



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

GISELE LIMA DA SILVA

**FONTES DIETÉTICAS DE FITOESTERÓIS E SEU EFEITO NA SAÚDE  
HUMANA**

BRASÍLIA

2016

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

GISELE LIMA DA SILVA

**FONTES DIETÉTICAS DE FITOESTERÓIS E SEU EFEITO NA SAÚDE  
HUMANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Nutrição, da Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Nutricionista.

Orientadora: Professora Doutora Marina Kiyomi Ito.

BRASÍLIA

2016

# **FONTES DIETÉTICAS DE FITOESTERÓIS E SEU EFEITO NA SAÚDE HUMANA**

## **Resumo**

Os fitoesteróis são moléculas encontradas nos vegetais e estruturalmente parecidas com o colesterol. Eles possuem ações benéficas no organismo humano, como redução do colesterol no plasma, por diminuir a sua absorção pelo mecanismo de competição pelos sítios de absorção no intestino. Além do efeito hipocolesterolêmico, apresenta também ação anticancerígena e anti-inflamatória. Estudos atuais buscam explicar os possíveis prejuízos do consumo excessivo de fitoesteróis por meio da ingestão de alimentos enriquecidos que elevam a concentração dos esteróis vegetais no plasma sanguíneo. Estudos recentes destacam também os produtos de oxidação que são produzidos principalmente durante o processamento de alimentos e os possíveis danos quanto a sua atividade no metabolismo. Esta revisão buscou reunir as informações mais recentes sobre o assunto para contribuir nas escolhas dos indivíduos sobre quais alimentos consumir e possibilitar que outros autores venham a perceber lacunas no conhecimento e possam iniciar novas pesquisas.

Palavras-chave: fitoesteróis, hipocolesterolemia, inflamação, câncer, sitosterol.

## Introdução

Os fitoesteróis são compostos encontrados em plantas, com estrutura e função que são análogos ao colesterol em mamíferos (DEMONTY et al., 2009). Existem mais de 260 tipos de fitoesteróis estabelecidos e as suas formas mais comuns nas plantas são o  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol e o campesterol (AKHISA; KOKKE; TAMURA, 1991; CHEN; JIAO; MA, 2008). Estes representam mais de 80% do total ingerido na dieta humana e são encontrados em todos os alimentos de origem vegetal, como nos óleos vegetais, grãos, nozes, sementes, frutas, leguminosas e hortaliças (GYLLING et al., 2014; MARTINS et al., 2013). A ingestão média conhecida é de 200-400 mg/dia a partir de fontes naturais (RAS et al., 2015; GARCIA-LLATAS; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2011). Com a ingestão diária de 2g de fitoesteróis/fitoestanois por dia reduz os níveis de LDL e colesterol no plasma em torno de 10%. Isto favorece no menor risco a doenças cardiovasculares pela diminuição do colesterol sanguíneo. Os fitoesteróis agem beneficemente por competir com a molécula de colesterol pelo sítio de absorção intestinal e conseqüentemente diminuindo a absorção deste (KATAN et al., 2003; DEMONTY et al., 2009).

Os fitoesteróis atuam também como moduladores do sistema imune e contra o câncer (QUILEZ et al., 2003). Pesquisas recentes tem focado na atividade anti-inflamatória e anticarcinogênica, apesar dos resultados ainda serem contraditórios quanto ao seu mecanismo de ação (SABEVA et al., 2011; LOMENICK et al., 2015; ROCHA et al., 2016).

O consumo de fitoesteróis tem sido incentivado devido a sua ação hipocolesterolêmica, mas o seu consumo excessivo acarreta algumas dúvidas quanto aos benefícios e prejuízos à saúde, principalmente aqueles encontrados em alimentos processados comercializados como funcionais. De acordo com Demonty et al. (2009), não existe evidências que a ingestão acima de 3g/ dia de fitoesteróis seja benéfica. Além disso, há uma preocupação do consumo excessivo decorrente da ingestão de produtos adicionados por fitoesteróis e seus produtos de oxidação (LIN et al., 2016).

Com isso, o objetivo desta revisão narrativa foi descrever as principais fontes naturais de fitoesteróis, os possíveis benefícios e prejuízos a saúde ao serem consumidos e seus produtos de oxidação.

## **Métodos**

Este artigo consistiu em uma revisão narrativa que utilizou como fonte de pesquisa as bases de dados Scopus e Pubmed. As palavras-chaves utilizados foram: phytosterols; phytosterols AND benefits; phytosterols AND chestnut; phytosterols AND olive oil; phytosterols AND plants; phytosterols AND fruits; sitosterol; phytosterols AND diabetes; phytosterols AND inflammation e phytosterols AND câncer. A pesquisa foi realizada entre os dias 6 e 20 de abril de 2016 e abrangeu artigos originais e de revisão publicados nos últimos cinco anos. Foram escolhidos 51 artigos, todos publicados em inglês ou espanhol, dos quais 32 eram artigos originais e 19 de revisão.

## **Fitoesteróis: Estrutura Química e Funcionalidade nas Plantas**

Os fitoesteróis são isoprenóides da família dos triterpenos localizados na membrana plasmática das plantas, na qual o sitosterol, estigmasterol e campesterol são os mais abundantes. Sua estrutura química possui 1,2-ciclopentano-fenantreno, esqueleto carbônico com 27-30 átomos, um grupo hidroxilo no C3, uma cadeia de alquilo em C17 e normalmente uma ligação dupla no C5 do anel, semelhante a molécula de colesterol como mostram as FIGURAS 1a e 1c (SHERWIN, 1978). A principal diferença entre os vários fitoesteróis se deve ao grau de saturação do anel  $\beta$  e estrutura da cadeia lateral alifática e saturação (DUCHATEAU et al., 2012).

Os fitoesteróis quando hidrogenados formam fitoesteróis saturados, denominados estanóis, sendo o campestanol e o sitostanol os mais conhecidos (RODRIGUES et al., 2004). Com isso, os esteróis e os estanóis vegetais se diferenciam estruturalmente devido a uma dupla ligação no anel esteroide presente nos esteróis, FIGURA 1b. Nas plantas 96% são esteróis e 4% são estanóis (ANDERSON, 2004).

