

ROSIMAR REGINA DA SILVA

MODELOS DE INDUÇÃO DE HIPERLIPIDEMIA E AVALIAÇÃO DO EFEITO
HIPOLIPIDÊMICO DE FLAVONÓIDES E CORANTES NATURAIS EM
FRANGOS DE CORTE

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2001

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua presença e proteção durante a minha vida e pela graça concedida para cumprir mais esta etapa.

Aos meus pais, pelo amor, pela dedicação e pelo exemplo de perseverança e honestidade.

Aos meus irmãos, pelo apoio e incentivo.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à FAPEMIG, pela cessão da bolsa de estudos e pelo financiamento do projeto.

A minha orientadora Professora Tânia Toledo de Oliveira, pela amizade, incentivo e expressiva orientação e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Tanus Jorge Nagem pela colaboração, pelas críticas e pelas sugestões valiosas durante a realização deste trabalho.

Aos Professores Luiz Fernando Teixeira Albino, Aloísio da Silva Pinto, Márcia Rogéria de Almeida, Paulo César Stringheta e Marli Lourdes de Oliveira, pela expressiva ajuda, orientação e apoio durante a realização deste trabalho.

Aos Professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, pela paciência, amizade e pelos conhecimentos transmitidos durante o curso.

A Maria Aparecida Leão pela amizade e expressiva ajuda oferecida durante a realização deste trabalho.

Ao José Geraldo Pinto pela grande ajuda e pelo apoio indispensável.

Aos funcionários do aviário, especialmente, Mauro Jarbas de Souza Godoe, pela paciência e expressiva ajuda na condução dos experimentos.

A amiga Flávia Escapini Fanchiotti pelo carinho e amizade

Aos amigos de curso e do laboratório de Biofármacos pelo convívio, companheirismo e ajuda.

A Silvana Lages Ribeiro Garcia, pela amizade e orientações.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ROSIMAR REGINA DA SILVA, filha de Higino José da Silva e Izabel Maria dos Santos Silva, nasceu em Guiricema, Minas Gerais, em 03 de junho de 1973.

Em 1994, iniciou o curso de Nutrição na Universidade Federal do Viçosa.

Em outubro de 1998, graduou-se em Nutrição e, neste mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em fevereiro de 2001.

CONTEÚDO

LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Transporte de lipídeos.....	3
2.1.1. Transporte de lipídeos exógenos.....	4
2.1.2. Transporte de lipídeos endógenos.....	5
2.2. Biossíntese de colesterol.....	10
2.3. Degradação e excreção do colesterol.....	14
2.4. Metabolismo do ácido araquidônico.....	16
2.5. Aterosclerose.....	19
2.6. Metabolismo lipídico em aves.....	22
2.7. Flavonóides: Características, classificação e funções.....	25
2.7.1. Propriedades farmacológicas dos flavonóides.....	27
2.8. Corantes naturais.....	39

2.8.1. Corante cúrcuma.....	40
2.8.2. Carotenóides.....	41
2.8.2.1. Corante norbixina.....	41
2.8.3. Propriedades farmacológicas dos corantes naturais.....	42
3. MATERIAL E MÉTODOS	48
3.1. Ensaio biológico utilizando aves normolipidêmicas.....	48
3.2. Ensaio biológico para indução de hiperlipidemia em aves.....	49
3.3. Ensaio biológico utilizando aves hiperlipidêmicas.....	49
3.4. Análise dos constituintes sangüíneos.....	50
3.5. Instalações.....	50
3.6. Dosagens dos constituintes sangüíneos.....	51
3.6.1. Dosagem de colesterol total.....	51
3.6.2. Dosagem de colesterol-HDL.....	52
3.6.3. Dosagem de colesterol-LDL.....	53
3.6.4. Quantificação de VLDL.....	53
3.6.5. Dosagem de triacilglicerol.....	53
3.7. Análise estatística.....	54
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4.1. Efeito de flavonóides e corantes naturais na redução dos lipídeos sangüíneos de aves normolipidêmicas.....	57
4.2. Indução de hiperlipidemia em aves utilizando colesterol, ácido cólico e gordura suína em diferentes concentrações.....	69
4.3. Efeito de flavonóides e corantes naturais na redução de lipídeos sangüíneos de aves hiperlipidêmicas.....	85
6.RESUMO E CONCLUSÕES	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
APÊNDICE	117

LISTA DE ABREVIATURAS

VLDL – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

IDL – Lipoproteína de Densidade Intermediária

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade

LPL – Lipoproteína Lipase

CETP – Proteína de Transferência de Ésteres de Colesterol

LCAT – Lecitina Colesterol Aciltransferase

HMG-CoA – Hidroximetilglutaril-Coenzima A

ACAT – Acil CoA: Colesterol Transferase

PG – Prostaglandina

RESUMO

SILVA, Rosimar Regina da, M. S., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2001. **Modelos de indução de hiperlipidemia e avaliação do efeito hipolipidêmico de flavonóides e corantes naturais em frangos de corte.** Professora Orientadora: Tânia Toledo de Oliveira. Professores Conselheiros: Tanus Jorge Nagem e Luiz Fernando Teixeira Albino.

Vários estudos têm mostrado que os flavonóides e corantes naturais apresentam propriedades biológicas como antioxidante, antiinflamatória, hipolipidêmica, anticancerígena, antibacteriana e hipotensora. Além disso, o uso de corantes naturais em alimentos constitui atualmente uma tendência mundial, em função da maior demanda por produtos naturais. Objetivando avaliar o efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina, e dos corantes naturais cúrcuma e norbixina, isoladamente, e avaliar o efeito de colesterol, ácido cólico e diferentes concentrações de gordura suína na indução de hiperlipidemia em aves da linhagem *Avian farms*, foram realizados três ensaios. O primeiro e segundo ensaios foram realizados com pintos de corte, machos, de um dia de idade, normolipidêmicos, sendo que no primeiro ensaio os flavonóides e corantes naturais foram administradas via oral, misturados à ração, na dose de 20 mg por ave por dia. O segundo ensaio foi

realizado para induzir a hiperlipidemia, com a administração, via oral, misturados à ração, das seguintes substâncias: 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico, 5% de gordura suína e 10% de gordura suína. No terceiro ensaio, os flavonóides e corantes naturais foram administrados via oral, misturados à ração, na dose de 20mg por ave por dia, sendo que este ensaio foi realizado com pintos machos, com hiperlipidemia induzida com 0,7% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 10% de gordura suína. Foram determinados os níveis plasmáticos de colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis em todos os ensaios. No primeiro ensaio, os flavonóides e corantes naturais administrados em pintos de corte normais, não apresentaram efeito hipolipidêmico. No ensaio de indução de hiperlipidemia observou-se que os animais que receberam ração suplementada com 10% de gordura suína e os que receberam 0,7% de colesterol e 0,1% de ácido cólico apresentaram aumentos significativos nos níveis de todos os constituintes avaliados, constatando-se que estas substâncias, nas concentrações testadas, são efetivas na indução de hiperlipidemia. No terceiro ensaio, observou-se que todas as substâncias testadas (naringina, rutina, cúrcuma e norbixina) apresentaram reduções significativas nos níveis de colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis, não alterando os níveis de colesterol-HDL. Estes resultados demonstram que estas substâncias apresentam efeito hipolipidêmico quando administradas em aves com hiperlipidemia induzida pela dieta.

ABSTRACT

SILVA, Rosimar Regina da, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2001. **Induction models of hyperlipidaemia and evaluation of the hypolipidaemic effect flavonoids and natural colorants in chicks.** Graduate Adviser: Tânia Toledo de Oliveira. Committee members: Tanus Jorge Nagem and Luiz Fernando Teixeira Albino.

Several studies have been showed that flavonoids and natural colorants present biological properties as antioxidant, antiinflammatory, hypolipidemic, anticarcinogenic, antibactericidal, antihypertensive. Natural colorants are important in foods and constitutes a world tendency due the largest demand for natural products. In order to evaluate the hypolipidaemic effect of flavonoids naringin, rutin and the natural colorants curcumin and norbixin, isolately, besides the cholesterol, colic acid and different concentrations of pig fat effects in the hyperlipidaemia induction in chicks of the lineage *Avian farms*, three experiments were accomplished. The first and second experiments were accomplished in male chicks, day one old, normolipidaemic, beeing the first by using flavonoids and natural colorants were administered orally, mixed to the ration, in the dosis of 20 mg/chick/day. The second experiment was accomplished by inducing the hyperlipidaemia, with the orally administration, mixed in the ration, of the following substances:

1% of cholesterol and 0,1% of colic acid and pig fat 5% and 10% concentration. In the third experiment, the flavonoids and natural colorants were orally administered, mixed to the ration, in the dosis of 20 mg/chick/day, and this experiment was accomplished in male chicks, with hyperlipidaemia induced by using 0,7% of cholesterol, 0,1% of colic acid and 10% of pig fat. The serum levels of total cholesterol, cholesterol-HDL, cholesterol-LDL, cholesterol-VLDL and triacilglycerols were dosed. The results showed that in the first experiment, was not observed hypolipidaemic effect. In the second experiment could be observed that the animals which received ration with 10% of pig fat and the others which received 0,7% of cholesterol and 0,1% of colic acid presented significant increases in all parameters evaluated, showing that these substances, were effective in hyperlipidaemia induction. In the third experiment, the results showed that naringin, rutin, curcumin and norbixin presented significant reductions in the total cholesterol, cholesterol-LDL, cholesterol-VLDL and triacilglycerols levels without increasing of cholesterol-HDL level. These results demonstrate that these substances present effect hypolipidaemic when administered in chicks with hyperlipidaemia induced by diet.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com estatísticas recentes, aproximadamente cinco milhões de pessoas sofrem de doença coronariana isquêmica, principal causa de morte em homens maiores de 35 anos e em pessoas de ambos os sexos depois dos 45 anos. Paralelamente, quase a totalidade das mortes prematuras na América do Norte e em muitos países desenvolvidos (mortes essas definidas de forma arbitrária como aquelas que ocorrem antes dos 65 anos) é causada por doença coronariana.

Dentre as patologias pertencentes ao grupo das doenças coronarianas, a doença cardiovascular aterosclerótica tem sido, atualmente, considerada problema de saúde pública no Brasil, tendo em vista o seu papel no perfil de mortalidade e as alterações patológicas que acarretam, muitas vezes de forma irreversível (CERVATO et al., 1997).

Atualmente, é amplamente aceito o conceito de que não existe uma única causa para as doenças cardíacas. Entre os principais fatores de risco estão a hipercolesterolemia, a hipertensão e o fumo.

Pesquisas têm demonstrado associações entre o consumo de gordura saturada, nível de colesterol e doenças coronárias (CIORLIA, 1997), no entanto, medidas dietéticas isoladas têm sido, freqüentemente, insuficientes, tornando-se necessária a associação destas com drogas hipolipidêmicas capazes de reduzir a síntese endógena de colesterol ou melhorar a eficiência de sua remoção do plasma.

Vários estudos têm mostrado que os flavonóides e os corantes naturais apresentam diversas propriedades biológicas como atividade antioxidante, antiinflamatória, hipolipidêmica, anticancerígena, antibacteriana, hipotensora. Além disso, o uso de corantes naturais em alimentos constitui atualmente uma tendência mundial, em função da maior demanda por produtos naturais. Assim estes compostos vêm tornando-se promissores fármacos naturais, visto que ocorrem amplamente na natureza e são de fácil obtenção, tornando-se uma nova fonte para o tratamento de pacientes com hiperlipidemias.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina e dos corantes naturais cúrcuma e norbixina, isoladamente, sobre os níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis e avaliar o efeito de colesterol, ácido cólico e diferentes concentrações de gordura suína na indução de hiperlipidemia em aves da linhagem *Avian farms*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1-Transporte de lipídeos

O colesterol e os ésteres de colesterol, assim como os triacilgliceróis e fosfolipídeos, são essencialmente insolúveis em água. Estes lipídeos precisam, entretanto, ser transportados de um tecido de origem (ou o fígado, onde eles são sintetizados, ou o intestino, onde eles são absorvidos) para os tecidos nos quais eles serão armazenados ou consumidos. Eles são transportados de um tecido para outro pelo plasma sangüíneo na forma de lipoproteínas plasmáticas (NELSON e COX, 2000). As lipoproteínas são partículas globulares de alto peso molecular que transportam lipídeos não polares (principalmente triacilgliceróis e ésteres de colesterol) através do plasma. Cada partícula de lipoproteína contém um núcleo não polar, onde se acondicionam várias moléculas de lipídeos hidrofóbicos, de modo a formar uma gotícula de gordura. Este núcleo hidrofóbico consiste em triacilgliceróis, ésteres de colesterol em proporções variáveis. Em torno do núcleo, existe um revestimento de superfície polar de fosfolipídeos e colesterol não esterificado em menores quantidades, que estabiliza a partícula de lipoproteína, de modo que esta pode permanecer em solução no plasma. Cada partícula de lipoproteína também contém proteínas específicas, denominadas apoproteínas, que são parcialmente expostas na superfície. A apoproteína liga-se a enzimas específicas ou

proteínas de transporte nas membranas celulares, transportando assim a lipoproteína para os seus sítios de metabolismo (PETERSDORF et al., 1984).

2.1.1- Transporte de lipídeos exógenos

A gordura da dieta, após a hidrólise para formar triacilgliceróis parciais e ácidos graxos, é absorvida das micelas contendo ácidos biliares conjugados (WYNGAARDEN et al., 1993). Após absorção, os triacilgliceróis da dieta são reesterificados no retículo endoplasmático e acondicionado em quilomícrons com várias apoproteínas, incluindo A-I, A-IV, a forma intestinal da apoproteína B, identificada como B48, colesterol e fosfolipídeos. Os quilomícrons são sintetizados apenas no intestino. Durante o movimento dos quilomícrons da linfa para o sangue, estes adquirem apoproteínas C e E. Esses quilomícrons modificados interagem com a LPL, uma enzima ligada na superfície de células capilares em muitas partes do organismo (GOLDBERG et al., 1985).

