiam ser tratadas por suplementos do AG apropriado [5,6]. Atualmente é dada muita relevância a esta temática no âmbito da inflamação crónica de baixo grau que está envolvida na génese de muitas das doenças atuais (obesidade, diabetes tipo 2, cancro, doenças neurodegenerativas, etc).

Por estes motivos, a análise e avaliação do perfil lipídico (concentração de ácidos gordos no plasma) é cada vez mais necessária e fundamental. Os AG podem tornar-se indicadores de distúrbios metabólicos ou patologias quando correlações são encontradas com parâmetros clínicos e bioquímicos representantes dos respetivos distúrbios e patologias. Após estabelecidas estas correlações, a avaliação do perfil lipídico torna possível o controlo e/ou monitorização destes indicadores sem recorrer a análises dispendiosas e demoradas, facilitando assim o diagnóstico e prescrições mais assertivas.

O presente trabalho tem como objetivo a avaliação do perfil lipídico de um grupo de 53 mulheres pós-menopausa e o estabelecimento de correlações entre este e parâmetros clínicos e bioquímicos relevantes a este estado fisiológico considerando ainda a evolução menopausal. Não há conhecimento de outros estudos que façam esta avaliação.

1.2. Os ácidos gordos

Os AG são ácidos carboxílicos monobásicos e o principal constituinte dos lípidos. A sua estrutura molecular é constituída por cadeias de átomos de carbono, hidrogénio e oxigénio, e numa extremidade possui um grupo carboxilo [7], como representado na figura 1.1 a título exemplificativo.

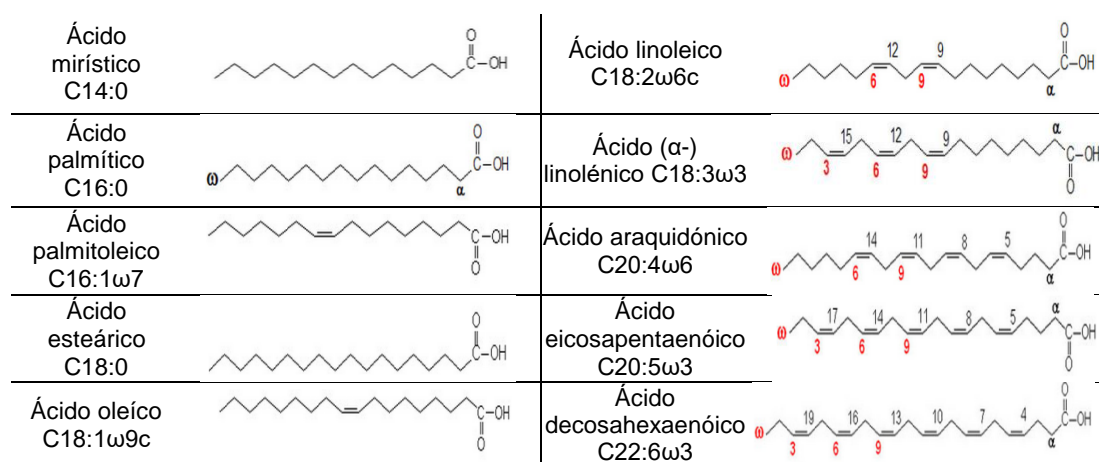


Figura 1. 1 - Estrutura molecular de ácidos gordos fisicamente relevantes [8].

Representam-se geralmente na forma reduzida $C_x:y\omega n$, onde x representa o número de carbonos na estrutura, y o número de ligações duplas da cadeia e n a posição onde se encontra a ligação dupla a contar a partir do grupo metilo terminal da molécula [7]. Assim, por exemplo, o ácido eicosapentaenóico que possui 20 átomos de carbonos, com cinco ligações duplas sendo no carbono 3 onde se encontra a primeira ligação dupla a contar a partir do grupo metilo terminal da molécula (carbono n) representa-se então como $C_{20}:5\omega 3$. Os termos *cis* e *trans* (ou apenas *c* ou *t*) podem também aparecer na forma reduzida e no nome dos AG, estes são utilizados para identificar o tipo de isomeria geométrica. Quando o termo *cis* é aplicado, átomos iguais encontram-se no mesmo lado do plano da ligação dupla e quando é aplicado o termo *trans* os átomos encontram-se em lados opostos do plano da ligação dupla [9], como exemplificado na figura 1.2.

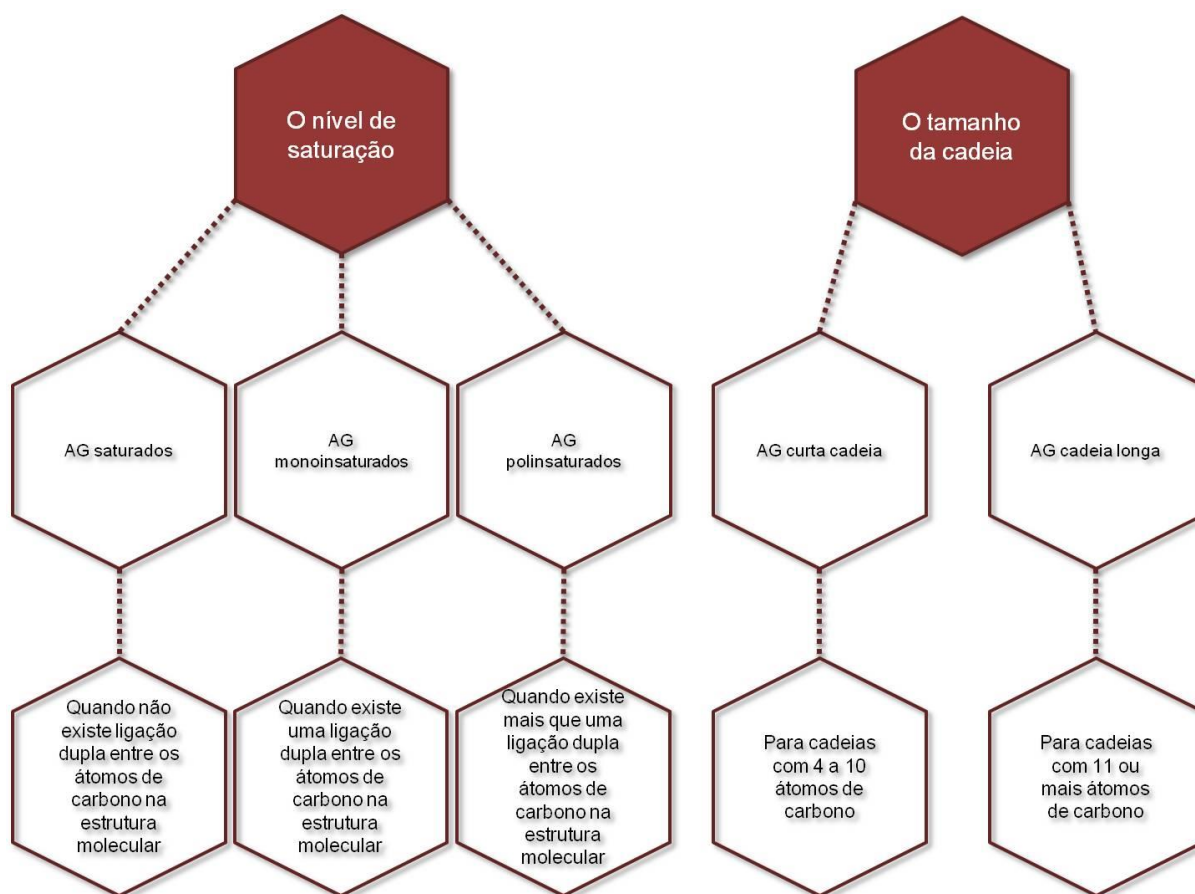


Figura 1. 3 - Classificação dos AG consoante o nível de saturação e o tamanho da cadeia.

Os AG insaturados podem ainda ser divididos consoante a família ómega (ω): ómega 3, quando a primeira ligação dupla está no terceiro carbono a contar do grupo metilo terminal; ómega 6, quando a primeira ligação dupla está no sexto carbono a contar do grupo metilo terminal e assim sucessivamente.

A solubilidade e temperatura de fusão são características que nos AG são influenciadas pelo tamanho das cadeias de hidrocarbonetos e pelo número de ligações duplas que apresentam.

No caso da solubilidade, apesar da existência do grupo carboxilo (características polares), quanto maior a cadeia e menor o número de ligações duplas menor é a solubilidade do AG em soluções aquosas, isto porque os hidrocarbonetos são moléculas hidrofóbicas. Os AG de curta cadeia ainda apresentam alguma solubilidade, devido ao reduzido tamanho da cadeia e ao grupo carboxilo [10,16].

Já para a temperatura de fusão, quanto maior a cadeia e menor o número de ligações duplas maior é esta temperatura. Isto deve-se aos graus de empacotamento das moléculas. A cadeia de hidrocarbonetos para os AG saturados é quase linear e existe rotação em torno das ligações carbono-carbono, figura 1.4, o que permite um maior número de interações

entre as moléculas, sendo que estas conseguem colocar-se mais perto umas das outras (ligações fortes entre moléculas). Por este motivo, é necessária uma elevada quantidade de energia para quebrar as ligações entre as moléculas, o que se traduz numa maior temperatura de fusão. No caso dos AG insaturados, a existência de ligações duplas provoca uma torção na cadeia de hidrocarbonetos e não existe rotação em torno das ligações, figura 1.4, o que dificulta o empacotamento das moléculas e resulta num menor número de interações entre estas (ligações fracas entre moléculas). Assim, para os AG insaturados a quantidade de energia necessária para quebrar as ligações entre as moléculas é, então, inferior à energia necessária para quebrar as ligações nos AG saturados, daí os AG insaturados apresentarem menor temperatura de fusão [10,16].

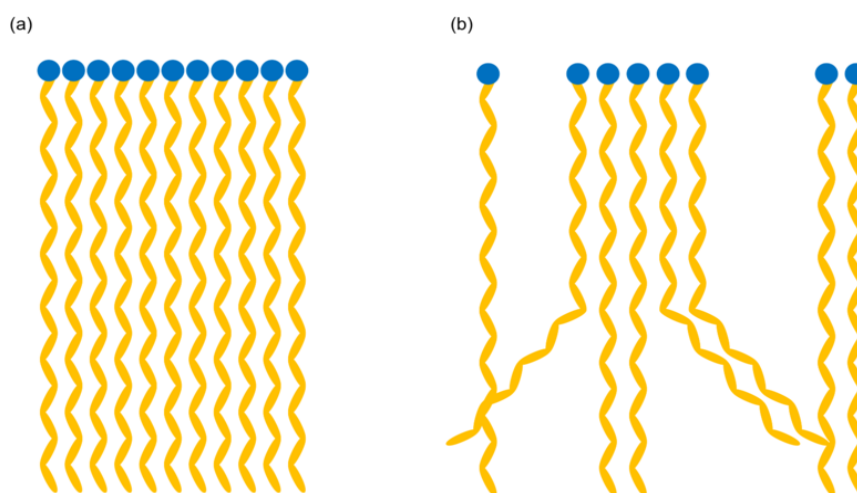


Figura 1. 4 – Empacotamento de AG saturados (a) e de uma mistura de AG saturados e insaturados (b) [16].

1.3. Oxidação dos ácidos gordos

O organismo humano, quando em jejum, recorre às reservas de AG no tecido adiposo para obter energia na forma de adenosina-trifosfato (ATP) [17]. Antes de serem oxidados é necessária a ativação dos AG, esta ativação é feita na membrana mitocondrial por uma reação de esterificação com a coenzima A (CoA) da qual resulta um tioéster, acilcoenzima A (acil-CoA) [18].

Os AG de curta cadeia (até 10 carbonos) são capazes de atravessar a membrana mitocondrial externa e interna, sendo aqui ativados e oxidados. Já os AG de cadeia longa não conseguem atravessar a membrana interna (ver figura 1.5), estes são ativados na membrana mitocondrial externa e transportados para a membrana interna por ligação do grupo acilo do acil-CoA com a carnitina. Esta ligação é feita por uma reação de transesterificação catalisada pela enzima carnitina aciltransferase 1 (CPT 1) obtendo-se a acil-carnitina. A acil-carnitina atravessa a membrana interna onde a carnitina aciltransferase

2 (CPT 2) doa o grupo acilo a uma CoA libertando a carnitina que volta à membrana externa para nova ligação [19].

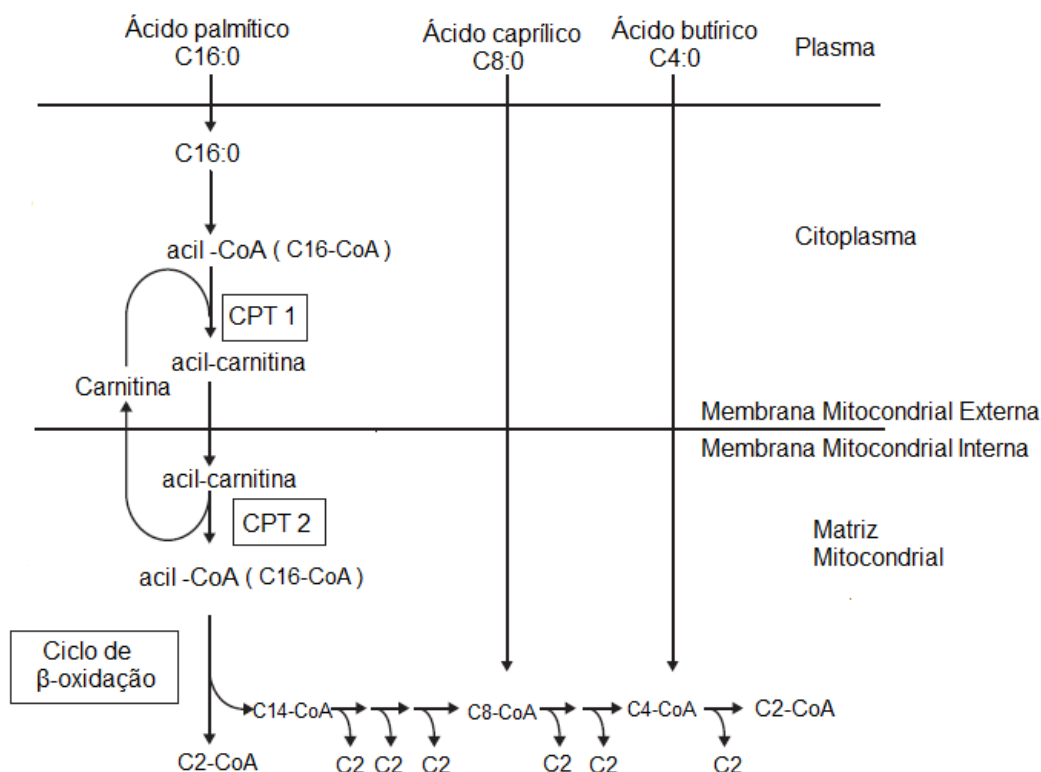


Figura 1. 5 – Migração dos AG para a matriz mitocondrial e ciclo de β-oxidação (adaptado) [19].

O acil-CoA entra no ciclo de β-oxidação, que conduz a um novo acil-CoA com menos 2 átomos de carbono que o anterior, o acil-CoA resultante continua no ciclo e perde novamente 2 átomos de carbono (libertados na forma de acetil-CoA) e assim sucessivamente. A degradação de um acil-CoA processa-se numa sequência repetida de 4 reações, duas das quais são reações de oxidação catalisadas por desidrogenases - uma de FAD e outra de NAD (ver figura 1.6). Cada ciclo de β-oxidação liberta FADH₂ e NADH, cuja fosforilação oxidativa permite a formação de um total de 4 ATP por ciclo (ou por 2 carbonos libertados da molécula de AG). Por outro lado, cada acetil-CoA oxidado pelo ciclo de Krebs origina a formação de 10 ATP. A oxidação completa de 2 átomos de carbono fornece, assim, um total de 14 ATP [17,18].

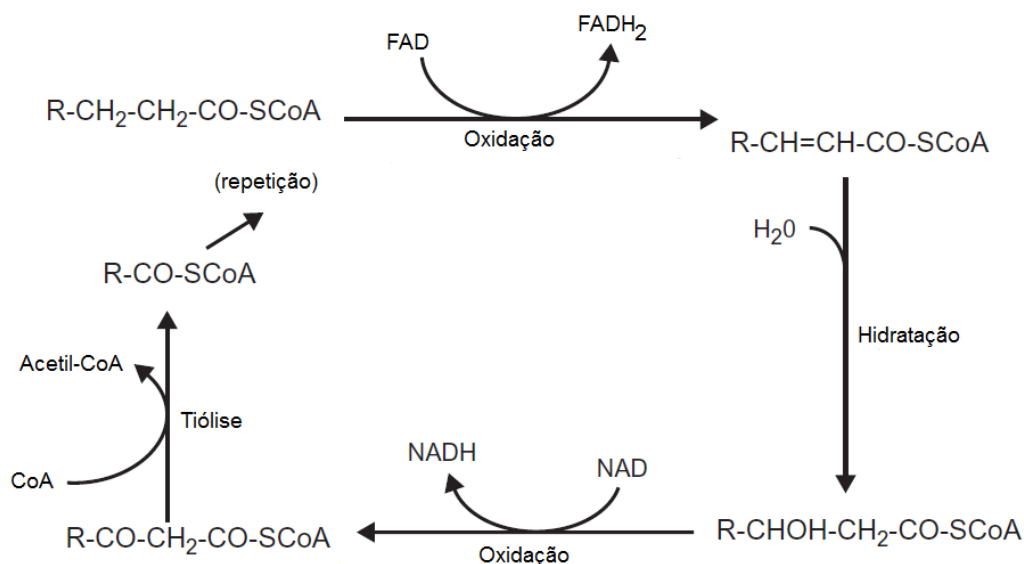


Figura 1. 6 - Ciclo da β -oxidação de AG (adaptado) [18,19].

1.4. O papel dos ácidos gordos na saúde

Os AG são transportados no plasma na forma esterificada nas lipoproteínas, ou na forma 'livre' associados à albumina. Em jejum, os AG do tecido adiposo passam a ser a principal fonte de energia no organismo, a sua concentração total no plasma varia entre 2000 $\mu\text{mol/L}$ em jejum e 300 $\mu\text{mol/L}$ em não jejum [20].

Cada grupo de AG desempenha uma função diferente no metabolismo, entre os quais uns são indispensáveis. De facto, muitas doenças crónicas, como doenças cardiovasculares ou neurodegenerativas podem ser caracterizadas por perturbações no metabolismo de AG. No ponto de vista nutricional os AG podem ser classificados como: AG essenciais (AGE) e os não essenciais. São considerados AGE aqueles que não são sintetizados pelo organismo humano e obtidos principalmente pela alimentação [4,21,22].

1.4.1. Ácidos gordos essenciais

Para o Homem, do ponto de vista bioquímico, apenas 2 AG são essenciais, isto é, não temos capacidade para sintetizar. São eles o ácido alfa-linolénico (ALA, C18:3, ómega 3) e o ácido linoleico (LA, C18:2, ómega 6). Apenas as plantas possuem a capacidade de síntese destes dois AG.

Dos AG derivados do ALA destacam-se o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), relativamente aos derivados do LA destaca-se o ácido araquidónico (AA). Estes são componentes fundamentais da membrana celular, importantes fontes de energia e, no caso do DHA, fundamental para a visão e a cognição [7,23].

1.4.1.1. Ómeegas 3

Estudos epidemiológicos e de intervenção fornecem evidências de que uma dieta rica em ómeegas 3 proporciona um menor risco de doenças cardiometabólicas, imunológicas e inflamatórias, e uma variedade de problemas neurológicos [24].

Os ómeegas 3 de maior destaque, são o ALA, o EPA e o DHA. O EPA e o DHA estão ambos presentes em espécies de peixe como o salmão, a cavala, o linguado, a truta, a sardinha, o atum e o arenque [25–27]. O ALA encontra-se no óleo de linhaça, canhola, soja, cânhamo, nozes, castanhas do Brasil e sementes de abóbora, sésamo e em alguns vegetais verdes como a couve e espinafres [25].

Os ómeegas 3 atuam nas membranas celulares, permitindo a flexibilidade e funcionalidade necessária aos glóbulos vermelhos para a boa circulação e captação de oxigénio. São parte integrante de vários processos fisiológicos, representados na figura 1.7 [22,27]:



Figura 1. 7 – Processos fisiológicos nos quais os ómeegas 3 têm influência.

O défice de ómega 3 pode levar à diminuição de memória, baixa visão, maior tendência de formação de coágulos sanguíneos, sistema imunitário afetado, aumento da concentração de triglicérides e de colesterol LDL, debilidade nas membranas celulares, hipertensão, batimento cardíaco irregular e crescimento retardado em crianças [7,22].

De facto, a importância de ALA foi inicialmente reconhecida em 1982 por Holman *et al.* devido à observação numa menina de 7 anos com anormalidades neurológicas e deficiência de ALA. Após reposição dos níveis de ALA os sintomas desapareceram gradualmente e desde aí mais casos foram relatados, nomeadamente por Bjerve [28], sobre o défice de ALA e alterações na pele e atraso no crescimento.

Como referido, os ómeegas 3 contribuem para a flexibilidade adequada das membranas celulares, o que é fundamental para a correta ligação hormona-recetor. A resistência à

insulina é algo que pode ocorrer devido a uma membrana pouco flexível que diminui o número de recetores de insulina disponíveis. Quando flexível devido ao aumento da concentração de ómeegas 3 há um maior número de recetores de insulina e um aumento da afinidade insulina-recetor o que reduz a resistência à insulina [26]. Para além de que os diabéticos apresentam elevados níveis de triglicérideos e baixos níveis HDL, pelo que a ingestão de ómeegas 3 (na forma de DHA e EPA, uma vez que indivíduos com esta patologia não são capazes de converter ALA nestes AG) leva à redução dos níveis de triglicérideos e da pressão arterial [7].

1.4.1.2. Ómeegas 3 na prevenção de Doenças Cardiovasculares

São inúmeros os estudos realizados com o intuito de comprovar o efeito dos ómeegas 3 na prevenção de doenças cardiovasculares (CVD). A primeira observação destes foi feita por Hugh Sinclair em 1950, quando observou a baixa incidência de mortalidade por doença cardíaca coronária (DCC) em esquimós da Gronelândia, onde a dieta é composta praticamente por peixe e carne de foca [26,29]. Estudos epidemiológicos realizados desde então demonstraram que uma dieta rica em peixe ou complementada com EPA e DHA se traduz numa redução de 30-50% do risco e mortalidade de DCC em comparação com aqueles que não consumiam peixe ou complementos com EPA e DHA [26].

Estudos similares foram realizados mas com foco na prevenção de CVD em mulheres pós-menopausa. Com a progressão da idade, o risco de CVD aumenta em ambos os sexos porém este aumento é mais acentuado na mulher após a menopausa [30], uma vez que a deficiência de estrogénio e a disfunção endotelial e stresse oxidativo associado contribuem para o aumento deste risco. Estas condições estão associadas a baixos níveis de ómega 3. Foram realizados estudos observacionais onde foi determinada uma correlação negativa entre o risco de CVD e os níveis de EPA e DHA no organismo. Assim, o tratamento com ómega 3 aparenta reverter a disfunção endotelial e stresse oxidativo provocados pela deficiência de estrogénio, podendo este tratamento ser uma opção para mulheres com elevado risco de CVD [31].

1.4.1.3. Ómeegas 6

O LA e AA existem na maioria dos óleos vegetais, tais como de linhaça, cânhamo, milho, girassol, soja, algodão e de amendoim [25,27].

Os ómeegas 6 contribuem para a melhoria de neuropatia diabética, artrite reumatóide, síndrome pré-menstrual e doenças de pele (eczema e psoríase). Para além dos contributos mencionados estes servem ainda como medidores de inflamação e proliferação celular [7].

Vários estudos avaliaram o efeito do LA nos fatores de risco para a aterosclerose e CVD, estes sugerem que o aumento da ingestão de ômega 6 em conjunto com a redução do consumo de gorduras saturadas pode influenciar positivamente o metabolismo de lipoproteínas, baixar a pressão arterial e reduzir o risco de CVD [32].

Populações com elevado consumo de ômega 6, como o caso de Israel, Taiwan e na zona do deserto Africano Kalahari, apresentam taxas reduzidas de CVD. Contudo o consumo elevado de ômega 6 em dietas com baixo teor de antioxidantes pode levar a um aumento do risco de CVD, uma vez que os ômega 6 estão suscetíveis a fenômenos de oxidação. Assim, o consumo de ômega 6 quando combinado com estilo de vida e dieta adequados pode reduzir o risco de CVD em relação a uma dieta reduzida em ômega 6, como reconhecido, em 2009, pela Associação Americana do Coração (*American Heart Association*) [33].

1.4.1.4. Equilíbrio ômega 3 e 6

A ingestão de ômega 3 e 6, como dito anteriormente, é essencial. Contudo esta deve ser de tal forma que proporcione um equilíbrio entre os ômega 3 e 6, pois um desequilíbrio pode desencadear também problemas de saúde, entre os quais, ataques cardíacos, cancro, resistência à insulina, asma, lúpus, esquizofrenia, depressão, obesidade, diabetes, entre outros [7]. A proporção ômega 6/ ômega 3 ideal deve ser o mais perto possível de 1, de forma a funcionar como proteção contra patologias degenerativas [26]. Esta proporção é considerada um biomarcador para CVD e monitorização do resultado de intervenções dietéticas [34].

1.4.2. Ácidos gordos não essenciais

1.4.2.1. Ômega 9

Para além dos ômega 3 e 6 também os ômega 9, derivados do ácido oleico são fundamentais ao bom funcionamento do organismo humano. Estes desempenham um papel fundamental na prevenção do cancro e reduzem o risco de ataque cardíaco e arteriosclerose.

Como o organismo é capaz de produzir este AG (em pequenas quantidades), a ingestão de elevadas quantidades de alimento que o contém não é necessária [7]. Os ômega 9 são encontrados no azeite, em azeitonas, abacate, amêndoas, amendoim, nozes, pistache, castanha de caju, avelãs e óleo de gergelim [25].

1.4.2.2. Ácidos gordos de curta cadeia

Os AG de curta cadeia são metabolizados rapidamente, pois como explicado anteriormente, estes conseguem atravessar tanto a membrana externa e interna mitocondrial sem a necessidade de transportador. Demonstraram ajudar a prevenir a formação de tumores, participar nas respostas do sistema imunitário e possuem características antivirais e antimicrobianas [4,35].

Estes AG, especialmente o ácido butírico (C4:0), são indispensáveis na saúde e integridade do cólon. O C4:0 é o principal substrato metabólico para colonócitos (células do cólon), proporcionando pelo menos 60-70% das suas necessidades de energia necessárias para a sua proliferação e diferenciação. Além de fontes de energia, os AG de curta cadeia são responsáveis por várias funções no intestino incluindo ditar a mobilidade do cólon, o fluxo sanguíneo do cólon e o pH gastrointestinal, o que pode influenciar a obtenção e absorção de eletrólitos e nutrientes [36].

1.4.2.3. Ácidos gordos saturados de cadeia longa

A dieta ocidental contém o ácido palmítico (C16:0) como o principal AG saturado, em menor quantidade contém o ácido esteárico (C18:0), seguido do ácido mirístico (C14:0), do ácido láurico (C12:0) e dos AG de curta cadeia. O C12:0, como os AG de curta cadeia, possui características antivirais, antibacterianas e previne a formação de tumores. Já o C16:0 e C18:0 são ambos componentes importantes das membranas celulares, com 20 a 40% dos fosfolípidos contendo estes AG [33,37].

Estudos ecológicos preliminares sugerem uma associação positiva entre o consumo de gorduras saturadas e a taxa de DCC, por outras palavras, o consumo elevado de gorduras saturadas contribui para o aumento do risco de DCC. Um destes estudos é o *Seven Countries Study*, desenvolvido entre 1958 e 1964 por Keys, este consistiu na análise da dieta de 16 populações diferentes constituídas por indivíduos masculinos de meia-idade de sete países diferentes. Durante um período de seguimento de 10 a 15 anos a taxa de DCC foi associada positivamente com a ingestão de AG saturados e negativamente com a ingestão de AG monoinsaturados. Este estudo também identificou a forte relação entre o aumento do consumo de AG saturados e o aumento da concentração de colesterol total e LDL [37]. De facto, estas lipoproteínas (colesterol, LDL e HDL) são fortes preditores do risco de DCC, o aumento da concentração de colesterol total e LDL está associado ao aumento deste risco enquanto o aumento da concentração de HDL, pelo contrário, diminui o risco de DCC. Quando na dieta de hidratos de carbono há uma diminuição do teor de gordura

saturada induz-se uma diminuição favorável das concentrações de colesterol total e LDL, mas reduz-se também as concentrações de HDL [33].

Quando a fonte de energia provém de AG em vez de hidratos de carbono ocorrem mudanças nos níveis de colesterol total, LDL e HDL, que foram registadas em estudos independentes e estão apresentadas na figura 1.8. Cada barra representa um tipo de AG que substitui 10% do consumo diário de energia proveniente de hidratos de carbono. Para o estudo em questão, cada adulto tem um consumo diário de energia igual a 10MJ, onde 10% desta é proporcionada por 60g de hidratos de carbono ou 27g de AG [33].

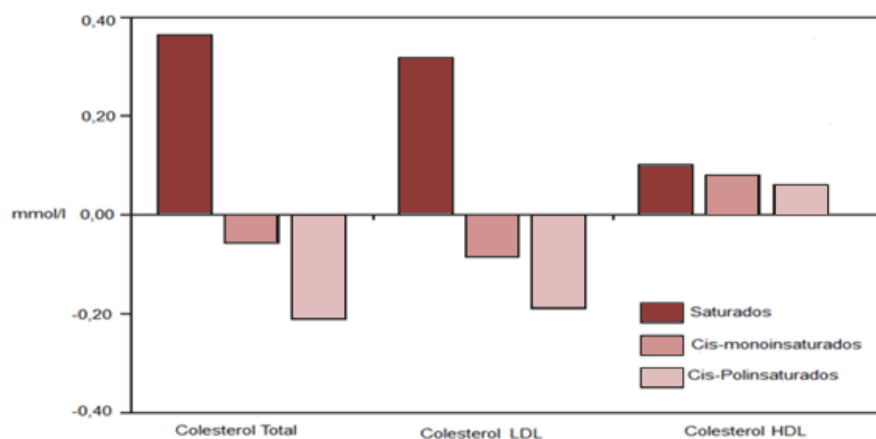


Figura 1. 8 – Previsões da evolução da concentração de lipoproteínas, quando 10% da energia obtida por hidratos de carbono é substituída por AG [33].

Como ilustrado na figura 1.8, a substituição de 10% da energia fornecida por hidratos de carbono por AG saturados na dieta resulta num aumento do colesterol total em, aproximadamente, 0,36 mmol/l, que conseqüentemente provém de um aumento em ambos os níveis de HDL e LDL. Já a substituição de hidratos de carbono por AG *cis*-insaturados, quer monoin saturados ou polinsaturados, aumenta o nível do colesterol HDL mas reduz o nível de colesterol LDL e conseqüentemente de colesterol total. Contudo o aumento de HDL não é tão acentuado como no caso de consumo de AG saturados.

Na figura 1.9 é possível observar o efeito de AG saturados específicos nas concentrações lipídicas (colesterol, LDL e HDL). O C12:0 é o AG que mais influi o aumento dos níveis de colesterol, seguido do C14:0 e C16:0. Por outro lado, o C18:0 diminui os níveis de colesterol [33].

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

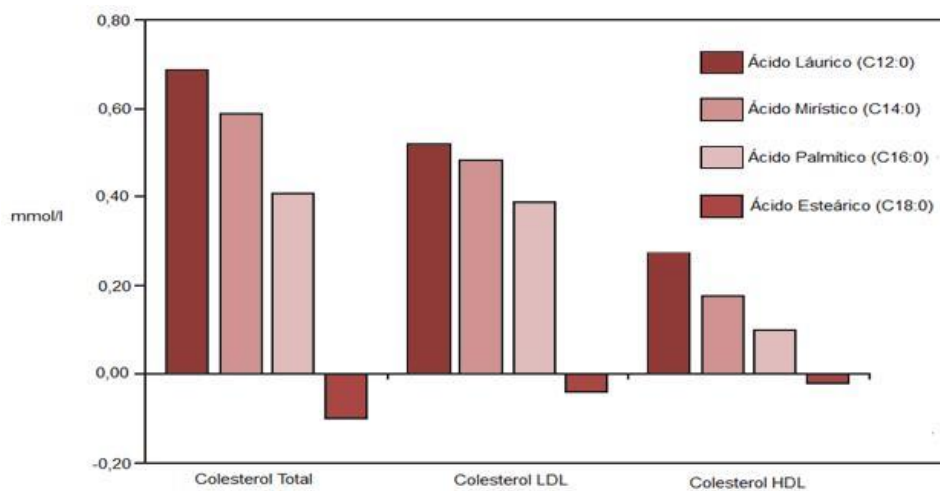


Figura 1. 9 - Efeito de AG saturados específicos na concentração de lipoproteínas LDL, quando 10% da energia obtida por hidratos de carbono é substituída por estes AG saturados específicos [33].

Capítulo 2: Parte experimental e Análise Estatística

2.1. Parte experimental

2.1.1. Esterificação e Transesterificação dos Ácidos Gordos

Os AG na sua forma natural não são voláteis, pelo que estes têm que ser convertidos em compostos relativamente voláteis (com baixo ponto de ebulição) para poderem ser analisados por cromatografia gasosa. O processo de conversão designa-se de derivatização e os AG são transformados em ésteres metílicos aos quais se dá a designação de AGME [21]. Por norma, os AGME são obtidos por esterificação e transesterificação via catálise ácida ou básica.