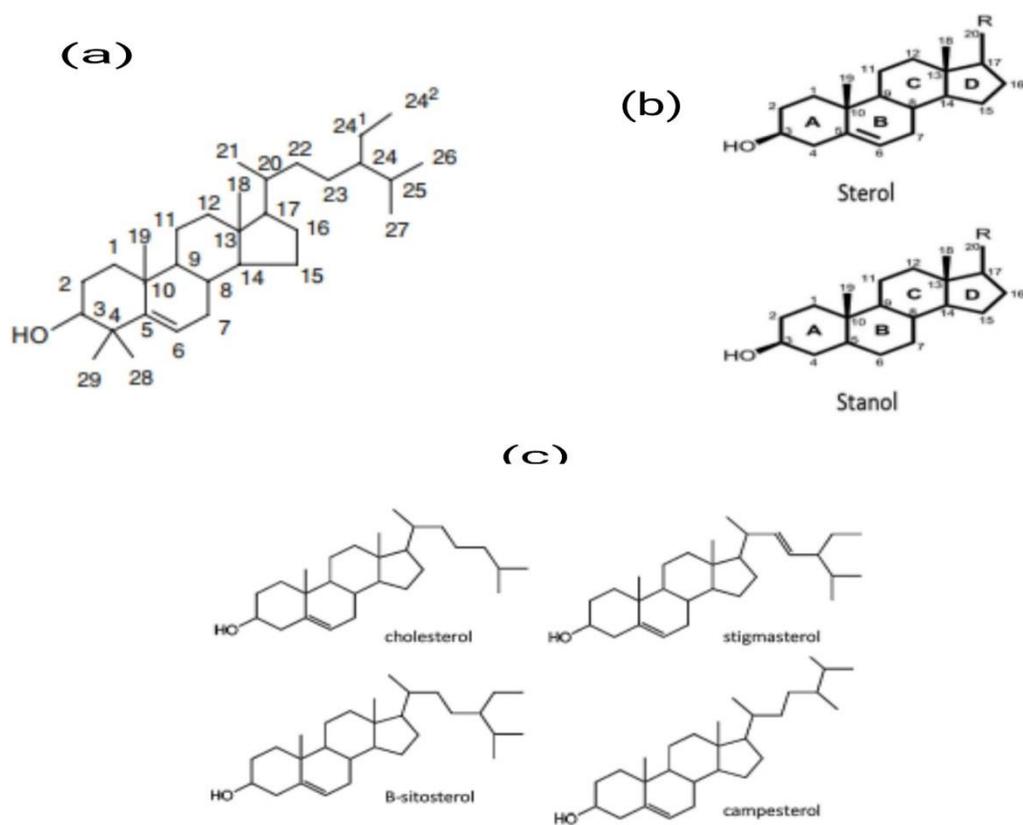


Figura 1. (a) molécula de fitoesterol com estrutura carbônica enumerada de acordo com a IUPAC- IUB, 1989 (Adaptado de: UDDIN, et al., 2013); (b) Comparação da estrutura química dos esteróis e estanois (Adaptado de: LIN, et al., 2015); (c) Estrutura química dos três principais fitoesteróis e da molécula de colesterol (Fonte: PIIRONEN, et al., 2000 In: FINE, et al., 2015).

Na membrana plasmática das plantas existem as formas livres e conjugadas dos fitoesteróis e também esfingolipídeos. Cerca de 6-30% são esfingolipídeos, 20-25% esteróis e 30-50% fosfolipídeos (GROJEAN et al., 2015; FURT et al., 2007). A diversidade de lipídios encontrados nas plantas decorre da biossíntese de várias combinações de cada um desses três grupos (MOTILVA et al., 2013).

A biossíntese dos fitoesteróis pode ser dividida em duas etapas: via do mevalonato e processos enzimáticos específicos (FELDMAN, 2012). Os fitoesteróis são encontrados mais comumente na forma livre ancorado na membrana plasmática dos tecidos da planta. Sua forma conjugada o grupo hidroxilo-3 $\beta$  de esterol livre é esterificado a um ácido graxo ou um

ácido hidroxicinâmico. Outra forma conjugada é pela glicolisação a uma hexose, geralmente glicose, mas também podem ser juntamente esterificados com um ácido graxo. Os fitoesteróis esterificados com ácidos graxos são mais abundantes nas plantas por atuarem biologicamente como reserva de esteróis (ARNQVIST et al., 2007; MOREAU et al., 2002; CHEN et al., 2007).

De acordo com Grojean et al. (2015), a capacidade dos fitoesteróis em modular o ordenamento da bicamada de fosfolípídeos é ligeiramente dependente da temperatura. Esse controle permite as adaptações de mudança no ambiente nas plantas. O campesterol tem papel mais importante na estabilização da bicamada na membrana do que os estigmasterol e o sitosterol. O estigmasterol está correlacionado com a fluidez e permeabilidade da membrana. Enquanto que o campesterol reduz a permeabilidade da membrana em relação aos íons carregados favorecendo sua exclusão, o que auxilia na tolerância ao estresse abiótico, como deficiência de oxigênio, déficit hídrico, exposição a temperaturas extremas, excesso de água e alteração na salinidade do solo.

Os derivados de fitoesteróis são responsáveis por importantes processos biológicos nas plantas como participação na fluidez e permeabilidade da membrana celular, divisão celular, alongamento das células, polaridade celular, biossíntese de celulose, formação da parede celular e padrões embrionários, atuando como molécula de sinalização independente de brassinosteróide ou por modulação de enzimas ligadas a membrana (BOUTTE; GREBE, 2009; CARLAND, et al., 2002; CLOUSE, 2000, 2002; OVEČKA, et al., 2010; SCHAEFFER, et al., 2001; SCHRICK, et al, 2000, 2002, 2004.; SUZUKI, et al., 2009; TOPPING, et al., 1997).

Na fase precoce de desenvolvimento das plantas a quantidade de fitoesteróis é maior o que pode ser explicado por esse período ter muitas divisões e diferenciação celular que exige a biossíntese de compostos necessários para o controle da fluidez da membrana (HEPPARD, et al., 1996). Na maturação completa ocorre redução nos níveis de fitoesteróis, porque diminui a sua síntese e aumenta a conversão em outras formas como em brassinosteróides. O campesterol, sitosterol e  $\Delta 5$  – avenasterol estão presentes em todos os estágios de amadurecimento (BOUALI, et al., 2014).

## Principais Fontes Naturais de Fitoesteróis

Muitos estudos se dedicaram em verificar os níveis de fitoesteróis com interesse naqueles que são consumidos in natura, ou de produtos da indústria (como as sementes das frutas) e também a questão da perda dos níveis de fitoesteróis durante o processo de refino de óleos comestíveis. A composição de fitoesteróis de alguns vegetais, frutas, oleaginosas e cereais foram resumidas nas Tabelas 1 e 2.

Dentre os vegetais o brócolis, a batata doce e a couve-flor possuem níveis mais elevados de fitoesteróis, enquanto que o tomate apresenta o menor, apenas 7,0 mg/100g do alimento. O grupo das frutas, dentre aquelas com informações disponíveis, a quantidade de esteróis vegetais segue a seguinte ordem: manga, abacate, maracujá, framboesa e laranja (Tabela 1). Comparativamente aos cereais e os óleos essenciais, estes são os que apresentam concentrações mais elevadas de fitoesteróis (Tabelas 1 e 2).

O estudo que analisou os níveis de fitoesteróis na manga, utilizou amostras de doze variedades dessa fruta e o total de fitoesteróis variou de 32,8-54,2% de todo os compostos lipofílicos. O sitosterol é encontrado em níveis elevados em todos os diferentes tipos de manga (VILELA, et al., 2013). E foram analisados 13 cultivares de batata doce por GC-MS, sendo os principais fitoesteróis identificados, o sitosterol e o campesterol (CORDEIRO, et al., 2013).

No estudo de Gornáz, et al. (2015), foi avaliada a concentração de fitoesteróis em oito tipos de cereais. A concentração de fitoesteróis foi maior no gérmen de trigo, seguida de centeio, trigo mourisco, trigo vermelho, farelo de trigo, arroz, milho e aveia. Sete fitoesteróis foram identificados (campesterol, estigmasterol,  $\beta$  sitosterol, avenasterol, cicloartenol, 24-metilenociclo- artanol e  $\Delta 7$  – avenasterol em todas as amostras, exceto no milho que não apresentou quantidades detectáveis de  $\Delta 7$  – avenasterol e 24-metilenociclo-artanol.

Esses dados da resumidos nas tabelas 1 e 2 demonstram que muitos alimentos in natura são ótimas fontes de fitoesteróis e que devem ser consumidas diariamente para que os níveis benéficos recomendados para a saúde humana sejam alcançados. Diante da variação na quantidade disponível de esteróis vegetais em cada alimento é importante diversificar constantemente a ingestão deles.