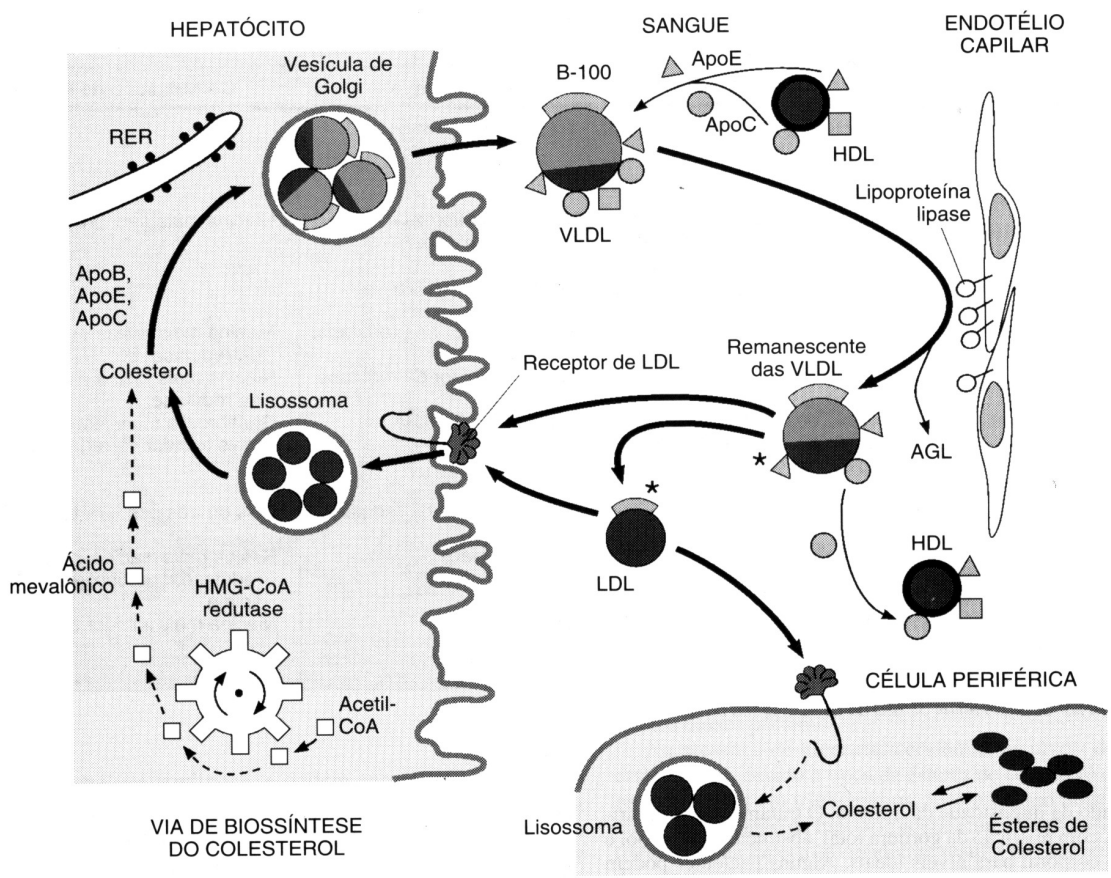
Os quilomícrons são, em sua maior parte, removidos do sangue circulante à medida que passam pelos capilares do tecido adiposo e do fígado (GUYTON e HALL, 1997). A apoproteína C-II localizada na superfície dos quilomícrons ativa a enzima LPL, que catalisa a hidrólise de triacilglicerol e fosfolipídeos a ácidos graxos livres, glicerol e lisofosfolipídeos que são então captados pelos tecidos. Em adição à perda de maior parte de seus triacilgliceróis, os quilomícrons perdem colesterol, apoproteínas A-I e A-IV, mas retêm apoproteína B, C-II e E. A partícula do quilomícron desprovida da maior parte dos seus triacilgliceróis, mas ainda contendo colesterol e as apoproteínas E, C-II e B-48, é chamado remanescente de quilomícron. Este pode interagir com o receptor da apoproteína E na superfície de células hepáticas parenquimatosas, e ser captado por endocitose (GOLDBERG et al., 1985). O resultado final do processo de transporte do quilomícron é levar o triacilglicerol da dieta ao tecido adiposo e o colesterol ao fígado.

Uma parte do colesterol que chega ao fígado é convertida em ácidos biliares, que são excretados no intestino para agirem como detergentes e facilitarem a absorção da gordura da dieta. Além disso, uma certa quantidade de colesterol é excretada na bile sem que haja metabolismo a ácidos biliares (PETERSDORF et al., 1984).

2.1.2.- Transporte de lipídeos endógenos

Além dos quilomícrons, que são grandes lipoproteínas, existem quatro outras classes principais de lipoproteínas, que são as VLDL, que contém altas concentrações de triacilgliceróis e concentrações moderadas de colesterol e fosfolipídeos; IDL, que são lipoproteínas de densidade muito baixa, das quais foram removidas grande parte dos triacilgliceróis, de modo que as concentrações de colesterol e fosfolipídeos estão aumentadas; LDL, que são lipoproteínas de densidade intermediária, a partir das quais quase todos os triacilgliceróis foram removidos, deixando uma concentração especialmente elevada de colesterol e concentrações moderadamente altas de fosfolipídeos; e HDL, que contém altas concentrações de proteínas, cerca de 50%, porém com concentrações menores de colesterol e fosfolipídeos (GUYTON e HALL, 1997).

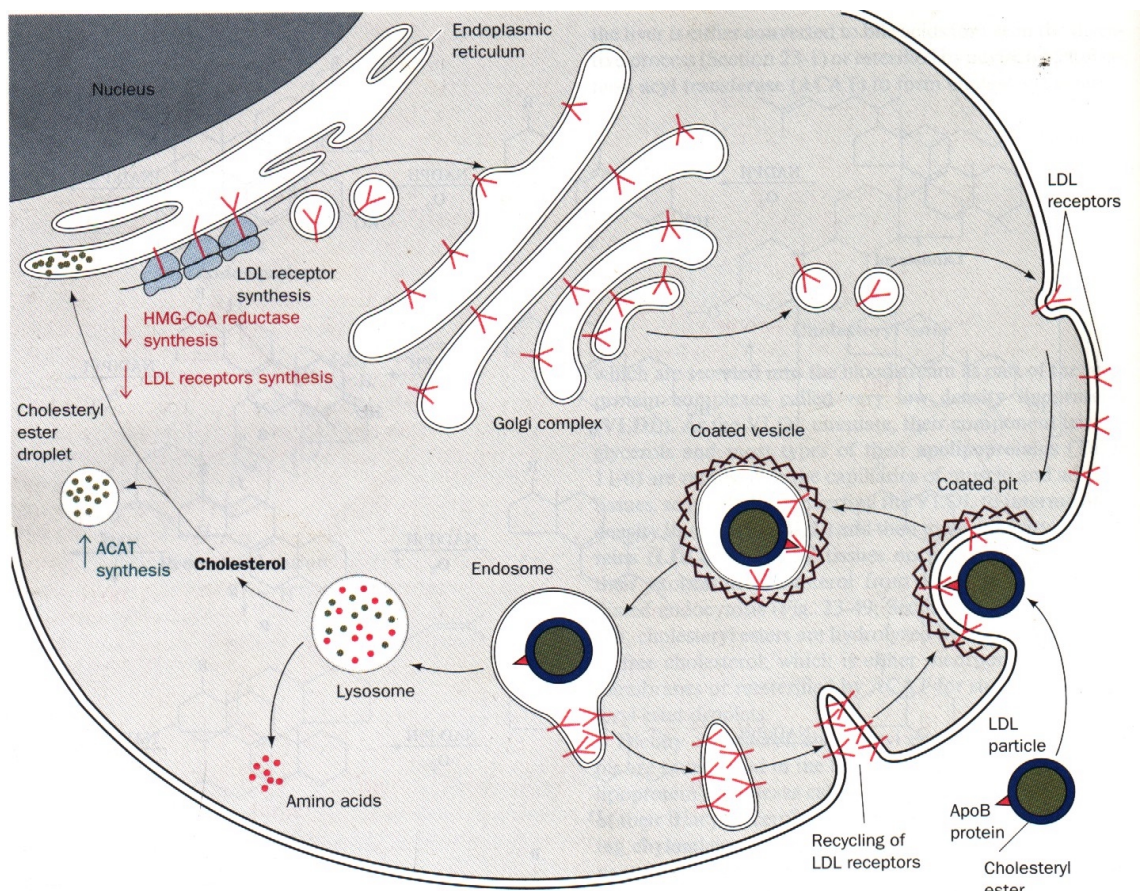
As VLDL são produzidas pelo fígado e intestino. Estas contém predominantemente triacilgliceróis e apoproteínas A, B, C e E. A forma de apoproteína B chamada B100, que é sintetizada no fígado, é necessária para a secreção de VLDL pelo fígado. Após a sua liberação, a VLDL adquire apoproteína C e interage com a LPL (Figura 1), perdendo triacilgliceróis (GOLDBERG, et. al.,1985). Quando a dieta contém uma quantidade de ácidos graxos maior que aquela imediatamente necessária como combustível, ou como precursores, eles são convertidos em triacilgliceróis no fígado e estes são agrupados com apolipoproteínas específicas para formar VLDL (NELSON e COX, 2000). Os carboidratos que chegam em excesso pela dieta também podem ser convertidos em ácidos graxos, os quais são reesterificados a triacilgliceróis no fígado e exportados como VLDL (PETERSDORF et al., 1984). Estas lipoproteínas são transportadas do fígado para o tecido adiposo, onde a ativação da LPL pela apoproteína C-II provoca liberação de ácidos graxos livres dos triacilgliceróis das VLDL. Os adipócitos captam esses ácidos graxos, ressintetizam os triacilgliceróis a partir deles e armazenam os produtos em gotículas lipídicas intracelulares (NELSON e COX, 2000).



Fonte: KATZUNG, 1998.

Figura 1- Metabolismo das lipoproteínas de origem hepática.

Após remoção de grande parte dos triacilgliceróis a partir das VLDL, a densidade das lipoproteínas remanescentes torna-se ligeiramente maior, sendo elas então denominadas IDL. Nesse estágio, muitas dessas lipoproteínas de densidade intermediária retornam às células hepáticas, devido à presença de receptores nas membranas das células hepáticas para uma proteína de superfície existente na lipoproteína, denominada apoproteína B-100. Em condições normais, o fígado remove cerca da metade dessas lipoproteínas de densidade intermediária. As que permanecem no sangue circulante perdem quase todos os triacilgliceróis remanescentes através de sua hidrólise nos capilares sob a influência da LPL capilar. Como consequência, a densidade das lipoproteínas torna-se ainda maior, e o colesterol e fosfolípidos atingem suas maiores concentrações (GUYTON e HALL, 1997; QUINTÃO, 1992). Estas lipoproteínas passam então a ser denominadas LDL, que são ricas em colesterol e ésteres de colesterol e contém quase exclusivamente apo B-100 como sua apoproteína. A função da LDL é suprir colesterol a uma grande variedade de células parenquimatosas extra-hepáticas, estas células possuem receptores de LDL localizados na sua superfície. A LDL se liga a este receptor (Figura 2) e é captada por endocitose mediada pelo receptor e digeridas pelos lisossomos no interior das células (PETERSDORF et al., 1984; GOLDBERG et al., 1985). Os ésteres de colesterol da LDL são hidrolisados, e o colesterol liberado é utilizado tanto para a síntese da membrana quanto como precursor para a síntese de hormônio esteróide. Esta via receptora de LDL funciona como uma rota principal para a degradação da LDL (PETERSDORF et al., 1984). Além de sua degradação pela via da LDL nas células parenquimatosas extra-hepáticas, os macrófagos circulantes possuem níveis elevados de atividade de captação via receptor. Estes receptores, os quais possuem ampla especificidade de ligação a ligantes, podem mediar a endocitose de LDL quimicamente modificada. Diferentemente da LDL captada pelos receptores próprios, a LDL oxidada captada pelos macrófagos não regula os níveis intracelulares de colesterol, e assim o colesterol se acumula nestas células. A captação excessiva de LDL oxidada por macrófagos causa a transformação destas células em células “espumosas”, as quais participam na formação das placas ateroscleróticas (CHAMPE e HARVEY, 1996).



Fonte: VOET e VOET (1995).

Figura 2 – Processo de endocitose em receptores de LDL modificados

A HDL é de fundamental importância por seu efeito protetor diante dos fenômenos aterogênicos. Ela é sintetizada no fígado como partículas pequenas ricas em proteína e contendo relativamente pouco colesterol e ésteres de colesterol. As HDL contêm apoproteína C-I e C-II, entre outras, bem como a enzima LCAT, que catalisa a formação de ésteres do colesterol a partir da lecitina (fosfatidilcolina) e colesterol. Outra proteína associada à HDL é a CETP, que transfere muitos dos ésteres de colesterol da VLDL e LDL para a HDL (NELSON e COX, 2000; BADIMON et al., 1992, GARRETT e GRISHAN, 1999).

O processo de incorporação de colesterol pela HDL inicia-se com a interação destas partículas com estruturas que contenham colesterol livre na interface com o meio aquoso, tais como lipoproteínas menos densas (quilomícron, VLDL e LDL), ou, ainda, membranas celulares (macrófagos, fibroblastos, hemácias, etc.). Na reação catalisada pela LCAT ocorre a transferência de um ácido graxo para a posição 3-beta-hidroxi do colesterol. Este por sua vez, deixa a interface com o meio aquoso (lipoproteína ou membrana celular) e é incorporado ao núcleo hidrofóbico da HDL (QUINTÃO, 1992).