2.1.1.1. Catálise ácida

Na catálise ácida, o ácido clorídrico (HCl) anidro 5% em metanol é o mais utilizado. Este pode ser preparado a partir de cloreto de acetilo e metanol, no entanto o HCl é volátil e reage violentamente com o metanol. Muitos investigadores optam por comprar soluções comerciais de HCl anidro em metanol, apesar de estas soluções serem instáveis e apresentam uma quantidade apreciável de água na sua constituição (devido à reação que ocorre entre o HCl e o metanol que leva à formação de clorometano e água) [38]. Para além do HCl também podem ser utilizados o ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 1-2% em metanol (este deve ser manipulado com cuidado visto que é muito corrosivo) e o trifluoreto de boro (BF₃) a 12-14% em metanol. Este último pode ser utilizado na maioria das classes dos lípidos, contudo as soluções preparadas devem ser utilizadas com cuidado e mantidas a baixas temperaturas pois apresentam reduzido tempo de vida à temperatura ambiente [38,39].

O processo de esterificação está ilustrado na figura 2.1, o ácido cede um protão ao ácido carboxílico (1), dá-se a reação com um álcool (2) e por fim liberta-se um protão e forma-se um éster (3) [39].

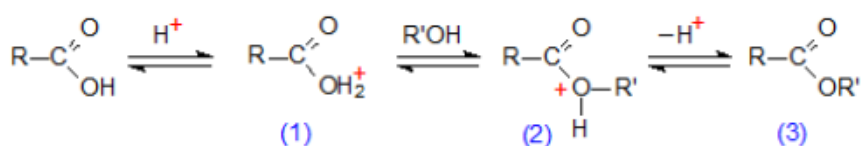


Figura 2. 1 - Esterificação via catálise ácida [39].

De seguida ocorre a reação de transesterificação, representada na figura 2.2, o éster recebe um protão (2), reage com um álcool dando origem ao produto intermédio (4), sendo que este pode sofrer transições de estado (5) e por fim a libertação do protão dá origem a um novo éster [39].

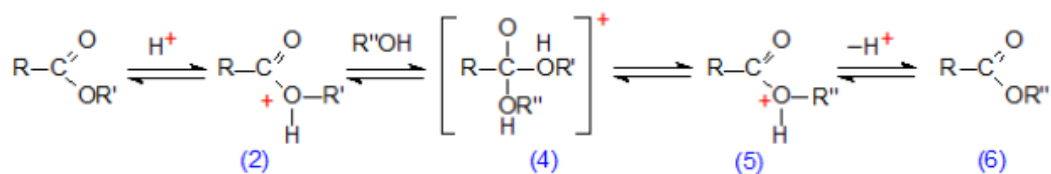


Figura 2. 2 - Transesterificação via catálise ácida [39].

Ambos os processos são reversíveis, mas num ambiente com excesso de álcool a reação dá-se no sentido direto e a esterificação é completa. A presença de água promove a formação de produtos intermédios sendo desfavorável às reações pretendidas. De modo a minimizar a presença de água é muitas vezes utilizado sulfato de sódio anidro [39].

2.1.1.2. Catálise básica

A catálise básica permite um processo mais rápido que a catálise ácida. Os catalisadores para a transesterificação mais utilizados são o Hidróxido de Potássio (KOH) e de Sódio (NaOH) em concentrações entre os 0,5 a 2M. Contudo as bases por si só não conseguem catalisar a reação de esterificação dos AG, e para tal utiliza-se, normalmente, o BF_3 em metanol como catalisador desta [38]. As soluções de KOH e NaOH são estáveis durante vários meses, mas acabam por se deteriorar pela precipitação de sais de bicarbonato formados por reação com o carbono atmosférico, por vezes também há formação de subprodutos que podem interferir com a análise em GC. Este efeito pode ser minimizado pela utilização de metanol isento de oxigénio na preparação das soluções alcalinas. Para além dos catalisadores apresentados para a transesterificação, também podem ser utilizadas bases orgânicas como o hidróxido de tetrametilamónio, de tetrametilguanidina ou de trimetilsulfónio. Este último deve ser preparado em condições isentas de água, uma vez que reage muito rapidamente com os lípidos formando sulfureto de dimetilo como subproduto que é muito volátil [39].

O processo de esterificação é então semelhante ao apresentado anteriormente na figura 2.1. Relativamente à transesterificação, representada na figura 2.3, o éster reage com a base (9), dissocia-se e forma o éster final (10). Mais uma vez, este processo deve ser realizado sem a presença de água e elevada concentração de álcool [39].

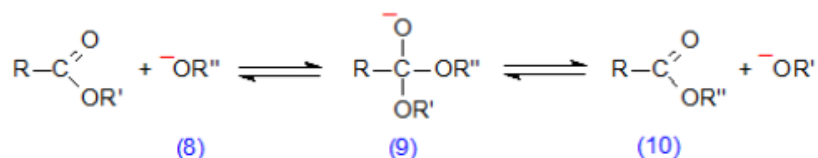


Figura 2. 3 - Transesterificação via catálise básica [39].

2.1.2. Cromatografia

Os métodos de análise química são por norma seletivos e pouco específicos. Por esta razão é essencial, na maioria dos casos, separar o analito de potenciais interferentes. Até meados do século 20, as separações analíticas eram feitas recorrendo a métodos clássicos, são exemplos disso a precipitação, destilação e extração. Nos dias de hoje estas separações são por norma feitas por cromatografia ou eletroforese, especialmente em amostras multicomponente e complexas.

A utilização da cromatografia cresceu nos últimos cinquenta anos, com o desenvolvimento de novas técnicas cromatográficas e da necessidade cada vez maior de separar misturas complexas. Entre 1937 e 1972 doze prémios Nobel foram atribuídos a trabalhos onde a cromatografia era a técnica fundamental, o que por si só demonstra como esta técnica é uma das mais utilizadas na ciência [40].

Qualquer que seja a técnica cromatográfica, a amostra é transportada por uma fase móvel, (gás, líquido ou um fluído supercrítico) que atravessa uma fase estacionária imiscível e fixa. Os componentes com maior afinidade para a fase estacionária movem-se a uma velocidade menor no fluxo da fase móvel e vice-versa, sendo assim possível a sua separação [41].

2.1.2.1. Cromatografia Gasosa e Detetor de Ionização de Chama

O conceito de cromatografia gás-líquido foi apresentado pela primeira vez em 1941 por Martin e Synge, contudo só uma década mais tarde é que o seu valor foi demonstrado experimentalmente.

O uso de cromatografia gasosa (GC) é considerado o método de eleição para a análise de AG desde 1952, quando James e Martin publicaram o seu primeiro artigo sobre separação e determinação de AG voláteis por GC [13]. Este baseia-se na separação dos componentes de uma mistura entre uma fase gasosa móvel e uma fase estacionária líquida. A amostra é imediatamente vaporizada após injeção, os componentes da amostra repartem-se pela fase móvel e estacionária conforme a sua afinidade. Os componentes com maior

afinidade para a fase móvel atravessam a coluna mais rapidamente, ao contrário dos que migram na fase estacionária dando-se assim a sua separação [40,41].

Para o caso específico da separação de AG é essencialmente utilizado o detetor de Ionização de Chama (FID), na figura 2.4 apresenta-se um esquema de um sistema GC-FID. O funcionamento deste baseia-se na medição da variação da corrente de ionização da chama de hidrogénio/ar na presença das substâncias eluídas. A magnitude do sinal de ionização é proporcional ao número de átomos de carbono ionizáveis, pode-se dizer então que o FID é sensível à massa e não à concentração [40,42]. Este detetor não é sensível a gases não combustíveis, como o H₂O, CO₂, SO₂ e NO_x, ou grupos funcionais que produzam poucos ou nenhum ião de chama, como os grupos carbonilo, álcool, halogénio e amina. Das vantagens que o FID apresenta destaca-se a alta sensibilidade, largo intervalo de resposta linear, resistência, fácil utilização e baixo nível de ruído. A principal sua desvantagem é a destruição da amostra [40].

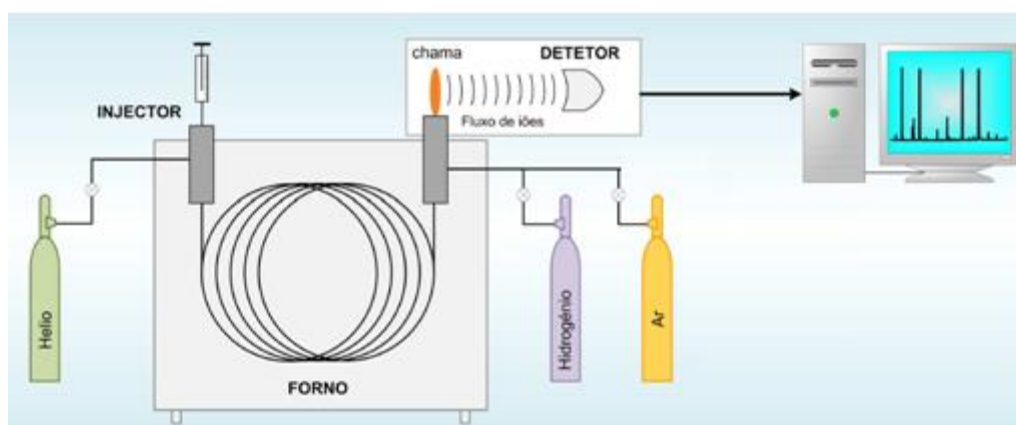


Figura 2. 4 - Representação de um sistema GC-FID. Adaptado [42].

2.1.3. Procedimento experimental

2.1.3.1. Reagentes

- ✓ Hidróxido de sódio, Pronalab®;
- ✓ Trifluoreto de boro em metanol (14%), Sigma-Aldrick®;
- ✓ Ácido tridecanóico (C13:0) (≥98%), Sigma-Aldrick® - Padrão Interno;
- ✓ Hidroxitolueno butilado a (≥99%), Sigma-Aldrick®;
- ✓ Cloreto de sódio (99,5%), Panreac®;
- ✓ Sulfato de sódio anidro (PA), Pronalab®;
- ✓ n-hexano (99%), Merck®;
- ✓ Metanol, VWR Chemicals Prolabo®;

- ✓ Mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos: Supelco C37 FAME Mix (47885-U), Sigma-Aldrich®;

2.1.3.2. Material

- ✓ Tubos pirex;
- ✓ Tubos de centrífuga;
- ✓ Micropipetas (200, 1000 e 5000 μ L);
- ✓ Viais
- ✓ Inserts
- ✓ Balões volumétrico (10, 50, 100 mL)

2.1.3.3. Equipamento

- ✓ Estufa, J.P. Selecta / Modelo: 2000208;
- ✓ Centrífuga, Sigma Sartorius / Modelo: 2-16;
- ✓ Vórtex, VWR;
- ✓ Balança analítica, Mettler Toledo /NewClassic MS;
- ✓ Evaporador a azoto;
- ✓ GC-FID, Shimadzu / GC-2010, com coluna capilar modelo CP-Sil 88 (50 m x 0.25 mm I.D., 0.20 μ m) e auto-injetor, Shimadzu / AOC-20i;

2.1.3.4. Resumo do processo

Como referido anteriormente é necessário derivatizar previamente os AG, tendo-se optado pela catálise básica esta derivatização será feita com metóxido de sódio (NaOMe), que os transforma em AG ésteres metílicos (AGME) com baixo ponto de ebulição [43] em presença de BF_3 , que funciona como catalisador da reação de esterificação [44].

Assim sendo, 200 μ L de plasma são colocados num tubo pyrex contendo 200 μ L de solução de padrão interno C13:0 (100 μ g/mL em metanol). A estes são adicionados 5 mL de NaOMe a 0,5 M e procede-se à agitação em vórtex. O tubo é levado a uma temperatura de 100°C durante 10 minutos, após este aquecimento deixa-se arrefecer à temperatura ambiente por sensivelmente um minuto e segue-se 5 minutos em gelo [45].

De seguida adiciona-se 5 mL de BF_3 a 14% em metanol e breve agitação em vórtex. Novamente o tubo é sujeito a 100 °C, agora durante 30 minutos. O arrefecimento é efetuado, como anteriormente, 1 minuto à temperatura ambiente e 5 minutos em gelo. Em seguida, é adicionado 600 μ L de Hidroxitolueno butilado (BHT) a 0,02% em n-hexano para

impedir a oxidação de lípidos [13,45]. O tubo é agitado em vórtex por um minuto e adiciona-se 2 mL de solução saturada de cloreto de sódio, com o intuito de purificar as fases. Procede-se à centrifugação a 2200 rpm durante 10 minutos, 150 µL da camada superior é retirada para um vial e seca com sulfato de sódio anidro, destes são retirados 100 µL para um *insert* e evaporados até à secura com uma corrente de azoto. Por fim os AGME são redissolvidos em 75 µL de n-hexano e injetados no GC-FID [45].

Apenas um volume de 1,5 µL de AGME redissolvidos são injetados na coluna capilar modelo CP-Sil 88 (50m x 0,25mm I.D., porosidade de 0,20 µm), em modo split 1:50 e com um caudal de 30mL/min de Hélio como gás de arraste e 40 mL/min de Hidrogénio e 400 mL/min de ar. O injetor encontra-se a uma temperatura de 250°C, na coluna a temperatura mantém-se a 120°C por 5 minutos, após este tempo aumenta até 220°C a uma velocidade de 3°C/min e mantém-se por 10 minutos. Por fim o detetor encontra-se à temperatura de 270°C.

A representação esquemática do processo descrito pode ser consultada no anexo B.

2.1.4. Preparação de soluções

2.1.4.1. Metóxido de sódio a 0,5M

Para um balão de 50 mL pesar 1,0 g de hidróxido de sódio comercial, dissolver em aproximadamente 40 mL de metanol e agitar até completa dissolução. Aferir o volume com metanol.

2.1.4.2. Solução de padrão interno C13:0 em metanol a 100 µg/mL

Para um balão de 10 mL pesar rigorosamente 200 mg de C13:0, dissolver em metanol. Nesta solução retirar 50 µL para um balão de 10 mL e aferir o volume com metanol.

2.1.4.3. Solução de hidroxitolueno butilado em n-hexano a 0,02%

Para um balão de 100 mL pesar 20 mg de hidroxitolueno butilado sólido (≥99%), dissolver em aproximadamente 80 mL de n-hexano e agitar até completa dissolução. Aferir o volume com n-hexano.

2.1.4.4. Solução de cloreto de sódio

Para um balão de 50 mL pesar 2,9 g de cloreto de sódio sólido (99,5%), dissolver em aproximadamente 40 mL de água desionizada e agitar até completa dissolução. Aferir o volume com água desionizada.

2.2. Análise Estatística

A análise estatística considerada neste trabalho, e realizada com o software *IBM SPSS Statistics 21*, consiste na construção de regressões lineares univariáveis com os parâmetros clínicos e bioquímicos recolhidos para a população em questão (variável dependente) e o perfil lipídico consoante os grupos AG considerados (variável independente).

2.2.1. Análise Univariável e Multivariável

A análise univariável consiste na avaliação da relação funcional entre uma variável dependente (Y) e uma variável independente (X), da qual resulta uma expressão matemática do tipo “ $Y = \beta X$ ” (onde β é um coeficiente que pode ser negativo ou positivo), que representa o comportamento de Y a uma variação em X [46]. Associado a cada coeficiente β existe um valor p que deve ser inferior a 0,05 para que a correlação encontrada seja significativa e quanto mais perto de zero este p for mais forte é a correlação.

Os parâmetros que demonstraram mais que uma correlação univariável com o perfil lipídico foram posteriormente sujeitos a regressões lineares multivariáveis, de forma a determinar a possibilidade de uma relação simultânea com os grupos AG encontrados na análise univariável. A análise multivariável, da mesma forma que a univariável, consiste também na avaliação da relação funcional entre uma variável dependente (Y), mas aqui há mais que uma variável independente (X_1, X_2, \dots). A expressão matemática será então do tipo “ $Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots$ ” e representa o comportamento de Y a uma variação em X_1 e/ou em X_2 [46].

2.2.2. Métodos do modelo de Regressão Linear

Na construção do modelo de regressão linear existem cinco opções de escolha para o método a utilizar: *Enter*, *Stepwise*, *Remove*, *Backward Elimination* e *Forward Selection*. Estes permitem especificar como as variáveis independentes são utilizadas na análise.

Método *Enter*: todas as variáveis independentes são inseridas no modelo de regressão linear numa única etapa.

Método *Stepwise*: Em cada passo, a variável independente com menor probabilidade de F, é inserida no modelo de regressão linear, se esta probabilidade for suficientemente pequena (por norma menor ou igual a 0,05). Enquanto variáveis independentes já existentes no modelo de regressão linear são removidas se a sua probabilidade de F se tornar suficientemente grande (por norma maior ou igual a 0,10). O método termina quando não há mais variáveis independentes elegíveis para inclusão ou remoção do modelo.

Método *Remove*: todas as variáveis independentes que satisfaçam o critério de eliminação, previamente estabelecido, são removidas num único passo.

Método *Backward Elimination*: todas as variáveis independentes são inseridas na equação e, em seguida, removidas sequencialmente. A variável independente com a menor correlação parcial com a variável dependente é considerada a primeira a remover. Após a primeira variável ser removida, a variável remanescente na equação com a menor correlação parcial é a próxima considerada. O processo termina quando já não há variáveis na equação que satisfaçam os critérios de remoção.

Método *Forward Selection*: as variáveis são inseridas sequencialmente no modelo. A primeira variável independente considerada para entrar na equação é aquela com maior correlação positiva ou negativa com a variável dependente. Esta variável é inserida na equação, se respeitar o critério de entrada previamente estabelecido. Após a primeira variável inserida, a próxima variável independente a ser considerada será a com maior correlação parcial com a variável dependente e assim sucessivamente. O processo termina quando já não existem variáveis que satisfaçam o critério de entrada [47].

2.2.3. Condições necessárias ao modelo de Regressão Linear

As variáveis dependentes e independentes devem ser quantitativas e as variáveis categóricas (área de residência, faz terapia hormonal de substituição, tem hipercolesterolemia, ...) precisam ser transformadas em variáveis binárias (*dummy*).

Para cada valor da variável independente, a distribuição da variável dependente deve ser normal. A variação da distribuição da variável dependente deve ser constante durante todos os valores da variável independente. A relação entre a variável dependente e cada variável independente deve ser linear, bem como as observações devem ser independentes. Caso a variável independente/dependente não siga uma distribuição normal é necessário proceder à linearização da mesma, pela aplicação do logaritmo neperiano, Ln .

Os valores de significância são baseados na montagem de um único modelo. Portanto, estes são geralmente inválidos quando um método passo a passo (*Stepwise*, *Forward*, ou *Backward*) é usado.

Todas as variáveis devem ser superiores ao valor definido como tolerância para serem inseridas na equação, independentemente do método de entrada especificado. O nível de tolerância padrão é de 0,0001. Além disso, uma variável independente pode não ser inserida se isso levar a que a tolerância de uma outra variável já existente no modelo fique abaixo da tolerância definida.

Todas as variáveis independentes selecionadas são adicionadas a um modelo de regressão simples. No entanto, pode-se especificar diferentes métodos de entrada para diferentes subconjuntos de variáveis. Por exemplo, é possível colocar um bloco de variáveis no modelo de regressão usando o método *Stepwise* e um segundo bloco usando o método *Forward Selection* [47].

2.2.4. Perfil metabólico da população

Os dados clínicos, bioquímicos e sociais que constituem o perfil metabólico das 53 mulheres na pós-menopausa foram obtidos pelo departamento de investigação médica CINTESIS da Faculdade de Medicina do Porto (FMUP) durante os meses de Novembro de 2013 e Janeiro de 2014. Estes dados são apresentados no Anexo A, bem como a análise de certos parâmetros foi efetuada.

O perfil metabólico, com o qual o perfil lipídico será posteriormente associado, é constituído por parâmetros antropométricos (índice de massa corporal – IMC), por outros parâmetros lipídicos (colesterol total, triglicérideos totais, colesterol HDL e LDL), por marcadores de dano celular (aspartato aminotransferase – AST, alanina aminotransferase – ALT, gama glutamil transferase – GGT e fosfatase alcalina – ALP), por parâmetros inflamatórios (interleucinas 6 e 10 – IL6 e IL10, proteína quimiotática de monócitos 1 – MCP1 e proteína C-reativa), por parâmetros hormonais (estradiol, hormona luteinizante – LH e folículo estimulante – FSH, androstenediona, globulina de ligação das hormonas sexuais – SHBG e sulfato dehidroepiandrosterona – DHEAs) e ainda pela ureia e ácido úrico.

Capítulo 3: Resultados e Discussão

3.1. Resultados da injeção de padrão

De forma a determinar os tempos de retenção de cada AG, recorre-se à injeção da mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos (AGME) C37 “SupelcoTM” (ver certificado de análise disponível no anexo C) segundo as condições de temperatura apresentadas no capítulo anterior e obtém-se o cromatograma apresentado na figura 3.1.

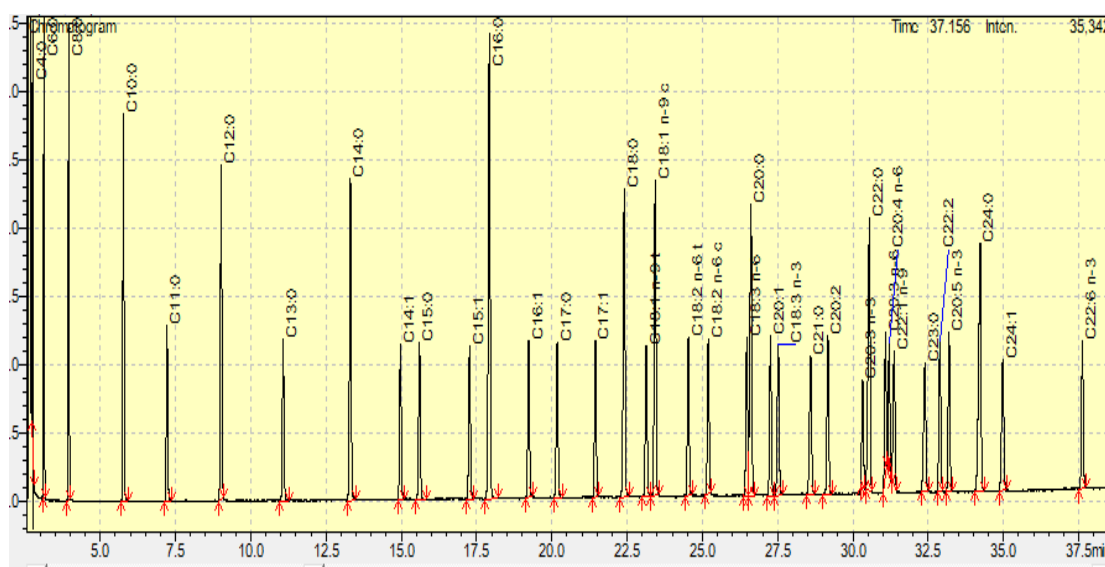


Figura 3. 1 – Cromatograma da injeção da mistura de AGME C37.

A partir deste são retirados os tempos de retenção individuais de cada AG, como apresentado na tabela 3.1. Para além do tempo de retenção destes também é importante saber o tempo de retenção do solvente (n-hexano) e outros componentes que irão, juntamente com os AG extraídos da matriz plasmática, ser injetados na coluna cromatográfica, como é o caso do BHT. Os tempos de retenção do n-hexano e do BHT são, respetivamente, 2,484 e 12,620 minutos.

Conhecidos os tempos de retenção para cada AG e para cada solvente utilizado é então possível identificar os AG presentes numa amostra de plasma após a sua correta extração e derivatização.

Tabela 3. 1 - Tempos de Retenção dos AG.

Simbologia	Tempo de Retenção (min)	Simbologia	Tempo de Retenção (min)
C4:0	2,754	C18:2 ω 6c	25,198
C6:0	3,132	C18:3 ω 6	26,476
C8:0	3,956	C20:0	26,616
C10:0	5,773	C20:1 ω 9	27,262
C11:0	7,221	C18:3 ω 3	27,521
C12:0	9,019	C21:0	28,597
C13:0	11,078	C20:2 ω 6	29,170
C14:0	13,311	C20:3 ω 3	30,322
C14:1 ω 5	14,974	C22:0	30,547
C15:0	15,605	C20:3 ω 6	31,083
C15:1 ω 5	17,270	C20:4 ω 6	31,203
C16:0	17,927	C22:1 ω 9	31,369
C16:1 ω 7	19,233	C23:0	32,391
C17:0	20,179	C22:2 ω 6	32,890
C17:1 ω 7	21,449	C20:5 ω 3	33,193
C18:0	22,407	C24:0	34,229
C18:1 ω 9t	23,137	C24:1 ω 9	34,979
C18:1 ω 9c	23,434	C22:6 ω 3	37,620
C18:2 ω 6t	24,535		

3.2. Breve contextualização à análise dos resultados

Antes de caracterizar a população é importante definir corretamente a menopausa e o que se sucede neste estado fisiológico. Segundo a Organização Mundial de Saúde, a definição de menopausa é a permanente cessação da menstruação por resultado da perda de função folicular ovárica. Este estado fisiológico é por convenção atribuído após 12 meses de amenorreia, excluindo os casos de gravidez ou lactação. A transição menopausal é compreendida por dois estados: a pré-menopausa e a pós-menopausa. A pré-menopausa inclui o período inicial da menopausa, quando as alterações endócrinas, clínicas e biológicas associadas com a menopausa ocorrem, bem como durante o primeiro ano de menopausa. A pós-menopausa refere-se ao período após a menopausa e inicia-se 12 meses após ser observada amenorreia espontânea [48].

O processo, em si, da menopausa é constituído por três fases [48,49]:

✓ Na primeira fase existe um aumento nas secreções da hormona folículo estimulante (FSH) sem concomitante aumento nos níveis da hormona luteinizante (LH), uma redução na secreção de inibina e folistatina (os péptidos que inibem a libertação de FSH a partir da glândula pituitária), uma redução no número de folículos, um aumento da probabilidade de ovulação precoce; diminuição da produção de progesterona com insuficiência lútea mais frequente, hiperestrogenismo em ciclos ovulatórios e um excesso de estrogénio em relação à progesterona.

✓ Na segunda fase os níveis de estrogénio são instáveis e a probabilidade de ciclos anovulatórios maior, com impossibilidade de se atingir o nível pico de LH em resposta ao estímulo de estrogénio. Anormalidades na hormona de libertação de gonadotrofinas (GnRH), incluindo rápida fase folicular, fase lútea, e a secreção pulsátil de LH, também têm sido relatadas. Os níveis de GnRH são imprevisíveis de modo que os ciclos continuam a refletir hiperestrogenismo em relação à progesterona, estas flutuações na GnRH, por sua vez, devem ser refletidas em alterações do ciclo menstrual (duração e padrões de sangramento), o que pode incluir um aumento da frequência de hemorragia uterina disfuncional (que pode ser atribuível à anovulação).

✓ Na terceira fase, os folículos ovários já não respondem a FSH e LH. Os níveis de estradiol no plasma descem abaixo dos 20 pg/mL, enquanto a produção de progesterona é não mensurável. O sangramento menstrual cessa e os níveis de FSH e LH são consistentemente elevados, mantendo-se assim durante um período prolongado de tempo, com uma proporção de FSH / LH superior a um.

Como referido, a menopausa é um fator de risco para a doença cardiovascular. A diminuição de estrogénio que ocorre na menopausa provoca disfunção endotelial e stresse oxidativo. Estes fatores, quando combinados com a diminuição dos níveis de ómega 3, contribuem para o aumento do risco de aterosclerose e doença cardiovascular [31,50]. A menopausa está também relacionada com o aumento da obesidade e a tendência a acumular-se tecido adiposo visceral é maior [51]. Além disso a obesidade é um componente da síndrome metabólica, a qual é definida por um conjunto de fatores de risco metabólicos que também incluem dislipidemia, hipertensão e hiperglicémia [52].

Um estudo realizado na Polónia mostrou que o stresse oxidativo ocorre nas fases iniciais de dislipidemia em mulheres pós-menopausa obesas. A atividade antioxidante pode ser influenciada por componentes dietéticos, menopausa, transição e envelhecimento. Na verdade, uma dieta equilibrada indevidamente é um dos fatores de risco de stresse oxidativo. Portanto, o diagnóstico precoce da dislipidemia e as alterações dos hábitos alimentares (incluindo uma adequada ingestão de gordura e

antioxidantes) para prevenir o stresse oxidativo deve ser uma alta prioridade em idade pós-menopausa [51].

A inflamação é um elemento crucial para o desenvolvimento de aterosclerose e doença cardiovascular. O seu reconhecimento crescente tem estimulado a investigação de biomarcadores de inflamação, entre outros, relacionados a fatores de risco cardiovasculares. Tanto a perda de estrogênio, causada pela menopausa e envelhecimento têm consequências inflamatórias [52,53].

A modulação do processo inflamatório pode ser influenciada por fatores nutricionais, tais como o aumento da ingestão de ómega 3. O consumo de ómega 3 resulta na sua incorporação nos fosfolípidos da membrana celular e influenciar a fluidez da membrana, a função dos recetores, a atividade da enzima e produção de eicosanóides. A ingestão de ómega 3 foi associada com uma condição inflamatória mais baixa, até mesmo anti-inflamatória, o que poderia explicar, em parte, os seus efeitos na prevenção de doenças cardiovasculares. A sua ação anti-inflamatória pode ser explicada pela substituição de AA na membrana da célula por ómega 3 e ainda pelo facto de serem precursores de resolvinas (metabolitos do EPA) e neuroprotectinas (metabolitos do DHA) bem como de inibirem a expressão de NFkB (fator de transcrição que participa da resposta inflamatória) [52].

3.3. Resultados da análise cromatográfica e estatística

A população em estudo, como já referido, foi subdividida em dois grupos: um para mulheres na menopausa há menos de 7 anos e outro para mulheres na menopausa há 7 anos ou mais. Este foi critério de corte escolhido uma vez que corresponde à mediana deste parâmetro (ver anexo A secção A.2).

Para além da análise estatística indicada (análise uni e multivariável) e como complemento à caracterização da população, após divisão, foi também realizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, de forma a verificar se a distribuição do perfil lipídico nos dois grupos resultantes é ou não idêntica, pela comparação das medianas. Se a distribuição não for idêntica o teste de Mann-Whitney apresenta um valor de p inferior a 0,05 [46].

A construção de regressões lineares univariáveis através do método *Stepwise*, com recurso ao software *IBM SPSS Statistics 21*, foi feita utilizando os parâmetros clínicos e bioquímicos recolhidos para a população em questão como a variável dependente e o perfil lipídico consoante os grupos AG considerados como a variável independente. Lembra-se para a correlação ser significativa o valor de p terá que ser inferior a 0,05 e que quanto mais baixo for o p maior significância estatística apresenta a correlação. Para os parâmetros com múltiplas relações univariáveis foi realizada a análise multivariável, de forma a verificar se o parâmetro bioquímico em questão poderia ser simultaneamente associado com mais que um grupo de AG.

A apresentação e discussão dos resultados passará pela:

- ✓ Exposição e avaliação do perfil lipídico de AG da população global e dos dois grupos obtido após divisão da mesma de acordo com a evolução menopausal. Avaliação do perfil metabólico dos dois grupos e análise das associações univariável e multivariáveis estabelecidas entre este perfil e o perfil de AG;
- ✓ Caracterização aprofundada e análise das associações univariáveis estabelecidas entre o perfil metabólico e o perfil lipídico para a população global;
- ✓ Breve conclusão da análise estatística univariável.

3.3.1. A relação do perfil de ácidos gordos e a metainflamação em mulheres pós-menopausa

(Artigo submetido sob revisão. Material suplementar disponível no anexo D)

Hindawi Publishing Corporation
Journal of Lipids



The relationship of fatty acids profile and the metainflammation in postmenopausal women

Sara Sousa¹, Diana Teixeira², Cristina Santos^{2,3}, Cristina Delerue-Matos¹, Conceição Calhau^{2,4*}, Valentina F. Domingues¹

¹ REQUIMTE/LAQV-GRAQ, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Instituto Politécnico do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 431, 4200-072 Porto, Portugal

² CINTESIS-Center for Research in Health Technologies and Information Systems, 4200-450 Porto, Portugal

³ Health Information and Decision Science, Faculty of Medicine, University of Porto, 4200-319 Porto, Portugal

⁴ Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Porto, 4200-319 Porto, Portugal

Corresponding author

Conceição Calhau

CINTESIS-Center for Research in Health Technologies and Information Systems, 4200-450 Porto, Portugal

ccalhau@med.up.pt

Menopause is a risk factor for cardiovascular disease. The estrogen withdrawal that occurs in menopause causes endothelial dysfunction and oxidative stress, reduces ω -3-PUFA and contributes to increased risk of atherosclerosis.

The aim of this study was to characterize the fatty acids profile in a sample of postmenopausal women, using GC-FID, and their impact on metainflammatory profile.

For women in menopause lower than 7 years: i) a relation with saturated FA and unsaturated cis-FA and with ALP were achieved; ii) polyunsaturated trans-FA were correlated with BMI, IL6 also correlated with GGT and estradiol are influenced by omega-9; iii) Short-chain FA, presents a relation with total cholesterol, LDL with total triglycerides and IL10; iv) Long-chain saturated FA and the Σ Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid sub-groups, were both correlated with the total triglycerides, ALP and GGT; v) IL10 can be associated with both short-chain and omega-3 FA.