Tabela 1. Exemplos de fontes dietéticas de fitoesteróis.

Referências	Fontes Dietéticas	Conteúdo Total de Esterol (mg/100g de alimento)
<b>Vegetais</b>		
CORDEIRO et al., 2013 PIIRONEN; LAMPI GYLLING et al., 2014	Alface*	9,0-17,0
	Batata-doce	17,4-47,5
	Brócolis	39,0
	Cenoura	12,0-16,0
	Couve-flor	18,0-40,0
	Tomate	7,0
<b>Frutas</b>		
ROCHA, 2008 PIIRONEN; LAMPI GYLLING et al., 2014	Abacate	51,5-225,8
	Banana	12,0-16,0
	Framboesa	27,0
VILELA et al., 2013	Maçã	12,0-18,0
	Manga	34,3-103,0
	Maracujá*	44,0
	Laranja*	24,0
<b>Oleaginosas</b>		
ESCHER; MÜLLER; ENGEL, 2013**	Amêndoa	109,0
	Amendoim	84,0
	Avelã	62,0
	Castanha do Brasil	89,0
	Castanha de Caju	65,0
	Macadâmia	118,0
	Noz	95,0
	Pistache	161,0
<b>Cereais</b>		
GORNÁS et al., 2013	Arroz	1135,0
	Aveia	119,0
	Centeio	2299,0
	Farelo de trigo	1641,0
	Gérmen de trigo	3524,0
	Milho	486,0
	Trigo mourisco	2128,0
	Trigo vermelho	1738,0

(\*) PIIRONEN; LAMPI *Apud* GYLLING et al., 2014

(\*\*) Esteróis livres

A Tabela 2, traz as concentrações de fitoesteróis em óleos comestíveis e demonstra que o de abacate, canola, girassol e azeite extra virgem apresentam os maiores níveis. Os óleos essenciais obtidos a partir de sementes de frutas que podem ser utilizados na formulação de produtos pela indústria são importantes fontes de fitoesteróis.

Tabela 2. Conteúdo de Fitoesteróis em óleos comestíveis e essenciais

Referências	Tipo de Óleo	Conteúdo Total de Esterol (mg/100g de óleo)
<b>Óleos comestíveis</b>		
BERASATEGI et al., 2012	Abacate	339,0
ZHU et al., 2016	Amendoim	218,0
	Azeite extra virgem**	228,3
FINE et al., 2015	Canola	129,0-280,0
	Girassol	83,3-250,0
	Soja	123,9-194,0
<b>Óleos essenciais</b>		
PIESZKA et al., 2015	Semente: Framboesa	538,4
	Groselha	682,5
	Maçã	346,0
	Morango	464,3
GORNÁS et al., 2016*	Semente de ameixa	297,2 – 569,0

(\*) Quantidade de Fitoesteróis + colesterol

(\*\*) BERASATEGI et al., 2012

A revisão de Gotor e Rhazi (2016), avaliou a perda de fitoesteróis durante o processo de refino do óleo de girassol e os autores relataram que ocorre a diminuição dos níveis de fitoesterol (60,3%), principalmente durante a etapa de neutralização (29,3%), perda que ocorre também durante a conversão dos esteróis para a sua forma esterificada. Durante a degomagem há queda de 22,4%, na winterização de 5,2% e na desodorização 3,4% de fitoesteróis totais. O que demonstra perdas significativas durante o processo de refino do óleo de girassol.

Além disso, foi observado que a redução na quantidade de fitoesteróis é mais elevada no refino químico do que no refino físico. O aumento da temperatura também

influencia na queda dos níveis de fitoesteróis, sendo o estigmasterol o mais afetado pelo refino. Para solucionar esse problema o tratamento térmico com micro-ondas anterior a extração do óleo aumenta a concentração de fitoesteróis, por diminuir a oxidação, pode ser uma ótima opção (FINE, et al., 2015).

Em seu estudo, Zhu et al. (2015), verificaram o efeito do processo de refinamento no óleo de amendoim. Identificou no óleo cinco fitoesteróis: campesterol,  $\beta$  sitosterol, estigmasterol,  $\Delta^5 - 24$  (28) estigmastadienol e lupeol. Destes o  $\beta$  sitosterol foi o mais abundante seguido de estigmasterol e campesterol. Houve diminuição na quantidade de fitoesteróis ao longo das etapas de refinamento, sendo a de degomagem e neutralização as principais responsáveis por essa situação. A redução de fitoesteróis no óleo refinado foi de 23,1%.

Foram identificados dez tipos de fitoesteróis nas sementes de maçã, morango, framboesa e groselha: campesterol, estigmasterol, sitosterol, sitostanol, avenasterol, D7-estigmasterol, cicloartenol, D7-avenasterol, 24-metileno-cicloartenol e citrostadienol. Sendo a groselha com a maior quantidade de fitoesteróis seguida de framboesa, morango e maçã. Em relação aos níveis de sitosterol os maiores foram de: groselha, maçã, morango e framboesa respectivamente. As quantidades de outros fitoesteróis também foram significativas (PLESZKA et al., 2014).

Outro estudo de Gornás et al. (2016), avaliou o impacto da espécie e variedade da ameixa em relação a composição de compostos bioativos em suas sementes e verificou que as quantidades de fitoesteróis variou significativamente, sendo o sitosterol o mais predominante entre os detectados (64-80%). Os autores observaram também que o maior rendimento do óleo está relacionado com a menor concentração de fitoesteróis nas sementes de ameixa.

### **Mecanismos de Absorção dos Fitoesteróis**

Existem cinco mecanismos propostos para a inibição da absorção do colesterol pelos fitoesteróis: concorrência entre colesterol e esteróis vegetais pela incorporação nas micelas no trato gastrointestinal; concorrência entre fitoesteróis e o colesterol pela hidrólise de

enzimas digestivas; concorrência pelos transportadores (ABC); maior fluxo de fitoesteróis para dentro do lúmen pelos transportadores; e inibição da acil-coA colesterol aciltransferase (ACAT), pelos fitoesteróis, responsáveis pela esterificação do colesterol anterior a incorporação ao quilomícron (DE SMET; MENSINK; PLAT, 2012).

Os fitoesteróis são absorvidos no intestino delgado ao serem incorporados em micelas da mesma forma que o colesterol. Essas micelas interagem com a proteína NPC1L1 presente na borda em escova na membrana dos enterócitos e também com os transportadores ABCG5 e ABCG8, que regulam o efluxo de fitoesteróis absorvidos e devolvem o colesterol para o lúmen do intestino delgado. Uma parte dos fitoesteróis absorvidos não são esterificados pela ACAT e também são devolvidos para o lúmen pelos transportadores ABCG5/8. Desse modo, os esteróis vegetais absorvidos, e que não sofreram efluxo, são transferidos para o fígado e incorporados na LDL ou segregados na bile. E o colesterol transformado em metabólitos pela microbiota intestinal (JIA; BETTERS; YU, 2011; ENRICH et al., 2011).