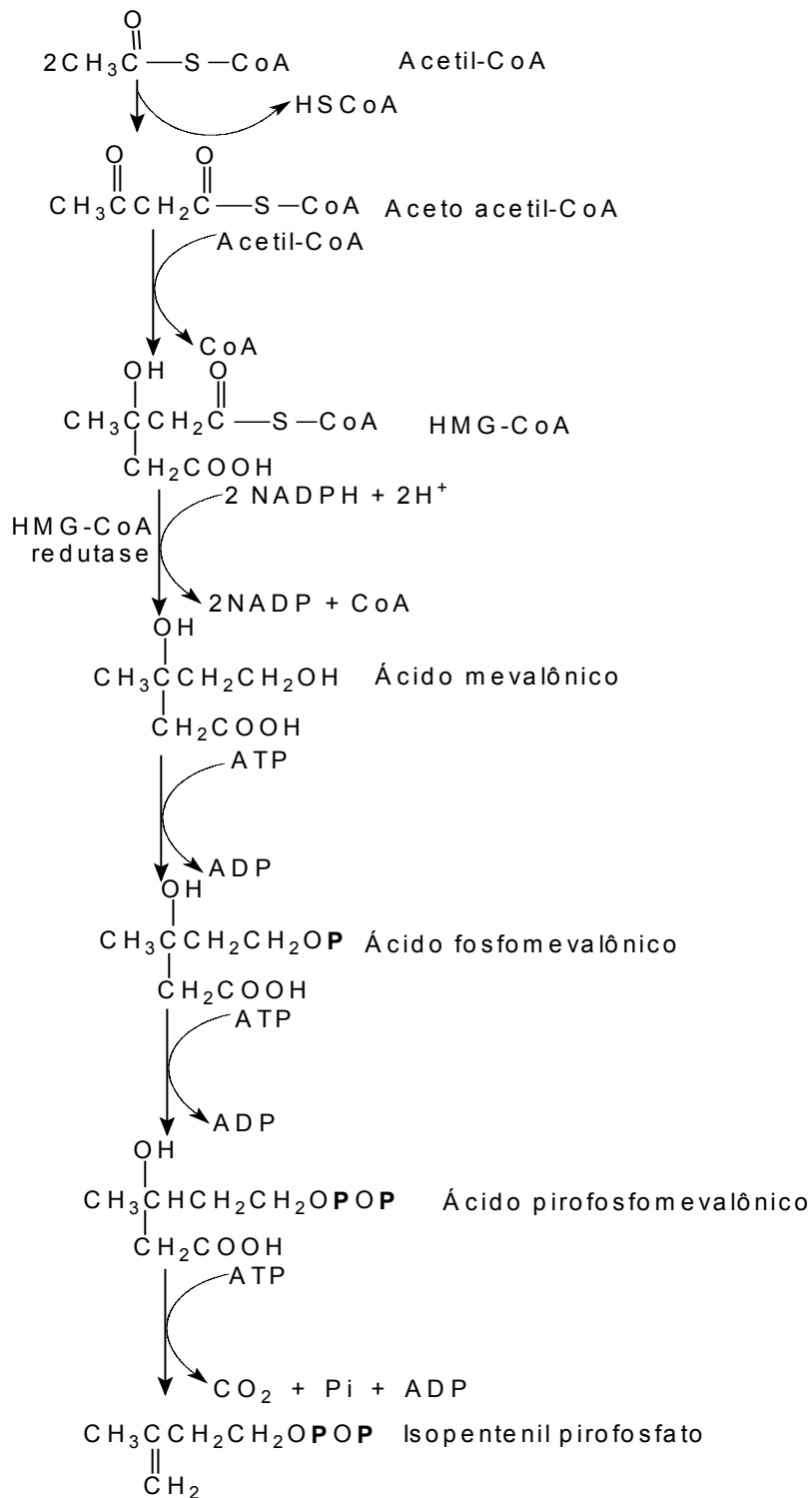
Depois de liberada na corrente sanguínea, a HDL nascente (recentemente sintetizada) coleta ésteres de colesterol de outras lipoproteínas circulantes como quilomícrons e VLDL remanescentes. Os quilomícrons e VLDL, depois da remoção de seus triacilgliceróis pela LPL, são ricos em colesterol e fosfatidilcolina. A LCAT existente na superfície da HDL nascente converte esta fosfatidilcolina e colesterol em ésteres de colesterol, os quais entram no interior da HDL nascente, à medida que se acumulam maiores quantidades de colesterol no interior da lipoproteína, esta adquire uma forma esférica, transformando-se assim em uma HDL madura. Esta lipoproteína rica em colesterol volta agora ao fígado, onde o colesterol é liberado. Parte deste colesterol é convertido em sais biliares. A HDL pode ser captada diretamente no tecido hepático (NELSON e COX, 2000; BADIMON et al., 1992). Portanto, a função da HDL é levar colesterol esterificado ao fígado. Este processo explica a correlação entre altos níveis de HDL e redução nos riscos de doenças cardiovasculares (GARRETT e GRISHAN, 1999)

2.2- Biossíntese de colesterol

O colesterol é sintetizado por praticamente todos os tecidos em seres humanos, embora o fígado, intestino, córtex adrenal e tecidos reprodutivos incluindo ovários, testículos e placenta façam as maiores contribuições ao colesterol corporal. O colesterol é o esteroide mais abundante em seres humanos, e realiza uma série de funções essenciais no corpo (CHAMPE e HARVEY, 1996). Sua importância fisiológica reside no amplo papel que desempenha no organismo animal, como componente estrutural da maioria das membranas celulares, precursor de vitamina D, hormônios esteróides e ácidos biliares (FUKUSHIMA e NAKANO, 1995; BRODY, 1994). Por outro lado é também um dos maiores constituintes das placas ateroscleróticas e de muitos cálculos biliares (KRAUSE et al., 1998).

Além do colesterol absorvido diariamente do trato gastrointestinal, denominado colesterol exógeno, uma quantidade ainda maior é sintetizada nas células do organismo, sendo conhecido como colesterol endógeno (GUYTON e HALL, 1997). Aproximadamente, metade do colesterol do organismo surge por síntese endógena (Figura 3), e o restante é fornecido pela dieta (MURRAY et al., 1998). Praticamente todo o colesterol endógeno que circula nas lipoproteínas do plasma é formado pelo fígado (GUYTON e HALL, 1997).

A acetil-CoA é precursora de todos os átomos de carbonos presentes no colesterol (C₂₇). As enzimas que catalisam a síntese do colesterol localizam-se no citossol e no retículo endoplasmático (MARZZOCO e TORRES, 1999).



Fonte: BRODY (1994)

Figura 3 – Biossíntese do colesterol

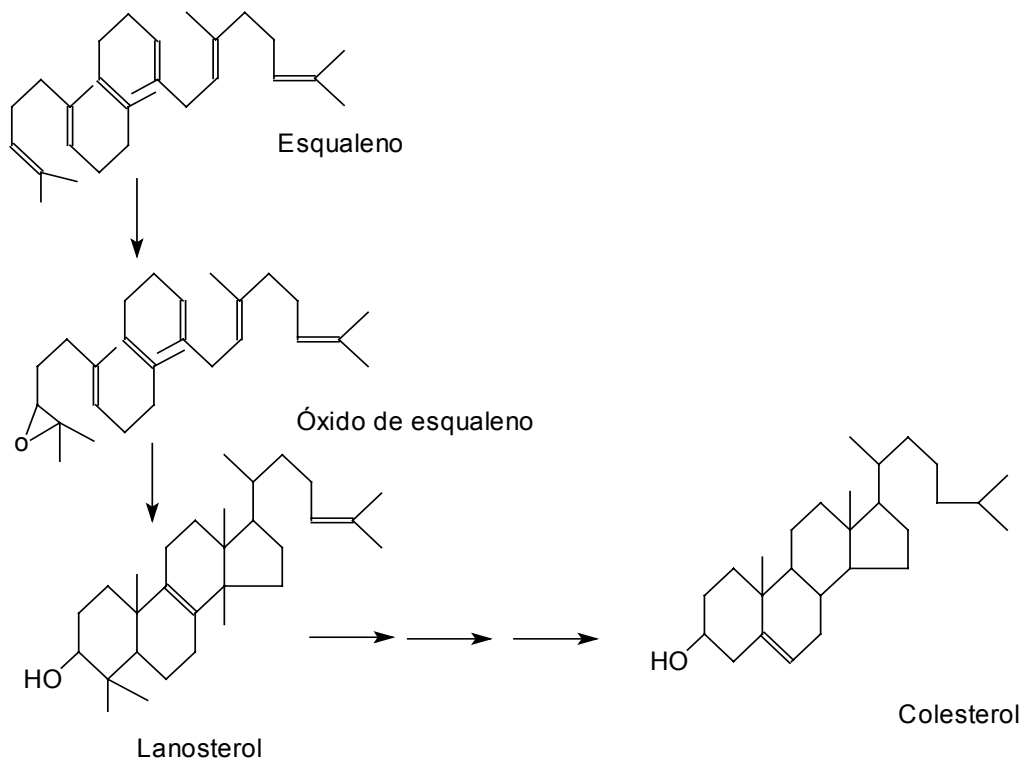
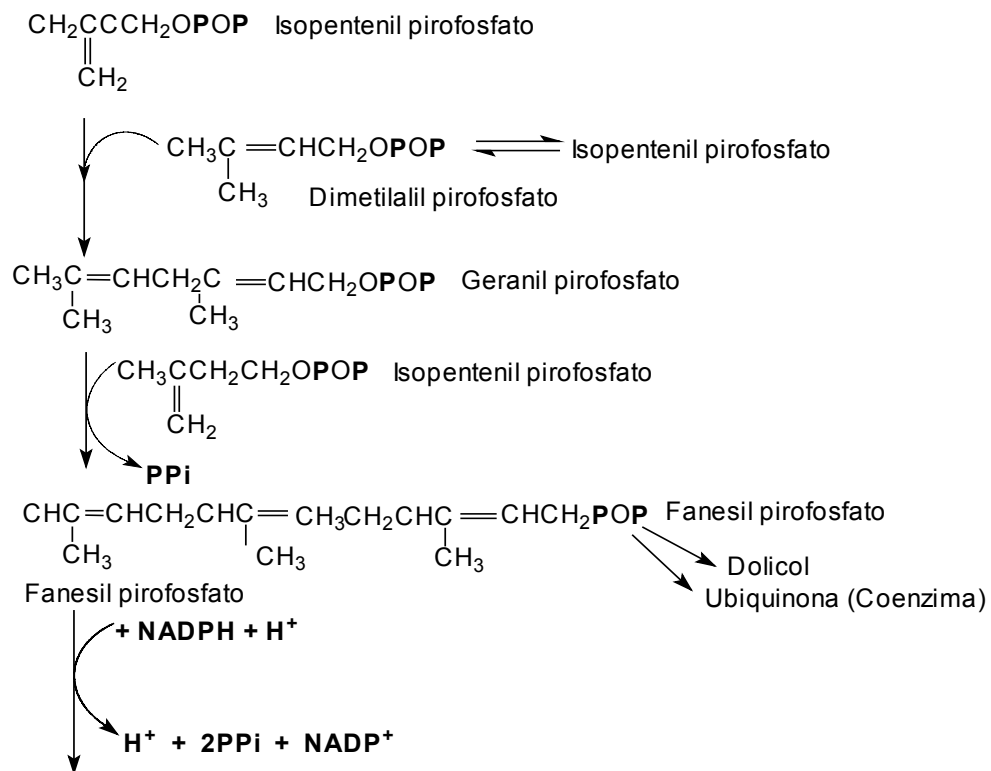


Figura 3 - Continuação

O processo de síntese do colesterol ocorre em quatro estágios. A síntese do colesterol inicia-se com a condensação de duas moléculas de acetil-CoA, produzindo acetoacetil-CoA; que condensa-se com uma terceira molécula de acetil-CoA, produzindo um composto com 6 átomos de carbono, HMG-CoA. As enzimas que catalisam estas reações são, respectivamente, tiolase e HMG-CoA sintase, ambas citossólicas. Nos hepatócitos, essas duas enzimas são encontradas também nas mitocôndrias, e a HMG-CoA formada é precursora dos corpos cetônicos. A HMG-CoA é a seguir reduzida a mevalonato, numa reação catalisada pela HMG-CoA redutase, uma enzima ligada ao retículo endoplasmático. Esta reação é irreversível e considerada etapa limitante na síntese de colesterol (MARZZOCO e TORRES, 1999). Muitos dos fatores que regulam a biossíntese do colesterol atuam modulando a atividade da enzima HMG-CoA redutase (RUDNEY e SEXTON, 1986).

No estágio seguinte da síntese do colesterol, o mevalonato é fosforilado pelo ATP formando vários intermediários fosforilados ativos. Por meio de uma descarboxilação, forma-se a unidade isoprenóide ativa, o isopentenil pirofosfato (MURRAY et al., 1994). No próximo passo o isopentenil pirofosfato e o dimetilalil pirofosfato sofrem uma condensação, formando o geranyl pirofosfato. Este sofre outra condensação com o isopentenil pirofosfato, liberando o intermediário de 15 carbonos, farnesil pirofosfato. Finalmente duas moléculas de farnesil pirofosfato unem-se, com a eliminação dos dois grupos pirofosfato e formam o esqualeno (NELSON e COX, 2000).

A etapa final da síntese do colesterol começa com a ciclização do esqualeno e, em contraste com as anteriores, requer oxigênio molecular (STRYER, 1995). Primeiramente, há formação de um composto intermediário, epóxido de esqualeno, pela ação de uma oxidase de função mista presente no retículo endoplasmático, a esqualeno epoxidase, com participação de O_2 e NADPH. Em células animais, ocorre ciclização do epóxido de esqualeno, o que resulta na formação do lanosterol, que contém os quatro anéis característicos do núcleo esteróide. Finalmente, o lanosterol é convertido em colesterol em uma série de aproximadamente 20 reações (NELSON e COX, 2000).

Nos mamíferos a produção de colesterol é regulada pela concentração intracelular e pelos hormônios glucagon e insulina. O passo limitante na via de síntese de colesterol é a conversão do HMG-CoA em mevalonato pela ação da

enzima HMG-CoA redutase. Esta enzima pode ter sua atividade variada em mais de 100 vezes. Ela é inibida alostericamente por derivados do colesterol, ainda não identificados, e do intermediário chave, mevalonato. A HMG-CoA redutase é também regulada por hormônios, existindo nas formas fosforilada (inativa) e desfosforilada (ativa) (RICARDO, 1999). O glucagon age estimulando a fosforilação da HMG-CoA redutase e a insulina age promovendo a desfosforilação da mesma.

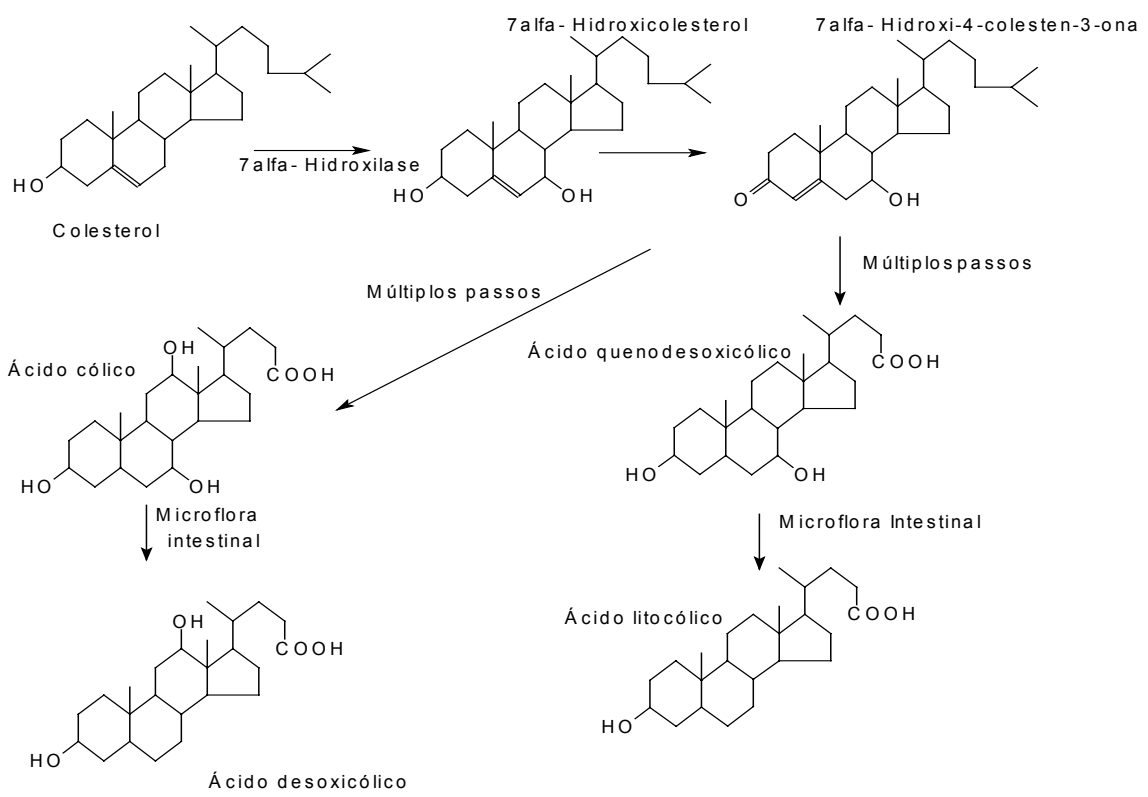
Em adição a essa inibição imediata da HMG-CoA redutase, já existente, concentrações altas de colesterol intracelular também diminuem a síntese de novas moléculas da enzima. Ainda, altas concentrações intracelulares de colesterol ativam a enzima ACAT, aumentando a esterificação do colesterol para o armazenamento. Finalmente, altas concentrações de colesterol intracelular provocam uma redução na produção do receptor de LDL, diminuindo a captação do colesterol a partir do sangue (RICARDO, 1999).