For women in menopause higher than 7 years: i) BMI and total triglycerides were correlated with omega-3 FA; ii) the monounsaturated cis-FA and omega-9 FA were correlated with ALT.

Our results showed that lipid profile are influenced, or influence, several key metabolic/endocrine markers with clinical relevance which must be explored in future clinical trials.

Keywords: estradiol, estrogens, fatty acids, menopause

1. Introduction

The fatty acids (FA) are hydrocarbon molecules and important metabolic substrates. They provide an essential source of energy for cells and are precursors for the synthesis of bioactive lipids [1, 2].

FA themselves can be seen as blood-borne signals that can act upon cells directly. In addition, FA can become more potent or more specific signals after they have been metabolized. With respect to FA, of special importance is their ability to amplify, dampen, or modify signals transmitted by e.g. hormones. This is referred to as the 'message-modulator' function of FA as autacoids molecules [3].

The manipulation of FA can be a therapeutic approach for chronic diseases that are characterized by a perturbed FA metabolism [4]. One of the first scientists to recognize and study the role of FA in human physiology was Dr. David Horrobin. Inspired by the work of Dr. Hugh Sinclair with essential FA, Horrobin believed that many diseases involve a lack of FA precursors and that those diseases could be treated by supplementing with the appropriate FA [4, 5].

On the basis of epidemiological studies specific FA species have been found to exert beneficial effects to human health. Perhaps the best known example of this is the efficacy of ω -3 long-chain

polyunsaturated FA (ω -3LC-PUFA) in preventing and/or treating several metabolic pathologies, namely acting as anti-inflammatory compounds [6].

In fact, in the last decades, there has been a remarkable increase of public interest in omega ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) and their potential impact on human health, especially on metabolic diseases. These FA are not synthesized in the human body but they are ingested as dietary components or oral supplements [7].

In mammal species, α -linolenic acid enters the cells via specific fatty acid carriers and is converted by acyl-CoA synthases in thioesters that are substrates for neutral and polar lipid synthesis in reactions of β -oxidation, elongation, and desaturation. A slow desaturation-elongation enzymatic process (rate of conversion of less than 1%) leads to formation of eicosapentaenoic acid (EPA) (20 carbons) and docosahexaenoic acid (DHA) (22 carbons) that, in turn, are precursors of a family of eicosanoids that mediate the vasodilatory, anti-inflammatory, anti-thrombotic, and anti-arrhythmic effects of these molecules. The precursor of ω -6 PUFA is linoleic acid whose long-chain fatty acid derivative is arachidonic acid (20 carbons), the precursor of another family of eicosanoids that have pro-inflammatory and pro-thrombotic effects. α -linolenic and linoleic acid are competitors for the same enzymatic pathway that leads to the

generation of their longer chain FA whose tissue levels therefore depend very much from the amounts of the respective precursors [8]. Cell-specific lipid metabolism as well as the expression of FA-regulated transcription factors likely plays an important role in determining how cells respond to changes in PUFA composition [7].

Menopause is a risk factor for cardiovascular disease [9]. The estrogen withdrawal that occurs in menopause causes endothelial dysfunction and oxidative stress. In this condition, reduced ω -3 PUFA levels contributes to atherosclerosis and cardiovascular disease [10]. Menopause is also related with the increase of obesity and the tendency to accumulate visceral fat tissue is greater [11]. Besides obesity is a component of metabolic syndrome, which is defined by a set of metabolic risk factors that also include dyslipidemia, hypertension and hyperglycaemia [12].

Inflammation is a crucial element in the development of atherosclerosis and cardiovascular disease. Its growing recognition has stimulated investigation of inflammation biomarkers among others related to cardiovascular risk factors. Both estrogen loss, caused by menopause, and aging have inflammatory consequences [12, 13].

Modulation of the inflammatory process might be influenced by nutritional factors such as the increase in the intake of ω -3. In fact, the intake of ω -3 was associated with a lower inflammatory condition, which could partly explain its effects in preventing cardiovascular disease. Its anti-

inflammatory action might be explained by the replacement of arachidonic acid in the cell membrane by ω -3 PUFA [12].

In top of this, it is well known that the FA metabolism is highly correlated with cardiovascular health. As far as the authors know there is no study correlating the fatty acids profile and risk metabolic parameters, either considering menopausal state.

Thus, the aim of this study was to characterize the FA profile in a postmenopause women plasma sample and to study the associations between lipid profile and risk metabolic parameters.

2. Materials and Methods

2.1 Study sample. The study involved 53 postmenopausal women with an age range of 42-65 years old undergoing blood donation at the Blood Bank, S. João Hospital (Porto, Portugal) were recruited between November 2013 and January 2014. Furthermore, all women were postmenopausal as classified after clinical endocrinology according to American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines having more than one year without menses [14]. This investigation was conducted according to the declaration of Helsinki, approved by the Hospital's Ethics Committee. All participants provided written informed consent. Sociodemographic characteristics, anthropometric characteristics, clinical history, lifestyle factors, parity, and occupation were collected from an indirect application questionnaire.

2.2 Clinical and biochemical parameters.

Body mass index (BMI; kilograms per square meter) was calculated from the measured body weight and height. Analysis of routine biochemical markers was performed in a certified Clinical Analysis Laboratory. Biological parameters evaluated included hormonal profile [estradiol, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, androstenedione, sex hormone-binding globulin (SHBG) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAs)], lipid profile (total cholesterol, high density lipoprotein (HDL) cholesterol, low density lipoprotein (LDL) cholesterol, and triglycerides), uric acid, urea, creatinine, albumin, tissue damage markers [alkaline phosphatase (ALP), aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT)] and C-reactive protein. LDL cholesterol was calculated according to Friedewald's equation [15].

IL6, IL10, and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) concentrations in plasma were measured using, respectively, LEGEND MAX human IL-6, IL-10, and MCP1 ELISA kits (BioLegend Inc), according to the manufacturer's instructions.

2.3 Chemicals and reagents.

Sodium hydroxide and anhydrous sodium sulfate from Pronalab[®] (Lisbon, Portugal), boron trifluoride in methanol (14% in methanol) and butylated hydroxytoluen (BHT) ($\geq 99\%$) from Sigma-Aldrich[®] (St.Louis, USA), n-hexane (99%) from Merck[®] (Darmstadt, Germany), methanol from VWR Chemicals Prolabo[®] (Fontenay-sous-Bois, France) and

sodium chloride (99.5%) from Panreac[®] (Barcelona, Spain).

2.4 Determination of plasma fatty acids profile by Gas Chromatography couple to a Flame Ionization Detector (GC-FID).

In order to analyse the plasma fatty acids profile it is necessary to lower its boiling points, that is achieved by the derivatization of fatty acids [16]. In this case, sodium methoxide (NaOMe) is use as a catalyst to form fatty acid methyl esters (FAME) [17], which have a lower boiling point.

The plasma samples were put in tubes with 20 μg of internal standard (C13:0), then added 5 mL of NaOMe (0.5 mol/L) and vigorous shaken. The samples were heated to 100°C for 10 min and cool for 5 min in ice. After cooling, it was added to the samples 5 mL of boron trifluoride-methanol, the samples were again heated to 100°C for 30 min and cool for 5 min in ice. Then it was added 600 μL of n-hexane with butylated hydroxytoluen (BHT) at 0.02% to prevent lipid oxidation. The tubes were shaken in vortex, 2mL of sodium chloride was added and centrifuged for 10min. at 2200 rpm. The top layer was retrieved and dry with anhydrous sodium sulfate. 100 μL were taken and evaporated to dryness with nitrogen and finally re-diluted in 75 μL of n-hexane [18].

Gas chromatography analyses were performed on Shimadzu GC- 2010 equipped with a flame ionization detector (FID) and a Shimadzu AOC-20i auto injector. Separation of FAMEs was carried out on an Agilent[®] J&W Cp-Sil 88 capillary column (50m \times 0.25mm I.D., 0.20 μm) from Santa Clara, USA. Operating conditions

were as follows: the split–splitless injector was used in split mode with a split ratio of 1:50, the injection volume of the sample was 1.5 μ L, the injector and detector temperatures were kept at 250 °C and 270 °C, respectively, the temperature program was as follows: initial temperature 120 °C for 5 min, increased at 3 °C/min to 220 °C and held at this temperature for 10 min (total run time: 48 min). The carrier gas was He, 30mL/min and the detector gas flows were: H₂, 40 mL/min and air, 400 mL/min. Data acquisition and processing were performed with Shimadzu software GCsolution for GC systems.

2.5 Statistical analysis. Statistical analysis were performed with the Statistical Package for Social Science (SPSS, 21.0 version statistical software, IBM Corp.®, USA).

All data were described as median and IQR. The acquire data (clinical, biological and fatty acids profile) were divided in two according postmenopausal state less than 7 years and higher than 7 years. The fatty acids data was organized according to the fatty acids sub-groups (saturated FA, unsaturated cis FA, monounsaturated cis FA, ...), view Supplementary Material Table S1. A Mann-Whitney test was used to compare clinical, biological and fatty acids profile between the groups.

The association between fatty acids profile and clinical and biological

characteristics were analysed computing possible univariable and multivariable linear regressions (by stepwise method) between clinical and biological parameters (as the dependent variables) and the FA sub-groups (as the independent variables). All tests were two tailed and $p < 0.05$ was regarded as significant. The neperian logarithm was used on clinical and biological parameters which didn't present a linear profile [19].

3. Results and Discussion

3.1 Metabolic and lipid parameters. The clinical and biological characteristics of the studied population are shown in Supplementary material, Table S2. The 53 postmenopausal women studied have an age range of 42-65 years (median age of 55.00 \pm 8.00 years) and median of body mass index (BMI) of 29.24 \pm 9.09kg/m². Among them 36 were doing hormonal therapy (67.9%). The fatty acid profile achieved for the studied population is described in Table 1. Regarding other considered characteristics, 29 postmenopausal women had 1st cycle of basic education (54.7%), 8 had 2nd cycle of basic education (15.1%), 11 had 3th cycle of basic education (20.8%) and 4 university studies (7.5%). Note: It was only possible to obtain the biological and biochemical parameters for 33 postmenopausal women.

Table 1 – Plasma fatty acids profile in postmenopausal women.

Plasma fatty acids profile (%)	n	Median	±IQR
ΣSaturated FA	53	33.45	3.54
ΣUnsaturated <i>cis</i> -FA	53	66.50	3.55
ΣMonounsaturated <i>cis</i> -FA	53	23.50	6.39
ΣPolyunsaturated <i>cis</i> -FA	53	42.64	8.48
ΣPolyunsaturated <i>trans</i> -FA	8	0.11	0.16
ΣShort-Chain FA	53	0.27	0.25
ΣOmeegas 3	53	5.24	1.46
ΣOmeegas 6	53	37.37	9.53
ΣOmeegas 9	53	20.99	5.70
ΣLauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid	53	32.67	3.52
ΣLong-chain Saturated FA	53	33.14	3.63

Interquartile range (IQR). Sum of fatty acids percentage (Σ).

The comparison of metabolic profile between women in menopausal state lower than 7 years and women in menopausal state higher than 7 years is shown in Table 2.

The women in menopause lower than 7 years had 51.50 ± 6.00 years and median of menopausal evolution of 3.00 ± 4.00 years. Among them 4 were doing hormonal therapy (15.4%). On the other hand, the women in menopause more than 7 years had 58.00 ± 6.00 years and median of

menopausal evolution of 10.00 ± 7.00 years. Among them 13 were doing hormonal therapy (48.1%).

Regarding anthropometric parameters, plasma lipid profile, cell damage markers and hormonal status, there were no differences between the two groups. With respect to inflammatory profile, women in menopause more than 7 years presented higher MCP-1 (84.25 vs 139.94 mg/dL, $p = 0.01$) than menopause lower than 7 years.

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Table 2- Metabolic profile of the studied population according to menopausal evolution.

Parameters	Menopausal evolution < 7 years			Menopausal evolution ≥ 7 years			p Value
	n	Median	±IQR	n	Median	±IQR	
Age (years)	26	51.50	6.00	27	58.00	6.00	< 0.001
Menopausal Evolution (years)	26	3.00	4.00	27	10.00	7.00	< 0.001
Anthropometric parameters							
Weight (kg)	26	76.05	15.00	27	73.30	21.00	0.709
Height (m)	26	1.60	0.06	27	1.60	0.08	0.789
BMI (kg/m ²)	26	29.27	7.95	27	29.24	10.64	0.618
Plasma lipid profile							
Total Cholesterol (mg/dL)	19	141.00	40.00	14	142.00	47.50	0.957
Total Triglycerides (mg/dL)	19	87.00	96.00	14	92.50	88.25	0.900
HDL Cholesterol (mg/dL)	19	37.00	12.00	14	37.00	12.25	0.679
LDL Cholesterol (mg/dL)	19	82.00	37.00	14	88.50	38.00	1.000
Cell damage markers							
Aspartate Aminotransferase (U/L)	19	15.00	6.00	14	14.50	7.50	0.872
Alanine Transaminase (U/L)	19	25.00	7.00	14	23.50	12.25	1.000
Gama Glutamyl Transferase (U/L)	17	19.00	10.00	12	22.50	22.75	0.711
Alkaline Phosphatase (U/L)	19	57.00	22.00	14	58.00	16.75	0.843
Other parameters							
Interleukin 6 (pg/mL)	16	48.35	17.29	13	52.45	13.85	0.619
Interleukin 10 (pg/mL)	16	14.96	2.72	13	15.63	2.16	0.914
Monocyte Chemotactic Protein 1 (pg/mL)	16	84.25	18.51	13	139.94	66.60	0.010
C-reactive Protein (mg/L)	19	0.06	-	14	0.06	0.00	0.506
Estradiol (pg/mL)	18	10.50	11.00	14	10.50	6.00	0.613
Luteinizing Hormone (mUI/mL)	19	17.20	10.90	14	14.55	9.33	0.461
Follicle-stimulating Hormone (mUI/mL)	19	36.70	31.40	14	36.20	20.58	0.553
Androstenedione (ng/mL)	19	2.50	1.51	14	2.66	2.09	0.577
Sex Hormone-binding Globulin (nmol/L)	19	31.00	19.90	14	28.50	12.25	0.321
Dehydroepiandrosterone Sulfate (µg/dL)	19	99.70	67.10	14	74.95	46.88	0.114
Urea (mg/dL)	19	29.00	9.00	14	26.00	9.25	0.287
Uric Acid (mg/dL)	19	3.40	1.40	14	3.70	1.18	0.843

Interquartile range (IQR); Body mass index (BMI); High density lipoprotein (HDL); Low density lipoprotein (LDL); Values are represented as median (IQR). Statistical analysis with Mann-Whitney tests. Significant p value (≤0.05) are shown in bold.

The fatty acid profile for both groups was also compared and is described in Table 3, the lipid profile for specific fatty acids are shown in Supplementary material, Table

S3. The Mann-Whitney test shown no differences between the two groups, as shown in table 3.

Table 3 - Lipid profile for the population divided according to menopausal evolution.

Plasma fatty acids profile (%)	Menopausal evolution < 7 years			Menopausal evolution ≥ 7 years			p Value
	n	Median	±IQR	n	Median	±IQR	
	ΣSaturated FA	26	33.34	4.01	27	33.68	
ΣUnsaturated <i>cis</i> -FA	26	66.66	4.02	27	66.32	3.29	0.423
ΣMonounsaturated <i>cis</i> -FA	26	23.15	4.93	27	23.82	7.33	0.510
ΣPolyunsaturated <i>cis</i> -FA	26	43.87	8.36	27	40.53	9.53	0.499
ΣPolyunsaturated <i>trans</i> -FA	4	0.08	0.14	4	0.14	0.19	0.686
ΣShort-Chain FA	26	0.27	0.28	27	0.29	0.03	0.522
ΣOmeegas 3	26	5.18	1.44	27	5.29	1.61	0.735
ΣOmeegas 6	26	38.70	9.37	27	35.87	10.51	0.477
ΣOmeegas 9	26	20.39	4.23	27	21.19	6.84	0.444
ΣLauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid	26	32.43	3.84	27	32.77	3.20	0.423
ΣLong-chain Saturated FA	26	32.81	4.20	27	33.42	3.22	0.364

Interquartile range (IQR). Statistical analysis with Mann-Whitney tests. Significant p value (≤ 0.05). Sum of fatty acids percentage (Σ).

3.2 *Lipids levels were associated with metabolic dysfunction.* The associations between the lipid profile and the metabolic profile were evaluated by linear regression model analysis using the stepwise method (see Supplementary material Tables S4 and S5). The beta coefficients for these associations are shown in Table 4.

In women in menopausal state lower than 7 years, the logarithm of ALP levels were significantly correlated with saturated and unsaturated *cis* FA. The concentration of the logarithm of ALP increases with the increase of saturated FA levels and decreases with the increase of unsaturated *cis* FA. This means a positive relation with saturated FA (beta=0.523, $p=0.022$) and a negative one (beta=-0.517, $p=0.023$) with unsaturated *cis* FA. No significant correlation was found between saturated and unsaturated *cis* FA and the metabolic profile for women in menopause equal or higher than 7 years (see Supplementary material table S5).

For women in menopause lower than 7 years, the logarithms of GGT, of IL10 and of estradiol levels seem to be influenced by monounsaturated *cis* FA and polyunsaturated *cis* FA. When monounsaturated *cis* FA concentration increases, the levels of GGT increases as well, opposing the IL10 and estradiol levels that decreases. By other side the increases levels of polyunsaturated *cis* FA, GGT concentration decreases (beta=-0.641 $p=0.006$) and IL10 and estradiol concentration increases after logarithm of parameters.

For women in menopause equal or higher than 7 years, monounsaturated *cis* FA presents a positive correlation (beta=0.751 $p=0.002$) with ALT levels.

Monounsaturated *cis* FA sub-group also presents a positive relation for any menopausal state, with AST levels and the logarithm of total triglycerides. However polyunsaturated *cis* FA presents a negative relation with ALT, AST levels and the

logarithm of total triglycerides, which are also independent of menopausal evolution.

The levels of polyunsaturated *trans* FA were positive correlated with BMI (beta=0.987 $p=0.013$) and the logarithm of IL6 levels (beta=0.998 $p=0.042$), for women in menopause lower than 7 years. This means that with increasing of polyunsaturated *trans* FA levels, also increases BMI and IL6 levels. The correlation is more significant with BMI indicator ($p=0.013$). No significant correlation was found between polyunsaturated *trans* FA and the metabolic profile for women in menopause equal or higher than 7 years (see Supplementary material table S5).

Omega 3 sub-group was positive correlated with the logarithm of IL10 and uric acid concentration for women in menopause lower than 7 years, which indicated that when omega 3 levels increases the uric acid (beta=0.551 $p=0.015$) and after logarithm IL10 (beta=0.590 $p=0.016$) levels also increases. For women in menopause equal or higher than 7 years, this FA sub-group is negative associated with BMI index (beta=-0.415 $p=0.032$) and total triglycerides levels after logarithm.

Omega 6 sub-group, for women in menopause lower than 7 years, is correlated after logarithm with GGT, ALP and estradiol levels. For GGT and ALP the relation found is negative, which mean that the increase of omega 6 lead to a decrease on GGT and ALP levels. The relation with estradiol levels is positive, which mean that unlike the GGT and ALP, when omega 6 levels increases the estradiol levels

increases too. The most significant relation is with GGT (beta=-0.643 $p=0.005$).

AST, ALT and the logarithm of triglycerides levels show a negative relation with omega 6 FA, which are independent of menopausal evolution.

For women in menopause lower than 7 years, GGT and estradiol levels are also influenced by omega 9 concentrations. For GGT the correlation is positive (beta=0.526 $p=0.030$) and negative for estradiol levels (beta=-0.488 $p=0.040$) both after logarithm. Omega 9 FA present a positive correlation (beta=0.739 $p=0.003$) with ALT levels for women in menopause equal or higher than 7 years. This FA sub-group also presents a positive relation, independent of menopausal state, with AST and the logarithm of triglycerides levels.

Short-chain FA, for women in menopause lower than 7 years, presents a negative relation with total cholesterol (beta=-0.467 $p=0.044$), and LDL levels (beta=-0.461 $p=0.047$), also a negative relation with logarithm of total triglycerides (beta=-0.469 $p=0.043$). However, this sub-group also presents a positive relation with logarithm of IL10 levels (beta=0.671 $p=0.004$), more significant than the others. Seemingly short chain FA can be a protective factor by decreasing total cholesterol, LDL and Triglycerides.

Long-chain saturated FA and the Σ Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid sub-groups, for women in menopause lower than 7 years, were both positive correlated with the logarithm of total triglycerides, ALP and GGT concentration on both cases the most significant relation is with ALP (with Long-chain saturated FA beta=0.551

$p=0.014$ and with Σ Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid sub-groups $\beta=0.551$ ($p=0.015$). No significant correlation was found between short-chain, Σ Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid and long-

chain saturated FA and the metabolic profile for women in menopause equal or higher than 7 years (see Supplementary material table S5).

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Table 4 – Univariable correlation achieved between FA lipid profile and metabolic profile according to menopausal evaluation. (Performed test: linear regressions by stepwise method)

	Menopausal evolution <7 years										Menopausal evolution ≥7 years						
	Saturated FA	Unsaturated cis FA	Monounsaturated cis FA	Polyunsaturated cis FA	Polyunsaturated trans FA	Omega 3	Omega 6	Omega 9	Short-Chain FA	Σ Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid	Long-Chain FA	Monounsaturated cis FA	Polyunsaturated cis FA	Omega 3	Omega 6	Omega 9	
	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	
BMI					0.987^a												-0.415^a
Ln [Total Triglycerides]			0.730^b	-0.734^b			-0.707^b	0.672^b	-0.469^a	0.490^a	0.468^a	0.757^b	-0.679^b	-0.717^b	-0.598^a	0.762^b	
Total Cholesterol										-0.467^a							
LDL cholesterol										-0.461^a							
Ln [Estradiol]			-0.515^a	0.469^a			0.497^a	-0.488^a									
Ln [GGT]			0.582^a	-0.641^b			-0.643^b	0.526^a		0.528^a	0.490^a						
Ln [ALP]	0.523^a	-0.517^a					-0.490^a			0.553^a	0.551^a						
[ALT]				-0.472^a			-0.541^a					0.751^b	-0.686^b		-0.705^b	0.739^b	
[AST]			0.518^a	-0.481^a			-0.558^a	0.469^a				0.638^a	-0.598^a		-0.644^a	0.601^a	
Ln [IL6]					0.998^a												
Ln [IL10]			-0.588^a	0.570^a		0.590^a			0.671^b								
[Uric Acid]						0.551^a											

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; Beta values from a linear regression model by stepwise method are reported. Body Mass Index (BMI) kg/m²; Total Triglycerides (TT) mg/dL; Total cholesterol (TC) mg/dL; LDL Cholesterol (LDL) mg/dL; Estradiol pg/mL; Gama Glutamyl Transferase (GGT) U/L; Alkaline Phosphatase (ALP) U/L; Alanine Transaminase (ALT) U/L; Aspartate Aminotransferase (AST) U/L; Interleukin 6 (IL6) pg/mL; Interleukin 10 (IL10) pg/mL; Uric Acid mg/dL; Neperian Logarithm (Ln); Sum of fatty acids percentage (Σ).

The multivariable analysis shows that, for woman in menopause lower than 7 years, the IL10 levels can be simultaneous associated with both short-chain ($\beta=0.414$ $p=0.043$) and omega 3 FA ($\beta=0.534$ $p=0.013$), see Supplementary Material Table S6. Both associations are positive.

No other metabolic parameter which had multiple univariable associations presented significantly simultaneous associated when multivariable linear regression analysis by stepwise method was performed.

A study conducted in Poland showed that oxidative stress occurs at the early stages of dyslipidemia in obese postmenopausal women. The antioxidant activity can be influenced by dietary components, menopause transition, and aging. In fact, an improperly balanced diet is one of the risk factors of oxidative stress. Therefore, an early diagnosis of dyslipidemia and changes of dietary habits (including an adequate intake of fat and antioxidants) to prevent oxidative stress should be a high priority in postmenopausal age [11]. Also the chronic treatment with ω -3PUFA seems to be able to reverse endothelial dysfunction and oxidative stress due to estrogen deficiency, according to a study performed in Italy. This treatment can be a therapeutic option for menopausal women with high risk for cardiovascular disease [10].

4. Conclusion

Although the plasma profile in both subgroups (more or equal to and less than 7 years of menopause) do not present any differences, there are metabolic differences that seem to correlate with certain groups of FA (figure 1). The FA profile can be considered a biomarker of health situation in menopause women. It is possible to estimate the menopause evolution, hormone stage (estradiol, SHBG, LH and FSH), transaminases condition, cell markers, other lipids (triglycerides, cholesterol total and LDL), biochemical parameters (uric ac., IL 10, MCP-1, IL-6 and Protein C- reactive) and as others factors as BMI and age.

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

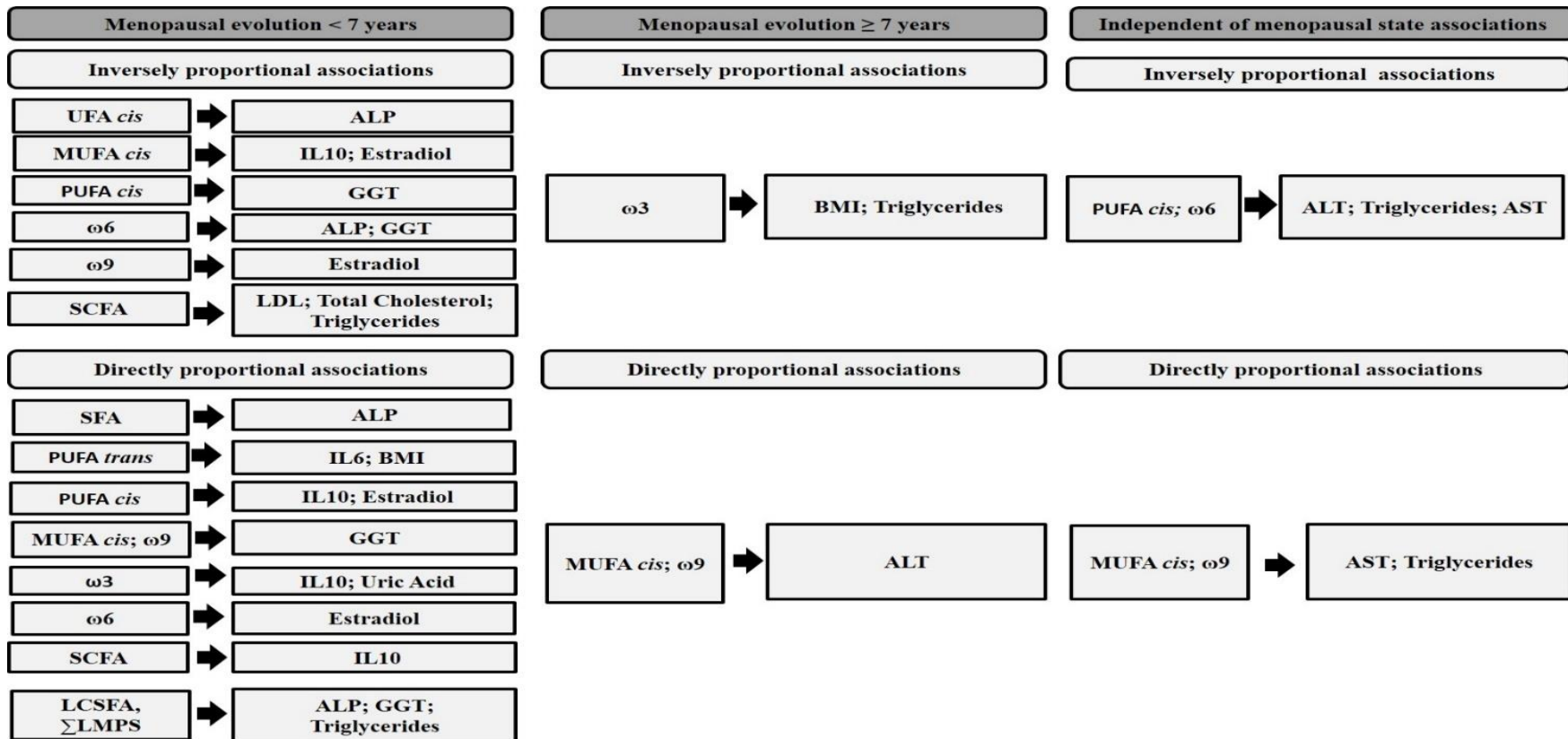


Figure 1. Alkaline phosphatase, ALP; alanine transaminase, ALT; aspartate aminotransferase, AST; body mass index, BMI; gama glutamil transferase, GGT; interleukin, IL; long-chain saturated FA, LCSFA; LDL cholesterol, LDL; monounsaturated *cis* FA, MUFA *cis*; omega 3 FA, ω3; omega 6 FA, ω6; omega 9 FA, ω9; polyunsaturated *cis* FA, PUFA *cis*; polyunsaturated *trans* FA, PUFA *trans*; Saturated FA, SFA; unsaturated *cis* FA, UFA *cis*; short-chain FA, SCFA; Sum of fatty acids percentage (Σ); Sum of Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic acid, ΣLMPS; total cholesterol, TC; total triglycerides, TT; Inversely proportional associations – beta coefficient negative, with the rise of FA concentration the levels of the metabolic parameters decreases; directly proportional associations – beta coefficient positive, with the rise of of FA concentration the levels of the metabolic parameters increases.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Acknowledgements

This work received financial support from the European Union (FEDER funds through COMPETE) and National Funds (FCT, Fundação para a Ciência e Tecnologia) through project UID/QUI/50006/2013. The work also received financial support from the European Union (FEDER funds) under the framework of QREN through Project NORTE-07-0124-FEDER-000069 (ALIMENTO). To all financing sources the authors are greatly indebted.

References

- [1] S. J. K. a Ubhayasekera, J. Staaf, A. Forslund, P. Bergsten, and J. Bergquist, "Free fatty acid determination in plasma by GC-MS after conversion to Weinreb amides.," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 405, no. 6, pp. 1929–35, Mar. 2013.
- [2] "Biochemistry of Lipids: Fatty Acids, Omega Fats, Triglycerides, Phospholipids, Eicosanoids." [Online]. Available: <http://themedicalbiochemistrypage.org/lipids.php#role>. [Accessed: 08-Feb-2015].
- [3] J. F. C. Glatz and J. J. F. P. Luiken, "Fatty acids in cell signaling: Historical perspective and future outlook," *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids*, vol. 92, pp. 57–62, 2014.
- [4] H. M. SINCLAIR, "Deficiency of essential fatty acids and atherosclerosis, etcetera.," *Lancet (London, England)*, vol. 270, no. 6919, pp. 381–3, Apr. 1956.
- [5] D. F. Horrobin, "Interactions between n-3 and n-6 essential fatty acids (EFAs) in the regulation of cardiovascular disorders and inflammation.," *Prostaglandins. Leukot. Essent. Fatty Acids*, vol. 44, no. 2, pp. 127–31, Oct. 1991.
- [6] P. Saravanan, N. C. Davidson, E. B. Schmidt, and P. C. Calder, "Cardiovascular effects of marine omega-3 fatty acids.," *Lancet (London, England)*, vol. 376, no. 9740, pp. 540–50, Aug. 2010.
- [7] D. B. Jump, "The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids," *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 11, pp. 8755–8758, 2002.
- [8] G. Colussi, C. Catena, S. Baroselli, E. Nadalini, R. Lapenna, A. Chiuch, and L. a Sechi, "Omega-3 fatty acids: from biochemistry to their clinical use in the prevention of cardiovascular disease.," *Recent Pat. Cardiovasc. Drug Discov.*, vol. 2, no. 1, pp. 13–21, 2007.
- [9] G. M. C. Rosano, C. Vitale, G. Marazzi, and M. Volterrani, "Menopause and cardiovascular disease: the evidence.," *Climacteric*, vol. 10 Suppl 1, no. Suppl 1, pp. 19–24, 2007.
- [10] G. Gortan Cappellari, P. Losurdo, S. Mazzucco, E. Panizon, M. Jevnicar, L. Macaluso, B. Fabris, R. Barazzoni, G. Biolo, R. Carretta, and M. Zanetti, "Treatment with n-3 polyunsaturated fatty acids reverses endothelial dysfunction and oxidative stress in experimental menopause.," *J. Nutr. Biochem.*, vol. 24, no. 1, pp. 371–9, Jan. 2013.
- [11] B. Grygiel-Górniak, J. Marcinkowska, A. Szczepanik, and J. Przystawski, "Nutritional habits and oxidative stress in postmenopausal age," *Pol. Arch. Med. Wewn.*, vol. 124, no. 6, 2014.
- [12] A. P. Tardivo, J. Nahas-Neto, C. L. Orsatti, F. B. Dias, P. F. Poloni, E. B. Schmitt, and E. a. P. Nahas, "Effects of omega-3 on metabolic markers in postmenopausal women with metabolic syndrome," *Climacteric*, vol. 18, no. 2, pp. 290–298, 2015.
- [13] A. R. Lee, A. S. Pechenino, H. Dong, B. D. Hammock, and A. a. Knowlton, "Aging, Estrogen Loss and Epoxyeicosatrienoic Acids (EETs)," *PLoS One*, vol. 8, no. 8, pp. 1–8, 2013.
- [14] N. F. Goodman, R. H. Cobin, S. B. Ginzburg, I. A. Katz, and D. E. Woode, "American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and treatment of menopause: executive summary of recommendations.," *Endocr. Pract.*, vol. 17, no. 6, pp. 949–54, Jan. .