Gleize et al., (2016), avaliaram o impacto da forma dos fitoesteróis e a matriz alimentar na micelarização do colesterol. O estudo revelou que a incorporação dos fitoesteróis nas micelas mistas foi maior quando na forma livre do que na forma esterificada, não tendo diferenças entre os três tipos de fitoesteróis (sitosterol, sitostanol e campesterol). O anel  $\beta$  de saturação aumenta a incorporação de ésteres de fitoesteróis com ácidos graxos de cadeia longa. O tamanho do fitoesterol não é importante. Ésteres de fitoesterol reduziram mais a micelarização de colesterol do que os fitoesteróis livres. Não houve diferença entre esteróis e estanóis na diminuição do colesterol no soro sanguíneo. A eficiência da micelarização do colesterol foi maior com o iogurte desnatado do que com azeite, pois ácidos graxos de cadeia longa dificultam a captação de fitoesteróis pela micela.

A absorção de fitoesteróis pelo intestino é baixa, 0,5 a 2% para esteróis e 0,04 a 0,2% para estanóis, o que promove níveis plasmáticos de 7-24 mmol/L para esteróis e 0,05-0,3 mmol/L para estanóis (BJÖRKHEM; BOBERG; LEITERSDORF, 2001). Porém, o consumo frequente de alimentos processados com adição de fitoesteróis, por aproximadamente cinco anos (média de ingestão  $1,1 \pm 0,6$  g/dia) aumenta os níveis circulantes para 19 a 30 mmol/L, que em comparação aos níveis considerados normais, pode-

se dizer que elevou significativamente. Para alimentos com estanois adicionados (média de ingestão  $0,6 \pm 0,4$  g/dia), aumenta os níveis circulantes de 0,3 a 0,7 mmol/L (FRASEN et al., 2007).

### **Benefícios dos Fitoesteróis na Saúde Humana**

O benefício mais conhecido dos fitoesteróis é a sua ação hipocolesterolêmica, por interagir com proteínas atuantes no metabolismo do colesterol, nos enterócitos e hepatócitos (CHOUDHARY; TRAN, 2011). Além disso, também possui ação anti-inflamatória, anti-carcinogênica e atividade antioxidante (YANG et al., 2010).

Um estudo *in vitro* obteve resultados significativos em relação as ações dos fitoesteróis sobre a redução do colesterol e secreção de citocinas inflamatória em macrófagos em espuma. O estigmasterol aumentou a expressão de ABCG 1 e ABCA 1 (transportadores de colesterol), o efluxo de colesterol para a molécula de HDL e ApoA 1 em macrófagos carregados de colesterol. Além disso, o estigmasterol diminuiu a indução de LDL, secreção de TNF  $\alpha$ , IL-6 e IL-1  $\beta$ . Comparativamente ao estigmasterol, o campesterol e o sitosterol tiveram efeito modesto sobre o efluxo de colesterol e não teve efeito sobre os transportadores e citocinas, com efeito inibidor modesto do efluxo de colesterol a partir da LDL (SABEVA et al., 2011). Esses resultados dos fitoesteróis quanto uma possível ação também inflamatória, de um certo modo contradizem ao que foi verificado em outros estudos descritos a seguir.

A revisão de Vanmierlo et al., (2015), verificou que fitoesteróis se acumulam no sistema nervoso central (SNC), mas são catabolizados. Eles se acumulam de acordo com a complexidade da molécula, ou seja, quanto menos complexo mais fácil de atravessar a barreira encefálica (como o campesterol, semelhante à molécula de colesterol), e os mais complexos mais difícil (como sitosterol e estigmasterol). Após serem incorporados às membranas biológicas no SNC, os fitoesteróis são transportados pelos astrócitos em partículas HDL-like e assim se acumulam nos neurônios. Os esteróis vegetais não melhoram a cognição em situações normais, mas demonstram atividade terapêutica em disfunções cognitivas, como Alzheimer e Esclerose Múltipla.

Ainda de acordo com essa revisão, o efeito anti-inflamatório dos fitoesteróis no SNC ocorre pelo bloqueio da entrada de células imunes e modulam o relaxamento dos vasos

sanguíneos, o estresse oxidativo, isquemia e reperfusão. Na doença de Alzheimer os fitoesteróis reduzem a produção de proteínas que afetam o SNC pela menor expressão, atividade e disponibilidade de secretases que atuam no seu processamento. Por outro lado, na esclerose múltipla o sitoesterol diminui a secreção de mediadores inflamatórios como o TNF  $\alpha$  e IL-12 e a infiltração de linfócitos e macrófagos no SNC (VANMIERLO et al., 2015).

Em um estudo experimental em ratos, investigou-se os efeitos do consumo de fitoesteróis antes da indução de encefalomielite, que acarreta inflamação no sistema nervoso central. Os resultados demonstraram que a ingestão de fitoesteróis poderia retardar o desenvolvimento da encefalomielite e reduzir a gravidade em 55%. Além disso, durante o tratamento os fitoesteróis também diminuíram a infiltração inflamatória no sistema nervoso central em 82% e reduziu a desmielinização em 48% em comparação ao grupo controle. Os macrófagos que migram para o cérebro diminuíram em 35%, ocorreu inibição da atividade pró-inflamatória das citocinas MCP-1 em 50% e da IL-10 em 10%. As citocinas TNF  $\alpha$ , a IL-6 e o INF  $\gamma$  que possuem atividade pró-inflamatória também foram minimizados (VALÉRIO et al., 2011).

O efeito na inflamação também foi analisado na revisão e meta análise de Rocha et al. (2016), e verificaram que o consumo regular de alimentos enriquecidos com fitoesteróis não afeta significativamente na inflamação sistêmica de baixo grau e também não reduziu a proteína C reativa (PCR), mas evitou o agravamento. Sugeriu-se que o aumento da quantidade ingerida de fitoesteróis pode diminuir a PCR.

Um estudo randomizado cruzado investigou o efeito da ingestão de fitoesteróis sobre os níveis circulantes de células progenitoras endoteliais da medula óssea, que regenera o epitélio arterial lesionado, em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Participaram do estudo 40 pacientes com diagnóstico de DHGNA, hipertensão arterial e diabetes, que foram divididos em dois grupos: controle e pacientes que passaram a consumir fitoesteróis em pó no jantar durante 4 semanas. Os pacientes que receberam fitoesteróis tiveram os níveis de LDL e colesterol sérico diminuídos e manteve os de HDL e triglicerídeos. Os níveis de glicemia de jejum e hemoglobina glicada também diminuíram o que representa melhora na resistência à insulina. O IGF-1 aumentou na circulação favorecendo a menor oxidação do LDL. Os níveis de PCR reduziram e o de superóxido

dismutase aumentou, o que diminui a inflamação sistêmica e melhora na capacidade antioxidante. E além disso, as células progenitoras endoteliais aumentaram na circulação atuantes na modulação benéfica da aterosclerose (CHEN et al., 2015).

Já a revisão de Vérge e Fumeran (2015), analisou o risco dos níveis elevados de fitoesteróis no plasma e sugeriram que o risco para doenças cardiovasculares pode estar associado aos níveis plasmáticos elevados de fitoesteróis consumidos a partir de alimentos enriquecidos e não de alimentos naturais fontes destes. Em outro estudo, os níveis mais elevados de fitoesteróis no plasma sanguíneo diminuíram o risco cardiovascular decorrente da ingestão de alimentos fontes naturais (ESCURRIOL et al., 2010).

Em relação ao efeito dos fitoesteróis no câncer, de acordo com a revisão de Júnior (2013), os efeitos bioquímicos dos fitoesteróis os tornam candidatos importantes no tratamento do câncer. Os fitoesteróis diminuem a translocação nuclear do fator kappa B (NF-kB) que promove inflamação e que está envolvido no câncer de mama. Isso aumenta a susceptibilidade das células cancerígenas a apoptose e reduz a capacidade metástica pela modulação de fatores de crescimento e citocinas. Também existe associação entre o aumento do HDL e a diminuição do risco de câncer.