2.3- Degradação e excreção do colesterol

A estrutura em anel do colesterol não pode ser metabolizada a CO_2 e H_2O em seres humanos. Em vez disto, o anel esterol intacto é eliminado do corpo por (1) conversão em ácidos biliares, os quais são excretados nas fezes ou (2) secreção do colesterol na bile, a qual transporta-o ao intestino para eliminação (CHAMPE e HARVEY, 1996).

Os ácidos biliares podem ser considerados como produtos finais do catabolismo do colesterol no organismo. Esses compostos, juntamente com o próprio colesterol, que também está presente na bile, representa o único percurso expressivo para a eliminação do colesterol do corpo (HARPER et al., 1982). Uma parte do colesterol eliminado na bile é transformado em coprostanol e colestanol por bactérias intestinais. O colesterol e os compostos primários do colesterol, coprostanol e colestanol constituem o maior volume de esteróis fecais.

Os ácidos biliares são sintetizados no fígado por uma rota de etapas múltiplas (Figura 4).



Fonte: BRODY (1994)

Figura 4 – Conversão de colesterol a sais biliares

O primeiro passo na transformação de colesterol em ácidos biliares é a formação de 7- α -hidroxicolesterol pela ação da enzima 7- α -hidroxilase. Este é um passo limitante na síntese dos ácidos biliares primários: cólico e quenodesoxicólico, que são os principais ácidos biliares sintetizados pelo fígado humano.

Os ácidos biliares cólico e quenodesoxicólico são algumas vezes chamados de ácidos biliares primários. Estes podem ser desidroxilados por bactérias no trato digestivo. Os produtos são o ácido desoxicólico, o derivado diidroxido do ácido cólico e o ácido litocólico, o derivado monoidroxido do ácido quenodesoxicólico (SMITH et al., 1988). Antes dos ácidos biliares deixarem o fígado, eles são conjugados a uma molécula de glicina ou taurina por uma ligação amida entre o grupo carboxila do ácido biliar e o grupo amino do composto adicionado. Estas estruturas novas são denominadas sais biliares e incluem os ácidos glicocólico, glicoquenodesoxicólico, taurocólico e tauroquenodesoxicólico (CHAMPE e HARVEY, 1996).

Os sais biliares secretados no intestino são eficientemente reabsorvidos e reutilizados. A mistura de ácidos e sais biliares primários e secundários é absorvida principalmente no íleo por transporte ativo. Eles são levados das células da mucosa intestinal ao sangue do sistema porta e são eficientemente removidos pelas células parenquimatosas do fígado. O fígado converte tanto os ácidos biliares primários como os secundários em sais biliares pela conjugação com glicina ou taurina, permitindo que sejam secretados na bile. O contínuo processo de secreção de sais biliares na bile, sua passagem através do duodeno onde alguns são convertidos em ácidos biliares, e seu retorno subsequente ao fígado como uma mistura de ácidos e sais biliares são denominados de circulação entero-hepática (CHAMPE e HARVEY, 1996).

2.4- Metabolismo do ácido araquidônico

Muitos dos efeitos antiinflamatórios e cardiovasculares propostos por flavonóides e compostos fenólicos interferem no metabolismo final do araquidonato. Os produtos da ação das enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase são as prostaglandinas tromboxanos e leucotrienos, também denominados

eicosanóides. Estes compostos são agentes homeostáticos envolvidos na manutenção da integridade dos sistemas inflamatório, cardiovascular e renal. O desequilíbrio na homeostase de leucotrienos pode resultar em respostas inflamatórias com distúrbios respiratórios como asma, rinite alérgica, artrite e desordens inflamatórias no intestino. Similarmente um desequilíbrio na síntese de prostaglandinas pode levar a doenças cardiovasculares e renais resultando em aterosclerose e derrames.

Os ácidos graxos C₂₀ poliinsaturados, como o ácido araquidônico, são os precursores biossintéticos de várias famílias de compostos que exercem diversas ações biológicas. Esses compostos incluem as prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e os leucotrienos (SMITH et al., 1988), e são chamados, conjuntamente, de eicosanóides. Os eicosanóides são sinalizadores muito potentes que agem como mensageiros de curta distância, afetando os tecidos próximos das células que o produzem (NELSON e COX, 2000).

O ácido araquidônico é um constituinte de fosfolípidos de membrana e, por isso, a síntese dos eicosanóides inicia-se com a liberação deste ácido graxo, através de hidrólise, catalisada por fosfolipases específicas de fosfolípidos de origem animal (MARZZOCO & TORRES, 1999).

Todas as células são capazes de liberar ácido araquidônico, mas os produtos enzimáticos predominantes assim formados são altamente específicos a nível celular (WYNGAARDEN et al, 1993). Em resposta a um estímulo hormonal, ou a outros, uma fosfolipase específica, presente na maioria dos tipos celulares de mamíferos, hidrolisa os fosfolípidos de membrana liberando o ácido araquidônico (NELSON e COX, 2000). A etapa inicial de síntese dos eicosanóides envolve a cisão do ácido araquidônico dos fosfolípidos das membranas celulares (PETERSDORF et al., 1984). A fosfolipase A₂ e fosfolipase C, e possivelmente diacilglicerol lipase estão envolvidos na liberação de ácido araquidônico. As fosfolipases são de relevância particular para a formação de eicosanóides porque os ácidos graxos precisam estar na forma livre para serem utilizados como substrato da ciclooxigenase e lipoxigenase (KINSELLA, 1991).

Um grupo de enzimas presentes no retículo endoplasmático liso converte o ácido araquidônico em prostaglandinas, em um processo que se

inicia com a formação de um endoperóxido, o PGH_2 , precursor imediato de muitas outras prostaglandinas e tromboxanos. As duas reações que levam até a formação de PGH_2 envolve a adição de oxigênio molecular, e ambos são catalisados por uma enzima bifuncional, a prostaglandina endoperóxido sintase (NELSON e COX, 2000). Esta enzima atua como ciclooxigenase e peroxidase.

A enzima tromboxano sintase presente nas plaquetas sangüíneas converte PGH_2 em tromboxano A_2 do qual outros tromboxanos são derivados. Os tromboxanos induzem à constrição dos vasos sangüíneos e à agregação das plaquetas, os primeiros passos na coagulação do sangue (NELSON e COX, 2000).

A prostaciclina (PGI_2), produto predominante do ácido araquidônico através da ação da ciclooxigenase, é formada pelo endotélio vascular e também pelo subendotélio. Esta substância inibe a agregação das plaquetas por todos os agonistas reconhecidos e também desagrega as plaquetas previamente agregadas. A PGI_2 inibe a aderência das plaquetas e dos neutrófilos a superfícies estranhas e ao endotélio lesado e dilata tanto a musculatura lisa brônquica quanto a vascular (WYNGAARDEN et al, 1993).

O ácido araquidônico também está amplamente sujeito a reações de lipoxigenação, o que leva à formação de compostos potentes e biologicamente ativos, denominados leucotrienos (BRODY, 1994; KATZUNG, 1998).

O primeiro passo na formação dos leucotrienos é a clivagem do ácido araquidônico dos fosfolipídeos de membrana (BRODY, 1994). A síntese dos leucotrienos começa com a ação de várias lipoxigenases que catalisam a incorporação de oxigênio molecular no ácido araquidônico. Essas enzimas são encontradas nos leucócitos, coração, cérebro, pulmão e baço.

O primeiro leucotrieno a ser formado é o A_4 , que por sua vez é metabolizado ou a leucotrieno B_4 ou leucotrieno C_4 . O leucotrieno C_4 produz grande bronconstrição pulmonar, um efeito parcialmente bloqueado por inibidores da ciclooxigenase. Isso significa a possibilidade do leucotrieno T_4 mediar esse efeito através da liberação de uma prostaglandina broncoconstritora, como tromboxano A_2 . O leucotrieno B_4 estimula a adesão, a migração, a liberação enzimática e a produção de superóxido pelos leucócitos polimorfonucleares. Essas propriedades biológicas sugerem fortemente um

papel para os produtos da lipoxigenase tanto na inflamação quanto na broncoconstrição induzida por antígeno (WYNGAARDEN et al, 1993).

2.5- Aterosclerose

A regulação do metabolismo do colesterol vem sendo extensivamente estudada, especialmente depois que foi estabelecida com clareza a relação entre níveis plasmáticos altos de colesterol e incidência de aterosclerose (MARZZOCO e TORRES, 1999).

A aterosclerose é uma doença das artérias de calibre grande e intermediário, caracterizada pelo desenvolvimento de lesões gordurosas, denominadas placas ateromatosas, na superfície interna das paredes arteriais (GUYTON e HALL, 1997).

A aterosclerose é o tipo mais freqüente de arteriosclerose (esclerose de artérias) e as doenças cardiovasculares dela resultantes são a principal causa de morte nos países desenvolvidos (MARZZOCO e TORRES, 1999).

A etapa inicial das modificações na LDL causada pelas células é a peroxidação de seus ácidos graxos poliinsaturados liberados dos fosfolipídeos. Este processo é inibido por agentes antioxidantes. Há fortes evidências de que a peroxidação lipídica é processo mediado por radicais livres e catalisado em presença de metais de transição, como ferro e cobre. Um dos eventos mais precoces na aterosclerose experimental é a aderência de monócitos circulantes às células endoteliais da artéria. A LDL oxidada é um potente fator quimiotático positivo para monócitos e, ao mesmo tempo, é um inibidor da mobilidade do macrófago (QUINTÃO, 1992; BATLOUNI e RAMIRES, 1994).

Evidências experimentais indicam que a lesão endotelial é um fator importante na aterogênese, no entanto já foi amplamente confirmado que a lesão do tipo estria gordurosa pode desenvolver-se sob uma camada endotelial morfológicamente intacta. A LDL oxidada, por ser altamente citotóxica, pode induzir alterações funcionais nas células endoteliais que favorecem a penetração dos monócitos ou facilitam o movimento de mais LDL para o espaço subendotelial, acelerando, assim, a formação das estrias gordurosas. Além disso, a citotoxicidade da LDL oxidada é suficiente para promover a perda

de células endoteliais da superfície de estrias gordurosas já estabelecidas (QUINTÃO, 1992).

Os achados sobre as propriedades das LDL oxidadas, permitiram que Steinberg et al (1989) citado por QUINTÃO (1992) propusesse um modelo de desenvolvimento da lesão aterogênica, baseado somente na presença de níveis elevados de LDL e modificações oxidativas desta dentro da parede arterial. A seqüência de eventos postulada é a seguinte: na presença de altos níveis de LDL no plasma, a concentração de LDL na íntima arterial aumenta e o maior número de partículas disponíveis no interstício arterial leva a aumento na concentração de LDL oxidada. Essa, por sua vez, contribui para o recrutamento dos monócitos circulantes. Na parede arterial, os monócitos sofrem as modificações fenotípicas que os transformam em macrófagos, e, por ação quimiotática das LDL oxidadas, são impedidos de retornar ao plasma. Uma vez que os próprios macrófagos podem modificar oxidativamente as LDL, a velocidade com que as LDL oxidadas são produzidas aumenta geometricamente com o número de macrófagos no espaço subendotelial (QUINTÃO, 1992).

Os macrófagos residentes expressam o receptor de depuração, por meio do qual captam rapidamente as LDL oxidadas. As LDL oxidadas são captadas mais rapidamente pelos macrófagos que as LDL nativas, para formar células espumosas, no interior das quais se acumulam os ésteres de colesterol. Esses receptores, diferentemente dos receptores de LDL nativa, não são regulados pela entrada de colesterol na células, o macrófago continua captando LDL oxidada (QUINTÃO, 1992; BATLOUNI e RAMIRES, 1994; KATZUNG, 1998). Ademais, LDL oxidadas são quimiotáticas para monócitos, inibem a motilidade dos macrófagos tissulares e são citotóxicas para as células endoteliais. A susceptibilidade das LDL à oxidação correlaciona com a magnitude da aterosclerose (BATLOUNI e RAMIRES, 1994).

Esta cadeia de eventos não pressupõe a perda de células endoteliais como o fator iniciador da aterogênese e sim como importante na progressão da lesão, tipo estria gordurosa, para placa fibrosa e lesões mais complexas. A citotoxicidade da LDL oxidada causaria a perda de células endoteliais que recobrem as estrias gordurosas e, a partir daí, desencadearia agregação plaquetária, liberação dos fatores de crescimento plaquetários, estimulação de

outros fatores de crescimento e proliferação de células musculares, levando ao espessamento do ateroma. Assim, as teorias de infiltração lipídica e da lesão endotelial são consideradas, atualmente, mas com uma modificação na seqüência de eventos (QUINTÃO, 1992).

A lesão aterosclerótica incipiente se caracteriza pela migração de monócitos do sangue, fibroblastos e fibras musculares lisas da média para a camada íntima da artéria. Estas lesões determinam um estreitamento de artérias e desencadeiam a formação de coágulos, que podem levar à sua oclusão. Isto resulta no bloqueio da irrigação do tecido em questão e a sua morte, devido à interrupção do aporte de oxigênio e, conseqüentemente, da produção de energia, obtida através da oxidação aeróbica de nutrientes, na maioria das células. Isto é o que acontece nos casos de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, embolia pulmonar, entre outros (MARZZOCO e TORRES, 1999).

Quando há lesão de um vaso sangüíneo, as plaquetas tornam-se viscosas e aderem rapidamente aos vasos sangüíneos lesados, fixando-se ao tecido conjuntivo endotelial, como, por exemplo, às fibras de colágeno e à membrana basal. As plaquetas também aderem entre si, formando uma obstrução suficiente para interromper o sangramento se a lesão for pequena. À medida que as plaquetas se agregam, elas liberam aminas vasoativas, como, por exemplo, serotonina e adrenalina, e metabólitos das prostaglandinas, como, por exemplo, tromboxano A₂, que estimulam a vasoconstrição. Em seguida, inicia-se a coagulação do sangue ao redor das plaquetas e dos tecidos lesados, resultando na formação de um trombo ou coágulo (SMITH et al., 1988).