- [15] W. T. Friedewald, R. I. Levy, and D. S. Fredrickson, "Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.," *Clin. Chem.*, vol. 18, no. 6, pp. 499–502, Jun. 1972.
- [16] H. Hua, Q. Liang, J. Chen, and Y. Wang, "Development of a Derivatization-free GC-FID Method for Evaluation of Free Fatty Acid Levels in Plasma of Diabetic Nephropathy Patients," *Chem. Res. Chinese Univ.*, vol. 27, no. 4, pp. 578–583, 2011.
- [17] T. Seppänen-Laakso, I. Laakso, and R. Hiltunen, "Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition," *Anal. Chim. Acta*, vol. 465, no. 1–2, pp. 39–62, Aug. 2002.
- [18] I. Bondia-Pons, C. Moltó-Puigmartí, a I. Castellote, and M. C. López-Sabater, "Determination of conjugated linoleic acid in human plasma by fast gas chromatography," *J. Chromatogr. A*, vol. 1157, no. 1–2, pp. 422–429, Jul. 2007.
- [19] M. Tsokos, U. Reichelt, A. Nierhaus, and K. Püschel, "Serum procalcitonin (PCT): a valuable biochemical parameter for the post-mortem diagnosis of sepsis.," *Int. J. Legal Med.*, vol. 114, no. 4–5, pp. 237–43, Jan. 2001.

3.3.2. Caracterização da população e resultados da análise cromatográfica e estatística à população geral

A população também foi avaliada como um todo, ou seja, sem qualquer divisão. Os resultados desta análise apresentam-se de seguida.

A população estudada representa, como referido, um grupo de 53 mulheres na pós-menopausa com idades compreendidas entre os 42 e 65 anos (média de $55,11 \pm 4,97$ anos) e evolução da menopausa (figura 3.2) de 1 a 19 anos (média de $7,30 \pm 5,24$ anos).

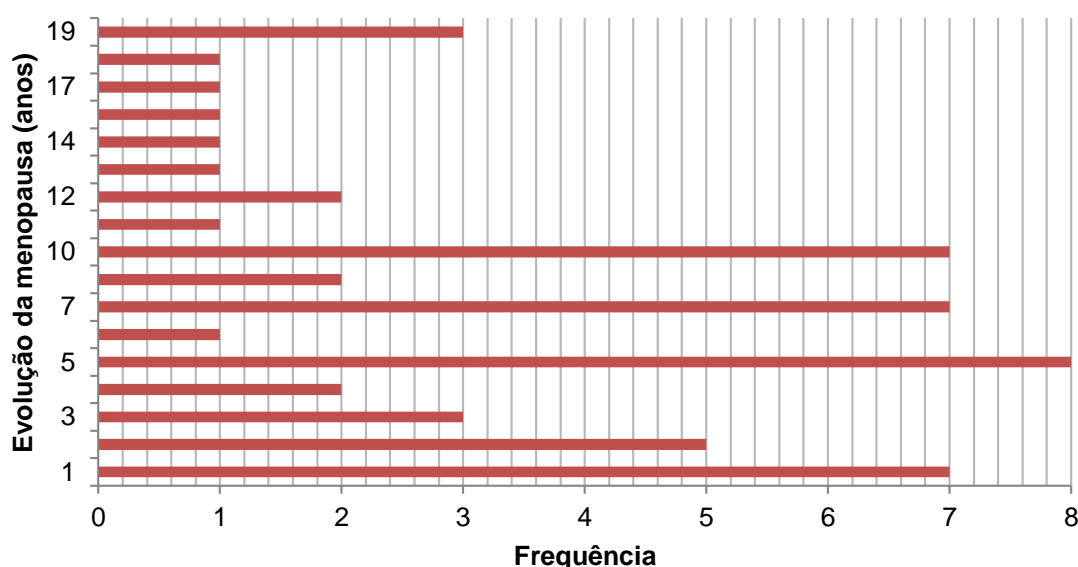


Figura 3. 2 - Frequências da evolução da menopausa em anos.

Esta população apresenta um IMC médio de $30,54 \pm 5,85 \text{ kg/m}^2$ ($30 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 34,9 \text{ kg/m}^2$ - obesidade grau I [54]), sendo que 37 dos indivíduos reportaram ganho de peso nos últimos anos (69,80%). Destes 37, 14 indicaram a menopausa como causa (37,84%), na figura 3.3 apresentam-se sumarizadas as razões indicadas para o ganho de peso.

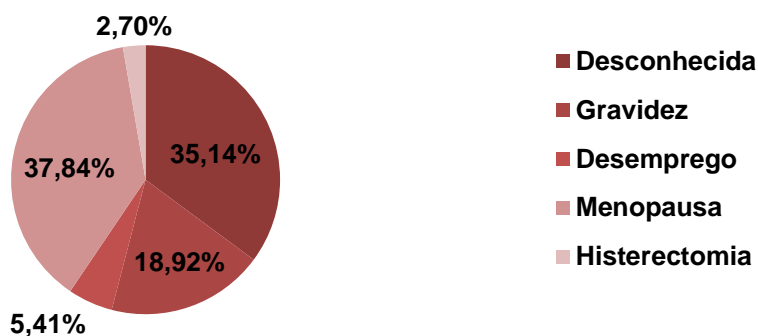


Figura 3. 3 - Razões para o ganho de peso.

Relativamente às concentrações de lipoproteínas, o nível médio de colesterol total é de $145,30 \pm 26,00$ mg/dL (com HDL médio de $39,03 \pm 8,30$ mg/dL e LDL médio de $83,52 \pm 20,35$ mg/dL), sendo que 15 mulheres indicaram sofrer de hipercolesterolemia (28,3%) e 9 tomam medicação anticolesterol (17,0%). Relativamente ao nível de triglicerídeos a média é de $114,00 \pm 64,35$ mg/dL, sendo que 24 mulheres afirmam sofrer de hipertrigliceridemia (45,3%).

Avaliando os níveis hormonais desta população, o estradiol apresenta nível médio de $16,47 \pm 13,25$ pg/mL, a hormona luteinizante (LH) uma média de $17,23 \pm 6,49$ mUI/mL, a hormona folículo estimulante (FSH) uma média de $36,59 \pm 15,82$ mUI/mL, a androstenediona uma média de $2,83 \pm 1,29$ ng/mL, o sulfato dehidroepiandrosterona (DHEAs) uma média de $101,06 \pm 51,07$ µg/dL e a globulina de ligação das hormonas sexuais (SHBG) uma média de $33,40 \pm 16,50$ nmol/L. Sabe-se ainda que, 17 mulheres desta população realizam terapia hormonal de substituição (32,1%).

Como esperado os AG que se encontram em maior concentração no plasma são o LA (média de $28,42\% \pm 5,50$), o ácido palmítico (média de $22,98\% \pm 2,60$), o ácido oleico (média de $21,29\% \pm 5,16$), o ácido esteárico (média de $9,04\% \pm 1,39$) e o AA (média de $7,77\% \pm 1,63$) [45], como se pode ver pelo gráfico apresentado na figura 3.4.

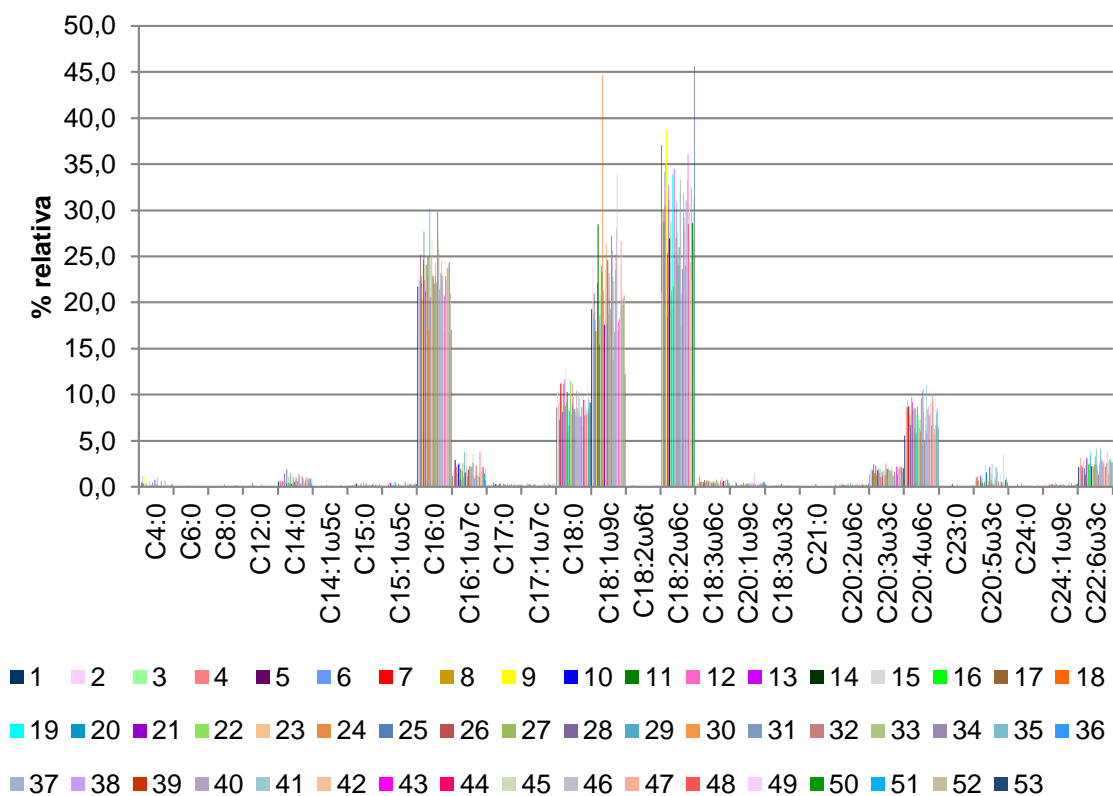


Figura 3. 4 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa estudadas.

Avaliando o perfil lipídico quanto ao grupo de AG, apresentado na figura 3.5, pode-se observar que o grupo com maior concentração no plasma são os AG insaturados *cis* entre os quais os AG polinsaturados *cis* (média de 42,21% ± 5,96) representam a maior composição deste grupo. Dos grupos ómega destacados, o que possui maior concentração plasmática é o ómega 6 (média de 36,92% ± 5,83), seguido do ómega 9 (média de 21,77% ± 5,16) e ómega 3 (média de 5,29% ± 1,38). Como se pode observar a concentração de ómega 6 é muito superior à concentração de ómega 3, como dito anteriormente, este desequilíbrio entre ómega 6 e ómega 3 é desaconselhado e prejudicial à saúde devendo este rácio ser o mais perto de 1 possível.

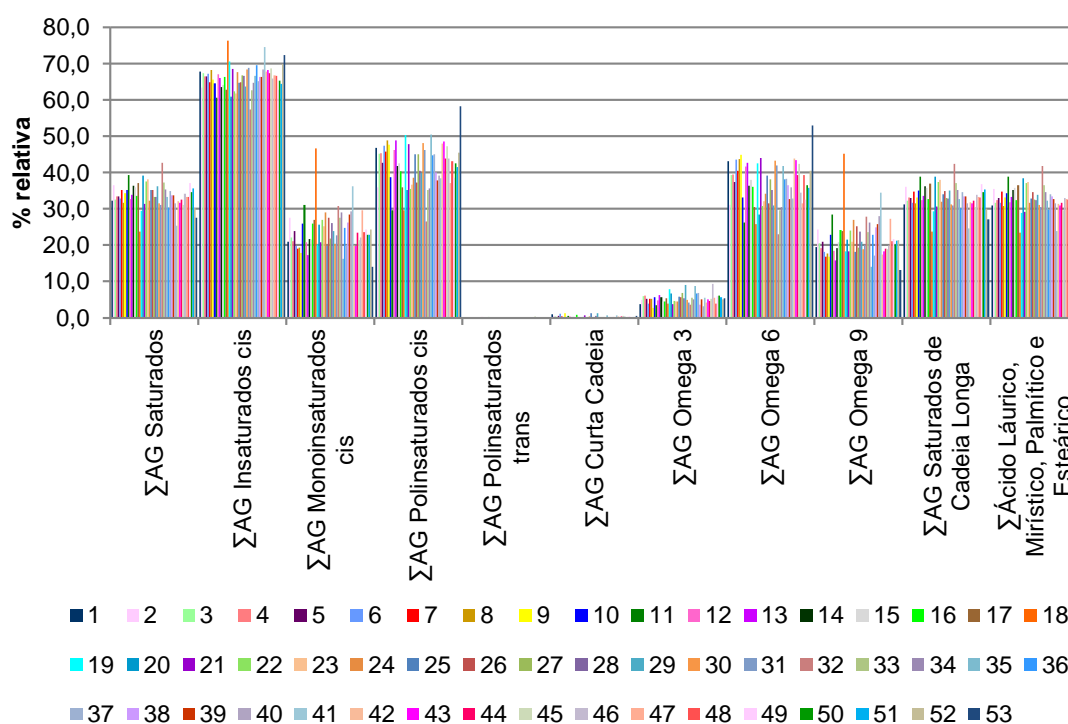


Figura 3. 5 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa segundo grupo de AG.

Nota: Só foi possível obter os parâmetros clínicos e bioquímicos para 33 mulheres na pós-menopausa. Todos os dados clínicos e bioquímicos referidos e os procedimentos utilizados no cálculo destes parâmetros, bem como informação adicional, encontram-se disponíveis em pormenor no anexo A secção A.1. Os dados considerados na construção dos gráficos apresentados encontram-se disponíveis no anexo E secção E.1 e E.2. A caracterização clínica e lipídica da amostra encontram-se detalhada no anexo A secção A.2 e no anexo E secção E.3, respetivamente.

Os valores dos coeficientes *beta* obtidos na análise univariável são apresentados na tabela 3.2, todos os dados que serão apresentados estão detalhados no anexo F.

A análise univariável realizada aos AG saturados e insaturados com todos os parâmetros clínicos e bioquímicos resultou em 6 correlações (2 diretas e 4 após a linearização do parâmetro, aplicação do logaritmo neperiano do parâmetro):

✓ As correlações diretas foram ambas com os níveis de ALT, a relação com os AG saturados é positiva ($\beta=0,391$ $p=0,025$) e negativa com os AG insaturados *cis* ($\beta=-0,389$ $p=0,025$).

✓ As outras quatro relações encontradas foram com o logaritmo neperiano dos níveis de triglicédeos e de GGT, como as correlações diretas, estas também são positivas com os AG saturados (para Ln [triglicédeos] $\beta=0,385$ $p=0,027$ e para Ln [GGT] $\beta=0,405$ $p=0,030$) e negativa com os AG insaturados *cis* (para Ln [triglicédeos] $\beta=-0,381$ $p=0,029$ e para Ln [GGT] $\beta=-0,402$ $p=0,031$).

A análise univariável feita aos AG monoinsaturados e polinsaturados *cis* com todos os parâmetros clínicos e bioquímicos resultou em 12 correlações (6 diretas e 6 após a linearização do parâmetro):

✓ Os AG monoinsaturados apresentam uma relação positiva com os níveis de colesterol total ($\beta=0,381$ $p=0,029$) e uma negativa com o logaritmo neperiano dos níveis de estradiol ($\beta=-0,362$ $p=0,041$).

✓ Tanto os AG monoinsaturados com os polinsaturados *cis* foram associados com as concentrações de AST e ALT e com o logaritmo neperiano das concentrações de triglicédeos, GGT e MCP-1. Para os AG monoinsaturados as relações são positivas (para AST $\beta=0,560$ $p=0,001$; para ALT $\beta=0,521$ $p=0,002$; para Ln [triglicédeos] $\beta=0,729$ $p<0,001$; para Ln [GGT] $\beta=0,568$ $p=0,001$ e para Ln [MCP-1] $\beta=0,368$ $p=0,049$) e para os AG polinsaturados *cis* negativas (para AST $\beta=-0,521$ $p=0,002$; para ALT $\beta=-0,547$ $p=0,001$; para Ln [triglicédeos] $\beta=-0,687$ $p<0,001$; para Ln [GGT] $\beta=-0,574$ $p=0,001$ e para Ln [MCP-1] $\beta=-0,429$ $p=0,020$).

A análise univariável feita aos ómeegas 3, 6 e 9 com todos os parâmetros clínicos e bioquímicos resultou em 12 correlações (5 diretas e 7 após a linearização do parâmetro):

✓ Os níveis de ómega 3 foram associados positivamente com os níveis de ácido úrico ($\beta=0,416$ $p=0,016$) e com o logaritmo neperiano dos níveis IL10 ($\beta=0,389$ $p=0,037$).

✓ Ambos os ómeegas 6 e 9 apresentam estar associados com os níveis de AST e ALT e com o logaritmo neperiano dos níveis de triglicédeos e GGT. Para os ómeegas 6 as relações encontradas são todas negativas (para AST $\beta=-0,584$ $p<0,001$; para ALT $\beta=-0,595$ $p<0,001$; para Ln [triglicédeos] $\beta=-0,646$ $p<0,001$ e para Ln [GGT] $\beta=-0,592$ $p=0,001$) e para os ómeegas 9 todas positivas (para AST $\beta=0,515$ $p=0,002$; para ALT $\beta=0,494$ $p=0,003$; para Ln [triglicédeos] $\beta=0,693$ $p<0,001$ e para Ln [GGT] $\beta=0,518$ $p=0,004$).

✓ Os ômega 6 também foram negativamente relacionados com o logaritmo neperiano dos níveis de MCP-1 (beta=-0,414 $p=0,026$) e os ômega 9 também foram negativamente relacionados com o logaritmo neperiano dos níveis de estradiol (beta=-0,361 $p=0,042$).

A análise univariável feita aos AG de curta cadeia e cadeia longa com todos os parâmetros clínicos e bioquímicos resultou em 7 correlações (2 diretas e 5 após a linearização do parâmetro):

✓ O Σ Ácido láurico, mirístico, palmítico e esteárico e os AG de cadeia longa foram positivamente associadas com os níveis de ALT (com Σ Ácido láurico, mirístico, palmítico e esteárico beta=0,386 $p=0,026$ e com AG de cadeia longa beta=0,389 $p=0,025$) e com o logaritmo neperiano dos níveis de triglicerídeos e de GGT (para Ln [triglicerídeos] com Σ Ácido láurico, mirístico, palmítico e esteárico beta=0,416 $p=0,016$ e com AG de cadeia longa beta=0,416 $p=0,016$ e para Ln [GGT] com Σ Ácido láurico, mirístico, palmítico e esteárico beta=0,426 $p=0,021$ e com AG de cadeia longa beta=0,426 $p=0,021$).

✓ Os AG de Curta Cadeia apresentam uma relação negativa com o logaritmo neperiano dos níveis de triglicerídeos (beta=-0,349 $p=0,046$).

Tabela 3. 2 – Correlações univariáveis obtidas entre o perfil lipídico de AG e o perfil metabólico para a população global. (Teste efetuado: regressões lineares pelo método *Stepwise*)

	AG Saturados	AG Insaturados cis	AG Monoinsaturados cis	AG Polinsaturados cis	ômega 3	ômega 6	ômega 9	AG Curta Cadeia	Σ Ácido Láurico, Mirístico, Palmítico e Esteárico	AG Saturados de Cadeia Longa
	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta	beta
Ln [Triglicerídeos Totais]	0,385 ^a	-0,381 ^a	0,729 ^b	-0,687 ^b		-0,646 ^b	0,693 ^b	-0,349 ^a	0,416 ^a	0,416 ^a
Colesterol Total			0,381 ^a							
Ln [Estradiol]			-0,362 ^a				-0,361 ^a			
Ln [GGT]	0,405 ^a	-0,402 ^a	0,568 ^b	-0,574 ^b		-0,592 ^b	0,518 ^b		0,426 ^a	0,426 ^a
[ALT]	0,391 ^a	-0,389 ^a	0,521 ^b	-0,547 ^b		-0,595 ^b	0,494 ^b		0,386 ^a	0,389 ^a
[AST]			0,560 ^b	-0,521 ^b		-0,584 ^b	0,515 ^b			
Ln [MCP-1]			0,368 ^a	-0,429 ^a		-0,414 ^a				
Ln [IL10]					0,389 ^a					
[Ácido Úrico]					0,416 ^a					

^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$; Valores do coeficiente beta das regressões lineares obtidas pelo método *Stepwise* são apresentados. Triglicerídeos totais mg/dL; Colesterol total mg/dL; Estradiol pg/mL; Gama Glutamil Transferase (GGT) U/L; Alanina Transaminase

(ALT) U/L; Aspartato Aminotransferase (AST) U/L; Proteína Quimiotática de Monócitos 1 (MCP-1) pg/mL; Interleucina 10 (IL10) pg/mL; Ácido Úrico mg/dL; Logaritmo neperiano (Ln); Somatório da percentagem de ácidos gordos (Σ).

A análise multivariável pelo método *Stepwise* foi realizada para os parâmetros clínicos e bioquímicos que apresentaram mais que uma relação univariável. Nenhum destes parâmetros apresentou associações multivariáveis significativas.

3.3.3. Conclusões da análise estatística

As figuras 3.6 a 3.8 são representações esquemáticas que resumem as associações encontradas entre os parâmetros metabólicos e o perfil lipídico da população, quando avaliada globalmente (como um todo sem divisão – figura 3.6) e de acordo com a evolução menopausal (figuras 3.7 e 3.8). Entende-se por associações inversamente proporcionais, aquelas onde o aumento (representado por \uparrow) da variável independente, neste caso, da concentração do AG em questão irá diminuir (representado por \downarrow) os níveis da variável dependente, neste caso, do parâmetro metabólico em questão. E entende-se por associações diretamente proporcionais, aquelas onde com o aumento (representado por \uparrow) da variável independente, neste caso, da concentração do AG em questão, se observa o aumento (representado por \uparrow) dos níveis da variável dependente, neste caso, do parâmetro metabólico em questão.

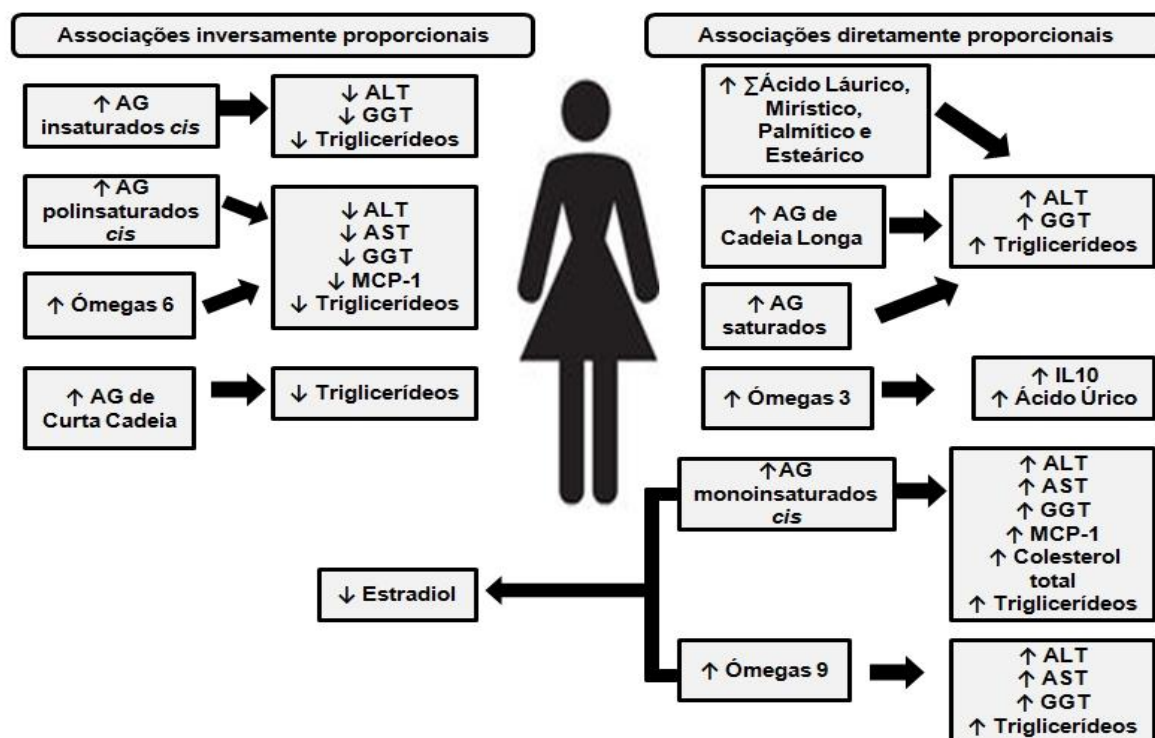


Figura 3. 6 - Representação esquemática das associações encontradas entre o perfil lipídico de AG e os parâmetros bioquímicos e clínicos.

Foram obtidas, para a população global (figura 3.6), regressões lineares com parâmetros hormonais (estradiol), e inflamatórios (MCP-1 e IL10), com marcadores de dano celular (AST, GGT e ALT), outros lípidos (triglicerídeos e colesterol total) e outros parâmetros bioquímicos (ácido úrico).

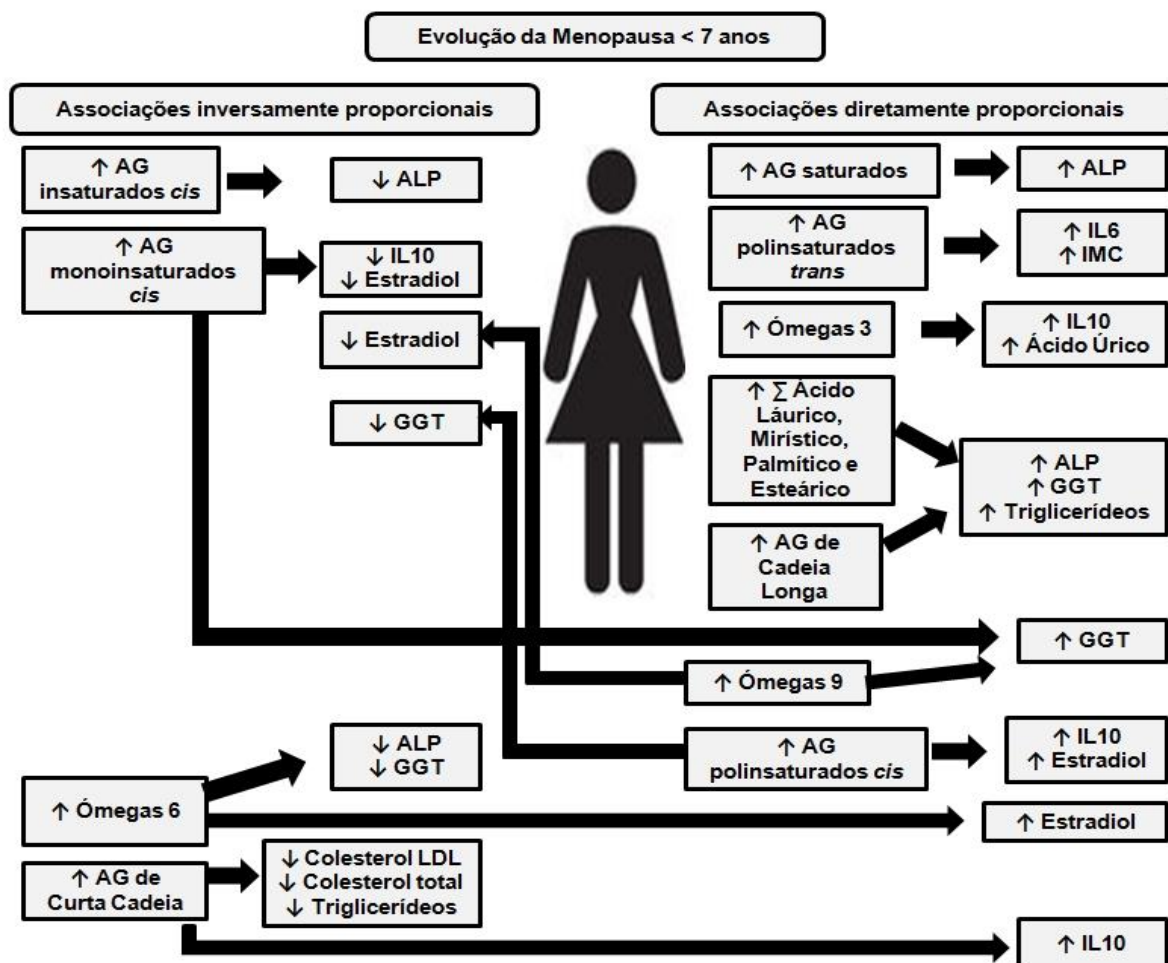


Figura 3. 7 - Representação esquemática das associações encontradas entre o perfil lipídico de AG e os parâmetros bioquímicos e clínicos para mulheres na menopausa há menos de 7 anos.

Relativamente aos resultados após a divisão da população de acordo com a evolução da menopausa, para as mulheres na menopausa há menos de 7 anos (figura 3.7) foram obtidas regressões lineares com parâmetros hormonais (estradiol), e inflamatórios (IL6 e IL10), com marcadores de dano celular (GGT e ALP), outros lípidos (triglicerídeos, colesterol total e colesterol LDL), parâmetros antropométricos (IMC) e outros parâmetros bioquímicos (ácido úrico).

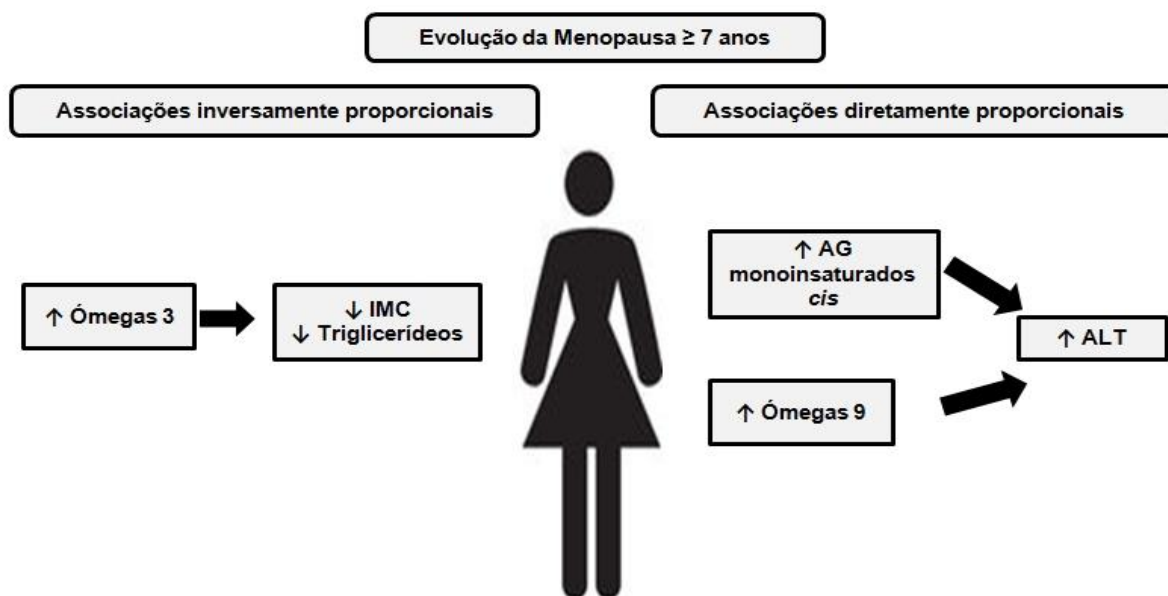


Figura 3. 8 - Representação esquemática das associações encontradas entre o perfil lipídico de AG e os parâmetros bioquímicos e clínicos para mulheres na menopausa há 7 anos ou mais.

E para as mulheres na menopausa há 7 anos ou mais (figura 3.8) foram obtidas regressões lineares com marcadores de dano celular (ALT), parâmetros antropométricos (IMC) e outros lípidos (triglicéridos).

Também foram obtidas relações independentes do estado menopausal (correlação existente para o grupo das mulheres na menopausa há menos de 7 anos e para o grupo das na menopausa há 7 anos ou mais), nomeadamente com marcadores de dano celular (ALT e AST) e outros lípidos (triglicéridos).

Conclusões e Sugestões para Trabalho Futuro

O perfil lipídico de ácidos gordos foi avaliado para um grupo de 53 mulheres na pós-menopausa com idades compreendidas entre os 42 e 65 anos (média de $55,11 \pm 4,97$ anos) e evolução da menopausa de 1 a 19 anos (média de $7,30 \pm 5,24$ anos). Este perfil encontra-se de acordo com os teores normais esperados, ou seja, em maior concentração no plasma encontra-se o ácido linoleico (LA) seguido do ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico e ácido araquidónico (AA). O perfil metabólico desta população também foi caracterizado.

Após divisão consoante a evolução da menopausa, não se verificam alterações nos teores normais do perfil de AG (distribuição semelhante a quando se avalia a população como um todo) e o resultado do teste de Mann-Whitney indica que a distribuição do perfil de AG quer para mulheres na menopausa há 7 anos quer para mulheres na menopausa há 7 ou mais é semelhante a nível estatístico. No entanto o perfil inflamatório do grupo de mulheres na menopausa há 7 ou mais anos apresenta níveis superiores de MCP-1 (valores disponíveis de MCP-1 só para 29 mulheres). Mais nenhum parâmetro do perfil metabólico (parâmetros antropométricos, marcadores de dano celular, parâmetros hormonais e outros lípidos) apresentam diferenças significativas.