### **Risco da Ingestão Excessiva: Produtos Oxidados de Fitoesteróis**

Tais como o colesterol os fitoesteróis são susceptíveis a auto oxidação. Esta oxidação pode ocorrer no organismo humano, mas também nos alimentos por meio do processamento e armazenamento (SCHOLZ et al., 2015; BJORKHEM; DICZFALUSY, 2002; LEONARDUZZI; SOTTERO, POLI., 2002). Os produtos oxidados de fitoesteróis (POF's) mais conhecidos são o 7-hidroxi, 7-ceto, 5,6-epoxi e 3,5,6-triol derivados de esteróis vegetais (O'CALLAGHAN; MCCARTHY; O'BRIEN, 2014).

Os possíveis efeitos biológicos dos produtos de oxidação de fitoesteróis (POF's) que podem ser considerados benéficos para a ação anticancerígena e hipoglicêmica são a modulação do metabolismo lipídico, do metabolismo da glicose, apoptose celular e dos processos inflamatórios. Mas também apresenta efeitos prejudiciais como aterogenicidade, disfunção mitocondrial, efeito pró-inflamatório, depleção de glutathiona e estresse oxidativo

(HOVENKAMP et al., 2008; GARCIA-LLATAS; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2011; SCHOLZ et al., 2015).

Os POF's podem também prejudicar a funcionalidade da aorta, por aumentarem a produção de espécies reativas de oxigênio e regulação positiva da COX-2, em ratos, o que evidencia o potencial aterogênico dos POF's (YANG et al., 2013). Além disso, níveis mais elevados de apoptose ocorreu em células expostas aos óxidos de  $\beta$ -sitosterol, seguido pelos de campesterol e de estigmasterol. Os produtos de oxidação de fitoesteróis trióis foram considerados os mais citotóxicos, mas no geral os derivados de hidroxí e 7-ceto induziram altos níveis de apoptose celular (KENNY et al., 2012; O'CALLAGHAN et al., 2010, 2013; RYAN et al., 2005).

Quanto ao efeito da ingestão dos POF's, estudos encontraram efeitos prejudiciais, como a revisão de Sholz et al. (2015), que avaliou a segurança da exposição alimentar de POF's consumidos através da ingestão de alimentos enriquecidos com fitoesteróis/estanois. Verificou que o consumo elevado de POF's em ratos promoveu insuficiência hepática e alterações no metabolismo lipídico favorecendo a progressão da aterosclerose. Ainda em estudos com animais os POF's derivados de campesterol foram mais bem absorvidos do que os de sitosterol, sendo que os POF's eram melhor absorvidos do que os próprios fitoesteróis. De acordo com a revisão, em estudos humanos os POF's regularam negativamente o transportador ABCG5 o que acarreta o aumento do colesterol intracelular e consequentemente elevando a disponibilidade para a esterificação e a maior incorporação aos quilomícrons.

A força da degradação dos fitoesteróis depende da relação tempo/temperatura, tipo de processamento utilizado no alimento, quantidade da amostra, recipiente aberto ou fechado e a composição do fitoesterol (BARRIUSO et al., 2012).

Leal-Catañeda et al., (2015), avaliaram a estabilidade oxidativa dos fitoesteróis durante o aquecimento em micro-ondas utilizando dois sistemas modelos diferentes (mistura sólida com fitoesteróis livres e uma mistura líquida com fitoesteróis + triglicerídeos). Encontrou a seguinte tendência de degradação: campesterol > sitosterol > estigmasterol. Na mistura líquida com fitoesteróis + triglicerídeos, a partir de 12 minutos a formação de POF's foi exponencial. A produção de POF's foi mais elevada na mistura de fitoesteróis livres do

que na mistura com triglicerídeos durante os 12 minutos de cozimento, enquanto que a partir de 30 minutos ocorreu o inverso. Situação que pode ser explicada pelo efeito protetor inicial dos triglicerídeos devido a mecanismos como: diluição, proteção física e competição por oxidação. Inicialmente a produção de POF's foi maior na mistura com fitoesteróis livres e ao elevar a temperatura, a adicionada com triglicerídeos aumentou a produção. Óxidos de  $\beta$ -sitosterol foram os mais abundantes, seguidos de campesterol e estigmasterol.

Anteriormente, em artigo de revisão, Lin et al., (2015) avaliaram o conteúdo de POF's em alimentos com fitoesteróis na forma livre ou esterificada, além dos fatores que afetam a formação e o conteúdo nos alimentos sobre diferentes formas de armazenamento e temperaturas de tratamento. Observaram que alimentos adicionados de fitoesteróis livres ao ter sua temperatura elevada a taxa de oxidação também aumenta em função do tempo e que a matriz dos alimentos também influencia, pois, alimentos líquidos produzem menos POF's que os sólidos. Enquanto que alimentos com fitoesteróis esterificados, o aumento da concentração favorece a maior formação de POF's e que o tempo e a temperatura influenciaram no aumento de POF's, além disso, os alimentos líquidos tiveram menos produtos de oxidação que os sólidos. Os autores concluíram que os esteróis são mais resistentes a elevação da temperatura em comparação aos fitoesteróis livres e esterificados. Verificaram também que ao calcular o consumo de POF's, a ingestão é segura se comparada ao nível não observável de efeito (NOEL - No Observed Effect Level) estabelecido em ratos sendo 128mg/kg para homens e 144 mg/kg para mulheres.

Lin, et al., (2016), mediram a quantidade de POF's em vegetais, carnes, peixes e ovos preparados com margarinas com e sem adição de fitoesteróis, utilizando métodos culinários como fritar, assar, estufar e cocção em micro-ondas. O conteúdo POF por 100g do alimento cozido, ao utilizar a margarina controle a mediana foi de 0,47mg/100g e para a margarina enriquecida 1,52 mg/100g. De acordo com o tamanho da porção, a quantidade de POF's em alimentos preparados com a margarina sem adição de fitoesteróis foi baixo (0,05-1,11 mg) para lombo suíno em fritura rasa e bacalhau cozido em micro-ondas, e filetes de peixe cozidos com fritura rasa, respectivamente. Entretanto, para alimentos cozidos com a margarina adicionada de fitoesteróis os níveis de oxidação variaram entre 0,08-20,5 mg, para bacalhau cozido em forno micro-ondas e batata cozida em fritura rasa. Os alimentos com

maiores quantidades de produtos de oxidação foram o repolho, frango, bife e batata fritos, sendo esta última a que apresentou maiores teores de POF's nas duas situações. Cebola, ovo e lombo suíno fritos, e o bacalhau cozido em micro-ondas tiveram menos de 1 mg de POF's/porção.

Ainda nesse estudo a distribuição dos diferentes tipos de POF's nos alimentos cozidos com a margarina controle ou adicionada de fitoesteróis seguiu a seguinte ordem decrescente: 7-ceto > 5,6- epóxi > 7-hidroxi > trióis. Verificou-se também que a formação de POP's em alimentos cozidos em micro-ondas foi menor, o que pode ser explicado pelo o mecanismo de cozedura que ocorre de dentro para fora do alimento, favorecendo a menor exposição dos fitoesteróis mais externos a radiação. Para os autores existe limite de ingestão segura de POF's, assim como em sua publicação anterior, e concluíram que a exposição humana a 3mg/dia de produtos de oxidação de fitoesteróis não acarreta preocupações, pois essa quantidade é inferior ao NOEL em ratos (LIN, et al., 2016).