As plaquetas contribuem para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose, em parte, pela liberação de fatores de crescimento que leva à multiplicação de células musculares lisas e migração destas da média para a camada íntima da artéria (TIJBURG et al., 1997)

Certas lipoproteínas plasmáticas estão associadas à aterogênese acelerada. As lipoproteínas que contêm apolipoproteína B-100 foram identificadas como os veículos nos quais o colesterol é transportado para o interior da parede arterial. Estas lipoproteínas aterogênicas são as LDL, IDL e VLDL. Os ésteres de colesterol, que são encontradas nas células espumosas

do ateroma, também aparecem na matriz extracelular e induzem a produção de colágeno pelos fibroblastos. Os macrófagos e as células musculares lisas desempenham importante papel na aterogênese (KATZUNG, 1998).

Os mecanismos pelos quais a placa aterosclerótica evolui para o quadro de infarto do miocárdio ou infarto cerebral envolvem a formação de um trombo na superfície da placa fissurada. Estudos recentes descrevem uma seqüência de eventos a qual se inicia com a ruptura da íntima arterial que está sobre a placa. Isto geralmente ocorre na junção entre a placa e a parede arterial normal adjacente. O conteúdo da placa é liberado e a cicatrização da parede arterial pode ocorrer sem a evolução para um evento isquêmico, a não ser que haja trombose sobre a superfície lesada (SERRANO e RAMIRES, 1995).

As HDL podem ser antiaterogênicas, provavelmente por facilitarem o transporte reverso do colesterol e estudos demonstraram o papel protetor das HDL na função endotelial. Justifica-se assim a utilização de medidas e fármacos para elevar os níveis de HDL, com a finalidade de preservar a função endotelial e prevenir a aterogênese (BATLOUNI & RAMIRES, 1994). Acredita-se que as HDL possam, na realidade, absorver cristais de colesterol que estão começando a se depositar nas paredes arteriais. Independentemente desse mecanismo ser verdadeiro ou não, as HDL ajudam a proteger o indivíduo contra o desenvolvimento de aterosclerose (GUYTON e HALL, 1997).

2.6- Metabolismo lipídico em aves

A digestão intestinal dos lipídios da dieta, que consistem essencialmente de triacilgliceróis, envolve a sua hidrólise parcial, absorção e reconstituição nas células da mucosa intestinal à partículas de lipoproteínas muito grandes (HERMIER, 1997). A digestão e absorção de lipídeos da dieta em aves ocorre no intestino, como nos demais não ruminantes, mas a rota subsequente de transporte é muito diferente entre mamíferos e aves. Em mamíferos, os ácidos graxos de cadeia longa são absorvidos pelos enterócitos e incorporados aos quilomícrons na forma de triacilgliceróis, que são secretados no sistema linfático e daí para a circulação sangüínea via ducto torácico. Em aves, os lipídeos da dieta também são incorporados a grandes

partículas ricas em triacilgliceróis, que são denominados “portomícrons” (GRIFFIN, 1996). O tamanho dos portomícrons (diâmetro médio de 150 nm) e composição (aproximadamente 90% de triacilgliceróis) é bem parecido com os quilomícrons de mamíferos (HERMIER, 1997).

Das células absortivas, as lipoproteínas são secretadas no fluido intersticial, atravessam as células da lâmina própria e são transportados pelas células endoteliais dos capilares em aves. As lipoproteínas sintetizadas na parede intestinal são transportadas diretamente para o sangue do sistema porta (KROGDAHL, 1985).

Muitos lipídeos da dieta entram no sistema porta na forma de ácidos graxos não esterificados. Além disso, a gordura da dieta é captada pelo fígado antes de entrar na circulação geral. Uma alta proporção de ácidos graxos não esterificados no sangue da circulação porta são removidos, provavelmente, durante a primeira passagem pelo fígado (GRIFFIN, 1996).

Estudos têm mostrado que o jejuno é o maior sítio de absorção de lipídeos em galinhas. O íleo foi o mais importante para a absorção de ácidos palmítico, linoléico e esteárico. A absorção de sais biliares ocorre tanto no jejuno quanto no íleo (KROGDAHL, 1985).

Os portomícrons atravessam o fígado antes de alcançar o resto da circulação. Porém, é provável que por estas partículas serem muito grandes para atravessar a parede celular dos capilares hepáticos, não são metabolizadas pelo fígado. Estas lipoproteínas estão ausentes no plasma de aves não alimentadas e estão em muito baixa concentração em aves alimentadas precocemente. Esta situação reflete não somente a baixa quantidade de gordura na maioria das dietas de aves, mas também o catabolismo muito rápido de portomícrons em tecidos extrahepáticos (HERMIER, 1997).

A dieta muito gordurosa leva a um acréscimo de lipoproteínas nos vários estágios no interior do enterócito. Alimentos gordurosos baseados em ácidos graxos de cadeia média estão menos sujeitos a provocar este inconveniente na síntese de lipoproteínas do que gorduras que contenham, principalmente, ácidos graxos de cadeia longa, uma vez que a absorção de ácidos graxos de cadeia média é independente da formação de micela (MORAN JR, 1994).

As aves formam lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que são menores que os quilomícrons formados em mamíferos. A absorção de gordura no animal jovem é deficiente, uma vez que o intestino delgado destes animais não está completamente desenvolvido (MORAN JR, 1994).

As VLDL e HDL são as duas principais classes de partículas de lipoproteínas que são sintetizadas e secretadas pelo fígado. As apolipoproteínas destas partículas de lipoproteínas são também sintetizadas no fígado. Em galinhas as apolipoproteínas B-100 e apo A-I são as maiores apolipoproteínas de VLDL e HDL, respectivamente. Com respeito a VLDL, a união de triacilgliceróis, fosfolídeos, colesterol e apo B (junto com apoproteína VLDL-II em galinhas) é um processo consecutivo que começa no retículo endoplasmático e termina no complexo de golgi, do qual partículas nascentes são empacotados em vesículas e secretadas. Este processo dura menos de 40 minutos depois do início da tradução de apoproteína B. Acredita-se que a via de síntese e secreção de HDL de galinha seja semelhante ao de VLDL (HERMIER, 1997).

Muito pouco é conhecido sobre a regulação da síntese e secreção de lipoproteína do fígado de aves, pelo menos em aves em crescimento. Alguns estudos em hepatócitos de galinha demonstraram que insulina aumenta tanto a lipogênese quanto a síntese de VLDL, enquanto que tiroxina e glucagon tiveram efeito oposto. Neste contexto, o perfil hormonal pode ser muito importante para gerar diferenças na taxa de lipogênese hepática por seleção genética. Entretanto, estudos *in vitro* indicam claramente que altas concentrações de insulina, similares aos encontrados em animais alimentados, aumenta a lipogênese e inibe a síntese de apoproteína B. Então, a síntese e secreção de VLDL é inibida, e alguns triacilgliceróis são acumulados temporariamente em vesículas citoplasmáticas (HERMIER, 1997).

A transferência de triacilgliceróis da VLDL (e portomícrons, se existir) para dentro do tecido adiposo envolve o seu catabolismo pela LPL. A LPL catalisa a hidrólise de triacilgliceróis a ácidos graxos e glicerol. O ácido graxo então entra no tecido circunvizinho e, no caso do tecido adiposo, eles são reesterificados e estocados como triacilgliceróis. A LPL é sintetizada em adipócitos, bem como no músculo e outros tipos de células, mas somente a fração da enzima que foi secretada e ancorada na superfície da parede dos

capilares é funcionalmente ativa. Em mamíferos, a LPL pode ser ativada pela apoproteína CII, uma apolipoproteína de baixo peso molecular que é secretada com HDL e então transferida à VLDL antes da sua hidrólise. O equivalente de restos de apoproteína C-II é identificado em aves, embora seja conhecido que HDL constitui o principal reservatório de ativador de LPL em plasma de galinha. Em galinhas poedeiras, o catabolismo de VLDL no plasma é muito limitado, o que permite o transporte de lipídeos para os oócitos onde VLDL são absorvidas por endocitose, em vez de outros tecidos. Entretanto, VLDL de galinhas poedeiras contêm grandes quantidades de apo VLDL-II, uma apolipoproteína que só é sintetizada sob influência de estrógeno, o qual mostrou ser inibidor específico de LPL (HERMIER, 1997).

O colesterol da gema do ovo é sintetizado no fígado de galinhas poedeiras e transportado para os folículos em desenvolvimento via VLDL, sendo depositado por endocitose mediada por receptor (NIMPF e SCHNEIDER, 1991). A síntese de colesterol aumenta em galinhas, e isto pode ser devido a um aumento na demanda para a produção de ovos. O colesterol da gema do ovo é importante para o desenvolvimento embrionário, sendo que a maior parte do colesterol da gema é transferido ao embrião durante a última semana de incubação. Estudos indicam que pintos provavelmente não possuem enzimas desenvolvidas para a síntese de colesterol, o que mostra a importância deste constituinte no ovo (SUTTON et al., 1984). Após a eclosão, pintos apresentam grande quantidade de colesterol no saco vitelínico, fígado e plasma. Poucos dias após eclosão há uma progressiva redução nos níveis de colesterol do plasma e fígado destes animais (CASTILLO et al., 1996).

2.7- Flavonóides: Características, classificação e funções

Os flavonóides são compostos polifenólicos, diversos em estrutura química e características, encontrados somente em plantas. Possuem em suas estruturas anéis aromáticos constituindo unidades de esqueleto de carbono C₆-C₃-C₆. O esqueleto C₁₅ dos flavonóides é biogeneticamente derivado de fenilpropano (C₆-C₃) e três unidades acetato (C₆). Do ponto de vista químico eles podem ser considerados como derivados de 2-benzopirano (YOKOZAWA et. al., 1997).

As várias classes de flavonóides existentes diferem entre si no nível de oxidação do anel pirano central, exceto nas chalconas que possuem estrutura aberta. Cada tipo de flavonóide pode apresentar modificações, como hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, ou ramnosilação, resultando numa enorme diversidade de flavonóides na natureza (COOK e SAMMAN, 1996).

Mais de quatro mil diferentes flavonóides foram identificados dentro da maior classe de flavonóides que incluem flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas, diidroflavonóis e chalconas. Esses compostos são absorvidos no trato gastrintestinal de homens e animais e são excretados intactos ou como metabólitos na urina e fezes (COOK e SAMMAN, 1996; PETERSON e DWYER, 1998).

De todos os pigmentos que existem nos vegetais com a estrutura da fenilbenzopirona, as flavonas e os flavonóis são, sem dúvida alguma, os mais abundantes. A significância desses pigmentos com relação à cor dos vegetais se limita aos vegetais amarelados. A distinção entre as flavonas e flavonóis é muito pequena, uma vez que flavonóis são flavonas nas quais a posição três está hidroxilada. Entre as flavonas, apenas a luteolina (1), apigenina (2) e tricetina (3) são comuns na natureza das quais se derivam a estrutura de outras agliconas. Os flavonóis mais comuns são o kaempferol (4), a quercetina (5) e a miricetina (6), e entre eles o mais importante é sem dúvida a rutina (3-rutinosil-quercetina) (7) composto com atividade biológica (BOBBIO e BOBBIO, 1992a).

As flavanonas são substâncias sem cor e diferem quimicamente das flavonas por terem uma ligação saturada entre os carbonos dois e três. São encontradas em grandes quantidades em frutas cítricas, e sua grande importância atualmente se deve ao fato de, por reações químicas simples, darem origem às di-hidrochalconas, compostos de sabor doce bem acentuado, e substitutos em potencial da sacarose (BOBBIO e BOBBIO, 1992a). A naringenina (8) e a naringina (9) são exemplos de flavanonas.

As catequinas (10) são componentes de proantocianidinas ($C_{30}H_{26}O_n$). As proantocianidinas se caracterizam por mudarem de cor quando expostas ao ar.

As antocianinas compreendem um grupo de pigmentos de ocorrência natural, os quais são responsáveis pelas colorações azul, vermelha, púrpura e violeta de muitas espécies no reino vegetal (JACKMAN et al, 1987). Estes pigmentos naturais são bastante conhecidos, pois determinam a coloração característica de uma grande variedade de vegetais, incluindo aqueles usados na alimentação humana (STRINGHETA e BOBBIO, 2000). Várias antocianidinas são conhecidas na natureza, das quais somente seis têm importância em alimentos, entre elas estão a pelargonidina (11), cianidina (12), peonidina (13), delphinidina (14), petunidina (15) e malvinidina (16) (FRANCIS, 1992). As antocianinas estão presentes em uvas, morangos, amoras pretas, jabuticabas, cerejas, na casca da batata doce, cebola roxa, repolho roxo, e em muitas outras espécies vegetais tais como pétalas de flores, frutos e plantas superiores (FREUND et al., 1988).

As isoflavonas são pigmentos pouco distribuídos na natureza, embora constituam uma grande classe de produtos naturais. A genisteína (17) é a isoflavona mais freqüentemente encontrada na natureza.

Os diidroflavonóis (2'-hidroxiflavonóis) são raros, ocorrendo somente em algumas plantas, sendo um exemplo a morina (18), presente nos troncos de madeira de *Morus tinctoria*. Suas propriedades são bem conhecidas como corante e como agente quelante, propriedade essa que induz ao seu uso na área de química analítica (RICARDO, 1999).

As chalconas são flavonóides coloridos nos quais os dois anéis aromáticos estão ligados por uma cadeia alifática de três carbonos. A cor vermelha do açafraão é devido a uma chalcona, a cartamidina, que quando tratada com ácido clorídrico, isomeriza à isocartamidina; a cartamidina é encontrada na forma de glicosídeo, com o açúcar (glicose) ligado na posição oito (BOBBIO e BOBBIO, 1992a).

2.7-1. Propriedades farmacológicas dos flavonóides

Vários efeitos biológicos têm sido atribuídos aos flavonóides, visto que são capazes, por exemplo, de inibir a peroxidação de lipídeos e a agregação de plaquetas, e de ativar sistemas de enzimas, incluindo ciclooxigenases e

lipoxigenases. Esses efeitos são devidos a sua capacidade de remover radicais livres e de quelar cátions divalentes (COOK e SAMMAN, 1996).

Entre as atividades biológicas e farmacológicas dos flavonóides incluem, atividade antiinflamatória, hipocolesterolêmica, antitumoral, antioxidante, inibidores ou estimuladores da polinização, antifúngica, bactericida, antiviral, vasodilatador, antialérgica, anti-hipertensiva, expectorante, carminativo, protetores da mucosa gástrica, inibidores de enzimas como a lipoxigenase, aldose redutase, inibidores da biossíntese de prostaglandinas, anti-hepatotóxica, influenciadores dos hormônios da tireóide, relaxantes musculares, ativadores de linfócitos, atuantes sobre a agregação plaquetária e possuidores de efeitos diuréticos (HARBORNE, 1994).