Relativamente à análise estatística, para o grupo de mulheres na menopausa há menos de 7 anos, foram encontradas relações entre o perfil de AG e parâmetros inflamatórios (IL6 e IL10), hormonais (estradiol), marcadores de dano celular (ALP e GGT), outros lípidos (triglicédeos, colesterol total e colesterol LDL), parâmetros antropométricos (IMC) e outros parâmetros (ácido úrico). Para o grupo de mulheres na menopausa há 7 ou mais anos foram encontradas relações com marcadores de dano celular (ALT), parâmetros antropométricos (IMC) e outros lípidos (triglicédeos). Esta população também exibe associações independentes da evolução da menopausa, nomeadamente com marcadores de dano celular (AST e ALT), outros lípidos (triglicédeos).

Este estudo teve a limitação de apenas os dados bioquímicos de 33 mulheres foram obtidos para o perfil metabólico.

Após a conclusão do presente trabalho foi possível concluir que, o perfil lipídico de AG influencia uma série de marcadores metabólicos e endócrinos, assim é possível considerar o perfil de AG como um biomarcador, especificamente para as condições deste estudo, de condição de saúde no estado menopausal. As associações encontradas devem ser estudadas mais profundamente em trabalhos futuros e que possivelmente envolvam ensaios clínicos.

Glossário

Alanina Aminotransferase (ALT) – enzima produzida pelas células do fígado. Ajuda a metabolizar as proteínas do corpo. É um indicador na função do fígado, uma vez que, quando o fígado não funciona corretamente há liberação de ALT na corrente sanguínea [55].

Albumina – proteína produzida pelo fígado [56].

Amenorreia – ausência da menstruação por um período superior a três ciclos menstruais [57].

Androstenediona – hormona produzida pelas glândulas supra-renais, ovários e testículos. Normalmente é convertida para testosterona e estradiol em ambos os sexos [58].

Aspartato aminotransferase (AST) – encontrada em concentrações elevadas no fígado, coração e rins. O AST está presente tanto no citoplasma como nas mitocôndrias. Altos níveis de AST podem ser encontrados em casos tais como o enfarte do miocárdio, lesão de células do fígado, hepatite viral e envenenamento por tetracloreto de carbono [59].

Autacoide – substâncias que atuam em processos fisiológicos e patológicos.

Ciclo de Krebs – ou ciclo do ácido cítrico, permite a oxidação completa dos ácidos gordos e de aminoácidos e leva à formação de acetilcoenzima A, ATP ou intermediários. Cada volta do ciclo permite a obtenção de 10 moléculas de ATP [18].

Colesterol HDL – abreviatura para Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês, High Density Lipoprotein), também referido como “bom colesterol”. Este remove o colesterol LDL ao transportá-lo para o fígado onde é processado. O nível aconselhado tanto para homens e mulheres é de 60 mg/dL ou superior [60].

Colesterol LDL – abreviatura para Lipoproteína de Baixa Densidade (do inglês, Low Density Lipoprotein), também referido como “mau colesterol”. Estas lipoproteínas transportam colesterol por todo o corpo, entregando-o a diferentes órgãos e tecidos. Mas, quando em excesso o colesterol LDL pode-se acumular nas paredes dos vasos sanguíneos, esta acumulação podem diminuir o diâmetro dos vasos ao ponto de bloquear o fluxo de sangue, causando doença arterial coronária [60].

Colesterol total – substância lipídica normal, que circula no sangue ligado as proteínas. Níveis altos de colesterol podem levar à formação de depósitos de gordura nos vasos sanguíneos que dificultam ou até mesmo bloqueiam a circulação de sangue, para além de aumentar o risco de um ataque cardíaco ou acidente vascular cerebral (AVC) [61].

Disfunção endotelial – desvio das ações do endotélio para vasodilatação reduzida, estado pró-inflamatório e propriedades pró trombóticas. Associada com a maioria das doenças cardiovasculares [62].

Dislipidemia – caracterizada pela elevação dos níveis plasmáticos de colesterol e/ou triglicéridos, ou elevação dos níveis de colesterol LDL. Contribui para o desenvolvimento de aterosclerose [63].

Eicosanóides – moléculas produzidas pelas células a partir dos ácidos gordos, e que têm como função regular a inflamação e o funcionamento do nosso sistema imunitário [64].

Estradiol – é um tipo de estrogênio. O estradiol é uma hormona sexual feminina produzida pelos ovários, glândula supra-renal e também pela placenta durante a gravidez. O estradiol é a hormona mais importante durante os anos reprodutivos da mulher, e é necessário para a função reprodutiva e sexual e tem um impacto na saúde de outros órgãos e tecidos. Algumas das funções de estradiol incluem: crescimento reprodutivo feminino; desenvolvimento de características sexuais secundárias; apoiar o crescimento ósseo e prevenção da osteoporose; neuroproteção e melhorar o fluxo sanguíneo nas artérias coronárias [65].

Fase Lútea – fase no ciclo menstrual, ocorre depois da ovulação e antes da menstruação [66].

Fosfatase alcalina (ALP) – enzima presente no fígado, ducto biliar e nos ossos. Níveis elevados podem indicar problemas hepáticos, tal como o ducto biliar bloqueado, ou determinadas doenças ósseas, como hiperparatireoidismo, raquitismo e osteomalacia [55,67].

Fosforilação oxidativa – esta designação resulta da possibilidade de conjugação entre oxirredução e fosforilação de ADP a ATP. Permite a obtenção de ATP a partir de moléculas de FADH₂ e NADH, por cada par de elétrons transportados há a formação de 4 moléculas de ATP [18].

Gama Glutamiltransferase (GGT) – enzima encontrada no sangue, quando alta pode indicar danos no fígado ou ducto biliar [55].

Globulina de Ligação das Hormonas Sexuais (SHBG) – glicoproteína sintetizada a nível hepático. Esta é responsável pelo transporte plasmático de hormonas sexuais (estradiol, testosterona, etc) [68].

Hipercolesterolemia – termo utilizado para níveis de colesterol elevados [61].

Hiperestrogenismo – termo utilizado para níveis de estradiol elevados.

Hiperglicemia – termo utilizado para níveis elevados de glicemia (concentração de glicose no sangue) [69].

Hipertrigliceridemia – termo utilizado para níveis de triglicéridos elevados [70].

Histerectomia - procedimento cirúrgico que consiste na extração do útero, onde se pode efetuar ou não a remoção dos ovários e das trompas [71].

Hormona de Libertação de Gonadotrofinas (GnRH) – libertada no hipotálamo, esta hormona provoca a hipófise a libertar outras hormonas: LH e FSH [72].

Hormona Folículo Estimulante (FSH) – a hormona folículo estimulante é produzida na glândula pituitária e estimula a secreção de estrogénio. É esta hormona que regula o crescimento, desenvolvimento, puberdade, reprodução e secreção de hormonas. A produção desta é estimulada pela hormona luteinizante [73].

Hormona Luteinizante (LH) – A hormona luteinizante é uma glicoproteína, produzida na glândula pituitária, em ambos os sexos. Nas mulheres, regula a secreção de progesterona e controla o amadurecimento dos folículos, a ovulação, a iniciação do corpo lúteo. No homem, estimula as células de Leydig a produzir a testosterona [74].

Interleucina 6 (IL6) – A interleucina-6 (IL6) é uma molécula de sinalização intercelular tradicionalmente associada com o controle e a coordenação de respostas imunes, sendo primeiramente libertada pelos macrófagos e linfócitos em resposta a lesão ou infeção [75].

Interleucina 10 (IL10) – citocina com a capacidade de inibir a ativação e a função das células T, monócitos e macrófagos. A sua principal função é limitar e, terminar respostas inflamatórias. Além disto a IL10 também regula o crescimento e / ou diferenciação de células B, células NK, células T auxiliares e citotóxicas, mastócitos, granulócitos, células dendríticas, queratinócitos, e células endoteliais [76].

Laqueação (das trompas) – método de contraceção cirúrgico. Consiste num corte ou bloqueio das trompas uterinas, com intuito de impedir a fecundação do óvulo [77].

Proteína C reativa (PCR) – substância que está presente no sangue quando existe uma inflamação ou infeção no organismo, sendo, por isso, também muito utilizada com indicador de problemas cardiovasculares [78].

Proteína Quimiotática de Monócitos 1 (MCP-1) – da família das quimiocinas, esta proteína desempenha um papel importante no processo inflamatório, nomeadamente no envio de linfócitos T e B e macrófagos para o local de infeção e inflamação [79,80].

Resolvinas – família de metabolitos bioativos gerados espontaneamente como resposta a uma inflamação a partir da conversão enzimática, na fase de resolução da inflamação aguda, do EPA e do DHA. Para o EPA os metabólicos designam-se de resolvinas e para o DHA de neuroprotectinas [81].

Secreção pulsátil – secreção a uma taxa pulsante. Uma pulsação refere-se a um período de tempo marcado por uma sequência de aumento e diminuição da taxa de secreção neuro hormonal [82].

Stresse oxidativo – perturbação do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes [83].

Sulfato Dehidroepiandrosterona (DHEAs) – hormona segregada pela glândula supra-renal, tanto em homens como em mulheres. A camada exterior das glândulas produz hormonas com várias funções, são exemplos: equilibrar os níveis de água e sal no organismo; manter os níveis de pressão arterial normal; ajudar o organismo na utilização de

lípidos, proteínas e hidratos de carbono; desenvolvimento de características femininas e masculinas. A camada interna das glândulas produz hormonas que ajudam o corpo a lidar com o stresse [84].

Terapia Hormonal de Substituição – consiste na administração de estrogénios e progestagénios sintéticos de forma a aliviar os sintomas e consequências da ausência de estrogénio [85].

Referências bibliográficas

- [1] "Biochemistry of Lipids: Fatty Acids," *The Medical Biochemistry Page*. [Versão Online]. Disponível em: <http://themedicalbiochemistrypage.org/lipids.php#fattyacids>. [Consultado em: 15-02-2015].
- [2] P. J. Jones, "Clinical nutrition: 7. Functional foods--more than just nutrition.," *CMAJ*, vol. 166, no. 12, pp. 1555–63, Jun. 2002.
- [3] S. J. K. a Ubhayasekera, J. Staaf, A. Forslund, P. Bergsten, and J. Bergquist, "Free fatty acid determination in plasma by GC-MS after conversion to Weinreb amides.," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 405, no. 6, pp. 1929–35, Mar. 2013.
- [4] J. F. C. Glatz and J. J. F. P. Luiken, "Fatty acids in cell signaling: Historical perspective and future outlook," *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids*, vol. 92, pp. 57–62, 2014.
- [5] H. M. SINCLAIR, "Deficiency of essential fatty acids and atherosclerosis, etcetera.," *Lancet (London, England)*, vol. 270, no. 6919, pp. 381–3, Apr. 1956.
- [6] D. F. Horrobin, "Interactions between n-3 and n-6 essential fatty acids (EFAs) in the regulation of cardiovascular disorders and inflammation.," *Prostaglandins. Leukot. Essent. Fatty Acids*, vol. 44, no. 2, pp. 127–31, Oct. 1991.
- [7] F. Guiné, Raquel P.F. ; Henriques, "O papel dos ácidos gordos na nutrição humana e desenvolvimentos sobre o modo como influenciam a saúde," *Millennium*, vol. 40, pp. 7–21, 2011.
- [8] "Biochemistry of Lipids: Fatty Acids, Omega Fats, Triglycerides, Phospholipids, Eicosanoids," *The Medical Biochemistry Page*. [Versão Online]. Disponível em: <http://themedicalbiochemistrypage.org/lipids.php#role>. [Consultado em: 08-02-2015].
- [9] C. Scrimgeour, "Chemistry of Fatty Acids," in *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* 1, Sixth Edit., John Wiley & Sons, Inc., 2005, pp. 1–43.
- [10] H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, D. Baltimore, and J. Darnell, *Molecular cell biology*. W. H. Freeman and Company: Nova Iorque, 2000.
- [11] Sigma-Aldrich Co., "Supelco 37 Component FAME Mix catalog No. 47885-U." .
- [12] B. L. Applegate, "Extraction , Derivatization , and Analysis of Fatty Acid Methyl Ester (FAME) in Tissue Homogenates and Blubber by ASE and Gas Chromatography," University of Alaska Anchorage, 2007.

- [13] E. D. Dodds, M. R. McCoy, L. D. Rea, and J. M. Kennish, "Gas chromatographic quantification of fatty acid methyl esters: Flame ionization detection vs. Electron impact mass spectrometry," *Lipids*, vol. 40, no. 4, pp. 419–428, Apr. 2005.
- [14] E. Tvrzická, M. Vecka, B. Staňková, and A. Žák, "Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography–flame ionization detection: Quantitative aspects," *Anal. Chim. Acta*, vol. 465, no. 1, pp. 337–350, 2002.
- [15] J. Beare-Rogers, A. Dieffenbacher, and J. V. Holm, "Lexicon of Lipid Nutrition (IUPAC Technical Report)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 73, no. 4, pp. 685–744, 2001.
- [16] D. L. Nelson and M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4^a Edição. W. H. Freeman and Company, 2005.
- [17] J. C. Rocha, "Tratamento dietético no metabolismo energético," *Rev. do Hosp. Crianças Maria Pia*, vol. XX, no. 3, pp. 156–157, 2011.
- [18] L. S. Campos, *Entender a Bioquímica*, 5^a Edição. Escolar Editora: Lisboa, 2009, pp.683.
- [19] I. Tein, "Lipid Storage Myopathies Due to Fatty Acid Oxidation Defects," in *Neuromuscular Disorders of Infancy, Childhood, and Adolescence* 40, Second Edi., Elsevier Inc., 2015, pp. 761–795.
- [20] J. Ney, A. Torres, and N. Trugo, "Análise de ácidos graxos não-esterificados de plasma humano por cromatografia gasosa capilar com injeção sem divisão de fluxo," *Quim. Nova*, vol. 27, no. 4, pp. 561–566, 2004.
- [21] H. Hua, Q. Liang, J. Chen, and Y. Wang, "Development of a Derivatization-free GC-FID Method for Evaluation of Free Fatty Acid Levels in Plasma of Diabetic Nephropathy Patients," *Chem. Res. Chinese Univ.*, vol. 27, no. 4, pp. 578–583, 2011.
- [22] D. B. Jump, "The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids," *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 11, pp. 8755–8758, 2002.
- [23] R. Zurier, "Fatty acids, inflammation and immune responses," *Prostaglandins, Leukot. Essent. Fat. acids*, vol. 48, no. 1, pp. 57–62, 1993.
- [24] S. M. Innis, "Omega-3 Fatty Acid Biochemistry: Perspectives from Human Nutrition," *Mil. Med.*, vol. 179, no. 11S, pp. 82–87, 2014.
- [25] "What are Common sources of Omega Fats," *Supplement Science*, 2013. [Versão Online]. Disponível em: <http://supplementscience.org/pufas.html#sources>. [Consultado em: 15-02-2015].

- [26] G. L. Russo, "Dietary n - 6 and n - 3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 77, pp. 937–946, 2009.
- [27] G. Colussi, C. Catena, S. Baroselli, E. Nadalini, R. Lapenna, A. Chiuch, and L. a Sechi, "Omega-3 fatty acids: from biochemistry to their clinical use in the prevention of cardiovascular disease.," *Recent Pat. Cardiovasc. Drug Discov.*, vol. 2, no. 1, pp. 13–21, 2007.
- [28] E. N. Smit, "Essential fatty acid deficiency in malnourished children," PhD in Medical Sciences. Groningen University, 2002.
- [29] "Hugh Sinclair," *British Atherosclerosis Society*. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.britathsoc.org/lectures/hugh-sinclair/>. [Consultado em: 15-02-2015].
- [30] D. De Aloysio, M. Gambacciani, M. Meschia, F. Pansini, A. Bacchi, P. Francesco, M. Massobrio, G. Maiocchi, E. Peruzzi, T. Icarus, and S. Group, "The effect of menopause on blood lipid and lipoprotein levels," *Atherosclerosis*, vol. 147, pp. 147–153, 1999.
- [31] G. Gortan Cappellari, P. Losurdo, S. Mazzucco, E. Panizon, M. Jevnicar, L. Macaluso, B. Fabris, R. Barazzoni, G. Biolo, R. Carretta, and M. Zanetti, "Treatment with n-3 polyunsaturated fatty acids reverses endothelial dysfunction and oxidative stress in experimental menopause.," *J. Nutr. Biochem.*, vol. 24, no. 1, pp. 371–9, Jan. 2013.
- [32] W. S. Harris, D. Mozaffarian, E. Rimm, P. Kris-Etherton, L. L. Rudel, L. J. Appel, M. M. Engler, M. B. Engler, and F. Sacks, "Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease: A science advisory from the American Heart Association nutrition subcommittee of the council on nutrition, physical activity, and metabolism; council on cardiovascular nursing; and council on epidem," *Circulation*, vol. 119, no. 6, pp. 902–907, 2009.
- [33] L. H. Allen, A. Prentice, and B. Caballero, Eds., *Encyclopedia of Human Nutrition*, 3rd ed., vol. 1. Elsevier Ltd, 1993.
- [34] J. X. Kang and J. Wang, "A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids.," *BMC Biochem.*, vol. 6, p. 5, 2005.
- [35] L. Tan, X. P. Zhao, X. Q. Liu, H. X. Ju, and J. S. Li, "Headspace Liquid-Phase Microextraction of Short-Chain Fatty Acids in Plasma, and Gas Chromatography with Flame Ionization Detection," *Chromatographia*, vol. 62, no. 5–6, pp. 305–309, Aug. 2005.
- [36] J. Tan, C. McKenzie, M. Potamitis, A. N. Thorburn, C. R. Mackay, and L. Macia, "The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease," in *Advances in Immunology* 3, 1st ed., vol. 121, Elsevier Inc., 2014, pp. 91–119.

- [37] I. Givens and K. Kliem, "Chronic disease risk associated with different dietary saturated fatty acids," in *Reducing saturated fats in foods 5*, Woodhead Publishing Limited, 2011, pp. 98–111.
- [38] K. Ichihara and Y. Fukubayashi, "Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography," *J. Lipid Res.*, vol. 51, no. 3, pp. 635–40, Mar. 2010.
- [39] W. W. Christie, "Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis," *Adv. Lipid Methodol.*, pp. 69–111, 1993.
- [40] D. Skoog, F. Holler, and T. Nieman, *Princípios de Análise Experimental*, 5ª Edição. Bookman: Porto Alegre, 1998.
- [41] R. L. Grob and E. F. Barry, *Modern Practice of Gas Chromatography*, Fourth. John Wiley & Sons, Inc.: NY, 2004, pp.1036.
- [42] S. Alves, "Caracterização estrutural de ácidos gordos, em particular intermediários da biohidrogenação, por cromatografia gasosa acoplada à espetrometria de massa," *Laboratório de Metabolismo Lipídico de Ruminantes - CIISA-FMV*. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://lipidanimal.fmv.utl.pt/index.php/pt/dossiers/157-caracterizacao-estrutural-de-acidos-gordos>. ['Consultado em: 06-12-2014].
- [43] T. Seppänen-Laakso, I. Laakso, and R. Hiltunen, "Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition," *Anal. Chim. Acta*, vol. 465, no. 1–2, pp. 39–62, Aug. 2002.
- [44] W. W. Christie, "Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis," *Advances in Lipid Methodology - Two*, 1993. [Versão Online]. 'Disponível em: http://lipidlibrary.aocs.org/topics/ester_93/index.htm#B. ['Consultado em: 06-12-2014].
- [45] I. Bondia-Pons, C. Moltó-Puigmartí, a I. Castellote, and M. C. López-Sabater, "Determination of conjugated linoleic acid in human plasma by fast gas chromatography," *J. Chromatogr. A*, vol. 1157, no. 1–2, pp. 422–429, Jul. 2007.
- [46] J. Maroco, *Análise Estatística com Utilização do SPSS*, 3ª Edição. Edições Síbalo: Lisboa, 2010, pp.822.
- [47] "SPSS Statistics Base 17.0 User's Guide," SPSS Incorporated. [Versão PDF descarregada em: 12-10-2014], pp.640.
- [48] M. Sowers, "Menopause: its epidemiology," in *Women and health 92*, Academic Press, 2000, pp. 1155–1168.

- [49] M. Wilson, "Menopause," *Clin. Geriatr. Med.*, vol. 19, no. 3, pp. 483–506, 2003.
- [50] G. M. C. Rosano, C. Vitale, G. Marazzi, and M. Volterrani, "Menopause and cardiovascular disease: the evidence.," *Climacteric*, vol. 10 Suppl 1, no. Suppl 1, pp. 19–24, 2007.
- [51] B. Grygiel-Górniak, J. Marcinkowska, A. Szczepanik, and J. Przysławski, "Nutritional habits and oxidative stress in postmenopausal age," *Pol. Arch. Med. Wewn.*, vol. 124, no. 6, 2014.
- [52] A. P. Tardivo, J. Nahas-Neto, C. L. Orsatti, F. B. Dias, P. F. Poloni, E. B. Schmitt, and E. a. P. Nahas, "Effects of omega-3 on metabolic markers in postmenopausal women with metabolic syndrome," *Climacteric*, vol. 18, no. 2, pp. 290–298, 2015.
- [53] A. R. Lee, A. S. Pechenino, H. Dong, B. D. Hammock, and A. a. Knowlton, "Aging, Estrogen Loss and Epoxyeicosatrienoic Acids (EETs)," *PLoS One*, vol. 8, no. 8, pp. 1–8, 2013.
- [54] "Índice de Massa Corporal," *Associação Portuguesa de Dietistas*. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.apdietistas.pt/nutricao-saude/avaliar-o-seu-estado-nutricional/parametros-antropometricos/62-indice-de-massa-corporal>. ['Consultado em: 05-11-2015].
- [55] "Liver function tests Why it's done," *Mayo Clinic*. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/liver-function-tests/basics/why-its-done/prc-20012602>. ['Consultado em: 08-05-2015].
- [56] David C. Dugdale, "Albumin - blood (serum)," *MedlinePlus*, 2013. [Versão Online]. 'Disponível em: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003480.htm>. ['Consultado em: 08-10-2015].
- [57] "Amenorrhea," *Mayo Clinic*, 2014. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/amenorrhea/basics/definition/con-20031561>. ['Consultado em: 09-05-2015].
- [58] "Performance-enhancing drugs: Know the risks," *Mayo Clinic*. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/fitness/in-depth/performance-enhancing-drugs/art-20046134>. ['Consultado em: 08-05-2015].
- [59] "AST - Aspartate Aminotransferase," *Mayo Clinic*. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8360>. ['Consultado em: 08-05-2015].
- [60] "HDL cholesterol: How to boost your 'good' cholesterol," *Mayo Clinic*, 2012. [Versão Online]. 'Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/high-blood-cholesterol/in-depth/hdl-cholesterol/art-20046388>. ['Consultado em: 04-05-2015].

- [61] “High cholesterol,” *Mayo Clinic*, 2014. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/high-blood-cholesterol/basics/definition/con-20020865>. [‘Consultado em: 08-05-2015].
- [62] D. H. Endemann and E. L. Schiffrin, “Endothelial dysfunction.,” *J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 15, no. 8, pp. 1983–92, Aug. 2004.
- [63] A. C. Goldberg, “Dyslipidemia,” *Merck Manual*, 2015. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/lipid-disorders/dyslipidemia>. [‘Consultado em: 12-10-2015].
- [64] R. Gillasp, “Eicosanoids: Definition, Function, Types & Effects,” *Study.com*. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://study.com/academy/lesson/eicosanoids-definition-function-types-effects.html>. [‘Consultado em: 12-08-2015].
- [65] A. Mandal, “What does Estradiol do?,” *News Medical*, 2014. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.news-medical.net/health/What-does-Estradiol-do.aspx>. [‘Consultado em: 08-05-2015].
- [66] T. C. Johnson, “Luteal Phase Defect (LPD): Symptoms, Causes, and Treatment,” *WebMD*, 2015. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.webmd.com/infertility-and-reproduction/guide/luteal-phase-defect>. [‘Consultado em: 09-05-2015].
- [67] “ALP - Alkaline Phosphatase,” *Mayo Clinic*. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8340>. [‘Consultado em: 08-05-2015].
- [68] “Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG), Serum,” *Mayo Clinic*. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/9285>. [‘Consultado em: 08-05-2015].
- [69] B. A. P. S. Almeida, “Hiperglicemia,” *Portal da diabetes - APDP*. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.apdp.pt/index.php/diabetes/a-pessoa-com-diabetes/hiperglicemia>. [‘Consultado em: 28-10-2015].
- [70] “Triglycerides: Why do they matter?,” *Mayo Clinic*, 2012. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/high-blood-cholesterol/in-depth/triglycerides/art-20048186>. [‘Consultado em: 09-05-2015].
- [71] “Histerectomia,” *CUF descobertas hospital*. [Versão Online]. ‘Disponível em: http://www.cufdescobertas.pt/Content/Servicos+e+Especialidades%5cCentros%5cAreas+de+Especializacao%5cConteudos/HCD_Histerectomia. [‘Consultado em: 26-05-2015].
- [72] “Gonadorelin (Intravenous Route, Injection Route),” *Mayo Clinic*, 2015. [Versão Online]. ‘Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/drugs-supplements/gonadorelin-intravenous-route-injection-route/description/drg-20067426>. [‘Consultado em: 09-05-

2015].

- [73] J. Goldberg and L. Krause, "Follicle Stimulating Hormone (FSH) Test," *Healthline*, 2012. [Versão Online]. Disponível em: <http://www.healthline.com/health/fsh#Overview1>. [Consultado em: 08-05-2015].
- [74] M. E. Ellis, "Luteinizing Hormone (LH) Blood Test," *Healthline*, 2015. [Versão Online]. Disponível em: <http://www.healthline.com/health/lh-blood-test>. [Consultado em: 04-05-2015].
- [75] J. Prestes, F. F. Donatto, R. Dias, A. B. Frollini, and C. R. Cavaglieri, "Papel da Interleucina-6 como um sinalizador em diferentes tecidos durante o exercício físico," *Fit. Performancé Interleucina*, vol. 5, no. 6, pp. 348–353, 2006.
- [76] K. W. Moore, R. de Waal Malefyt, R. L. Coffman, and A. O'Garra, "Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor.," *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 19, pp. 683–765, Jan. 2001.
- [77] "Laqueação de trompas," *CUF descobertas hospital*. [Versão Online]. Disponível em: http://www.cufdescobertas.pt/Content/Servicos+e+Especialidades%5CCentros%5CAreas+de+Especializacao%5CConteudos/HCD_laqueacao+trompas. [Consultado em: 26-05-2015].
- [78] R. Donovan, "C Reactive Protein Test," *Healthline*, 2015. [Versão Online]. Disponível em: <http://www.healthline.com/health/c-reactive-protein#Overview1>. [Consultado em: 08-05-2015].
- [79] X. Bai, Z. Qi, G. Song, X. Zhao, H. Zhao, X. Meng, C. Liu, W. Bing, and Y. Bi, "Effects of Monocyte Chemotactic Protein-1 and Nuclear Factor of Kappa B Pathway in Rejection of Cardiac Allograft in Rat," *Transplant. Proc.*, vol. 47, no. 6, pp. 2010–2016, 2015.
- [80] M. L. Lennard Richard, T. K. Nowling, D. Brandon, D. K. Watson, and X. K. Zhang, "Fli-1 controls transcription from the MCP-1 gene promoter, which may provide a novel mechanism for chemokine and cytokine activation," *Mol. Immunol.*, vol. 63, no. 2, pp. 566–573, 2015.
- [81] S. Cerqueira, *Os Ácidos Gordos Ómega-3 E Os Seus Efeitos Anti-Inflamatórios*. Tese de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde, 2013, pp.83.
- [82] J. D. Veldhuis, "Pulsatile Hormone Secretion: Mechanisms, Significance and Evaluation," in *Ultradian Rhythms from Molecules to Mind 10*, 2008.
- [83] D. J. Betteridge, "What is oxidative stress?," *Metabolism.*, vol. 49, no. 2 Suppl 1, pp. 3–8, Feb. 2000.

- [84] C. Underwood, "DHEA-Sulfate Serum Test," *Healthline*, 2012. [Versão Online]. Disponível em: <http://www.healthline.com/health/dhea-sulfate-serum#DHEAOverview1>. [Consultado em: 08-05-2015].
- [85] A. Machado, *Terapêutica Hormonal de Substituição – Percepções e padrões de prescrição*. Tese de Mestrado em Medicina. Universidade da Beira Interior. Faculdade de Ciências da Saúde, 2010, pp.81.
- [86] N. F. Goodman, R. H. Cobin, S. B. Ginzburg, I. A. Katz, and D. E. Woode, "American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and treatment of menopause: executive summary of recommendations.," *Endocr. Pract.*, vol. 17, no. 6, pp. 949–54, Jan. .
- [87] W. T. Friedewald, R. I. Levy, and D. S. Fredrickson, "Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.," *Clin. Chem.*, vol. 18, no. 6, pp. 499–502, Jun. 1972.

Anexos

A. Informação clínica e social da população estudada

A.1. Dados Clínicos, Bioquímicos e Sociais

Os dados clínicos, bioquímicos e sociais foram recolhidos e fornecidos pelo departamento de investigação médica CINTESIS (Centro de Investigação em Tecnologias e Serviços de Informação em Saúde) da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP).

O estudo envolveu 53 mulheres na pós-menopausa com uma faixa etária de 42-65 anos de idade que foram recrutadas entre Novembro de 2013 e Janeiro de 2014 enquanto submetidas a uma doação de sangue no Banco de Sangue do Hospital de S. João (Porto, Portugal). Além disso, todas as mulheres foram classificadas na pós-menopausa segundo a endocrinologia clínica de acordo com as Diretrizes Médicas da Associação Americana de Endocrinologistas Clínicos (*Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines*), ou seja, estar há mais de um ano sem menstruação [86]. Esta investigação foi conduzida de acordo com a declaração de Helsinki e aprovada pelo Comitê de Ética do hospital. Todos os participantes forneceram consentimento informado por escrito. As características sociodemográficas, características antropométricas, historial clínico, fatores de estilo de vida, paridade e ocupação foram coletados a partir de um questionário de aplicação indireta.

A análise dos marcadores bioquímicos de rotina foi realizada num laboratório certificado de análises clínicas (Guimarães, Portugal). Os parâmetros biológicos avaliados incluem o perfil hormonal [estradiol, hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), androstenediona, globulina de ligação das hormonas sexuais (SHBG) e sulfato dehidroepiandrosterona (DHEAs)], perfil lipídico (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL e triglicéridos), ácido úrico, ureia, creatinina, albumina e marcadores de dano celular [fosfatase alcalina (ALP), aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT)] e a proteína C-reativa. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado a partir da medição do peso e altura do sujeito. O colesterol LDL foi calculado de acordo com a equação de Friedewald [87]. As concentrações das interleucinas IL-6 e IL-10, e de monócitos quimiotática proteína-1 (MCP1) no plasma foram medidas utilizando, respetivamente, kits LEGENDA MAX

Human IL-6, IL-10 e MCP1 ELISA (BioLegend Inc), de acordo com as instruções do fabricante.

Devido à extensão dos dados recolhidos, estes foram divididos em 6 tabelas que são apresentadas de seguida.

Tabela A 1 - Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	Evolução da menopausa (anos)	IL-6 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	MCP-1 (pg/mL)	Proteína C-Reativa (mg/L)	Estradiol (pg/mL)
1	51	85	1,64	31,60	5	-	-	-	-	-
2	52	79	1,49	35,58	4	-	-	-	0,06	10,00
3	48	81	1,58	32,45	2	63,33	16,13	90,78	0,06	10,00
4	54	86	1,64	31,83	10	58,35	14,45	151,61	0,26	10,00
5	55	79	1,60	30,98	2	-	-	-	-	-
6	53	106	1,63	39,90	10	-	-	-	-	-
7	56	63	1,61	24,30	9	72,48	15,15	35,22	0,06	10,00
8	56	75	1,62	28,58	5	43,74	14,09	138,83	0,06	10,00
9	49	65	1,55	26,97	1	-	-	-	0,06	25,00
10	61	55	1,64	20,56	19	-	-	-	-	-
11	56	106	1,68	37,56	7	52,45	17,51	147,31	0,06	17,00
12	50	100	1,64	37,18	2	81,30	14,55	65,50	0,06	11,00
13	61	77	1,63	28,83	9	-	-	-	-	-
14	50	76	1,65	27,77	1	40,89	16,89	92,72	0,06	14,00
15	57	94	1,60	36,80	7	28,18	6,83	93,97	0,06	10,00
16	60	94	1,54	39,64	7	67,91	16,39	195,50	0,32	10,00
17	51	78	1,65	28,65	5	107,37	13,97	96,19	0,06	14,00
18	46	69	1,59	27,33	5	-	-	-	-	-
19	49	63	1,63	23,67	7	-	-	-	-	-
20	65	66	1,53	28,07	17	-	-	-	-	-
21	62	86	1,65	31,59	18	54,62	14,03	85,64	0,06	21,00
22	55	85	1,56	34,93	10	59,18	16,41	112,72	0,06	17,00
23	58	119	1,67	42,67	4	46,39	13,77	149,25	0,06	20,00
24	60	92	1,60	35,74	10	20,70	11,19	96,75	0,06	10,00
25	53	58	1,56	23,83	1	48,30	20,60	100,08	0,06	-
26	59	100	1,55	41,62	13	51,62	15,63	159,11	0,06	16,00
27	55	70	1,67	25,10	7	-	-	-	0,06	12,00
28	61	65	1,60	25,39	19	51,18	15,61	139,94	0,06	10,00
29	61	67	1,67	24,02	19	55,50	16,28	77,31	-	-
30	42	77	1,60	29,88	5	50,22	16,68	82,44	0,06	74,00
31	49	107	1,59	42,48	1	45,74	14,26	56,75	0,06	42,00
32	58	73	1,58	29,24	7	41,38	15,99	179,53	0,06	11,00
33	56	96	1,61	37,04	3	44,73	12,53	85,50	0,06	10,00
34	55	83	1,55	34,55	3	48,40	14,73	87,17	0,06	10,00
35	49	103	1,53	44,00	1	49,49	22,07	79,67	0,06	41,00
36	51	59	1,59	23,34	6	44,37	18,88	83,00	0,06	10,00
37	54	83	1,52	35,92	7	48,45	19,73	153,69	0,06	14,00

Tabela A 1 - (continuação) Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	Evolução da menopausa (anos)	IL-6 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	MCP-1 (pg/mL)	Proteína C-reativa (mg/L)	Estradiol (pg/mL)
38	54	73	1,61	28,16	12	-	-	-	0,06	10,00
39	64	73	1,56	30,12	14	-	-	-	-	-
40	52	59	1,60	23,05	2	57,03	15,19	79,53	0,06	10,00
41	57	54	1,58	21,63	10	-	-	-	-	-
42	63	65	1,59	25,71	16	-	-	-	-	-
43	51	86	1,67	30,84	10	-	-	-	-	-
44	58	68	1,60	26,56	5	-	-	-	0,06	10,00
45	61	65	1,57	26,37	11	-	-	-	-	-
46	50	74	1,62	28,20	1	34,82	16,72	75,92	0,06	10,00
47	62	74	1,54	31,20	10	-	-	-	-	-
48	51	74	1,56	30,41	1	77,84	14,39	70,08	0,06	18,00
49	58	69	1,63	25,97	3	-	-	-	-	-
50	54	70	1,62	26,67	5	-	-	-	-	-
51	56	60	1,55	24,97	12	-	-	-	-	-
52	53	83	1,60	32,42	2	-	-	-	-	-
53	59	63	1,53	26,91	5	-	-	-	-	-

Tabela A 2 - Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).