## **Conclusão**

Os fitoesteróis possuem benefícios comprovados, como na ação hipocolesteromiantes, mas atualmente dúvidas tem surgido quanto ao seu consumo excessivo. Alimentos processados com adição de fitoesteróis são a causa dos níveis plasmáticos aumentado no organismo. Os estudos indicam que o efeito dos diferentes tipos de fitoesteróis, a forma de consumo (in natura ou em alimentos enriquecidos) e a formação de POF's são variáveis importantes que modificam a sua atuação no organismo humano, com efeito positivo ou negativo, o que torna os resultados ambíguos. Alternativamente, o consumo de alimentos naturais fontes de fitoesteróis, como frutas e hortaliças in natura, e evitando o seu processamento extensivo, a produção dos POF's, a carga de fitoesteróis e de seus derivados pode ser minimizada. Os fitoesteróis parecem exercer ação contra agravos como o câncer e doenças inflamatórias, mas estudos ainda são insuficientes para se saber como esse tipo de benefício ocorre.

## Referências Bibliográficas

- [1] AKHISA, T.; KOKKE, W., TAMURA, T. Naturally occurring sterols and related compounds from plants. *Champaign, Illinois: American Oil Chemists' Society*; 1991.
- [2] ANDERSSON, S. W.; SKINNER, J.; ELLEGARD, L.; WELCH, A. A., et al., Intake of dietary plant sterols is inversely related to serum cholesterol concentration in men and women in the EPIC Norfolk population: A cross-sectional study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 58, 1378–1385, 2004.
- [3] ARNQVIST, L. Plant sterol metabolism with emphasis on glycoalkaloid biosynthesis in potato. *Doctoral thesis*, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 2007. In: UDDIN, S.; SARKER, Z.I.; FERDOSH, S.; AKANDA, J.H.; EASMIN, S.; SAHMSUDIN, S.H.B.; YUNUS, K.B. Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: a review. *J Sci Food Agric.*, 95: 1385–1394, 2015.
- [4] BERASATEGI, I.; BARRIUSO, B.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Stability of avocado oil during heating: comparative study to olive oil. *Food Chemistry*, 132, 439–446, 2012.
- [5] BJÖRKHEM, I., BOBERG, K.M.; LEITERSDORF, E. Inborn errors in bile acid biosynthesis and storage of sterols other than cholesterol. In: GYLLING et al. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 232, 346–360, 2014.
- [6] BJORKHEM, I., DICZFALUSY, U. Oxysterols: Friends, foes, or just fellow passengers? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 22, 734–742, 2002.
- [7] BOUALI, I.; TRABELSI, H.; HERCHI.; MARTINE, L.; ALBOUCHI, A.; BOUZAIEN, G.; SIFI, S.; BOUKHCHINA, S.; BERDEAUX, O. Analysis of pecan nut (*Carya illinoensis*) unsaponifiable fraction. Effect of ripening stage on phytosterols and phytostanols composition, *Food Chemistry*, 164, 309–316, 2014.
- [8] BOUTTÉ, Y.; GREBE, M. Cellular processes relying on sterol function in plants. *Curr Opin Plant Biol* 12, 705–713, 2009.

- [9] BARRIUSO, B.; OTAEGUI-ARRAZOLA, A.; MENÉNDEZ-CARREÑO, M.; ASTIASARÁN, I.; ANSORENA, D. Sterols heating: degradation and formation of their ring-structure polar oxidation products. *Food Chem.*, 135, 706–712, 2012.
- [10] CARLAND, F.M.; FUJIOKA, S.; TAKATSUTO, S.; YOSHIDA, S.; NELSON, T. The identification of CVP1 reveals a role for sterols in vascular patterning. *Plant Cell* 14, 2045–2058, 2002.
- [11] CHEN, Z.Y.; JIAO, R.; MA, K. Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 8761–8773, 2008.
- [12] CHEN, Q.; STEINHAEUER, L.; HAMMERLINDL, J.; KELLER, W.; ZOU, J. Biosynthesis of phytosterol esters: identification of a sterol *O*-acyltransferase in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 145:974–984, 2007.
- [13] CHEN, D.L.; HUANG, P.H.; CHIANG, C.H.; LEU, H.B.; CHEN, J.W.; LIN, S.J. Phytosterols increase circulating endothelial progenitor cells and insulin-like growth factor-1 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized crossover study. *Journal of functional foods* 13, 148–157, 2015.
- [14] CHOUDHARY, S.P.; TRAN, L.S. Phytosterols: Perspectives in human nutrition and clinical therapy. *Current Medicinal Chemistry*, 18, 4557-4567, 2011.
- [15] CLOUSE, S.D. Plant development: a role for sterols in embryogenesis. *Curr Biol*, 10, R601–R604, 2000.
- [16] CLOUSE, S.D. *Arabidopsis* mutants reveal multiple roles for sterols in plant development. *Plant Cell*, 14, 1995–2000, 2002.
- [17] CORDEIRO, N.; FREITAS, N.; FARIA, M.; GOUVEIA, M. *Ipomoea batatas* (L.) Lam.: A rich source of lipophilic phytochemicals. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 61, 12380–12384, 2013.
- [18] DEMONTY, I.; RAS, R. T.; VANDER KNAAP; H. C. M., DUCHATEAU, G. S. M. J. E. et al., Continuous dose-response relationship of the LDL-cholesterol-lowering effect of phytosterol intake. *J. Nutr.*, 139, 271–284, 2009.

- [19] DE SMET, E., MENSINK, R. P., PLAT, J. Effects of plant sterols and stanols on intestinal cholesterol metabolism: suggested mechanisms from past to present. *Mol. Nutr. Food Res.*, 56, 1058–1072, 2012.
- [20] DUCHATEAU, G.; COCHRANE, B.; WINDEBANK, S.; HERUDZINSKA, J. et al., Absolute oral bioavailability and metabolic turnover of beta-sitosterol in healthy subjects. *Drug Metab. Dispos.*, 40, 2026–2030, 2012.
- [21] ENRICH, C.; RENTERO, C.; DE MUGA, S. V.; REVERTER, M.; MULAY, V.; WOOD, P.; KOESE, M.; GREWAL, T. Annexin A6-Linking Ca(2+) signaling with cholesterol transport. *Biochim Biophys Acta*, 1813, 935-947, 2011.
- [22] ESCHE, R.; MÜLLER, L.; ENGEL, K.H. Online LC-GC-Based analysis of minor lipids in various tree nuts and peanuts. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 61, 11636–11644, 2013.
- [23] ESCURRIOL, V.; COFÁN, M.; MORENO-IRIBAS, C.; LARRAÑAGA, N.; MARTÍNEZ, C.; NAVARRO, C. et al. Phytosterol plasma concentrations and coronary heart disease in the prospective Spanish EPIC cohort. *J Lipid Res*; 51:618–24, 2010.
- [24] FELDMAN, M.J. Identifying regulatory components of phytosterol biosynthesis in the genomics era. *Doctoral thesis*, Washington State University, Pullman, WA, 2012. In: UDDIN, S.; SARKER, Z.I.; FERDOSH, S.; AKANDA, J.H.; EASMIN, S.; SAHMSUDIN, S.H.B.; YUNUS, K.B. Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: a review. *J Sci Food Agric.*, **95**: 1385–1394, 2015.
- [25] FINE, F.; BROCHET, C.; GAUD, M.; CARRE, P.; SIMON, N. RAMLI, F.; JOFFRE, F. Micronutrients in vegetable oils: The impact of crushing and refining processes on vitamins and antioxidants in sunflower, rapeseed and soybean oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, v.117, 2015.
- [26] FURT, F.; LEFEBVRE, B.; CULLIMORE, J.; BESSOULE, J. J.; MONGRAND, S. Plant lipid rafts: fluctuat nec mergitur. *Plant Signal. Behav.* 2, 508–511, 2007.