Estudos epidemiológicos revelam que dieta com alimentos ricos em flavonóides (alho, vinho tinto, vegetais, etc.), está correlacionado com o aumento da longevidade e diminuição da incidência de doenças cardiovasculares observadas nas populações da França. O flavonóide mais freqüentemente estudado, quercetina (5), mostrou ter propriedades biológicas consistentes com seu efeito poupador do sistema cardiovascular. Quercetina e outros flavonóides têm mostrado modificar a biossíntese de eicosanóides (resposta antiprostanóide e antiinflamatória), proteger oxidação de LDL (previne formação de placa aterosclerótica), prevenir agregação plaquetária (efeitos antitrombóticos), e promover relaxamento de músculo liso (efeito antihipertensivo e antiarrítmico). Em adição, flavonóides tem mostrado ter propriedades antiviral e carcinostático. A atividade dos flavonóides como inibidores da transcriptase reversa sugere um lugar desses compostos no controle de infecções por retrovírus, como na síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) (FORMICA e REGELSON, 1995).

Ingestão de flavonóis e flavonas na dieta está inversamente associado com risco de doença cardiovascular. Isto pode ser devido ao efeito sobre a homeostase, pois foi demonstrado que flavonóides inibem agregação plaquetária in vitro (JANSSEN et al, 1998).

Experimentos realizados por SUDHEESH et al. (1997) mostraram que ratos alimentados com uma dieta padrão contendo flavonóides extraídos de beringela (*Solanum melongena*) na dose de 1mg por 100g de peso, apresentaram redução significativa nos níveis de colesterol do soro, fígado,

aorta e coração; triacilgliceróis do soro; fosfolipídeos do fígado e ácidos graxos livres do fígado, aorta e coração. Num segundo experimento, os animais foram alimentados com dietas livres de colesterol e dieta contendo colesterol (2g/100g de dieta) suplementadas com flavonóides (1mg/100g de peso). Neste experimento, foi observado que com a suplementação com flavonóides ocorreu uma diminuição significativa dos níveis de colesterol do soro, fígado, coração e rim, triacilgliceróis do soro, fosfolipídeos do fígado e rim e ácidos graxos livres do fígado e soro. Em ambos experimentos houve um aumento na atividade da enzima HMG-CoA redutase enquanto que a atividade das enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase e malato desidrogenase diminuíram significativamente pela suplementação por flavonóides. A atividade das enzimas LPL do coração e tecido adiposo e LCAT do plasma também foram significativamente aumentados pela suplementação por flavonóides. Além disso, níveis de ácidos biliares hepáticos e fecais e esteróis neutros fecais aumentaram significativamente pela suplementação, indicando um alto padrão de degradação de colesterol. Possivelmente, esta pode ser a primeira razão da redução do colesterol do soro e tecidos. A enzima LCAT do plasma também parece ajudar no processo de eliminação de colesterol, em grande parte, através da absorção do colesterol dos tecidos extrahepáticos e transporte para o fígado para sua posterior degradação.

Diversos experimentos em animais e estudos em humanos mostraram que a lesão endotelial, particularmente nos estágios precoces da lesão vascular, pode ser revertida por intervenções que reduzem os lipídeos plasmáticos, tanto através de dieta, como de diversos agentes hipolipemiantes, especialmente os inibidores da HMG-CoA redutase. Os resultados desses ensaios, objetivando correção agressiva dos distúrbios lipídicos, vêm se constituindo em promissora estratégia terapêutica para o controle da progressão e mesmo regressão da aterosclerose. Simultaneamente, ocorrem efeitos favoráveis na parede vascular, com melhora do relaxamento dependente do endotélio, favorecendo a vasodilatação, aumento da perfusão e retardo ou inibição da adesão e agregação plaquetária (BATLOUNI & RAMIRES, 1994).

BOK et al.(1999) avaliando o efeito de extrato de casca de tangerina e mistura dos flavonóides naringina (9) e hesperedina (19) em ratos machos

Sprague-Dawley alimentados com dieta contendo 1% de colesterol, observaram uma redução significativa dos níveis de colesterol hepático e plasmático, triacilglicerol hepático e esteróis neutros fecais. Entretanto, não houve diferença significativa nas concentrações sanguíneas de colesterol-HDL e triacilglicerol. Os resultados sugerem que esses flavonóides reduzem a biossíntese de colesterol através da inibição da HMG-CoA redutase e ACAT, resultando em redução no nível de colesterol plasmático e hepático. A redução do colesterol plasmático, resulta em um aumento da absorção de colesterol dietético o que contribui para uma simultânea diminuição da excreção fecal de colesterol em ratos alimentados com estes flavonóides. A atividade de HMG-CoA redutase está normalmente diminuída em ratos alimentados com dieta alta em colesterol, enquanto que a atividade da enzima ACAT e colesterol- 7- α -hidroxilase estão aumentadas. Entretanto, a presença desses flavonóides em uma dieta rica em colesterol diminuiu significativamente a atividade de HMG-CoA redutase e ACAT. A redução da atividade da enzima ACAT pode levar a uma redução dos ésteres de colesterol disponíveis para formar VLDL resultando assim na redução da secreção de VLDL pelo fígado. De forma interessante, nem naringina, nem hesperedina inibiram HMG-CoA redutase ou ACAT *in vitro*, sugerindo que ambas podem sofrer algumas mudanças estruturais ou ficar ativas no intestino ou outro órgão. Uma outra hipótese seria que a expressão de genes dessas enzimas podem ser inibidas pela naringina e hesperedina em ratos alimentados com dieta rica em colesterol.

Estudos *in vitro*, mostraram que os flavonóides daidzeína (20), daidzína (21), pseudobaptigenina (22), karangina (23), himokiflavona (24) e silibina (25) apresentaram habilidade em inibir a atividade procoagulante de monócitos humanos estimulados por endotoxina e interleucina. O fator tissular de coagulação sanguínea é uma glicoproteína que inicia a coagulação sanguínea por formar um complexo com os fatores VII e VIIa. Em condições normais, as células endoteliais e monócitos não expressam atividade do fator tissular, embora este expresse a atividade da trombomodulina que acelera a ativação de trombina catalisada pela proteína C, contribuindo assim para as propriedades anticoagulantes do endotélio. Em algumas situações patológicas, quando o endotélio ou os monócitos são expostos a mediadores inflamatórios, eles podem adquirir propriedades pró-coagulantes. Quando as células são

estimuladas por compostos inflamatórios, como endotoxina ou interleucina, podem alterar as propriedades antitrombóticas do endotélio por reduzir a expressão do fator tissular e reduzir a regulação da trombosmodulina, promovendo a coagulação sangüínea e trombose. Flavonóides afetam uma grande variedade de enzimas, possui atividade antioxidante, quelam alguns cátions metálicos, afetam a fosforilação de proteínas celulares, apresentam efeito inibitório na agregação plaquetária e nas funções dos leucócitos e possui efeito protetor sobre as células endoteliais, o que sugere que estas substâncias são de grande interesse no desenvolvimento de inibidores nas interações entre sangue e as paredes dos vasos, os quais estão intimamente relacionadas com o processo de trombose (LALE e HERBERT, 1996).

Investigações bioquímicas dos mecanismos da ação dos flavonóides tem mostrado que estes compostos inibem uma ampla variedade de sistemas enzimáticos (PELZER et al, 1998). O ácido araquidônico é um importante ácido graxo que serve como precursor de prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos, os quais são potentes mediadores intracelulares que controlam uma variedade de processos complexos no organismo. No passo intermediário da formação desses compostos, prostaglandina endoperóxidos (PGH₂ e PGG₂) são formados pela ação da enzima prostaglandina endoperóxido sintetase, uma enzima com atividade de ciclooxigenase (produzindo PGG₂ a partir de ácido araquidônico) e peroxidase (produzindo PGH₂ a partir de PGG₂). Durante a atividade de peroxidase, radicais livres orgânicos são produzidos, o qual dá origem à formação de intermediários reativos de oxigênio e peroxidação lipídica patológica (GALVEZ et al., 1995).

A capacidade de certos flavonóides para inibir tanto a via da ciclooxigenase quanto da 5-lipoxigenase no metabolismo do araquidonato pode contribuir para propriedades antiinflamatórias. Além disso, estudos têm mostrado que flavonóides aumentam a permeabilidade capilar e exercem um efeito inibitório na exsudação de proteínas e migração de leucócitos. Flavonóides são conhecidos por mostrar propriedades antioxidantes, incluindo eliminação de radicais livres e prevenindo peroxidação de lipídeos (PELZER et al, 1998).

Sabe-se que a peroxidação lipídica está intimamente relacionada com processos inflamatórios. A atividade antioxidante das antocianinas cianidina 3-O- β -n-glicosil-cianidina e cianidina (12) foi testada por TSUDA et al. (1994), que usou auto-oxidação do ácido linoléico, lipossomos, membranas de eritrócitos de coelho e sistemas microssomais de fígado de rato. As duas substâncias apresentaram atividade antioxidante em todos os sistemas. Os dados sugerem que esses compostos podem exercer importante papel na peroxidação de membranas celulares induzidas por radicais de oxigênio ativos em sistemas vivos.

MOTILVA et al (1994), estudaram o efeito protetor do flavonóide naringenina (8) sobre lesões de mucosa gástrica produzidas por etanol e o envolvimento de prostaglandinas endógenas com estas lesões. As prostaglandinas parecem preservar a integridade microvascular e reduzir a subjacente congestão dos vasos sangüíneos. Entretanto, nem todos os eicosanóides exercem efeito protetor sobre a mucosa gástrica. Os leucotrienos, potentes vasoconstritores, são gerados pela mucosa gástrica, e tem sido identificados neste local, particularmente, após o aparecimento de lesões causadas por etanol. Os leucotrienos exercem vários efeitos biológicos, como efeito vasoconstritor, que pode contribuir para o seu papel como mediador de lesões e isquemia dos tecidos. Pesquisas recentes têm mostrado que inibição da síntese de leucotrienos foi acompanhado por diminuição de lesões da mucosa gástrica em diferentes modelos experimentais, incluindo úlceras gástricas induzidas por etanol. Flavonóides podem interferir com a produção de metabólitos do ácido araquidônico, através da inibição da enzima lipoxigenase, e reduzir a concentração de leucotrienos em diferentes sistemas biológicos. O efeito de proteção da mucosa gástrica exercida pela naringenina pode ser devido à regulação da liberação de substâncias vasoativas como os leucotrienos. Além disso, radicais livres podem estar envolvidos na patogênese de lesões agudas da mucosa gástrica. Vários estudos têm mostrado que naringenina atua como antioxidante, inibindo peroxidação lipídica.

Os ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas das células podem ser oxidados por peroxidação enzimática ou auto-oxidativa, mediante reações que envolvam radicais livres. Um excesso de radicais livres pode levar à reação em cadeia incontrolada e à peroxidação lipídica,

resultando em patologias que incluem aterosclerose e câncer. A peroxidação lipídica ocorre em três estágios: iniciação, propagação e terminação. No estágio de iniciação da peroxidação lipídica, ocorre interação do ácido graxo insaturado com o oxigênio, formando um radical lipídico. No estágio de propagação, o radical lipídico reage com oxigênio molecular, formando radical peroxila, que pode atacar outra molécula de lipídeo, formando mais radicais livres. No estágio de terminação, os radicais livres reagem com antioxidantes formando produtos inertes. A peroxidação lipídica pode ser suspensa por inativação enzimática dos radicais livres pelos antioxidantes que inibem o estágio de iniciação e, ou, aceleram o estágio de terminação (COOK e SAMMAN, 1996).

Os flavonóides inibem a peroxidação lipídica, *in vitro*, no estágio de iniciação, por atuar como antioxidante eliminando ânion superóxido e radicais hidroxilas. Tem sido proposto que flavonóides interrompem a reação em cadeia dos radicais livres, doando átomos de hidrogênio ao radical peroxila, formando um radical de flavonóide. O radical flavonóide então reage com o radical livre, terminando assim, a propagação da reação em cadeia (COOK e SAMMAN, 1996).

GRYGLEWSKI et al (1987) estudaram o efeito de quercetina (5), rutina (7) e cianidol (26) na peroxidação lipídica não-enzimática. Esses pesquisadores correlacionaram a atividade antitrombocítica dos flavonóides à sua propriedade antioxidante. Os resultados mostraram também, que esses compostos inibem a atividade da lipoxigenase, ciclooxigenase e da fosfolipase A₂.

GALVEZ et al (1995) avaliaram a atividade antiperoxidativa de vários flavonóides sobre a peroxidação de membrana de células de fígado de rato induzidas pelo sistema não-enzimático (sistema ácido ascórbico-Fe²⁺) e pelo sistema enzimático (ácido araquidônico). Todos os flavonóides testados foram capazes de inibir a peroxidação lipídica induzida pelos dois sistemas. Com relação à peroxidação lipídica induzida pelo sistema ácido ascórbico-Fe²⁺, os flavonóides que apresentaram melhores resultados na inibição da peroxidação lipídica, em ordem decrescente, foram: epicatequina (27) e luteolina (11), quercetina (5) e catequina (10), delphinidina (14), kaempferol (4), apigenina (2) e naringenina (8). Entretanto, quando a peroxidação lipídica foi induzida por ácido araquidônico, os flavonóides que apresentaram melhores resultados em

ordem decrescente foram: delphinidina, epicatequina, catequina, kaempferol, quercetina, luteonina, naringenina e apigenina.

O efeito antiinflamatório de flavonóides, incluindo aqueles encontrados no chá, é explicado em parte pelo seu efeito inibitório sobre o metabolismo do ácido araquidônico. Os constituintes do chá responsáveis pelas propriedades antiinflamatórias e fortalecimento de capilares incluem as catequinas e a rutina (7). Estudos tem mostrado que os flavonóides quercetina (5) e catequina (10) inibiram três aspectos da função de neutrófilos humanos *in vitro*, que são considerados contribuir para o processo inflamatório: a liberação de enzimas lisosomais, a resposta à quimioluminescência e a produção de radicais livres (TIJBURG et al., 1997).

Estudos realizados por PELZER et al (1998) sobre o efeito antiinflamatório de 30 flavonóides das classes flavanonas, flavonas e flavonóis, mostraram que as flavanonas eriodictiol (28) e hesperetina (29), a flavona 7,4'-di-O-metilapigenina (30), e os flavonóis quercetina (5), 3-O-metilquercetina (31) e morina (18), inibiram significativamente o edema provocado pelo processo de inflamação induzido nas patas de rato. Os flavonóides rutina (flavonol) (7) e jaceosidina (flavona) (32) apresentaram os melhores efeitos antiinflamatórios.

O aumento potencial do crescimento de células musculares lisas é uma das principais anormalidades que ocorrem durante o desenvolvimento da aterosclerose. Estudos realizados por HUANG et al. (1995) mostraram que baicaleína (33) apresenta um forte efeito inibitório sobre a resposta proliferativa de células musculares lisas vasculares estimulada por fator de crescimento derivado de plaquetas. Além do efeito antiproliferativo, este flavonóide também inibe a enzima lipoxigenase. Portanto o flavonóide baicaleína pode ser utilizado no desenvolvimento de drogas mais eficientes para prevenir alterações patológicas como aterosclerose.