Amostra M	LH (mUI/mL)	FSH (mUI/mL)	Androstenediona (ng/mL)	SHBG (nmol/L)	DHEAs (µg/dL)	Ureia (mg/dL)	Ácido Úrico (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	15,60	36,10	2,17	32,00	47,10	20,00	3,00	137,00
3	14,30	36,70	3,68	29,50	159,00	32,00	3,40	122,00
4	21,50	38,30	1,53	35,00	64,70	32,00	2,60	136,00
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	23,00	51,40	1,26	62,90	30,70	29,00	2,80	113,00
8	13,50	22,10	3,06	58,40	115,80	21,00	2,80	157,00
9	13,90	27,90	2,31	69,20	97,30	29,00	2,70	115,00
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	17,50	43,80	4,66	33,80	147,90	32,00	3,90	171,00
12	24,40	31,80	4,09	27,60	135,10	27,00	3,30	136,00
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	14,40	47,20	4,12	31,00	0,00	24,00	3,50	120,00
15	21,10	49,10	1,40	27,00	38,40	29,00	4,30	147,00
16	8,60	12,60	1,82	29,10	71,10	22,00	3,10	99,00
17	26,10	48,80	2,89	15,60	99,70	30,00	4,40	123,00
18	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela A 2 - (continuação) Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	LH (mUI/mL)	FSH (mUI/mL)	Androstenediona (ng/mL)	SHBG (nmol/L)	DHEAs (µg/dL)	Ureia (mg/dL)	Ácido Úrico (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)
19	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
21	12,70	26,00	5,10	37,80	55,70	22,00	4,40	163,00
22	11,90	20,20	3,23	21,40	77,40	22,00	3,70	145,00
23	7,00	19,70	3,84	20,70	84,70	23,00	3,50	146,00
24	14,10	34,10	2,83	19,30	92,10	22,00	4,20	171,00
25	28,00	66,20	3,23	42,60	185,70	25,00	3,10	120,00
26	7,00	15,00	3,01	28,00	104,90	21,00	5,40	172,00
27	28,10	57,70	2,52	22,00	122,60	31,00	3,70	134,00
28	14,10	41,80	6,55	29,00	165,10	27,00	3,60	190,00
29	-	-	-	-	-	-	-	-
30	7,70	3,20	5,42	24,30	260,00	22,00	2,40	135,00
31	10,80	18,00	2,28	12,40	88,40	33,00	4,20	174,00
32	11,80	26,50	1,42	31,10	66,10	24,00	2,90	139,00
33	18,80	54,60	2,18	30,00	146,70	35,00	6,30	196,00
34	23,60	43,00	1,69	39,70	71,90	28,00	3,30	162,00
35	17,20	27,50	2,50	41,00	142,30	40,00	5,90	110,00
36	25,40	53,50	1,27	78,20	66,20	35,00	4,20	156,00
37	15,00	29,90	2,80	22,30	72,50	25,00	3,90	125,00
38	19,60	38,70	1,55	16,40	95,40	38,00	3,30	119,00
39	-	-	-	-	-	-	-	-
40	20,60	60,50	2,35	35,40	106,40	25,00	3,10	141,00
41	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	-
44	20,30	46,40	3,13	65,70	79,60	39,00	5,10	194,00
45	-	-	-	-	-	-	-	-
46	10,70	18,20	1,62	11,20	160,00	29,00	4,80	186,00
47	-	-	-	-	-	-	-	-
48	30,40	61,00	1,73	22,70	84,60	33,00	3,00	141,00
49	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela A 3 - Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).

Amostra M	Triglicérides Totais (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	ALP (U/L)
1	-	-	-	-	-	-	-
2	155,00	32,00	74,00	17,00	44,00	20,00	66,00
3	87,00	34,00	70,00	16,00	26,00	21,00	54,00
4	47,00	33,00	94,00	16,00	24,00	26,00	82,00
5	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-
7	50,00	39,00	64,00	12,00	22,00	-	55,00
8	77,00	42,00	100,00	12,00	23,00	11,00	57,00
9	64,00	46,00	56,00	11,00	19,00	-	57,00
10	-	-	-	-	-	-	-
11	136,00	44,00	100,00	19,00	35,00	37,00	50,00
12	60,00	36,00	88,00	11,00	21,00	14,00	45,00
13	-	-	-	-	-	-	-
14	59,00	46,00	62,00	14,00	17,00	17,00	57,00
15	83,00	38,00	92,00	11,00	19,00	12,00	52,00
16	70,00	30,00	55,00	12,00	29,00	-	49,00
17	152,00	37,00	55,00	27,00	39,00	30,00	90,00
18	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-
21	102,00	40,00	103,00	12,00	18,00	14,00	59,00
22	132,00	34,00	85,00	14,00	21,00	19,00	57,00
23	199,00	34,00	72,00	15,00	23,00	16,00	92,00
24	205,00	36,00	94,00	21,00	33,00	44,00	62,00
25	54,00	44,00	65,00	15,00	26,00	14,00	48,00
26	72,00	56,00	102,00	27,00	40,00	40,00	69,00
27	62,00	46,00	76,00	13,00	23,00	11,00	59,00
28	125,00	47,00	118,00	14,00	21,00	12,00	76,00
29	-	-	-	-	-	-	-
30	87,00	26,00	91,00	15,00	28,00	19,00	48,00
31	146,00	38,00	107,00	18,00	25,00	13,00	73,00
32	257,00	30,00	58,00	22,00	34,00	30,00	71,00
33	167,00	51,00	112,00	15,00	26,00	58,00	83,00
34	271,00	26,00	82,00	22,00	39,00	54,00	66,00
35	34,00	50,00	53,00	12,00	29,00	23,00	57,00
36	54,00	43,00	102,00	21,00	19,00	13,00	54,00
37	66,00	35,00	77,00	16,00	22,00	29,00	53,00
38	214,00	27,00	49,00	15,00	26,00	16,00	55,00
39	-	-	-	-	-	-	-
40	132,00	35,00	80,00	12,00	19,00	24,00	37,00
41	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-
44	92,00	61,00	115,00	18,00	23,00	-	95,00

Tabela A 3 - (continuação) Dados clínicos e bioquímicos da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Triglicérides Totais (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	ALP (U/L)
45	-	-	-	-	-	-	-
46	195,00	36,00	111,00	19,00	28,00	13,00	76,00
47	-	-	-	-	-	-	-
48	56,00	36,00	94,00	14,00	22,00	19,00	54,00
49	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-

Tabela A 4 - Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Estado civil	Escolaridade	Localidade	Diabetes tipo I	Diabetes tipo II	Doença da tireoide
1	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
2	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
3	Viúva	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
4	Divorciada	1º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
5	Divorciada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
6	Casada	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
7	Casada	Ensino Secundário	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
8	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
9	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
10	Divorciada	Ensino Superior	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
11	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
12	Casada	2º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
13	Casada	1º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
14	Casada	3º Ciclo	-	Não	Sim	Não
15	Casada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
16	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
17	Casada	3º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
18	Casada	2º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Sim
19	Divorciada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
20	Casada	3º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não

Tabela A 4 - (continuação) Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Estado civil	Escolaridade	Localidade	Diabetes tipo I	Diabetes tipo II	Doença da tireoide
21	Viúva	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
22	Casada	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
23	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
24	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Sim
25	Casada	Ensino Superior	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
26	Casada	2º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
27	Casada	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
28	Viúva	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
29	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
30	Casada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
31	Casada	2º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
32	Casada	2º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
33	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
34	Casada	1º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
35	Casada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Sim	Não
36	Casada	3º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
37	Casada	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
38	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
39	Casada	2º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
40	Casada	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
41	Divorciada	2º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
42	Casada	1º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
43	Casada	Ensino Superior	-	Não	Não	Não
44	Casada	1º Ciclo	Áreas pouco povoadas	Não	Não	Não
45	Casada	Ensino Superior	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
46	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
47	Casada	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
48	Casada	2º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
49	Casada	1º Ciclo	Áreas moderadamente povoadas	Não	Não	Não
50	Divorciada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
51	Solteira	3º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
52	Casada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não
53	Casada	1º Ciclo	Áreas densamente povoadas	Não	Não	Não

Tabela A 5 - Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).

Amostra M	Hipercolesterolemia	Hipertrigliceridemia	Ganho de peso nos últimos anos	Razão para o ganho de peso	Anti-hipertensor	Anticolesterol
1	Não	Sim	Sim	Desemprego	Sim	Não
2	Não	Sim	Sim	Gravidez	Sim	Não
3	Não	Não	Sim	Menopausa	Não	Não
4	Não	Não	Sim	Menopausa	Não	Não
5	Sim	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
6	Não	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
7	Não	Não	Não	-	Não	Não
8	Não	Sim	Sim	Menopausa	Não	Não
9	Não	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Não
10	Não	Não	Não	-	Não	Não
11	Não	Não	Sim	Desconhecida	Não	Não
12	Não	Não	Sim	Desemprego	Não	Não
13	Sim	Não	Não	-	Não	Sim
14	Não	Não	Não	-	Não	Não
15	Não	Não	Não	-	Não	Não
16	Não	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
17	Sim	Não	Não	-	Não	Sim
18	Sim	Não	Não	-	Não	Sim
19	Não	Não	Não	-	Não	Não
20	Sim	Sim	Sim	Gravidez	Sim	Não
21	Não	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Não
22	Não	Não	Sim	Menopausa	Não	Não
23	Não	Sim	Sim	Gravidez	Sim	Não
24	Sim	Não	Sim	Menopausa	Não	Não
25	Não	Não	Não	-	Não	Não
26	Não	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Não
27	Sim	Não	Não	-	Não	Não
28	Não	Não	Sim	Desconhecida	Não	Não
29	Não	Não	Não	-	Não	Não
30	Não	Não	Sim	Desconhecida	Não	Não
31	Não	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
32	Não	Sim	Sim	Gravidez	Não	Não
33	Sim	Sim	Sim	Gravidez	Sim	Sim
34	Não	Não	Sim	Gravidez	Não	Não
35	Não	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Não
36	Não	Não	Não	-	Não	Não
37	Não	Não	Sim	Menopausa	Não	Não
38	Sim	Não	Sim	Menopausa	Não	Sim
39	Sim	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Sim
40	Não	Não	Sim	Desconhecida	Não	Não
41	Não	Não	Não	-	Não	Não
42	Não	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
43	Sim	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Sim

Tabela A 5 - (continuação) Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Hipercolesterolemia	Hipertrigliceridemia	Ganho de peso nos últimos anos	Razão para o ganho de peso	Anti-hipertensor	Anticolesterol
44	Sim	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Não
45	Não	Não	Não	-	Não	Não
46	Não	Não	Sim	Desconhecida	Não	Não
47	Sim	Sim	Não	-	Sim	Sim
48	Não	Sim	Sim	Menopausa	Sim	Não
49	Sim	Não	Sim	Histerectomia	Não	Sim
50	Não	Sim	Não	-	Sim	Não
51	Sim	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
52	Não	Sim	Sim	Desconhecida	Sim	Não
53	Não	Não	Sim	Gravidez	Não	Não

Tabela A 6 - Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada (continuação).

Amostra M	Fumadora	Laqueação	Diapositivo Intrauterino (DIU)	Histerectomia	Anticoncepcionais Orais (ACO)	Antidiabéticos Orais (ADO)	Terapia Hormonal de Substituição
1	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim
2	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
3	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
4	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
5	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim
6	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não	Sim
7	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
8	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
9	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
10	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim
11	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
13	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim
14	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não
15	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
16	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
17	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não

Tabela A 6 - (continuação) Dados clínicos e sociais da população de mulheres pós-menopausa estudada.

Amostra M	Fumadora	Laqueaçã o	(DIU)	Histerecto mia	(ACO)	(ADO)	Terapia Hormonal de Substituiç ão
18	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim
19	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim
20	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim
21	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não
22	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não
23	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não
24	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não
25	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
26	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não
27	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não
28	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
29	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
30	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não
31	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não
32	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Não
33	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não
34	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
35	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
36	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não
37	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não
38	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
39	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim
40	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não
41	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim
42	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim
43	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim
44	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
45	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim
46	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
47	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim
48	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não
49	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
50	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não
51	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim
52	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
53	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não

A.2. Caracterização clínica, bioquímica e social da população

As tabelas A7, A8 e A9 representam a caracterização da população global estudada a nível clínico, bioquímico e social. Os dados apresentados foram obtidos pelo recurso ao *software* "IBM SPSS Statistics 21". A tabela A10 apresenta a caracterização clínica e bioquímica da população consoante a evolução menopausal.

Tabela A 7 - Caracterização clínica e bioquímica da população global.

Parâmetros	n	Média	±DP	Mediana	±AIQ
Idade (anos)	53	55,11	4,97	55,00	8,00
Evolução da menopausa (anos)	53	7,30	5,24	7,00	7,00
Parâmetros Antropométricos					
Peso (kg)	53	77,90	15,06	75,00	20,00
Altura (m)	53	1,60	0,04	1,60	0,07
IMC (kg/m ²)	53	30,54	5,85	29,24	9,09
Perfil lipídico					
Colesterol Total (mg/dL)	33	145,30	26,00	141,00	44,50
Triglicéridos Totais (mg/dL)	33	114,00	64,35	87,00	92,50
HDL (mg/dL)	33	39,03	8,30	37,00	11,00
LDL (mg/dL)	33	83,52	20,35	85,00	36,50
Marcadores de dano celular					
Aspartato Aminotransferase - AST (U/L)	33	16,00	4,30	15,00	6,50
Alanina Aminotransferase - ALT (U/L)	33	26,15	7,03	24,00	8,00
Gama Glutamil Transferase - GGT (U/L)	29	23,07	12,71	19,00	16,00
Fosfatase Alcalina - ALP (U/L)	33	62,36	14,27	57,00	18,50
Outros parâmetros					
Interleucina 6 - IL-6 (pg/mL)	29	53,31	16,75	50,22	14,22
Interleucina 10 - IL-10 (pg/mL)	29	15,54	2,85	15,61	2,53
Proteína Quimiotática de Monócitos 1 - MCP-1 (pg/mL)	29	105,58	39,17	92,72	64,03
Proteína C-Reativa (mg/L)	33	0,07	0,06	0,06	0,00
Estradiol (pg/mL)	32	16,47	13,25	10,50	7,00
Hormona Luteinizante - LH (mUI/mL)	33	17,23	6,49	15,60	9,95
Hormona Folículo Estimulante - FSH (mUI/mL)	33	36,59	15,82	36,70	24,90
Androstenediona (ng/mL)	33	2,83	1,29	2,52	1,75
Globulina de ligação das hormonas sexuais - SHBG (nmol/L)	33	33,40	16,50	29,50	16,60
Sulfato Dehidroepiandrosterona - DHEAs (µg/dL)	33	101,06	51,07	92,10	70,05
Ureia (mg/dL)	33	28,06	5,61	28,00	9,50
Ácido Úrico (mg/dL)	33	3,75	0,95	3,50	1,20

Tabela A 8 - Caracterização clínica da população (continuação).

Parâmetros	nT	Sim	%	Não	%
Terapia Hormonal de Substituição	53	17	32,1	36	67,9
Diabetes tipo I	53	-	-	53	100,0
Diabetes tipo II	53	2	3,8	51	96,2
Hipercolesterolemia	53	15	28,3	38	71,7
Hipertrigliceridemia	53	24	45,3	29	54,7
Doença da tireoide	53	2	3,8	51	96,2
Anti-hipertensor	53	22	41,5	31	58,5
Anticolesterol	53	9	17,0	44	83,0
Fumadora	53	3	5,7	50	94,3
Ganho de peso	53	37	69,8	16	30,2
Laqueação	53	14	26,4	39	73,6
Diapositivo Intrauterino (DIU)	53	11	20,8	42	79,2
Histerectomia	53	9	17,0	44	83,0
Anticoncepcionais Orais (ACO)	53	27	50,9	26	49,1
Antidiabéticos Orais (ADO)	53	1	1,9	52	98,1

Tabela A 9 - Caracterização social da população.

	Estado Civil	%
Solteira	1	1,9
Casada	43	81,1
Viúva	3	5,7
Divorciada	6	11,3
	Localidade	%
Áreas densamente povoadas	22	41,5
Áreas moderadamente povoadas	22	41,5
Áreas pouco povoadas	7	13,2
	Escolaridade	%
1º Ciclo	29	54,7
2º Ciclo	8	15,1
3º Ciclo	11	20,8
Ensino Secundário	1	1,9
Ensino Superior	4	7,5
	Razão para o ganho de peso	%
Desconhecida	13	24,5
Gravidez	7	13,2
Desemprego	2	3,8
Menopausa	14	26,4
Histerectomia	1	1,9

Tabela A 10 - Caracterização clínica e bioquímica da população segundo a evolução da menopausa.

Parâmetros	Evolução da menopausa < 7 anos			Evolução da menopausa ≥ 7 anos		
	n	Média	DP	n	Média	DP
Idade (anos)	26	52,15	4,04	27	57,96	4,07
Evolução da menopausa (anos)	26	3,08	1,74	27	11,37	4,12
Parâmetros Antropométricos						
Peso (kg)	26	78,80	15,45	27	77,04	14,92
Altura (m)	26	1,60	0,04	27	1,60	0,05
IMC (kg/m ²)	26	30,96	5,88	27	30,14	5,91
Perfil lipídico						
Colesterol Total (mg/dL)	19	145,84	26,59	14	144,57	26,14
Triglicérides Totais (mg/dL)	19	112,68	64,29	14	115,79	66,80
HDL (mg/dL)	19	39,63	8,74	14	38,21	7,91
LDL (mg/dL)	19	83,63	20,60	14	83,36	20,78
Marcadores de dano celular						
Aspartato Aminotransferase - AST (U/L)	19	16,00	4,15	14	16,00	4,66
Alanina Aminotransferase - ALT (U/L)	19	26,11	7,36	14	26,21	6,83
Gama Glutamil Transferase - GGT (U/L)	17	22,29	13,61	12	24,17	11,82
Fosfatase Alcalina - ALP (U/L)	19	63,63	16,85	14	60,64	10,13
Outros parâmetros						
Interleucina 6 - IL-6 (pg/mL)	16	55,25	18,77	13	50,92	14,27
Interleucina 10 - IL-10 (pg/mL)	16	15,97	2,62	13	15,02	3,14
Proteína Quimiotática de Monócitos 1 - MCP-1 (pg/mL)	16	89,59	24,07	13	125,25	45,78
Proteína C-Reativa (mg/L)	19	0,06	-	14	0,09	0,08
Estradiol (pg/mL)	18	19,39	17,01	14	12,71	3,65
Hormona Luteinizante (mUI/mL)	19	18,04	6,92	14	16,14	5,92
Hormona Folículo Estimulante (mUI/mL)	19	38,02	17,46	14	34,65	13,67
Androstenediona (ng/mL)	19	2,82	1,06	14	2,83	1,60
Globulina de ligação das hormonas sexuais - SHBG (nmol/L)	19	36,17	19,26	14	29,65	11,41
Sulfato Dehidroepiandrosterona - DHEAs (µg/dL)	19	112,13	57,00	14	86,04	38,71
Ureia (mg/dL)	19	28,95	5,90	14	26,86	5,14
Ácido Úrico (mg/dL)	19	3,79	1,09	14	3,70	0,75

B. Diagrama do processo experimental

A figura B1 representa a representação esquemática do processo experimental utilizado.

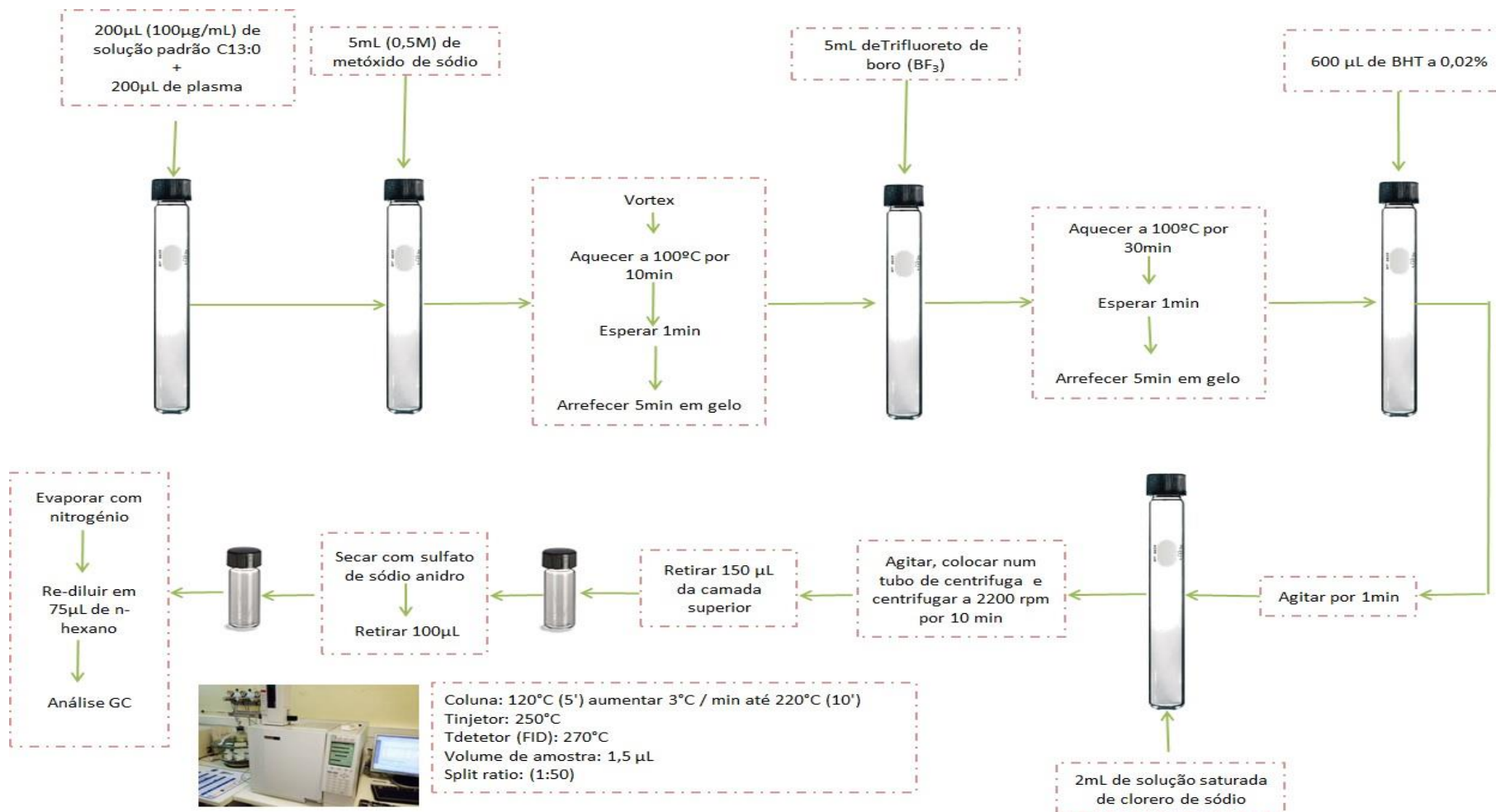


Figura B 1 - Representação esquemática do processo experimental.

C. Certificado de análise – Mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos C37

A figura C1 apresenta o certificado de análise relativo à mistura de 37 ésteres metílicos de ácidos gordos (C37).

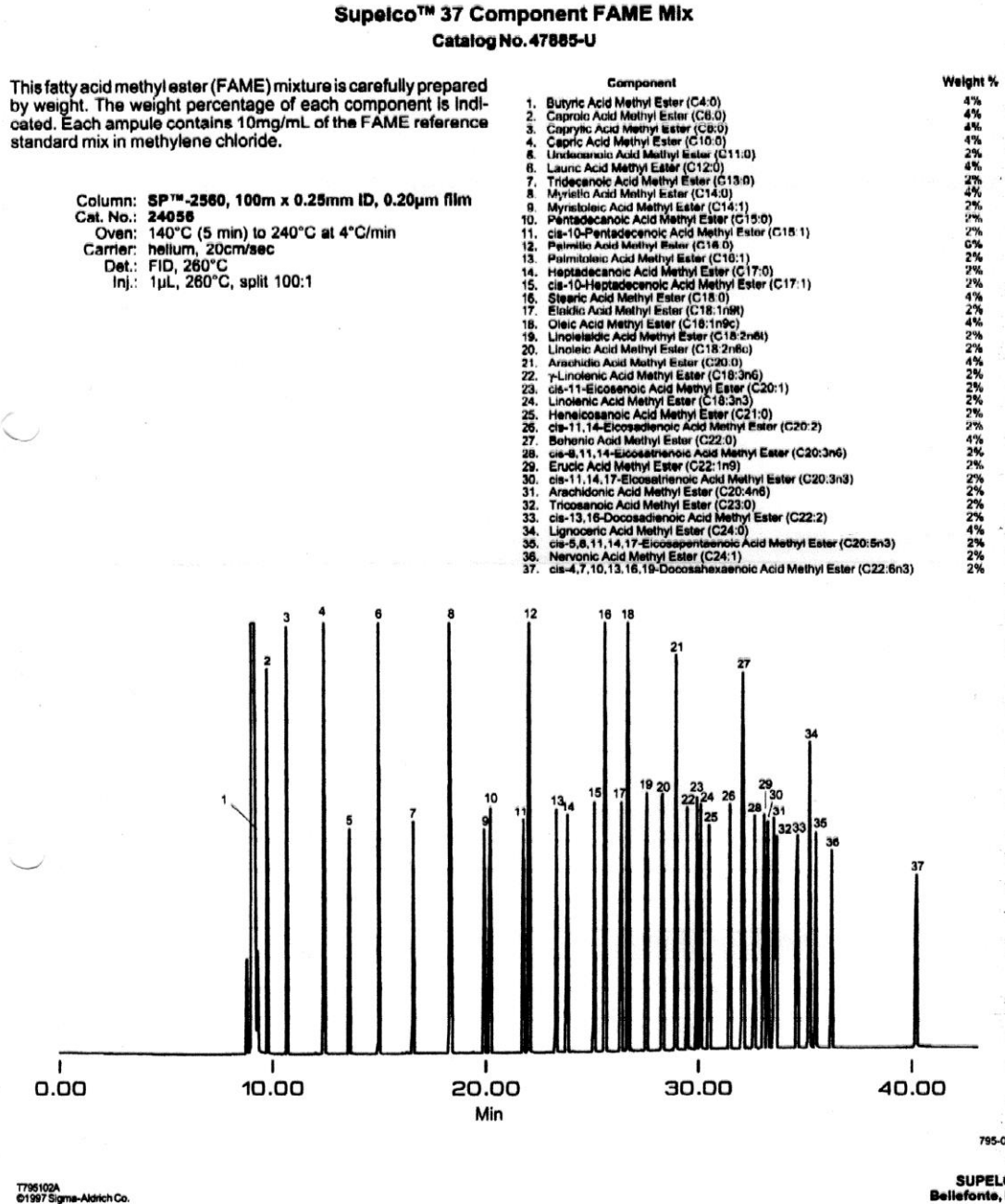


Figura C 1 - Certificado de análise de mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos.

D. Material Suplementar - A relação do perfil de ácidos gordos e a metainflamação em mulheres pós-menopausa

Nesta secção apresentam-se as tabelas constituintes do material suplementar do artigo apresentado no capítulo 3 secção 3.3, sub-secção 3.3.1.

Tabela D 1 – (Table S 1) The eleven sub-groups of fatty acids profile studied, according to the chemical classification.

Σ Saturated FA	C4:0; C6:0; C8:0; C12:0; C14:0; C15:0; C16:0; C17:0; C18:0; C21:0; C23:0; C24:0
Σ Unsaturated cis FA	C14:1 ω 5; C15:1 ω 5; C16:1 ω 7; C17:1 ω 7; C18:1 ω 9c; C18:2 ω 6c; C18:3 ω 6; C20:1 ω 9; C18:3 ω 3; C20:2 ω 6; C20:3 ω 3; C20:4 ω 6; C20:5 ω 3; C24:1 ω 9; C22:6 ω 3
Σ Monounsaturated cis FA	C14:1 ω 5; C15:1 ω 5; C16:1 ω 7; C17:1 ω 7; C18:1 ω 9c; C20:1 ω 9; C24:1 ω 9
Σ Polyunsaturated cis FA	C18:2 ω 6c; C18:3 ω 6; C18:3 ω 3; C20:2 ω 6; C20:3 ω 3; C20:4 ω 6; C20:5 ω 3; C22:6 ω 3
Σ Polyunsaturated trans FA	C18:2 ω 6t
Σ Short-Chain FA	C4:0; C6:0; C8:0
Σ Omega 3 FA	C18:3 ω 3; C20:3 ω 3; C20:5 ω 3; C22:6 ω 3
Σ Omega 6 FA	C18:2 ω 6c; C18:3 ω 6; C20:2 ω 6; C20:4 ω 6
Σ Omega 9 FA	C18:1 ω 9c; C20:1 ω 9; C24:1 ω 9
Σ Long-Chain Saturated FA	C12:0; C14:0; C15:0; C16:0; C17:0; C18:0; C21:0; C23:0; C24:0
Σ Lauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid	C12:0; C14:0; C16:0; C18:0

Omega (ω); fatty acids (FA); sum of fatty acids percentage (Σ).

Tabela D 2 – (Table S 2) Characterization of the studied population.

Parameters			
Hormonal Therapy (Yes/No)	n	%	
Yes	36	67.9	
No	17	32.1	
	n	Median	±IQR
Age (years)	53	55.00	8.00
Menopausal Evolution (years)	53	7.00	7.00
Anthropometric parameters			
Weight (kg)	53	75.00	20.00
Height (m)	53	1.60	0.07
BMI (kg/m ²)	53	29.24	9.09
Plasma lipid profile			
Total Cholesterol (mg/dL)	33	141.00	44.50
Total Triglycerides (mg/dL)	33	87.00	92.50
HDL Cholesterol (mg/dL)	33	37.00	11.00
LDL Cholesterol (mg/dL)	33	85.00	36.50
Cell damage markers			
Aspartate Aminotransferase (U/L)	33	15.00	6.50
Alanine Transaminase (U/L)	33	24.00	8.00
Gama Glutamyl Transferase (U/L)	29	19.00	16.00
Alkaline Phosphatase (U/L)	33	57.00	18.50
Other parameters			
Interleukin 6 (pg/mL)	29	50.22	14.22
Interleukin 10 (pg/mL)	29	15.61	2.53
Monocyte Chemotactic Protein 1 (pg/mL)	29	92.72	64.03
C-reactive Protein (mg/L)	33	0.06	0.00
Estradiol (pg/mL)	32	10.50	7.00
Luteinizing Hormone (mUI/mL)	33	15.60	9.95
Follicle-stimulating Hormone (mUI/mL)	33	36.70	24.90
Androstenedione (ng/mL)	33	2.52	1.75
Sex Hormone-binding Globulin (nmol/L)	33	29.50	16.60
Dehydroepiandrosterone Sulfate (µg/dL)	33	92.10	70.05
Urea (mg/dL)	33	28.00	9.50
Uric Acid (mg/dL)	33	3.50	1.20
Plasma fatty acids profile (%)			
Butyric Acid (C4:0)	51	0.15	0.26
Caproic Acid (C6:0)	31	0.04	0.03
Caprylic Acid (C8:0)	36	0.08	0.04
Lauric Acid (C12:0)	25	0.09	0.07
Myristic Acid (C14:0)	50	0.71	0.50
Myristoleic Acid (C14:1ω5)	11	0.11	0.12
Pentadecanoic Acid (C15:0)	41	0.19	0.09
cis-10-Pentadecenoic Acid (C15:1ω5)	39	0.25	0.23

Interquartile range (±IQR); Body mass index (BMI); High density lipoprotein (HDL); Low density lipoprotein (LDL).