- [27] FRANSEN, H.P.; DE JONG, N.; WOLFS, M. et al. Customary use of plant sterol and plant stanol enriched margarine is associated with changes in serum plant sterol and stanol concentrations in humans. *J. Nutr.*;137: 1301-6, 2007.
- [28] GARCIA-LLATAS, G.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. Current and new insights on phytosterol oxides in plant sterol-enriched food. *Chem. Phys. Lipids*, 164 (6), 607–624, 2011.
- [29] GLEIZE, B.; NOWICKI, M.; DAVAL, C.; KOUTNIKOVA, H.; BOREL, P. Form of phytosterols and food matrix in which they are incorporated modulate their incorporation into mixed micelles and impact cholesterol micellarization. *Mol. Nutr. Food Res.* 1–11, 2016.
- [30] GYLLING, H.; PLAT, J.; TURLEY, S.; GINSBERG, H. N.; ELLEGARD, L.; JESSUP, W.; JONES, P. J.; LUTJOHANN, D.; MAERZ, W.; MASANA, L.; SILBERNAGEL, G.; STAELS, B.; BOREN, J.; CATAPANO, A. L.; DE BACKER, G.; DEANFIELD, J.; DESCAMPS, O. S.; KOVANEN, P. T.; RICCARDI, G.; TOKGOZOGLU, L.; CHAPMAN, M. J. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 232 (2), 346–360, 2014.
- [31] GÓRNAS, P.; RUDZINSKA, M.; RACZYK, M. Lipophilic bioactive compounds in the oils recovered from cereal by-products. *J. Sci. Food. Agric.*, 2015.
- [32] GÓRNAS, P.; RUDZINSKA, M.; RACZYK, M.; MIŠINA, I.; SOLIVEN, A.; LĀCIS, G.; SAGLINA, D. Impact of species and variety on concentrations of minor lipophilic bioactive compounds in oils recovered from plum kernels. *J. Agric. Food Chem.*, 64, 898–905, 2016.
- [33] GOTOR, A.A.; RHAZI, L. Effects of refining process on sunflower oil minor components: a review. *Journal OCL*, v. 23 (2), 2016
- [34] GROSJEAN, K.; MONGRAND, S.; BENEY, L.; SIMON-PLAS, F.; GERBEAU-PISSOT, P. Differential effect of plant lipids on membrane organization. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 290, n. 9, 5810–5825, 2015.
- [35] HEPPARD, E. P.; KINNEY, A. J.; STECCA, K.; MIAO, G.H. Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal w-6 desaturase genes in soybeans. *Plant Physiology*, 110, 311–319, 1996.

- [36] HOVENKAMP, E.; DEMONTY, I.; PLAT, J.; LUTJOHANN, D.; et al., Biological effects of oxidized phytosterols: A review of the current knowledge. *Prog. Lipid. Res.*, 47, 37–49, 2008.
- [37] JIA, L.; BETTERS, J. L.; YU, L. Niemann-pick C1-like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annu Rev Physiol.*, 73, 239-259, 2011.
- [38] JÚNIOR, B.J.G. Plant sterols as anticancer nutrients: evidence for their role in breast cancer. *Nutrients*, 5, 359-387, 2013.
- [39] KATAN, M. B.; GRUNDY, S.M.; JONES P.; LAW, M. et al., Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin. Proc.*, 78, 965–978, 2003.
- [40] KENNY, O.; O'CALLAGHAN, Y.; O'CONNELL, N.M.; MCCARTHY, F.O.; MAGUIRE, A.R.; O'BRIEN, N.M. Oxidized derivatives of dihydrobrassicasterol: cytotoxic and apoptotic potential in U937 and HepG2 cells, *J. Agric. Food Chem.* 60 (23), 5952– 5961, 2012.
- [41] LEAL-CASTAÑEDA, E.J.; INCHINGOLO, R.; CARDENIA, V.; HERNANDEZ-BECERRA, J.A.; ROMANI, S.; RODRÍGUEZ-ESTRADA, M.T.; GALINDO, H.S.G. Effect of microwave heating on phytosterol oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 63, 5539–5547, 2015.
- [42] LEONARDUZZI, G., SOTTERO, B., POLI, G. Oxidized products of cholesterol: dietary and metabolic origin, and proatherosclerotic effects (review). *J. Nutr. Biochem.*, 13, 700–710, 2002.
- [43] LIN, Y.; KNOL, D.; TRAUTWEIN, E.A. Phytosterols oxidation products (POP) in foods with added phytosterols and estimation of their daily intake: A literature review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, v.117, 2015.
- [44] LIN, Y.; KNOL, D.; MENÉNDEZ-CARREÑO, M.; BLOM, W.A.M.; MATTHEE, J.; JANSSEN, H.G.; TRAUTWEIN, E.A. Formation of plant sterol oxidation products in foods during baking and cooking using margarine without and with added plant sterol esters. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 64, 653–662, 2016.

- [45] LOMENICK, B.; SHI, H.; HUANG, J.; CHEN, C. Identification and characterization of  $\beta$ -sitosterol target proteins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 4976–4979, 2015.
- [46] MARTINS, C. M.; FONSECA, F. A.; BALLUS, C. A.; FIGUEIREDO-NETO, A. M.; MEINHART, A. D.; DE GODOY, H. T.; IZAR, M. C. Common sources and composition of phytosterols and their estimated intake by the population in the city of Sao Paulo, Brazil. *Nutrition*, 29 (6), 865–871, 2013.
- [47] MOREAU, R.A.; WHITAKER, B.D.; HICKS, K.B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res*, 41:457–500, 2002.
- [48] O'CALLAGHAN, Y. E. F. O.; O'BRIEN, N. M. Recent advances in Phytosterol Oxidation Products. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 446 (3), 786–91, 2014.
- [49] O'CALLAGHAN, Y.C.; FOLEY, D.A.; O'CONNELL, N.M.; MCCARTHY, F.O.; MAGUIRE, A.R.; O'BRIEN, N.M. Cytotoxic and apoptotic effects of the oxidized derivatives of stigmasterol in the U937 human monocytic cell line, *J. Agric. Food Chem.* 58 (19), 10793–10798, 2010.
- [50] O'CALLAGHAN, Y.; KENNY, O.; O'CONNELL, N.M.; MAGUIRE, A.R.; MCCARTHY, F.O.; O'BRIEN, N.M. Synthesis and assessment of the relative toxicity of the oxidised derivatives of campesterol and dihydrobrassicasterol in U937 and Hep G2 cells, *Biochimie*, 95 (3), 496–503, 2013.
- [51] OVEČKA, M.; BERSON, T.; BECK, M.; DERKSEN, J.; ŠAMAJ, J.; BALUŠKA, F.; LICHTSCHEIDL, I.K. Structural sterols are involved in both the initiation and tip growth of root hairs in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 22, 2999–3019, 2010.
- [52] PIESZKA, M.; MIDGAL, W.; GASIOR, R.; RUDZINSZA, M.; LOJEWESKA, D.B.; PIESZKA, M.; SZCZUREK, P. Native oils from apple, blackcurrant, raspberry, and strawberry seeds as a source of polyenoic fatty acids, tocochromanols, and phytosterols: A health implication. *Journal of Chemistry*, 2015.