A atividade plaquetária está aumentada em pacientes com fatores de riscos coronarianos, como elevado nível de colesterol LDL, hipertensão, diabetes, consumo de cigarro. Os flavonóis quercetina (5) e miricetina (6) apresentaram forte efeito inibidor da agregação de plaquetas humanas induzidas por ácido araquidônico e ADP, mas não foram efetivas, quando a agregação plaquetária foi induzida por colágeno. Em um modelo de agregação *in vitro*, quercetina e rutina foram capazes de dispersar trombos plaquetários

pré formados, que foram aderidos ao endotélio de aorta de coelho (TIJBURG et al., 1997).

O efeito antioxidante dos flavonóides parece estar relacionado com sua ação antitrombótica. A ação antitrombótica e vasoprotetora de quercetina (5), rutina (7) e outros flavonóides tem sido atribuído à sua habilidade de ligar-se à membrana de plaquetas e eliminar radicais livres. Através de sua ação antioxidante, os flavonóides restabelecem a biossíntese e ação de prostaciclina endotelial e fator de relaxamento derivado do endotélio, os quais são inibidos pelos radicais livres (COOK e SAMMAN, 1996).

Um dos mais potentes mecanismos pelo qual os flavonóides inibem a agregação plaquetária é por mediar o aumento dos níveis de AMPc plaquetário através da estimulação da atividade da enzima adenilato ciclase ou por inibição da fosfodiesterase do AMPc (COOK e SAMMAN, 1996).

Estudos tem mostrado que algumas flavonas atuam como um agente antiagregante inibindo a atividade da enzima ciclooxigenase de plaquetas humanas. LANDOLFI et al (1984) estudaram o efeito de vários flavonóides sobre agregação plaquetária bem como sobre adenosina 3', 5'-monofosfato cíclico e metabolismo do ácido araquidônico. As flavonas crisina (34), apigenina (2) e floretina inibiram a agregação plaquetária por inibir a via da ciclooxigenase. A inibição da ciclooxigenase pode ser devido a um aumento do AMPc. Em adição, crisina e apigenina reduziu o AMPc plaquetário em resposta a PGI₂. Este efeito foi provavelmente mediado pela inibição da adenilato ciclase. Entretanto, os flavonóides miricetina (6) e quercetina (5) aumentaram o AMPc plaquetário, aumento induzido por PGI₂. A potencialização do efeito da PGI₂ sobre os níveis de AMPc pela quercetina pode ser devido a uma inibição da fosfodiesterase. O efeito oposto exercido por diferentes flavonóides sobre a resposta do AMPc induzida por PGI₂ pode ser devido a inibição preferencial da fosfodiesterase ou adenilato ciclase. É possível sugerir que a inibição da ciclooxigenase desempenha um papel importante sobre o efeito da inibição da agregação plaquetária exercido pelos flavonóides apigenina, crisina e floretina, e esta inibição é devido a um aumento do AMPc.

Produtos de oxidação de LDL podem ser detectados como dienos conjugados, substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS), fluorescência de apoproteína B e mudanças na mobilidade eletroforética (WISEMAN et al.,

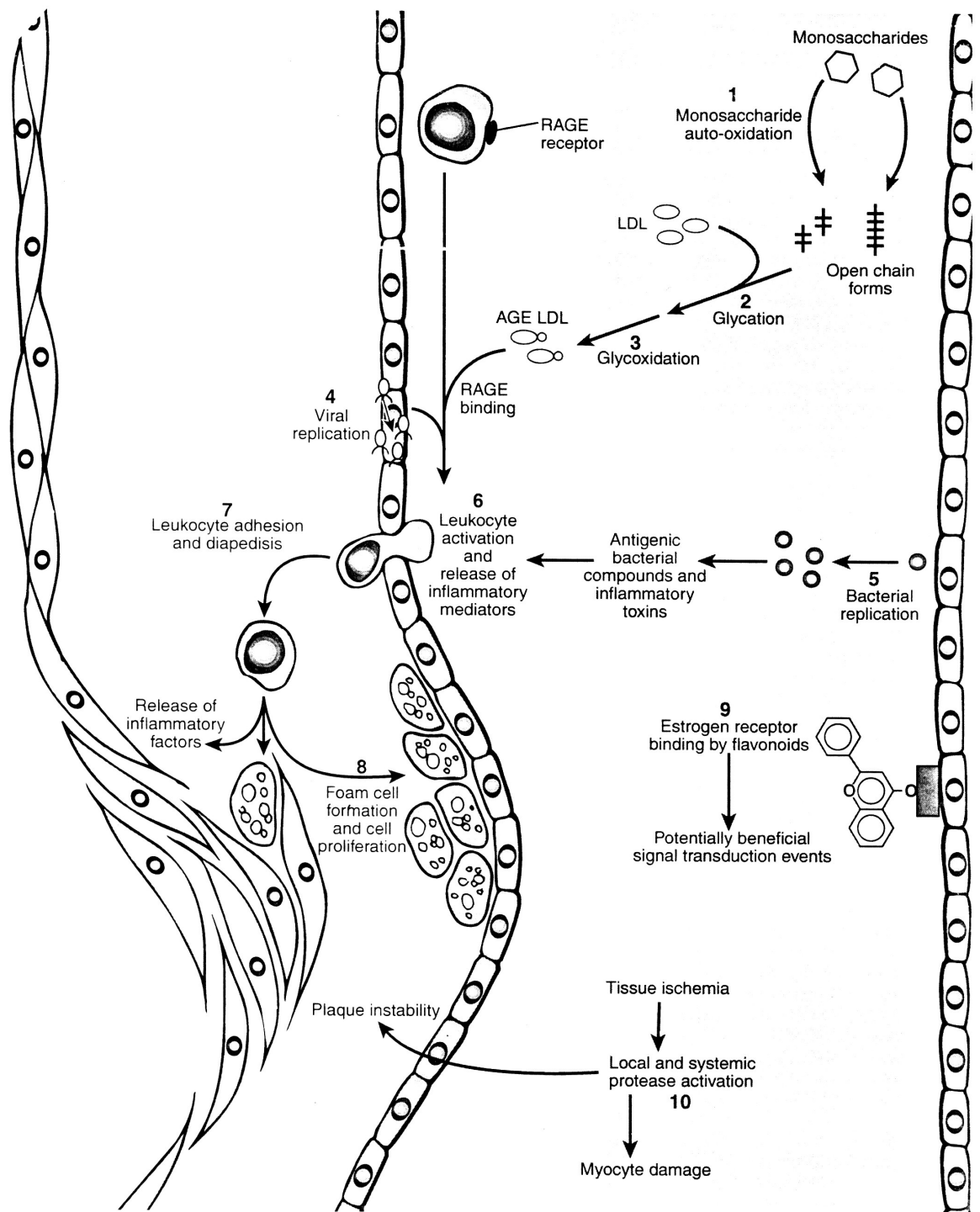
1997). Modificações oxidativas da LDL, têm sido implicadas na patogênese da aterosclerose. LIM et al. (1998) avaliaram o efeito dos flavonóides quercetina e ganhuangenina (36) na inibição da oxidação de LDL induzida por Cu^{2+} . Tanto a quercetina quanto a ganhuangenina inibiram a modificação oxidativa da LDL. A atividade antioxidante desses flavonóides foi evidenciada através da redução de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico, produção de hidroperóxidos de fosfatidilcolina e intensidade de fluorescência de LDL oxidada.

Outros estudos demonstraram que catequina (10) e quercetina (5) protegem a LDL de oxidação quando incubadas com várias culturas de células, como por exemplo, macrófagos derivados de monócitos humanos, células endoteliais de veia umbilical humana ou células linfóides. Provavelmente, este efeito foi devido à habilidade dos flavonóides em inibir atividade da enzima lipoxigenase. Além disso, catequina também inibiu a absorção e degradação de LDL previamente oxidada por macrófagos humanos, mas este mecanismo não está claro (TIJBURG et al., 1997).

A miocardite consiste em infiltração inflamatória que resulta em degeneração do miócito e necrose. Em humanos, vírus da herpes, vírus da hepatite C, entre outros, possivelmente, causam a miocardite viral. Flavonóides e extratos de plantas contendo flavonóides apresentaram atividade antiviral (Figura 5) (SCHRAMM e GERMAN, 1998). Estudos demonstraram que quercetina (5) apresentou atividade antiviral contra o vírus da herpes. Um dos mecanismos da atividade antiviral exercido pela quercetina parece estar relacionado com sua atividade de se ligar à proteína viral e interferir com a síntese de ácido nucléico (FORMICA e REGELSON, 1995). Além disso, flavonóides podem também proteger as células contra muitas outras viroses, como por exemplo, vírus da imunodeficiência humana (HIV), através da inibição da enzima transcriptase reversa do vírus HIV (SCHRAMM e GERMAN, 1998; HARBORNE, 1994). A atividade dos flavonóides atuando como inibidores da enzima transcriptase reversa sugere um lugar desses compostos no controle de infecções por retrovírus (PELZER et al, 1998).

As bactérias e seus produtos, possivelmente, estão envolvidos na endocardite infecciosa, doença cardíaca congênita, ativação de células do sistema imunológico e agregação plaquetária. Os flavonóides parecem inibir o crescimento e replicação de bactérias que são patogênicas ao sistema vascular

de humanos. O crescimento e replicação de muitas espécies de *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* e *Candida* podem ser inibidos por uma variedade de flavonóides e extratos de plantas contendo flavonóides. O efeito bactericida pode ser devido a danos induzidos por flavonóides ao DNA bacteriano (Figura 5) (SCHRAMM e GERMAN, 1998).



Fonte: SCHRAMM e GERMAN, 1998

Figura 5 - Ilustração dos eventos pelos quais os flavonóides podem bloquear ou minimizar a formação de doenças vasculares em humanos.

A presença de placas nos vasos sanguíneos são característicos de lesões ateroscleróticas avançadas em humanos. Estas lesões possuem um núcleo de lipídeos cobertos com uma capa fibrosa que é composta de células de músculo liso, células do sistema imune e matriz extracelular. A placa obstrui o vaso sanguíneo, resultando em isquemia, e proteases são ativadas. Ativação sistêmica e local de proteases induz instabilidade plaquetária e danos aos miócitos. Múltiplas proteases podem mediar danos que levam a instabilidade de placa da aorta e fragmentação plaquetária. Danos causados por proteases, como colagenase e elastase, e perda de colágeno e proteínas fibrosas de vasos sanguíneos devido à idade, contribuem para a formação de aneurisma. Estudos *in vitro* relatam que flavonóides podem diminuir o ataque proteolítico sobre proteínas fibrosas e o acúmulo de proteoglicanas e ácido hialurônico. Antocianidina e extratos de plantas contendo flavonóides inibem a atividade de elastase, tripsina e α -quimotripsina. Além disso, ativação de leucócitos causam liberação de proteases, portanto inibição da ativação de leucócitos pelos flavonóides podem mediar a redução de danos aos tecidos causados pelas proteases (Figura 5) (SCHRAMM e GERMAN, 1998).

2.8- Corantes naturais

O homem sempre coloriu os alimentos, às vezes até indiscriminadamente. Dados arqueológicos afirmam que desde 40.000 a 10.000 A.C. eram encontradas peças de vestuários e utensílios coloridos (WEITZ, 1994). Substâncias naturais como cúrcuma, páprica e açafrão eram usados para colorir alimentos desde 1.500 A.C. (BORZELLECA e HALLAGAN, 1992).

Nos Estados Unidos, no fim do século passado, quando um corante não se adaptava para tingir tecidos, era empregado para colorir alimentos. Nessa época, cerca de oitenta corantes eram utilizados em alimentos e bebidas, sem regulamentos quanto à sua natureza e pureza (ANGELUCCI, 1989).

Em 1856, foi descoberto o primeiro corante sintético extraído a partir da malva (HALLAGAN, 1991). Com este advento, vários corantes passaram a ser sintetizados e designados como corantes artificiais ou corantes sintéticos, os

quais eram utilizados nos alimentos com a finalidade de conferir cor e repor a cor natural, perdida durante os processos de industrialização e, ou, estocagem.

O novo ramo comercial se desenvolveu tanto que em 1969, o Brasil já consumia 40 toneladas destas substâncias por ano e não detinha tecnologia para sua fabricação, ou seja, importava todos os sintéticos do Japão, Grã-Bretanha, Suíça, Estados Unidos e Alemanha (RODRIGUES, 1995). A realidade atual não difere muito do passado, o Brasil continua importando todos os corantes artificiais, pois nossa produção concentra-se basicamente nos corantes naturais (MASCARENHAS, 1997).

Os corantes mais utilizados na indústria alimentícia são: urucum, cúrcuma, carmim, vermelho de beterraba, páprica, antocianina (YABIKU et al., 1992) e clorofila.

Considerando-se que o uso de corantes naturais em alimentos, principalmente em produtos industrializados, atualmente tem aumentado, torna-se de grande importância o estudo dos efeitos destes compostos no organismo humano.

2.8-1. Corante cúrcuma

A cúrcuma em pó comercial consiste no rizoma seco e pulverizado da *Cúrcuma longa* L., planta herbácea pertencente à família *Zingiberaceae*, originária do sul e sudeste da Ásia e cultivada na Índia, na China, em Formosa, na Indonésia, em Java, nas Filipinas, no Caribe, no norte da Austrália e na América do Sul, entre outros (GOVINDARAJAN, 1980; MATHAI, 1979). O corante cúrcuma possui cores que variam do laranja ao amarelo, devendo ser usada com no mínimo 90% de pureza. O rizoma contém 2,5 a 8,1% do principal cromóforo, denominado curcumina (PEREIRA, 1999).

O extrato de curcumina purificado consiste no corante sem aroma e sabor residual, concentrado, obtido por extração com solventes do pó de Cúrcuma seco (FREUND et al., 1988). Sua aplicação é direcionada a produtos que se destinam a pós instantâneos para bebidas e pudins, sorvetes, produtos de confeitaria e muitas vezes é usado juntamente com a bixina para produzir uma tonalidade amarelo-ouro ou da cor das gemas de ovos (GUIMARÃES, 1996).

A cor da curcumina é igual à da tartrazina, corante artificial que provoca alergia em crianças. Por esse motivo, está sendo substituído em alimentos infantis quando se deseja uma coloração amarelo intensa (GUIMARÃES, 1996).

2.8.2- Carotenóides

Os carotenóides formam um dos grupos de pigmentos naturais mais difundidos na natureza, sendo responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de grande número de frutas, folhas e algumas flores (BOBBIO e BOBBIO, 1992b). Estima-se que a natureza produz mais de 100 milhões de toneladas de carotenóides por ano (MASCARENHAS, 1997).