Tabela D2 – (continuação) (Table S 3) Characterization of the studied population.

	n	Median	±IQR
Plasma fatty acids profile (%)			
Palmitic Acid (C16:0)	53	22.84	2.69
Palmitoleic Acid (C16:1ω7)	53	1.82	1.10
Heptadecanoic Acid (C17:0)	43	0.24	0.11
cis-10-Heptadecenoic Acid (C17:1ω7)	42	0.20	0.11
Stearic Acid (C18:0)	53	8.75	1.60
Oleic Acid (C18:1ω9c)	53	20.44	5.48
Linolelaidic Acid (C18:2ω6t)	8	0.11	0.16
α-Linoleic Acid (C18:2ω6c)	53	28.76	7.64
γ-Linolenic Acid (C18:3ω6)	47	0.56	0.21
cis-11-Eicosenoic Acid (C20:1ω9)	45	0.28	0.19
Linolenic Acid (C18:3ω3)	44	0.13	0.06
Heneicosanoic Acid (C21:0)	15	0.05	0.07
cis-11,14-Eicosatrienoic Acid (C20:2ω6)	44	0.23	0.09
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid (C20:3ω3)	52	1.80	0.54
Arachidonic Acid (C20:4ω6)	53	8.05	2.45
Tricosanoic Acid (C23:0)	27	0.51	0.07
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid (C20:5ω3)	48	0.72	0.71
Lignoceric Acid (C24:0)	30	0.06	0.11
Nervonic Acid (C24:1ω9)	44	0.20	0.11
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid (C22:6ω3)	53	2.48	0.80

Interquartile range (±IQR); Body mass index (BMI); High density lipoprotein (HDL); Low density lipoprotein (LDL).

Tabela D 3 – (Table S 4) Characterization of the studied population according to menopausal evolution.

Parameters	Menopausal evolution < 7			Menopausal evolution ≥ 7			p Value
	n	Median	±IQR	n	Median	±IQR	
Plasma fatty acids profile (%)							
Butyric Acid (C4:0)	25	0.14	0.24	26	0.20	0.28	0.440
Caproic Acid (C6:0)	15	0.04	0.03	16	0.04	0.02	1.000
Caprylic Acid (C8:0)	19	0.08	0.04	17	0.09	0.05	0.244
Lauric Acid (C12:0)	14	0.07	0.08	11	0.10	0.07	0.373
Myristic Acid (C14:0)	25	0.70	0.53	25	0.71	0.49	0.823
Myristoleic Acid (C14:1ω5)	7	0.11	0.06	4	0.15	0.16	0.412
Pentadecanoic Acid (C15:0)	21	0.16	0.10	20	0.20	0.14	0.498
cis-10-Pentadecenoic Acid (C15:1ω5)	22	0.25	0.20	17	0.25	0.25	0.747
Palmitic Acid (C16:0)	26	22.62	2.55	27	22.88	3.09	0.929
Palmitoleic Acid (C16:1ω7)	26	1.70	1.43	27	1.90	0.84	0.682
Heptadecanoic Acid (C17:0)	21	0.23	0.10	22	0.27	0.11	0.132
cis-10-Heptadecenoic Acid (C17:1ω7)	21	0.22	0.12	21	0.19	0.13	0.385
Stearic Acid (C18:0)	26	8.61	1.34	27	9.15	2.28	0.150
Oleic Acid (C18:1ω9c)	26	19.95	4.28	27	20.73	6.72	0.444
Linolelaidic Acid (C18:2ω6t)	4	0.08	0.14	4	0.14	0.19	0.686
α-Linoleic Acid (C18:2ω6c)	26	29.79	7.87	27	27.66	6.69	0.364
γ-Linolenic Acid (C18:3ω6)	23	0.57	0.28	24	0.55	0.19	0.750
cis-11-Eicosenoic Acid (C20:1ω9)	23	0.28	0.20	22	0.28	0.17	0.910
Linolenic Acid (C18:3ω3)	23	0.13	0.06	21	0.13	0.06	0.934
Heneicosanoic Acid (C21:0)	8	0.04	0.11	7	0.05	0.07	0.613
cis-11.14-Eicosatrienoic Acid (C20:2ω6)	23	0.23	0.10	21	0.23	0.11	0.581
cis-11.14.17-Eicosatrienoic Acid (C20:3ω3)	25	1.84	0.59	27	1.74	0.53	0.805
Arachidonic Acid (C20:4ω6)	26	7.99	2.68	27	8.05	2.39	0.669
Tricosanoic Acid (C23:0)	17	0.05	0.08	10	0.05	0.12	0.675
cis-5.8.11.14.17-Eicosapentaenoic Acid (C20:5ω3)	24	0.62	0.61	24	0.74	0.85	0.523
Lignoceric Acid (C24:0)	19	0.05	0.13	11	0.09	0.06	0.171
Nervonic Acid (C24:1ω9)	23	0.22	0.14	21	0.20	0.09	0.897
cis-4.7.10.13.16.19-Docosahexaenoic Acid (C22:6ω3)	26	2.61	0.90	27	2.44	0.76	0.803

Interquartile range (IQR); Body mass index (BMI); High density lipoprotein (HDL); Low density lipoprotein (LDL); Values are represented as median (IQR). Statistical analysis with Mann-Whitney tests. Significant *p* value (≤0.05) are shown in bold.

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela D 4 – (Table S 5) Univariable correlation achieved between groups of fatty acid and biochemical parameters in menopause lower than 7 years.

	Menopausal evolution <7 years																							
	Saturated FA		Unsaturated cis FA		Monounsaturated cis FA		Polyunsaturated cis FA		Polyunsaturated trans FA		Omega 3		Omega 6		Omega 9		Short-Chain FA		ΣLauric, Myristic, Palmitic and Stearic Acid		Long-Chain FA			
	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p		
BMI									0.987	0.013														
Ln [Total Triglycerides]					0.730	<0.001	-0.734	<0.001					-0.707	0.001	0.672	0.002	-0.469	0.043	0.490	0.043	0.468	0.033		
Total Cholesterol																	-0.467	0.044						
LDL cholesterol																	-0.461	0.047						
Ln [Estradiol]					-0.515	0.029	0.469	0.050					0.497	0.036	-0.488	0.040								
Ln [GGT]					0.582	0.014	-0.641	0.006					-0.643	0.005	0.526	0.030			0.528	0.046	0.490	0.030		
Ln [ALP]	0.523	0.022	-0.517	0.023									-0.490	0.033					0.553	0.015	0.551	0.014		
[ALT]							-0.472	0.041					-0.541	0.017										
[AST]					0.518	0.023	-0.481	0.037					-0.558	0.013	0.469	0.043								
Ln [IL6]									0.998	0.042														
Ln [IL10]					-0.588	0.017	0.570	0.021			0.590	0.016					0.671	0.004						
[Uric Acid]											0.551	0.015												

Beta values from a linear regression model by stepwise method are reported. Body Mass Index (BMI) kg/m²; Total Tryglicerideos (TT) mg/dL; Total cholesterol (TC) mg/dL; LDL Cholesterol (LDL) mg/dL; Estadiol pg/mL; Gama Glutamil Transferase (GGT) U/L; Alkaline Phosphatase (ALP) U/L; Alanine Transaminase (ALT) U/L; Aspartate Aminotransferase (AST) U/L; Interleukin 6 (IL6) pg/mL; Interleukin 10 (IL10) pg/mL; Uric Acid mg/dL; Neperian Logarithm (Ln); Sum of fatty acids percentage (Σ).

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela D 5 – (Table S 6) Univariable correlation achieved between groups of fatty acid and biochemical parameters in women in menopause equal or higher than 7 years.

	Menopausal evolution ≥7 years									
	Monounsaturated cis FA		Polyunsaturated cis FA		Omega 3		Omega 6		Omega 9	
	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p
BMI					-0.415	0.032				
Ln [Total Triglycerides]	0.757	0.002	-0.679	0.008	-0.717	0.004	-0.598	0.024	0.762	0.002
[ALT]	0.751	0.002	-0.686	0.007			-0.705	0.005	0.739	0.003
[AST]	0.638	0.014	-0.598	0.024			-0.644	0.013	0.601	0.023

Beta values from a linear regression model by stepwise method are reported. Body Mass Index (BMI) kg/m²; Total Triglycerideos (TT) mg/dL; Alanine Transaminase (ALT) U/L; Aspartate Aminotransferase (AST) U/L; Neperian Logarithm (Ln).

Tabela D 6 – (Table S 7) Multivariable correlation achieved between interleukin 10 and omega 3 and short-chain FA. (Performed test: linear regressions by stepwise method)

	Menopausal evolution <7 years					
	Omega 3			Short-Chain FA		
	n	beta	p	n	beta	p
Ln [IL10]	16	0.414	0.043	16	0.534	0.013

Beta values from a linear regression model by stepwise method are reported. Interleukin 10 (IL10) pg/mL; Neperian Logarithm (Ln); variables include in the model: monounsaturated cis FA, polyunsaturated cis FA, omega 3 and short-chain FA.

E. Resultados da análise cromatográfica nas amostras de mulheres pós-menopausa

E.1. Resultados preliminares

As tabelas E1 a E4 apresentam os resultados obtidos para o perfil lipídico de ácidos gordos de cada amostra.

Tabela E 1 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C4:0 a C15:1 ω 5.

AG								
Amostra M	C4:0	C6:0	C8:0	C12:0	C14:0	C14:1 ω 5	C15:0	C15:1 ω 5
1	0,9560 \pm 0,0206	- \pm -	- \pm -	- \pm -	0,6022 \pm 0,0442	- \pm -	0,0680 \pm 0,0045	- \pm -
2	0,3650 \pm 0,0066	0,0331 \pm 0,0024	0,0449 \pm 0,0028	0,0667 \pm 0,0059	0,9368 \pm 0,0659	0,0384 \pm 0,0012	0,1959 \pm 0,0125	0,1151 \pm 0,0018
3	0,2021 \pm 0,0012	0,0776 \pm 0,0032	0,0895 \pm 0,0049	0,0514 \pm 0,0030	0,7048 \pm 0,0475	- \pm -	0,1529 \pm 0,0107	0,1488 \pm 0,0069
4	0,1335 \pm 0,0052	0,0588 \pm 0,0003	0,0938 \pm 0,0050	0,1401 \pm 0,0069	0,8000 \pm 0,0564	0,1012 \pm 0,0012	0,2191 \pm 0,0006	0,0416 \pm 0,0015
5	0,5061 \pm 0,0144	- \pm -	- \pm -	- \pm -	0,5115 \pm 0,0224	- \pm -	- \pm -	- \pm -
6	1,1482 \pm 0,1924	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -
7	0,3605 \pm 0,0143	- \pm -	- \pm -	- \pm -	0,6798 \pm 0,0315	- \pm -	- \pm -	- \pm -
8	0,0969 \pm 0,0070	0,0330 \pm 0,0002	0,0622 \pm 0,0031	0,0768 \pm 0,0070	0,5572 \pm 0,0540	- \pm -	0,2226 \pm 0,0011	0,0799 \pm 0,0006
9	1,1906 \pm 0,0600	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -
10	0,1166 \pm 0,0047	0,0337 \pm 0,0006	0,0477 \pm 0,0011	0,0674 \pm 0,0027	1,4425 \pm 0,1078	- \pm -	0,2524 \pm 0,0154	0,3184 \pm 0,0012
11	0,4601 \pm 0,1081	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -	- \pm -
12	0,1763 \pm 0,0086	0,0656 \pm 0,0018	0,0817 \pm 0,0028	0,0594 \pm 0,0044	0,6599 \pm 0,0034	- \pm -	0,2382 \pm 0,0198	0,5122 \pm 0,0347
13	0,1079 \pm 0,0002	0,0284 \pm 0,0022	0,1032 \pm 0,0046	0,0498 \pm 0,0038	0,3521 \pm 0,0031	- \pm -	0,1185 \pm 0,0001	0,4094 \pm 0,0281
14	0,1000 \pm 0,0056	0,0460 \pm 0,0018	0,0643 \pm 0,0017	0,4083 \pm 0,0385	1,9444 \pm 0,0378	0,1126 \pm 0,0016	0,3701 \pm 0,0312	0,2123 \pm -3
15	0,1127 \pm 0,0025	- \pm -	- \pm -	- \pm -	0,3082 \pm 0,0009	- \pm -	- \pm -	- \pm -
16	0,6166 \pm 0,0024	0,1412 \pm 0,0136	0,1000 \pm 0,0014	- \pm -	0,4910 \pm 0,0316	- \pm -	0,1125 \pm 0,0063	- \pm -
17	0,0862 \pm 0,0055	0,0413 \pm 0,0022	0,0507 \pm 0,0014	0,1354 \pm 0,0069	1,0962 \pm 0,0067	- \pm -	0,2028 \pm 0,0137	0,2669 \pm 0,0028
18	0,0352 \pm 0,0008	- \pm -	- \pm -	- \pm -	0,3699 \pm 0,0264	- \pm -	- \pm -	0,1781 \pm 0,0050
19	0,0531 \pm 0,0050	0,0372 \pm 0,0011	- \pm -	- \pm -	0,2828 \pm 0,0189	- \pm -	- \pm -	0,5121 \pm 0,0333
20	0,2037 \pm 0,0002	- \pm -	- \pm -	- \pm -	1,5445 \pm 0,0229	- \pm -	0,1995 \pm 0,0079	- \pm -

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E1- (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C4:0 a C15:1ω5.

Amostra M	AG							
	C4:0	C6:0	C8:0	C12:0	C14:0	C14:1ω5	C15:0	C15:1ω5
21	0,4809 ± 0,0325	0,2099 ± 0,0130	- ± -	- ± -	0,3552 ± 0,0084	0,2692 ± 0,0245	0,3874 ± 0,0028	0,4913 ± 0,0307
22	- ± -	0,0347 ± 0,0022	0,0792 ± 0,0033	- ± -	0,8218 ± 0,0464	- ± -	0,0670 ± 0,0053	0,2248 ± 0,0148
23	0,1336 ± 0,0012	0,0384 ± 0,0036	0,0446 ± 0,0017	0,1188 ± 0,0059	1,2816 ± 0,0280	- ± -	0,1610 ± 0,0043	0,2250 ± 0,0054
24	0,2866 ± 0,0068	0,0542 ± 0,0019	0,0637 ± 0,0029	0,0644 ± 0,0045	0,7353 ± 0,0192	- ± -	0,1056 ± 0,0101	0,0748 ± 0,0060
25	0,7425 ± 0,0081	0,1612 ± 0,0017	0,2927 ± 0,0048	- ± -	1,0746 ± 0,0495	- ± -	0,5459 ± 0,0042	0,3573 ± 0,0161
26	0,0709 ± 0,0017	0,0631 ± 0,0034	0,1197 ± 0,0062	- ± -	0,5654 ± 0,0432	- ± -	- ± -	0,3058 ± 0,0017
27	0,0975 ± 0,0044	0,0459 ± 0,0022	0,0948 ± 0,0038	- ± -	0,7077 ± 0,0262	- ± -	0,1882 ± 0,0154	- ± -
28	0,3426 ± 0,0117	0,0391 ± 0,0005	0,0626 ± 0,0010	0,1364 ± 0,0012	0,9816 ± 0,0229	- ± -	0,2148 ± 0,0091	- ± -
29	1,0091 ± -	- ± -	0,2122 ± -	0,3454 ± -	0,9963 ± -	0,1891 ± -	0,4218 ± -	0,2175 ± -
30	0,1154 ± 0,0077	0,0704 ± 0,0024	0,0816 ± 0,0041	- ± -	0,6040 ± 0,0189	- ± -	- ± -	0,2484 ± 0,0088
31	0,1170 ± 0,0080	0,0410 ± 0,0004	0,0644 ± 0,0025	- ± -	0,6424 ± 0,0026	0,1091 ± 0,0008	0,1512 ± 0,0125	0,1677 ± 0,0111
32	0,1082 ± 0,0024	0,0460 ± 0,0021	0,0720 ± 0,0064	0,0866 ± 0,0077	1,4413 ± 0,0075	0,0892 ± 0,0006	0,1712 ± 0,0043	- ± -
33	0,0868 ± 0,0044	0,0198 ± 0,0015	0,0408 ± 0,0028	0,1257 ± 0,0103	1,1252 ± 0,0159	0,0651 ± 0,0023	0,1366 ± 0,0067	0,1228 ± 0,0061
34	0,0718 ± 0,0022	- ± -	- ± -	- ± -	1,2647 ± 0,0107	- ± -	0,2364 ± 0,0148	0,0785 ± 0,0017
35	0,6292 ± 0,0366	- ± -	- ± -	- ± -	0,3442 ± 0,0251	- ± -	0,1163 ± 0,0059	0,4550 ± 0,0110
36	0,0251 ± 0,0005	0,0514 ± 0,0047	0,0808 ± 0,0019	- ± -	0,3778 ± 0,0002	- ± -	0,1452 ± 0,0053	0,6011 ± 0,0489
37	0,1362 ± 0,0015	0,0393 ± 0,0032	0,0638 ± 0,0022	0,0994 ± 0,0037	1,1483 ± 0,0344	- ± -	0,2981 ± 0,0005	0,3928 ± 0,0116
38	0,2042 ± 0,0004	- ± -	- ± -	- ± -	1,1751 ± 0,0101	- ± -	- ± -	- ± -
39	0,1411 ± 0,0055	0,0378 ± 0,0007	0,1114 ± 0,0068	0,1395 ± 0,0023	1,0154 ± 0,0087	- ± -	0,2259 ± 0,0197	0,2292 ± 0,0046
40	0,0582 ± 0,0039	- ± -	- ± -	- ± -	0,8531 ± 0,0551	- ± -	- ± -	- ± -
41	0,7349 ± 0,0103	- ± -	- ± -	- ± -	0,4183 ± 0,0291	- ± -	0,5265 ± 0,0353	0,2504 ± 0,0124
42	0,3017 ± 0,0071	- ± -	- ± -	- ± -	0,5347 ± 0,0048	- ± -	0,1448 ± 0,0008	0,4937 ± 0,0317
43	0,0975 ± 0,0013	0,0409 ± 0,0008	0,1325 ± 0,0107	0,0752 ± 0,0070	0,7017 ± 0,0150	- ± -	0,1881 ± 0,0091	0,2275 ± 0,0022
44	0,1374 ± 0,0062	- ± -	0,2174 ± 0,0125	- ± -	1,0687 ± 0,0134	0,2366 ± 0,0047	0,1746 ± 0,0101	0,2975 ± 0,0208
45	0,2957 ± 0,0130	- ± -	0,2463 ± 0,0149	- ± -	0,5517 ± 0,0056	- ± -	0,2100 ± 0,0163	0,4390 ± 0,0329

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E1- (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C4:0 a C15:1ω5.

AG								
Amostra M	C4:0	C6:0	C8:0	C12:0	C14:0	C14:1ω5	C15:0	C15:1ω5
46	0,1480 ± 0,0077	0,0631 ± 0,0005	0,0963 ± 0,0042	0,1565 ± 0,0080	0,8766 ± 0,0105	0,1130 ± 0,0101	0,2373 ± 0,0012	0,2463 ± 0,0082
47	0,0089 ± 0,0002	- ± -	0,0194 ± 0,0001	- ± -	0,6846 ± 0,0138	- ± -	0,3095 ± 0,0142	0,1234 ± 0,0110
48	0,1967 ± 0,0174	0,0305 ± 0,0026	0,0460 ± 0,0028	0,0506 ± 0,0012	0,8966 ± 0,0031	- ± -	0,1553 ± 0,0047	0,2248 ± 0,0061
49	0,2133 ± 0,0001	0,0261 ± -	0,0775 ± 0,0066	0,0385 ± 0,0020	0,5269 ± 0,0170	0,0483 ± 0,0020	0,1218 ± 0,0028	0,3894 ± 0,0349
50	- ± -	- ± -	0,0483 ± -	0,0883 ± -	0,9217 ± -	- ± -	0,3647 ± -	0,2901 ± -
51	0,1906 ± 0,0133	0,0330 ± 0,0016	0,0685 ± 0,0010	0,0974 ± 0,0055	0,8685 ± 0,0389	- ± -	0,1487 ± 0,0056	0,1314 ± 0,0019
52	0,0979 ± 0,0044	- ± -	0,0763 ± 0,0026	0,0686 ± 0,0061	0,5667 ± 0,0117	- ± -	0,1454 ± 0,0005	0,5204 ± 0,0139
53	0,2907 ± 0,0104	- ± -	0,1607 ± 0,0089	0,0505 ± 0,0029	0,3666 ± 0,0185	- ± -	0,1140 ± 0,0001	0,3049 ± 0,0078

(-) não detetado

Tabela E 2 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C16:0 a C18:2ω6c.

AG								
Amostra M	C16:0	C16:1ω7	C17:0	C17:1ω7	C18:0	C18:1ω9c	C18:2ω6t	C18:2ω6c
1	21,7213 ± 0,0183	1,1729 ± 0,0582	0,1552 ± 0,00004	0,2373 ± 0,0104	8,6105 ± 0,3336	19,2658 ± 0,0170	- ± -	37,0979 ± 0,0837
2	24,1372 ± 0,1396	2,8298 ± 0,0031	0,2830 ± 0,0016	0,2201 ± 0,0035	10,2957 ± 0,0621	23,7012 ± 0,1132	- ± -	21,1135 ± 0,1089
3	22,2000 ± 0,0092	1,3347 ± 0,0624	0,3205 ± 0,0038	0,1634 ± 0,0033	8,7252 ± 0,0249	20,1914 ± 0,0934	- ± -	30,0012 ± 0,0049
4	22,4079 ± 0,0398	1,7915 ± 0,0338	0,1643 ± 0,0059	- ± -	9,1071 ± 0,2287	18,7893 ± 0,0243	0,0504 ± 0,0018	30,1546 ± 0,1510
5	25,1605 ± 0,6180	2,9371 ± 0,1217	- ± -	- ± -	7,2528 ± 0,4130	20,9934 ± 0,2632	- ± -	28,7550 ± 0,3556
6	22,0804 ± 7,1270	1,6056 ± 0,7375	- ± -	- ± -	9,5678 ± 1,3688	18,1821 ± 1,2118	- ± -	34,1576 ± 6,0939
7	22,8837 ± 0,0917	2,1982 ± 0,1170	- ± -	- ± -	11,2393 ± 0,9399	16,8656 ± 0,4281	- ± -	30,5501 ± 1,0065
8	20,4327 ± 0,0983	1,4168 ± 0,0213	0,2934 ± 0,0218	0,1542 ± 0,0072	9,7927 ± 0,0114	16,9026 ± 0,3511	0,0878 ± 0,0064	34,9792 ± 0,0576
9	24,1637 ± 0,5921	1,0893 ± 0,0892	- ± -	- ± -	8,9799 ± 0,7839	16,8295 ± 0,0957	- ± -	38,7734 ± 0,3856
10	24,6736 ± 0,3072	2,4346 ± 0,1023	0,4646 ± 0,0270	0,3371 ± 0,0291	8,1349 ± 0,0552	22,1847 ± 0,0780	0,1293 ± 0,0518	25,3713 ± 0,0284
11	27,6977 ± 0,0386	2,6156 ± 0,0763	- ± -	- ± -	11,2002 ± 0,5822	28,4731 ± 0,0023	- ± -	18,4637 ± 0,0929

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E2 – (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C16:0 a C18:2 ω 6c.

AG								
Amostra M	C16:0	C16:1 ω 7	C17:0	C17:1 ω 7	C18:0	C18:1 ω 9c	C18:2 ω 6t	C18:2 ω 6c
12	22,4427 ± 0,0661	1,5698 ± 0,0470	0,2750 ± 0,0044	0,3008 ± 0,0035	8,6182 ± 0,0309	17,9754 ± 0,0015	0,2420 ± 0,0189	31,1831 ± 0,0336
13	21,2011 ± 0,0409	0,7780 ± 0,0353	0,2353 ± 0,0022	0,2299 ± 0,0106	11,6167 ± 0,0729	15,4739 ± 0,0199	- ± -	32,7481 ± 0,0111
14	24,0626 ± 0,0149	2,0095 ± 0,0382	0,2930 ± 0,0008	0,2161 ± 0,0039	8,7868 ± 0,1250	18,6626 ± 0,1640	0,0572 ± 0,0002	26,9447 ± 0,2323
15	22,5937 ± 0,2810	0,8705 ± 0,0556	- ± -	- ± -	12,8892 ± 1,0376	20,7257 ± 0,4197	- ± -	28,7904 ± 0,2577
16	22,7467 ± 0,3907	1,7641 ± 0,0878	0,1472 ± 0,0144	0,1167 ± 0,0011	9,1541 ± 0,1896	23,9849 ± 0,2876	0,1523 ± 0,0011	28,8214 ± 0,2374
17	24,9455 ± 0,0148	2,6502 ± 0,0205	0,2750 ± 0,0177	0,2073 ± 0,0029	10,3173 ± 0,0222	23,3243 ± 0,0702	- ± -	21,2760 ± 0,0172
18	17,0943 ± 0,0509	1,0619 ± 0,0907	0,2128 ± 0,0198	0,2490 ± 0,0036	5,9522 ± 0,1368	44,7238 ± 0,0817	- ± -	19,2938 ± 0,2142
19	20,0807 ± 0,2067	1,1332 ± 0,0476	0,2081 ± 0,0046	0,2420 ± 0,0116	8,4898 ± 0,0169	17,5626 ± 0,0892	- ± -	33,9374 ± 0,1442
20	30,1881 ± 0,0832	3,7683 ± 0,1433	0,3307 ± 0,0039	0,2927 ± 0,0086	6,6644 ± 0,0511	21,2562 ± 0,0329	- ± -	21,7133 ± 0,0893
21	20,5800 ± 0,5515	1,5579 ± 0,0036	0,4223 ± 0,0237	0,1943 ± 0,0190	8,2095 ± 0,2674	17,5724 ± 0,3646	- ± -	34,4601 ± 0,2063
22	24,8657 ± 0,0323	2,3052 ± 0,0644	0,2643 ± 0,0182	0,3219 ± 0,0013	11,4493 ± 0,0268	23,6054 ± 0,0124	- ± -	22,6048 ± 0,1392
23	26,8643 ± 0,0120	3,7270 ± 0,0137	0,2319 ± 0,0211	0,2007 ± 0,0104	9,1998 ± 0,0038	20,4991 ± 0,0240	- ± -	25,3842 ± 0,0139
24	22,9731 ± 0,1473	1,9224 ± 0,0272	0,1520 ± 0,0003	0,0848 ± 0,0053	7,8331 ± 0,0479	26,4243 ± 0,0086	- ± -	27,0071 ± 0,0374
25	22,7959 ± 0,0695	1,2016 ± 0,0510	- ± -	- ± -	8,9780 ± 0,3172	17,6508 ± 0,2394	- ± -	31,0001 ± 0,1254
26	22,8798 ± 0,0836	1,8984 ± 0,0984	0,3541 ± 0,0172	0,1740 ± 0,0134	11,1303 ± 0,1798	24,6060 ± 0,1562	- ± -	25,0232 ± 0,0848
27	22,0598 ± 0,0682	2,3296 ± 0,0438	0,2789 ± 0,0214	0,1898 ± 0,0040	9,7456 ± 0,1078	18,7387 ± 0,0172	- ± -	27,6573 ± 0,0150
28	22,8406 ± 0,0166	2,2408 ± 0,0108	0,2338 ± 0,0030	0,1396 ± 0,0122	8,4732 ± 0,1009	23,2029 ± 0,1063	- ± -	24,0486 ± 0,1627
29	24,2799 ± -	2,2599 ± -	0,2915 ± -	0,1512 ± -	8,1936 ± -	20,4183 ± -	- ± -	26,0113 ± -
30	21,9969 ± 0,0705	0,9392 ± 0,0522	0,2217 ± 0,0006	0,1452 ± 0,0084	8,4169 ± 0,0937	18,5545 ± 0,0977	- ± -	31,9063 ± 0,0556
31	22,2218 ± 0,0819	2,1648 ± 0,0291	0,1599 ± 0,0113	0,1477 ± 0,0083	7,6425 ± 0,0369	19,3415 ± 0,0454	- ± -	33,3372 ± 0,1776
32	29,7825 ± 0,1819	2,6184 ± 0,0080	0,3404 ± 0,0075	0,2254 ± 0,0007	10,4850 ± 0,0489	27,2849 ± 0,0095	- ± -	17,3723 ± 0,2850
33	26,7483 ± 0,0691	3,5879 ± 0,0175	0,1751 ± 0,0101	0,2340 ± 0,0191	8,5662 ± 0,0094	22,9190 ± 0,0264	- ± -	20,9695 ± 0,0332
34	25,6978 ± 0,0250	2,5775 ± 0,0849	0,1538 ± 0,0037	0,1562 ± 0,0070	7,6414 ± 0,1316	25,6335 ± 0,0596	- ± -	23,6325 ± 0,1145
35	21,4738 ± 0,1407	1,1622 ± 0,0081	0,1633 ± 0,0067	0,5312 ± 0,0106	10,4472 ± 0,0644	13,8116 ± 0,0934	- ± -	29,5775 ± 0,1788

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E2 – (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C16:0 a C18:2 ω 6c.

AG										
Amostra M	C16:0	C16:1 ω 7	C17:0	C17:1 ω 7	C18:0	C18:1 ω 9c	C18:2 ω 6t			C18:2 ω 6c
36	21,3399 ± 0,1386	0,9390 ± 0,0542	0,3013 ± 0,0131	0,3474 ± 0,0117	8,0820 ± 0,0479	22,3464 ± 0,0773	-	±	-	31,8061 ± 0,0496
37	23,1864 ± 0,0306	2,3385 ± 0,0443	0,2053 ± 0,0091	0,1726 ± 0,0035	9,6267 ± 0,0077	16,7657 ± 0,0990	-	±	-	29,2045 ± 0,2791
38	24,6232 ± 0,4082	1,2354 ± 0,0566	- ± -	- ± -	7,6774 ± 0,1604	23,5187 ± 0,3789	-	±	-	27,7572 ± 0,2692
39	22,9565 ± 0,0086	2,3043 ± 0,0095	0,3183 ± 0,0199	0,1634 ± 0,0081	8,6610 ± 0,0345	25,2758 ± 0,0082	-	±	-	24,0284 ± 0,0106
40	22,2059 ± 1,3544	1,3031 ± 0,0041	- ± -	- ± -	8,4582 ± 0,2838	27,9814 ± 2,4205	-	±	-	31,0500 ± 0,9780
41	16,8145 ± 0,3941	1,1549 ± 0,0026	0,2553 ± 0,0028	0,3655 ± 0,0092	6,6181 ± 0,2290	33,8984 ± 0,4413	-	±	-	23,7672 ± 0,6828
42	20,8960 ± 0,2054	1,5547 ± 0,0579	0,2265 ± 0,0200	0,4623 ± 0,0270	9,9083 ± 0,0048	17,0158 ± 0,1130	-	±	-	33,3355 ± 0,0267
43	20,6674 ± 0,0223	1,0651 ± 0,0429	0,2955 ± 0,0121	0,1368 ± 0,0022	9,4273 ± 0,0218	17,8909 ± 0,0451	-	±	-	36,0714 ± 0,0489
44	22,8719 ± 0,5984	3,7642 ± 0,2795	- ± -	0,2363 ± 0,0102	7,7782 ± 0,5402	18,2869 ± 0,0137	-	±	-	28,4899 ± 0,0970
45	20,3208 ± 0,0151	1,8180 ± 0,0550	0,3053 ± 0,0046	0,1902 ± 0,0081	8,7525 ± 0,0657	18,3973 ± 0,1348	0,3008 ± 0,0132			30,7359 ± 0,0359
46	22,4439 ± 0,1987	1,6301 ± 0,1143	0,1764 ± 0,0162	0,1361 ± 0,0094	9,4650 ± 0,1844	19,5074 ± 0,0471	-	±	-	24,3746 ± 0,1876
47	23,7794 ± 0,0854	2,1520 ± 0,0257	0,1835 ± 0,0154	0,1331 ± 0,0105	8,2053 ± 0,0105	26,7032 ± 0,0516	-	±	-	24,4503 ± 0,1187
48	23,7138 ± 0,0211	2,1702 ± 0,0003	0,2359 ± 0,0022	0,1164 ± 0,0084	7,9420 ± 0,0602	20,4375 ± 0,0096	-	±	-	32,5200 ± 0,0338
49	24,1615 ± 0,0644	1,7619 ± 0,0092	0,2678 ± 0,0013	0,4322 ± 0,0080	11,5891 ± 0,0356	21,0736 ± 0,0032	-	±	-	22,3490 ± 0,0094
50	24,3503 ± -	2,0780 ± -	0,1843 ± -	0,1427 ± -	8,5099 ± -	19,7136 ± -	-	±	-	28,6428 ± -
51	24,2929 ± 0,0263	1,4667 ± 0,0071	0,2672 ± 0,0215	0,0948 ± 0,0035	9,6017 ± 0,0449	20,4937 ± 0,0104	-	±	-	26,7448 ± 0,0153
52	21,0930 ± 0,0256	2,0182 ± 0,0147	0,2270 ± 0,0161	0,4014 ± 0,0147	7,8639 ± 0,0127	20,7907 ± 0,0158	-	±	-	31,2871 ± 0,0280
53	17,0238 ± 0,0212	0,7206 ± 0,0213	0,2271 ± 0,0164	- ± -	9,1499 ± 0,0123	12,2011 ± 0,1300	0,0753 ± 0,0006			45,6466 ± 0,0211

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E 3- Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C18:3 ω6 a C20:4ω6.