- [53] PIIRONEN, V.; LAMPI, A.M. *Occurrence and levels of phytosterols in foods*. In: GYLLING et al. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 232, 346-360, 2014.
- [54] PIIRONEN, V., LINDSAY, D. G., MIETTINEN, T., TOIVO, J., LAMPI, A. M. Review: Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 939–966, 2000. In: FINE, F.; BROCHET, C.; GAUD, M.; CARRE, P.; SIMON, N. RAMLI, F.; JOFFRE, F. Micronutrients in vegetable oils: The impact of crushing and refining processes on vitamins and antioxidants in sunflower, rapeseed and soybean oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, v.117, 2015.
- [55] QUILEZ, J.; GARCIA-LORDA, P.; SALAS-SALVADO, J. Potential uses and benefits of phytosterols in diet: Present situation and future directions. *Clinical Nutrition*, 22, 343–351, 2003.
- [56] RAS, R. T.; VAN DER SCHOUW, Y. T.; TRAUTWEIN, E. A.; SIOEN, I.; DALMEIJER, G. W.; ZOCK, P. L.; BEULENS, J. W. Intake of phytosterols from natural sources and risk of cardiovascular disease in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-the Netherlands (EPIC-NL) population. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 22 (8), 1067–1075, 2015.
- [57] ROCHA, T.E.S. *Composição de ácidos graxos e de fitoesteróis em frutos de quatro variedades de abacate (Persea americana Mill)*. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade de Brasília (UnB). Brasília, 2008.
- [58] ROCHA, V.Z.; RAS, R.T.; GAGLIARDI, A.C.; MANGILI, L.C.; TRAUTWEIN, E. A.; SANTOS, R.D. Effects of phytosterols on markers of inflammation: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*, 248, 76-83, 2016.
- [59] RODRIGUES, J.N.; MANCINI-FILHO, J.; TORRES, R.P; GIOIELLI, L.A. Physico-chemical characterization of a phytosterol ester enriched margarine. *Brazilian Journal Pharm Sci*, v. 40, n.4, 506-519, 2004.
- [60] RYAN, E.; CHOPRA, J.; MCCARTHY, F.O.; MAGUIRE, A.R.; O'BRIEN, N.M. Qualitative and quantitative comparison of the cytotoxic and apoptotic potential of

phytosterol oxidation products with their corresponding cholesterol oxidation products, *Br. J. Nutr.* 94 (3), 443–451, 2005.

[61] SABEVA, N.S.; MCPAUL, C.M.; LI, X.; CORY, T.J.; FEOLA, D.J.; GRAF, G. Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *J. Nutr. Biochem.*, 22(8): 777–783, 2011.

[62] SCHAEFFER, A.; BRONNER, R.; BENVENISTE, P.; SCHALLER, H. The ratio of campesterol to sitosterol which modulates growth in *Arabidopsis* is controlled by sterol methyltransferase 2-1, *Plant J.*, 25, 605–615, 2001.

[63] SCHOLZ, B.; GUTH, S.; ENGEL, K. H.; STEINBERG, P.; Phytosterol oxidation products in enriched foods: Occurrence, exposure, and biological effects. *Mol. Nutr. Food Res.*, 59, 1339–1352, 2015.

[64] SCHRICK, K.; MAYER, U.; HORRICH, A.; KUHN, C.; BELLINI, C.; DANGL, J.; SCHMIDT, J.; JÜRGENS, G. FACKEL is a sterol C-14 reductase required for organized cell division and expansion in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes Dev.*, 14, 1471–1484, 2000.

[65] SCHRICK, K.; MAYER, U.; MARTIN, G.; BELLINI, C.; KUHN, C.; SCHMIDT, J.; JÜRGENS, G. Interactions between sterol biosynthesis genes in embryonic development of *Arabidopsis*. *Plant J.*, 31, 61–73, 2002.

[66] SCHRICK, K.; FUJIOKA, S.; TAKATSUTO, S.; STIERHOF, Y.D.; STRANSKY, H.; YOSHIDA, S.; JÜRGENS, G. A link between sterol biosynthesis, the cell wall, and cellulose in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 38, 227–243, 2004.

[67] SHERWIN, E. R., Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 55, 809–814, 1978.

[68] SUZUKI, M.; NAKAGAWA, S.; KAMIDE, Y.; KOBAYASHI, K.; OHYAMA, K.; HASHINOKUCHI, H.; KIUCHI, R.; SAITO, K.; MURANAKA, T.; NAGATA, N. Complete blockage of the mevalonate pathway results in male gametophyte lethality. *J. Exp. Bot.* 60, 2055–2064, 2009.

- [69] TOPPING, J.F.; MAY, V.J.; MUSKETT, P.R.; LINDSEY, K. Mutations in the *HYDRA1* gene of *Arabidopsis* perturb cell shape and disrupt embryonic and seedling morphogenesis. *Development* 124, 4415–4424, 1997.
- [70] UDDIN, M.S.; SARKER, M.Z.I.; FERDOSH, S.; AKANDA, M.J.H.; EASMIN, M.S.; SHAMSUDIN, S.H.B.; YUNUS, K.B. Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: a review. *J Sci Food Agric*; **95**: 1385–1394, 2015.
- [71] VALÉRIO, M.; LIU, H. B.; HEFFNER, R.; ZIVADINOV, R.; RAMANATHAN, M.; WEINSTOCK-GUTTMAN, B.; AWAD, A. B. Phytosterols ameliorate clinical manifestations and inflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Inflamm Res*, 60, 457-465, 2011.
- [72] VANMIERLO, T.; BOGIE, J.F.J.; MAILLEUX, J.; VANMOL, J.; LÜTJOHANN, D.; MULDER, M.; HENDRIKS, J.J.A. Plant sterols: Friend or foe in CNS disorders? *Progress in Lipid Research*, 58, 26–39, 2015.
- [73] VILELA, C.; SANTOS, S.A.O.; OLIVEIRA, L.; CAMACHO, J.F.; CORDEIRO, N.; FREIRE, C.S.R.; SILVESTRE, A.J.D. The ripe of *Mangifera indica* L.: A rich source of phytosterols and other lipophilic phytochemicals. *Food Research International*, 54, 1535–1540, 2013.
- [74] YANG, C.; CHEN, Z.Y.; WONG, S.L.; LIU, J.; LIANG, Y.T.; LAU, C.W.; LEE, H.K.; HUANG, Y.; TSANG, S.F.  $\beta$ -Sitosterol oxidation products attenuate vasorelaxation by increasing reactive oxygen species and cyclooxygenase-2. *Cardiovasc. Res.* 97 (3), 520–532, 2013.
- [75] YANG, H.; YAN, F.; WU, D.; HUO, M.; LI, J.; CAO, Y.; JIANG, Y. Recovery of phytosterols from waste residue of soybean oil deodorizer distillate. *Bioresour. Technol.*, 101, 1471–1476, 2010.
- [76] ZHU, M.; WEN, X.; ZHAO, J.; LIU, F.; NI, Y.; MA, L.; LI, J. Effect of industrial chemical refining on the physicochemical properties and the bioactive minor components of peanut oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 93:285–294, 2016.