Amostra M	AG						
	C18:3ω6	C20:1ω9	C18:3ω3	C21:0	C20:2ω6	C20:3ω3	C20:4ω6
1	0,1094 ± 0,0019	0,1429 ± 0,0103	0,2242 ± 0,0175	- ±	0,2894 ± 0,0263	1,3254 ± 0,0241	5,5673 ± 0,1742
2	0,9925 ± 0,0162	0,2590 ± 0,0063	0,1337 ± 0,0110	0,0408 ± 0,0038	0,2851 ± 0,0069	2,1941 ± 0,0608	8,6428 ± 0,1951
3	0,4960 ± 0,0253	0,1868 ± 0,0026	0,1092 ± 0,0062	0,0376 ± 0,0025	0,1894 ± 0,0042	1,9243 ± 0,0142	8,5637 ± 0,0090
4	0,4484 ± 0,0376	0,1771 ± 0,0091	0,1733 ± 0,0120	0,1599 ± 0,0009	0,1095 ± 0,0088	1,7376 ± 0,0747	8,6538 ± 0,0764
5	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	1,8256 ± 0,0871	8,6150 ± 0,1082
6	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,0901 ± 1,3796	9,3600 ± 3,4903
7	1,1966 ± 0,0952	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,4847 ± 0,1498	8,7368 ± 0,0792
8	0,5640 ± 0,0051	0,5921 ± 0,0399	0,1325 ± 0,0060	0,0296 ± 0,0002	0,2492 ± 0,0190	1,5216 ± 0,0207	7,8697 ± 0,0077
9	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	6,1827 ± 0,1347
10	0,6260 ± 0,0202	0,4282 ± 0,0140	0,1381 ± 0,0002	- ± -	0,2625 ± 0,0058	2,3296 ± 0,0480	6,7488 ± 0,0429
11	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	1,2789 ± 0,9557	7,6989 ± 0,9125
12	0,3184 ± 0,0034	0,1651 ± 0,0009	0,1042 ± 0,0059	- ± -	0,1844 ± 0,0016	2,0126 ± 0,0354	9,7446 ± 0,0033
13	0,5337 ± 0,0433	0,1696 ± 0,0088	0,1366 ± 0,0067	- ± -	0,3069 ± 0,0162	1,8158 ± 0,0163	9,1284 ± 0,1305
14	0,7840 ± 0,0163	0,1616 ± 0,0087	0,1334 ± 0,0017	- ± -	0,2202 ± 0,0005	1,9038 ± 0,0584	8,3315 ± 0,0368
15	0,5204 ± 0,0011	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,1520 ± 0,0374	8,7308 ± 0,0248
16	0,5445 ± 0,0359	0,1242 ± 0,0081	0,1096 ± 0,0097	- ± -	0,1988 ± 0,0148	1,4982 ± 0,1201	6,3053 ± 0,1763
17	0,5729 ± 0,0128	0,2317 ± 0,0154	0,2080 ± 0,0161	- ± -	0,2242 ± 0,0081	1,9023 ± 0,0665	8,4943 ± 0,0082
18	0,6858 ± 0,0386	0,2850 ± 0,0220	0,1861 ± 0,0134	- ±	0,0617 ± 0,0059	1,0880 ± 0,0337	5,7092 ± 0,0803
19	0,5464 ± 0,0187	0,2291 ± 0,0118	0,0497 ± 0,0048	0,1083 ± 0,0057	0,1981 ± 0,0051	1,6021 ± 0,0045	7,9023 ± 0,0864
20	0,6969 ± 0,0544	0,2063 ± 0,0010	0,1130 ± 0,0034	- ± -	0,1443 ± 0,0042	1,7115 ± 0,0205	5,9314 ± 0,0867
21	0,5126 ± 0,0315	0,4856 ± 0,0172	0,1397 ± 0,0030	- ± -	0,3426 ± 0,0149	1,1877 ± 0,0015	8,6927 ± 0,6532
22	0,5800 ± 0,0410	0,2712 ± 0,0117	0,1214 ± 0,0051	- ± -	0,2992 ± 0,0044	1,7163 ± 0,0550	7,3372 ± 0,0090
23	0,6683 ± 0,0291	0,2654 ± 0,0115	0,1001 ± 0,0015	- ± -	0,1885 ± 0,0027	1,8432 ± 0,0646	5,9340 ± 0,0996
24	0,6042 ± 0,0274	0,4322 ± 0,0012	0,1776 ± 0,0044	- ± -	0,1450 ± 0,0039	1,3365 ± 0,0836	6,3931 ± 0,0452
25	0,4843 ± 0,0285	0,2179 ± 0,0037	0,2469 ± 0,0129	0,3119 ± 0,0003	0,4180 ± 0,0022	1,2682 ± 0,0091	7,3072 ± 0,0633

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E3 – (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C18:3 ω6 a C20:4ω6.

AG							
Amostra M	C18:3ω6	C20:1ω9	C18:3ω3	C21:0	C20:2ω6	C20:3ω3	C20:4ω6
26	0,3085 ± 0,0170	0,3632 ± 0,0068	0,3671 ± 0,0217	- ± -	0,1934 ± 0,0129	2,5631 ± 0,0708	6,0494 ± 0,0188
27	0,6791 ± 0,0141	0,3554 ± 0,0109	0,0954 ± 0,0016	- ± -	0,2254 ± 0,0095	2,0041 ± 0,0155	9,6065 ± 0,0852
28	0,4708 ± 0,0012	0,3760 ± 0,0141	0,1547 ± 0,0032	- ± -	0,2938 ± 0,0247	1,9483 ± 0,0392	10,4085 ± 0,1338
29	0,2938 ± -	0,2756 ± -	0,1618 ± -	0,0546 ± -	0,1120 ± -	2,2068 ± -	4,5221 ± -
30	0,5732 ± 0,0173	0,2120 ± 0,000003	0,1653 ± 0,0089	- ± -	0,1475 ± 0,0002	1,9550 ± 0,0224	10,7061 ± 0,0608
31	0,3409 ± 0,0114	0,4621 ± 0,0310	0,0592 ± 0,0025	- ± -	0,2316 ± 0,0098	1,9128 ± 0,0193	8,1174 ± 0,0232
32	0,5350 ± 0,0348	0,2284 ± 0,0037	0,1777 ± 0,0123	0,0774 ± 0,0005	0,1797 ± 0,0017	1,7842 ± 0,0831	4,8742 ± 0,0017
33	0,8022 ± 0,0233	0,3915 ± 0,0001	0,0911 ± 0,0069	- ± -	0,2230 ± 0,0054	1,7774 ± 0,0254	7,5838 ± 0,0250
34	0,4890 ± 0,0201	0,4610 ± 0,0040	0,1464 ± 0,0023	- ± -	0,2142 ± 0,0105	1,7356 ± 0,0024	6,1711 ± 0,0441
35	0,6610 ± 0,0393	0,1115 ± 0,0083	0,1009 ± 0,0028	0,0852 ± 0,0003	0,4423 ± 0,0276	2,1841 ± 0,0862	11,0624 ± 0,0215
36	0,3648 ± 0,0321	0,4163 ± 0,0338	0,1685 ± 0,0129	- ± -	0,2414 ± 0,0145	1,3052 ± 0,0434	5,7847 ± 0,0464
37	0,4999 ± 0,0256	0,2749 ± 0,0014	0,1229 ± 0,0066	- ± -	0,1644 ± 0,0050	1,7311 ± 0,0237	8,3765 ± 0,0338
38	- ± -	1,4539 ± 0,1287	- ± -	- ± -	- ± -	1,1677 ± 0,0726	8,7857 ± 0,4297
39	0,6989 ± 0,0182	0,3091 ± 0,0267	0,1349 ± 0,0101	0,0534 ± 0,0042	0,1758 ± 0,0097	1,6374 ± 0,0009	7,7602 ± 0,0043
40	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	0,7369 ± 0,0255	4,8776 ± 0,3250
41	0,9560 ± 0,0391	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	1,2335 ± 0,0360	8,1361 ± 0,5747
42	1,0444 ± 0,0282	0,1477 ± 0,0013	0,1174 ± 0,0011	- ± -	0,4101 ± 0,0200	1,6426 ± 0,1534	9,0779 ± 0,0305
43	0,4736 ± 0,0038	0,2591 ± 0,0231	0,1027 ± 0,0025	- ± -	0,2556 ± 0,0168	2,2197 ± 0,0072	6,6623 ± 0,0235
44	0,6670 ± 0,0305	0,2576 ± 0,0114	0,1156 ± 0,0040	0,1631 ± 0,0109	0,2372 ± 0,0217	1,3735 ± 0,0365	9,8767 ± 0,0827
45	0,5453 ± 0,0428	0,2824 ± 0,0179	0,0877 ± 0,0022	0,0431 ± 0,0042	0,2531 ± 0,0219	2,1359 ± 0,0052	10,5686 ± 0,1393
46	0,6447 ± 0,0227	0,2834 ± 0,0208	0,1406 ± 0,0024	- ± -	0,1511 ± 0,0122	1,8938 ± 0,0260	9,2331 ± 0,0883
47	0,5703 ± 0,0145	0,3201 ± 0,0166	0,1986 ± 0,0190	0,0314 ± 0,0003	0,2599 ± 0,0062	1,8795 ± 0,0211	6,3082 ± 0,0551
48	0,7807 ± 0,0086	0,3747 ± 0,0029	0,1189 ± 0,0049	- ± -	0,2985 ± 0,0100	2,1423 ± 0,0239	5,6582 ± 0,0284
49	0,4037 ± 0,0355	0,4605 ± 0,0162	0,1147 ± 0,0084	0,0454 ± 0,0029	0,2219 ± 0,0144	1,4180 ± 0,0046	9,5568 ± 0,0016

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E3 – (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C18:3 ω6 a C20:4ω6.

AG							
Amostra M	C18:3ω6	C20:1ω9	C18:3ω3	C21:0	C20:2ω6	C20:3ω3	C20:4ω6
50	0,8348 ± -	0,3150 ± -	0,1079 ± -	0,0213 ± -	0,2600 ± -	2,2186 ± -	6,7170 ± -
51	0,7720 ± 0,0034	0,4680 ± 0,0188	0,0878 ± 0,0059	- ± -	0,2290 ± 0,0094	1,7214 ± 0,0053	8,0463 ± 0,0377
52	0,4507 ± 0,0001	0,3516 ± 0,0141	0,1273 ± 0,0101	- ± -	0,2483 ± 0,0160	1,6574 ± 0,1162	8,5203 ± 0,0319
53	0,4093 ± 0,0069	0,5347 ± 0,0321	0,1290 ± 0,0056	- ± -	0,3645 ± 0,0269	2,0483 ± 0,0571	6,4414 ± 0,0404

(-) não detetado

Comparação dos Perfis Lipídicos de Plasma de uma População da Região Norte

Tabela E 4- Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C23:0 a C22:6ω3.

AG					
Amostra M	C23:0	C20:5ω3	C24:0	C24:1ω9	C22:6ω3
1	- ±	0,1349 ± 0,0119	0,0838 ± 0,0068	0,1044 ± 0,0032	2,1313 ± 0,0122
2	0,0320 ± 0,0013	0,5398 ± 0,0357	0,1606 ± 0,0133	0,3471 ± 0,0060	1,9960 ± 0,0711
3	- ± -	0,7842 ± 0,0088	0,0237 ± 0,0009	0,1253 ± 0,0104	3,1960 ± 0,0490
4	0,1059 ± 0,0004	0,9832 ± 0,0892	0,0613 ± 0,0053	0,1880 ± 0,0020	3,1487 ± 0,1150
5	- ± -	1,1015 ± 0,0430	- ± -	- ± -	2,3416 ± 0,0048
6	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	1,8083 ± 1,4931
7	- ± -	0,6348 ± 0,0243	- ± -	- ± -	2,1699 ± 0,1289
8	- ± -	0,7575 ± 0,0284	0,0756 ± 0,0020	0,1934 ± 0,0158	2,8267 ± 0,1607
9	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,7910 ± 0,0835
10	- ± -	1,2066 ± 0,0979	- ± -	0,2359 ± 0,0039	2,0153 ± 0,1267
11	- ± -	0,7357 ± 0,3168	- ± -	- ± -	1,3761 ± 0,5673
12	0,0505 ± 0,0035	0,3200 ± 0,0166	0,0164 ± 0,0001	0,2858 ± 0,0077	2,3979 ± 0,0224
13	- ± -	1,0171 ± 0,0279	0,0527 ± 0,0017	0,1693 ± 0,0066	3,2175 ± 0,0332
14	- ± -	0,4831 ± 0,0328	0,3127 ± 0,0013	0,3141 ± 0,0122	3,0653 ± 0,2440
15	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,3066 ± 0,0702
16	- ± -	0,4297 ± 0,0210	- ± -	- ± -	2,4413 ± 0,1204
17	0,0154 ± 0,0004	0,5590 ± 0,0109	0,0166 ± 0,00001	0,2687 ± 0,0074	2,6318 ± 0,0233
18	0,0246 ± 0,0004	0,6369 ± 0,0261	0,0237 ± 0,0004	0,1820 ± 0,0120	1,9461 ± 0,1004
19	0,0555 ± 0,0020	2,3204 ± 0,1291	0,0975 ± 0,0015	0,5335 ± 0,0102	3,8181 ± 0,0248
20	- ± -	1,5550 ± 0,0763	- ± -	0,1074 ± 0,0029	3,3729 ± 0,0035
21	0,3167 ± 0,0194	0,1889 ± 0,0099	0,4076 ± 0,0155	0,2896 ± 0,0229	2,2460 ± 0,0604
22	- ± -	0,6243 ± 0,0536	- ± -	0,1967 ± 0,0115	2,2097 ± 0,0610
23	0,0338 ± 0,0016	0,5292 ± 0,0063	0,0455 ± 0,0008	0,2398 ± 0,0147	2,0420 ± 0,0107
24	- ± -	0,7351 ± 0,0324	0,0648 ± 0,0046	0,1423 ± 0,0047	2,1878 ± 0,1107
25	0,1573 ± 0,0054	2,1842 ± 0,0566	0,1549 ± 0,0136	0,3117 ± 0,0036	2,1367 ± 0,1982
26	- ± -	0,3420 ± 0,0020	- ± -	0,1926 ± 0,0001	2,4300 ± 0,0372
27	- ± -	1,3953 ± 0,0146	- ± -	0,1932 ± 0,0026	3,3119 ± 0,0195
28	- ± -	0,7624 ± 0,0546	- ± -	0,1813 ± 0,0172	2,4477 ± 0,1421
29	0,2929 ± -	2,5218 ± -	0,1214 ± -	0,3054 ± -	4,1347 ± -
30	0,0262 ± 0,0073	0,3411 ± 0,0265	- ± -	0,1833 ± 0,0113	2,3901 ± 0,0776
31	- ± -	0,3447 ± 0,0015	0,0533 ± 0,0028	0,3187 ± 0,0270	1,8511 ± 0,0072
32	0,0464 ± 0,0030	0,2769 ± 0,0203	- ± -	0,3245 ± 0,0100	1,3722 ± 0,0789
33	0,0460 ± 0,0007	1,0176 ± 0,0437	0,2555 ± 0,0133	0,2161 ± 0,0064	2,6729 ± 0,0490
34	0,0973 ± 0,0079	0,7556 ± 0,0382	0,1381 ± 0,0023	0,1718 ± 0,0095	2,4760 ± 0,0470
35	0,0703 ± 0,0002	2,1350 ± 0,0502	- ± -	0,1401 ± 0,0063	4,2957 ± 0,0470
36	- ± -	1,2381 ± 0,0104	- ± -	0,1334 ± 0,0053	3,9041 ± 0,0725
37	- ± -	1,9990 ± 0,1667	0,0878 ± 0,0039	0,1452 ± 0,0095	2,9206 ± 0,1589
38	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,4014 ± 0,1945
39	0,0169 ± 0,0001	0,6000 ± 0,0032	0,0356 ± 0,0009	0,2261 ± 0,0117	2,7438 ± 0,0163
40	- ± -	- ± -	- ± -	- ± -	2,4756 ± 0,0419

(-) não detetado

Tabela E4 – (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa e respetivo desvio-padrão (DP), de C23:0 a C22:6 ω 3.

Amostra M	AG				
	C23:0	C20:5 ω 3	C24:0	C24:1 ω 9	C22:6 ω 3
41	- ± -	1,3740 ± 0,0350	- ± -	0,5521 ± 0,0021	2,9442 ± 0,2553
42	0,0413 ± 0,0016	0,2375 ± 0,0004	0,0625 ± 0,0038	0,2071 ± 0,0058	2,1375 ± 0,0784
43	- ± -	0,5625 ± 0,0320	0,0980 ± 0,0027	0,1608 ± 0,0052	2,1880 ± 0,0586
44	0,1557 ± 0,0115	0,5801 ± 0,0180	- ± -	0,4250 ± 0,0231	2,5889 ± 0,1863
45	0,0347 ± 0,0015	0,4536 ± 0,0095	0,2621 ± 0,0116	0,2375 ± 0,0187	2,5324 ± 0,0404
46	0,0805 ± 0,0016	3,5383 ± 0,0832	0,3719 ± 0,0242	0,1654 ± 0,0034	3,8268 ± 0,0061
47	0,0321 ± 0,0008	0,6971 ± 0,0523	- ± -	0,2001 ± 0,0173	2,7501 ± 0,0458
48	0,0558 ± 0,0046	0,2589 ± 0,0028	0,0338 ± 0,0005	0,2186 ± 0,0086	1,3230 ± 0,0015
49	0,0178 ± 0,0014	1,2513 ± 0,0322	0,0380 ± 0,0002	0,1988 ± 0,0094	3,1963 ± 0,0216
50	0,1164 ± -	0,7900 ± -	0,0168 ± -	0,2484 ± -	3,0192 ± -
51	0,0512 ± 0,0043	1,0646 ± 0,0336	- ± -	0,2267 ± 0,0143	2,8330 ± 0,0378
52	0,0259 ± 0,0011	0,5984 ± 0,0057	0,0213 ± 0,0006	0,1798 ± 0,0105	2,6624 ± 0,0082
53	0,1692 ± 0,0005	0,4667 ± 0,0174	0,0603 ± 0,0030	0,3459 ± 0,0237	2,6990 ± 0,0167

(-) não detetado

E.2. Resultados finais

A tabela E5 apresenta os resultados obtidos para o perfil lipídico de cada amostra, segundo os grupos de ácidos gordos considerados.

Tabela E 5 - Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa, segundo grupos de AG.

Amostra M	Σ AG Saturados	Σ AG Insaturados <i>cis</i>	Σ AG Monoinsaturados <i>cis</i>	Σ AG Polinsaturados <i>cis</i>	Σ AG Polinsaturados <i>trans</i>	Σ AG Curta Cadeia	Σ AG Omega 3	Σ AG Omega 6	Σ AG Omega 9	Σ AG Saturados De cadeia longa	Σ Ácido Láurico, Mirístico, Palmítico e Esteárico
1	32,197	67,803	20,923	46,880	-	0,956	3,816	43,064	19,513	31,241	30,934
2	36,592	63,408	27,511	35,897	-	0,443	4,864	31,034	24,307	36,149	35,436
3	32,585	67,415	22,150	45,264	-	0,369	6,014	39,250	20,504	32,216	31,682
4	33,452	66,498	21,089	45,409	0,050	0,286	6,043	39,417	19,154	33,166	32,455
5	33,431	66,569	23,930	42,639	-	0,506	5,269	37,370	20,993	32,925	32,925
6	32,796	67,204	19,788	47,416	-	1,148	3,898	43,518	18,182	31,648	31,648
7	35,163	64,837	19,064	45,773	-	0,360	5,289	40,483	16,866	34,803	34,803
8	31,673	68,239	19,339	48,900	0,088	0,192	5,238	43,750	17,688	31,481	30,859
9	34,334	65,666	17,919	47,747	-	1,191	2,791	44,956	16,829	33,144	33,144
10	35,233	64,637	25,939	38,698	0,129	0,198	5,690	33,138	22,849	35,035	34,318
11	39,358	60,642	31,089	29,553	-	0,460	3,391	26,163	28,473	38,898	38,898
12	32,684	67,074	20,809	46,265	0,242	0,324	4,835	41,672	18,426	32,360	31,780
13	33,866	66,134	17,230	48,904	-	0,240	6,187	42,717	15,813	33,626	33,220
14	36,388	63,555	21,689	41,866	0,057	0,210	5,586	36,338	19,138	36,178	35,202

(-) não detetado

Tabela E5 – (continuação) Perfil lipídico das mulheres pós-menopausa, descritos em percentagem relativa, segundo grupos de AG.

Amostra M	\sum AG Saturados	\sum AG Insaturados <i>cis</i>	\sum AG Monoinsaturados <i>cis</i>	\sum AG Polinsaturados <i>cis</i>	\sum AG Polinsaturados <i>trans</i>	\sum AG Curta Cadeia	\sum AG Omega 3	\sum AG Omega 6	\sum AG Omega 9	\sum AG Saturados De cadeia ^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53}	\sum Ácido Láurico, Mirístico, Palmítico e Estearíco
15	35,904	64,096	21,596	42,500	-	0,113	4,459	38,042	20,726	35,791	35,791
16	33,509	66,338	25,990	40,349	0,152	0,858	4,479	36,022	24,109	32,651	32,392
17	37,182	62,818	26,949	35,869	-	0,178	5,301	30,567	23,825	37,004	36,494
18	23,713	76,287	46,680	29,608	-	0,035	3,857	25,750	45,191	23,677	23,416
19	29,413	70,587	20,212	50,375	-	0,090	7,790	42,584	18,325	29,323	28,853
20	39,131	60,869	25,631	35,238	-	0,204	6,752	28,486	21,570	38,927	38,397
21	31,369	68,631	20,860	47,770	-	0,691	3,762	44,008	18,348	30,679	29,145
22	37,582	62,418	26,925	35,493	-	0,114	4,672	30,821	24,073	37,468	37,137
23	38,153	61,847	25,157	36,690	-	0,217	4,515	32,175	21,004	37,937	37,465
24	32,333	67,667	29,081	38,586	-	0,405	4,437	34,149	26,999	31,928	31,606
25	35,215	64,785	19,739	45,046	-	1,196	5,836	39,210	18,180	34,019	32,849
26	35,183	64,817	27,540	37,277	-	0,254	5,702	31,574	25,162	34,930	34,575
27	33,218	66,782	21,807	44,975	-	0,238	6,807	38,168	19,287	32,980	32,513
28	33,325	66,675	26,141	40,535	-	0,444	5,313	35,222	23,760	32,880	32,432
29	36,219	63,781	23,817	39,964	-	1,221	9,025	30,939	20,999	34,997	33,815
30	31,533	68,467	20,283	48,184	-	0,267	4,851	43,333	18,950	31,266	31,018
31	31,094	68,906	22,711	46,195	-	0,222	4,168	42,027	20,122	30,871	30,507
32	42,657	57,343	30,771	26,572	-	0,226	3,611	22,961	27,838	42,431	41,795
33	37,326	62,674	27,536	35,138	-	0,147	5,559	29,579	23,527	37,179	36,565
34	35,301	64,699	29,078	35,620	-	0,072	5,114	30,507	26,266	35,229	34,604
35	33,330	66,670	16,212	50,459	-	0,629	8,716	41,743	14,063	32,700	32,265
36	30,404	69,596	24,784	44,813	-	0,157	6,616	38,197	22,896	30,246	29,800
37	34,891	65,109	20,090	45,019	-	0,239	6,774	38,245	17,186	34,652	34,061
38	33,680	66,320	26,208	40,112	-	0,204	3,569	36,543	24,973	33,476	33,476
39	33,713	66,287	28,508	37,779	-	0,290	5,116	32,663	25,811	33,422	32,772
40	31,575	68,425	29,284	39,140	-	0,058	3,213	35,928	27,981	31,517	31,517
41	25,368	74,632	36,221	38,411	-	0,735	5,552	32,859	34,450	24,633	23,851
42	32,116	67,884	19,881	48,003	-	0,302	4,135	43,868	17,371	31,814	31,339
43	31,724	68,276	19,740	48,536	-	0,271	5,073	43,463	18,311	31,453	30,872
44	32,567	67,433	23,504	43,929	-	0,355	4,658	39,271	18,969	32,212	31,719
45	31,022	68,677	21,365	47,312	0,301	0,542	5,210	42,404	18,917	30,480	29,625
46	34,116	65,884	22,082	43,803	-	0,307	9,399	34,403	19,956	33,808	32,942
47	33,254	66,746	29,632	37,114	-	0,028	5,525	31,589	27,223	33,226	32,669
48	33,357	66,643	23,542	43,101	-	0,273	3,843	39,257	21,031	33,084	32,603
49	37,124	62,876	24,365	38,512	-	0,317	5,980	32,531	21,733	36,807	36,316
50	34,622	65,378	22,788	42,590	-	0,048	6,136	36,455	20,277	34,574	33,870
51	35,620	64,380	22,881	41,499	-	0,292	5,707	35,792	21,188	35,328	34,861
52	30,186	69,814	24,262	45,552	-	0,174	5,046	40,506	21,322	30,012	29,592
53	27,613	72,312	14,107	58,205	0,075	0,451	5,343	52,937	13,082	27,161	26,591

(-) não detetado

E.3. Caracterização lipídica da população

As tabelas E6 e E7 apresentam os resultados obtidos para a caracterização relativamente ao perfil lipídico da população global e de acordo com a evolução menopausal, respetivamente. Os dados apresentados foram obtidos pelo recurso ao *software* “IBM SPSS Statistics 21”.

Tabela E 6 - Caracterização lipídica da população global.

Parâmetros	n	Média	±DP
Perfil lipídico consoante AG (%)			
Ácido butírico - C4:0	51	0,29	0,29
Ácido capríco - C6:0	31	0,06	0,04
Ácido caprílico - C8:0	36	0,09	0,06
Ácido láurico - C12:0	25	0,11	0,09
Ácido mirístico - C14:0	50	0,80	0,36
Ácido mirístoleico - C14:1 ω 5	11	0,12	0,08
Ácido pentadecílico - C15:0	41	0,21	0,11
Ácido <i>cis</i> -10-pentadecenóico - C15:1 ω 5	39	0,28	0,15
Ácido palmítico - C16:0	53	22,98	2,60
Ácido palmitoleico - C16:1 ω 7	53	1,91	0,77
Ácido margárico - C17:0	43	0,25	0,07
Ácido <i>cis</i> -10-heptadecenóico - C17:1 ω 7	42	0,22	0,10
Ácido esteárico - C18:0	53	9,04	1,39
Ácido oleico - C18:1 ω 9c	53	21,29	5,16
Ácido linoleláidico - C18:2 ω 6t	8	0,14	0,09
Ácido linoleico (LA) - C18:2 ω 6c	53	28,42	5,50
Ácido γ -linolénico - C18:3 ω 6	47	0,59	0,20
Ácido gondóico - C20:1 ω 9	45	0,33	0,21
Ácido (α -) linolénico (ALA) - C18:3 ω 3	44	0,14	0,05
Ácido heneicosanóico - C21:0	15	0,08	0,08
Ácido <i>cis</i> -11,14-eicosadienóico - C20:2 ω 6	44	0,24	0,08
Ácido di-homo- (α -)linolénico - C20:3 ω 3	52	1,77	0,38
Ácido araquidónico (AA) - C20:4 ω 6	53	7,77	1,63
Ácido tricosílico - C23:0	27	0,08	0,08
Ácido eicosapentaenóico (EPA) - C20:5 ω 3	48	0,92	0,70
Ácido lignocérico - C24:0	30	0,11	0,11
Ácido nervónico - C24:1 ω 9	44	0,23	0,10
Ácido decosahexanóico (DHA) - C22:6 ω 3	53	2,61	0,66

Tabela E6 – (continuação) Caracterização lipídica da população global.

Parâmetros	n	Média	±DP
Perfil lipídico consoante grupos de AG (%)			
ΣAG Saturados	53	33,69	3,27
ΣAG Insaturados <i>cis</i>	53	66,29	3,26
ΣAG Monoinsaturados <i>cis</i>	53	24,08	5,27
ΣAG Polinsaturados <i>cis</i>	53	42,21	5,96
ΣAG Polinsaturados <i>trans</i>	8	0,14	0,09
ΣAG Curta Cadeia	53	0,37	0,31
ΣÓmegas 3	53	5,29	1,38
ΣÓmegas 6	53	36,92	5,83
ΣÓmegas 9	53	21,77	5,16
ΣÁcido láurico, mirístico, palmítico e esteárico	53	32,82	3,31
ΣAG Saturados de Cadeia Longa	53	33,31	3,29

Tabela E 7 - Caracterização lipídica da população consoante a evolução da menopausa.

Parâmetros	Evolução da menopausa < 7 anos			Evolução da menopausa ≥ 7 anos		
	n	Média	DP	n	Média	DP
Perfil lipídico consoante AG (%)						
Ácido butírico - C4:0	25	0,27	0,30	26	0,30	0,29
Ácido capróico - C6:0	15	0,05	0,03	16	0,06	0,05
Ácido caprílico - C8:0	19	0,09	0,07	17	0,10	0,06
Ácido láurico - C12:0	14	0,11	0,09	11	0,12	0,08
Ácido mirístico - C14:0	25	0,81	0,37	25	0,78	0,36
Ácido miristoleico - C14:1ω5	7	0,10	0,07	4	0,16	0,08
Ácido pentadecílico - C15:0	21	0,20	0,11	20	0,23	0,12
Ácido <i>cis</i> -10-pentadecenoico - C15:1ω5	22	0,27	0,15	17	0,29	0,15
Ácido palmítico - C16:0	26	22,82	2,39	27	23,12	2,82
Ácido palmitoleico - C16:1ω7	26	1,92	0,90	27	1,90	0,65
Ácido margárico - C17:0	21	0,23	0,05	22	0,27	0,08
Ácido <i>cis</i> -10-heptadecenoico - C17:1ω7	21	0,24	0,11	21	0,21	0,10
Ácido esteárico - C18:0	26	8,73	1,16	27	9,34	1,54
Ácido oleico - C18:1ω9c	26	20,90	5,88	27	21,68	4,43
Ácido linoleláidico - C18:2ω6t	4	0,12	0,09	4	0,16	0,10
Ácido linoleico (LA) - C18:2ω6c	26	29,28	6,10	27	27,59	4,82
Ácido γ-linolénico - C18:3ω6	23	0,57	0,20	24	0,61	0,21
Ácido gondóico - C20:1ω9	23	0,31	0,13	22	0,35	0,27
Ácido (α-) linolénico (ALA) - C18:3ω3	23	0,14	0,04	21	0,14	0,06
Ácido heneicosanoico - C21:0	8	0,09	0,10	7	0,08	0,04
Ácido <i>cis</i> -11,14-eicosadienoico - C20:2ω6	23	0,24	0,08	21	0,23	0,08
Ácido di-homo- (α-)linolénico - C20:3ω3	25	1,73	0,38	27	1,81	0,39
Ácido araquidónico (AA) - C20:4ω6	26	7,74	1,72	27	7,81	1,56
Ácido tricosílico - C23:0	17	0,07	0,05	10	0,10	0,11
Ácido eicosapentaenoico (EPA) - C20:5ω3	24	0,89	0,76	24	0,95	0,64
Ácido lignocérico - C24:0	19	0,10	0,11	11	0,12	0,11
Ácido nervónico - C24:1ω9	23	0,23	0,08	21	0,24	0,11
Ácido decosahexanoico (DHA) - C22:6ω3	26	2,65	0,67	27	2,57	0,65

F. Resultados da análise estatística

A tabela F1 apresenta os resultados obtidos para a análise univariável à população global efetuado pelo método *Stepwise*.

Tabela F 1- Resultado da análise univariável à população geral.

	AG Saturados		AG Insaturados cis		AG Monoinsaturados cis		AG Polinsaturados cis		ómeegas 3		ómeegas 6		ómeegas 9		AG de Curta Cadeia		ΣÁcido Láurico, Mirístico, Palmítico e Esteárico		AG Saturados de Longa Cadeia	
	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p	beta	p
Ln [Triglicerídeos Totais]	0,385	0,027	-0,381	0,029	0,729	<0,001	-0,687	<0,001			-0,646	<0,001	0,693	<0,001	-0,349	0,046	0,416	0,016	0,416	0,016
Colesterol Total					0,381	0,029														
Ln [Estradiol]					-0,362	0,041					-0,361	0,042								
Ln [GGT]	0,405	0,030	-0,402	0,031	0,568	0,001	-0,574	0,001			-0,592	0,001	0,518	0,004			0,426	0,021	0,426	0,021
[ALT]	0,391	0,025	-0,389	0,025	0,521	0,002	-0,547	0,001			-0,595	<0,001	0,494	0,003			0,386	0,026	0,389	0,025
[AST]					0,560	0,001	-0,521	0,002			-0,584	<0,001	0,515	0,002						
Ln [MCP-1]					0,368	0,049	-0,429	0,020			-0,414	0,026								
Ln [IL10]									0,389	0,037										
[Ácido Úrico]									0,416	0,016										

Triglicerídeos totais mg/dL; Colesterol total mg/dL; Estradiol pg/mL; Gama Glutamil Transferase (GGT) U/L; Alanina Transaminase (ALT) U/L; Aspartato Aminotransferase (AST) U/L; Proteína Quimiotática de Monócitos 1 (MCP-1) pg/mL; Interleucina 10 (IL10) pg/mL; Ácido Úrico mg/dL; Logaritmo neperiano (Ln); Somatório da percentagem de ácidos gordos (Σ).