Os carotenóides, por sua composição e estrutura, são solúveis em lipídeos e seus solventes. A solubilidade varia com a presença e número de grupos oxigenados como hidroxilas, carboxilas e neste caso a solubilidade em solventes apolares é diminuída (BOBBIO e BOBBIO, 1992b).

Uma dieta rica em carotenóides está associado com vários efeitos benéficos à saúde (CLINTON, 1998). Dentre os carotenóides com uso permitido no Brasil estão o alfa, beta e gama-caroteno, bixina, norbixina, capsantina, capsorubina e licopeno.

2.8.2.1- Corante Norbixina

O urucum (*Bixa orellana* L.) é uma planta originária do continente americano de clima tropical (OHASHI et al., 1982). Inicialmente usada pelos índios para se protegerem dos raios solares e contra os insetos, o princípio corante do urucum teve largo emprego nas indústrias têxteis, de madeiras, de couros, de cosméticos e outras. Atualmente sua maior aplicação é na alimentação. É obtido das sementes secas e moídas do urucum, para colorir arroz e, em alguns estados da região sudeste, para o preparo de peixes, aproveitando-se além do corante o óleo presente nas sementes (GUIMARÃES, 1983).

A polpa e outras partes do urucum possuem propriedades adstringentes, sendo também utilizadas em casos de desintéria e doenças

renais. Na Índia as folhas são usadas no tratamento de icterícia (CHACO et al., 1969).

São comercializados dois tipos de corantes produzidos a partir das sementes de urucum: o extrato lipossolúvel, que contém cis e trans-bixina e o extrato hidrossolúvel, cujo corante é a norbixina (GUIMARÃES, 1996)

A bixina é o pigmento natural da semente de urucum, representando 80% de todos os carotenóides presentes. A partir dela, são obtidos os demais pigmentos, como norbixina, o sal de norbixina e produtos de degradação térmica que têm como características a lipossolubilidade e uma coloração amarela mais estável, ideal para o uso em massa.

O extrato de urucum lipossolúvel deve conter no mínimo 0,2% de carotenóides, expressos como bixina, enquanto o extrato de urucum hidrossolúvel deve conter no mínimo 0,2% de carotenóides, expressos como norbixina.

Segundo TAKAHASHI (1987) extratos de urucum são produtos oleosos ou alcalinos obtidos por remoção da camada externa das sementes da árvore de urucum (*Bixa orellana* L.) através de vários processos. Estes extratos apresentam-se em forma de pó, pasta, suspensão ou solução.

A bixina é muito empregada em grande número de formulações na indústria alimentícia no Brasil, Estados Unidos e Europa. Seu maior emprego é na indústria de laticínios para colorir queijos, manteigas e margarinas (REITH e GIELEN, 1971; GUIMARÃES, 1983; JONDIKO e PATTENDEN, 1989), e em outros produtos como sorvetes e maioneses (GUIMARÃES, 1983). Em rações, é usada para dar coloração rosada às carnes das aves e amarelo ouro às gemas de seus ovos (GUIMARÃES, 1983).

2.8.3- Propriedades farmacológicas dos corantes naturais

Os carotenóides são absorvidos pelo organismo humano em quantidades razoáveis. Estes compostos apresentam muitas atividades biológicas, entre elas propriedade antioxidante, anti-artrítica, anti-hepatotóxica (GOUD et al., 1993), antiinflamatória e hipocolesterolêmica (GOUD et al., 1993, AMMON e WAHL, 1991), efeito no aumento da secreção biliar e da excreção de sais biliares, colesterol e bilirrubina (AMMON e WAHL, 1991), efeito

modulador na resposta imune e inibição ou reversão da carcinogênese, um processo que inicia com células de morfologia normal e termina com câncer invasivo (BIDLACK et al., 1998; GERSTER, 1993).

A curcumina apresenta atividade antioxidante não somente em alimentos, como também em sistemas biológicos. Recentemente, sua atividade antioxidante em sistemas biológicos recebeu atenção por prevenir doenças relacionadas com peroxidação lipídica (MASUDA et al., 1999).

Como remédio caseiro, segundo GOVINDARAJAN (1980), os rizomas da cúrcuma encontram indicação como carminativo, na dispepsia, nas afecções da pele, além de serem usados, externamente, na forma de pasta, no alívio de luxações, contusões e inflamações das articulações.

Estudos realizados para determinar o efeito antiinflamatório de curcuminato de sódio mostraram que este corante natural inibe inflamação induzida por carragenina e formalina em ratos (SAMBALIAH et al., 1982).

SUBBA RAO et al. (1970) avaliaram o efeito de curcumina sobre os níveis de colesterol sérico e hepático de ratos alimentados com colesterol (nas doses de 0,1; 0,25 e 0,5% na dieta) e verificaram redução do colesterol sérico. Menor deposição de colesterol foi encontrada no fígado dos animais alimentados com curcumina, além do aumento na excreção fecal de sais biliares e colesterol, tanto em ratos normais quanto nos hipercolesterolêmicos.

SRINIVASAN e SAMBALIAH (1991), estudando enzimas retiradas dos tecidos hepáticos de ratos, verificaram efeitos da curcumina sobre o metabolismo dos ácidos biliares e colesterol. A atividade da enzima colesterol-7- α -hidroxilase aumentou significativamente em ratos tratados com curcumina. Outros estudos constatarem que curcumina aumenta a excreção fecal de colesterol e ácidos biliares, sendo que os níveis de α e β -lipoproteínas no sangue mantiveram-se normais e o nível de colesterol no fígado diminuiu quando as doses de curcumina foram aumentadas.

Estudos realizados por SURESH BABU e SRINIVASAN (1997) mostraram que ratos diabéticos alimentados com dieta contendo 0,5% de curcumina apresentaram redução significativa no nível de colesterol sangüíneo, sendo que a redução do colesterol foi exclusivamente nas frações de LDL e VLDL. Os níveis sangüíneos de triacilgliceróis e fosfolípídeos também reduziram significativamente. Em um estudo paralelo, em que os animais

diabéticos foram alimentados com dieta rica em colesterol, o corante natural curcumina reduziu os níveis sanguíneos de colesterol e fosfolípidos. Para entender o mecanismo de ação hipocolesterolêmica da curcumina, a atividade da enzima colesterol-7 α -hidroxilase foi medida, sendo que a atividade desta enzima aumentou, sugerindo um aumento na taxa de catabolismo do colesterol.

VALENTE (1998) pesquisou o efeito dos corantes naturais cúrcuma, antocianina (cascas da uva), carmim e monascus sobre os níveis de colesterol e triacilgliceróis sanguíneos, em ratos hipercolesterolêmicos, induzidos por Triton, nas doses de 40 e 80 mg/kg de peso. Os resultados mostraram que os corantes naturais diminuíram, significativamente, os níveis de colesterol total sérico, nas duas doses testadas, verificando-se maior efeito de redução com a dose de 80 mg. Os níveis de colesterol-HDL também foram reduzidos significativamente com a administração dos quatro corantes, nas doses testadas. Para os triacilgliceróis, os corantes naturais, cúrcuma, antocianina e monascus, reduziram os níveis séricos desse parâmetro, não se observando, entretanto, diferença significativa, quanto a esse efeito, entre as doses de 40 e 80 mg. Já o corante carmim não apresentou redução significativa nos níveis de triacilgliceróis séricos.

BHAVANISHANKAR et al. (1986) avaliaram o efeito da ingestão de cúrcuma na dose de 500 mg/kg de peso corporal e de seu extrato alcoólico na dose de 60 mg/kg de peso corporal em ratos e macacos, constatando que a resposta ao crescimento, a utilização de alimentos e calorias, o peso dos órgãos, os constituintes sanguíneos e as análises de urina (açúcar, albumina, corpos cetônicos, sais biliares e pigmentos biliares) não apresentaram diferenças significativas quando comparadas com o grupo controle.

Vários estudos tem mostrado que existe uma relação inversa entre a ingestão de carotenóides e a incidência de certas doenças, incluindo câncer (ZHAO et al., 1998). Os eventos que ocorrem durante o desenvolvimento do câncer envolvem a formação e ativação de carcinógenos, indução de danos genéticos, estimulação de proliferação celular e interrupção da regulação do crescimento e diferenciação celular normal. Devido às propriedades antioxidantes dos carotenóides, estes podem prevenir danos genéticos por

eliminar espécies reativas e proteger o DNA de um dano oxidativo (BIDLACK, 1998).

Carotenóides também são capazes de induzir comunicação intracelular via junções "gap", que está associado com inibição da proliferação de células transformadas. As junções "gap" são canais entre as membranas que permitem a difusão de moléculas entre as células conectadas, como por exemplo, moléculas sinalizadoras. Alguns carotenóides como beta-caroteno, alfa-caroteno e licopeno, possivelmente, podem influenciar na expressão do gene que aumenta a comunicação entre as junções "gap" (GERSTER, 1993; STAHL e SIES, 1996).

A propriedade anti-carcinogênica da curcumina em animais foi demonstrado pela inibição de iniciação de tumor induzida por benzo[α]pirano e 7-12 dimetil benzo[α]antraceno e promoção de tumor induzido por ésteres de porbol. Além de seu efeito anti-carcinogênico, curcumina exibe propriedades antiinflamatórias *in vivo* (REDDY e AGGARWAL, 1994).

Um possível mecanismo para uma associação positiva entre ingestão dietética de frutas e vegetais ricos em carotenóides e a diminuição da incidência de certos tipos de câncer pode ser o aumento da resposta imune pelos carotenóides (BENDICH e OLSON, 1989; BAKER e MEYDANI, 1993).

CONNERY et al. (1991) estudaram o efeito inibitório de curcumina e alguns outros compostos da dieta relacionados estruturalmente (ácido clorogênico, caféico e ferúlico) na promoção de tumor e metabolismo do ácido araquidônico. Curcumina apresentou efeito inibidor na promoção de tumor na pele de camundongos, induzido por acetato de 13-forbol-12-O-tetradecanoila; os outros compostos apresentaram efeito inibidor menos potente. Também foi constatado inibição do metabolismo do ácido araquidônico, que induz processo inflamatório *in vivo*, e da atividade das enzimas lipoxigenase e ciclooxigenase *in vitro*.

Estudos têm mostrado que carotenóides podem aumentar a atividade imunológica devido à sua propriedade de eliminar espécies reativas de oxigênio formadas por várias células imunes ativas, eliminar peróxidos imunossupressores e manter a fluidez das membranas, auxiliar na manutenção de receptores de membranas essenciais na função imune, atuar na liberação

de moléculas imunomodulatórias como prostaglandinas e leucotrienos (Blendich, 1989 citado por ZHAO et al, 1998).

Estudos realizados por REDDY e AGGARWAL (1994) mostraram o efeito de curcumina na inibição da fosforilase quinase, uma enzima regulatória chave envolvida no metabolismo do glicogênio. É possível que a inibição desta enzima possa bloquear a ação autócrina de fatores de crescimento necessário para a proliferação celular.

A peroxidação de lipídeos ocorre em várias desordens fisiológicas ou patológicas, como no envelhecimento, em processos inflamatórios, aterosclerose, isquemia, e outros (ALLIANGONA, 1996). O mecanismo químico da peroxidação lipídica é bem conhecido: ataque de ácidos graxos poliinsaturados por radicais livres, resultando na formação de vários derivados de cadeia curta estáveis, entre os quais, os aldeídos, que podem reagir com aminoácidos de moléculas biológicas (SOROITA et al., 1982; TAKAHAMA, 1985).

Numerosos agentes podem oxidar o Fe^{2+} na hemoglobina a Fe^{3+} , produzindo metemoglobina, que não liga o O_2 nem CO. Em condições normais, a metemoglobina é formada *in vivo* em pequenas quantidades, sendo enzimaticamente reduzida a hemoglobina (SMITH et al., 1988). Curcumina é um potente eliminador de espécies reativas de oxigênio, protegendo a oxidação de hemoglobina a metemoglobina induzida pelo nitrito, e inibe a peroxidação lipídica. Muitas destas atividades são também responsáveis pela sua habilidade em proteger DNA contra danos induzidos por radical livre e proteger hepatócitos contra várias toxinas (Donatus et al., 1990; Shalini e Srinival, 1990 citado por REDDY e AGGARWAL, 1994).

De outra parte, os conhecimentos sobre a importância das modificações das lipoproteínas (oxidação) na lesão endotelial e na patogênese da aterosclerose renovou o interesse pelos agentes antioxidantes. Os carotenóides atuam como antioxidantes lipossolúveis, além de interagirem com radicais livres e seqüestrarem diversas espécies de radicais que podem ser geradas dentro das células (BATLOUNI & RAMIRES, 1994).

SREEJAYAN e RAO (1997) estudaram o efeito de curcumina na eliminação de óxido nítrico. O óxido nítrico é formado pela reação de nitroprussiato de sódio com oxigênio formando nitrito. O nitroprussiato de sódio

em solução aquosa e pH fisiológico gera óxido nítrico espontaneamente e este interage com o oxigênio para produzir íons nitrito, que pode ser medido pelo reagente de Greiss. Este estudo demonstrou que curcumina é um potente eliminador de óxido nítrico. Curcumina inibe a formação de nitrito, pois compete com o oxigênio pelo óxido nítrico. A habilidade de eliminação de óxido nítrico pela curcumina mostra o seu papel como potente antioxidante. O óxido nítrico é um radical livre sintetizado por macrófagos ativados, e está implicado na inflamação, câncer e outras condições patológicas. As propriedades terapêuticas da curcumina sobre estas e outras condições patológicas pode ser explicado em parte, pela habilidade de eliminar óxido nítrico.

A resposta inflamatória é mediada por várias células do sistema imunológico como os macrófagos, linfócitos T e B, basófilos, eosinófilos e mastócitos. Um grande número de mediadores produzidos por estas células desempenham um importante papel na resposta inflamatória. Entre eles estão os metabólitos do ácido araquidônico como prostaglandinas e leucotrienos, espécies reativas de oxigênio como ânion superóxido e radical hidroxila, enzimas hidrolíticas como proteases e glicosidases, entre outros. Estes mediadores atuam em conjunto para eliminar a fonte de infecção. Entretanto, se estes mediadores são produzidos de maneira não controlada, eles podem levar à destruição da matriz do tecido conectivo como observado em doenças auto imunes como artrite reumatóide. Estudos sobre o efeito de curcumina e capsaicina sobre o metabolismo de ácido araquidônico e secreção de enzimas lisosomais de macrófagos peritoneais de ratos mostrou que estas duas substâncias podem controlar a liberação de mediadores inflamatórios como os eicosanóides e enzimas hidrolíticas secretadas por macrófagos, apresentando todavia propriedade antiinflamatória (JOE e LOKESH, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a melhor substância (colesterol e ácido cólico ou gordura suína) para induzir a hiperlipidemia em aves e avaliar o efeito dos flavonóides naringina e rutina e dos corantes naturais cúrcuma e norbixina no controle do metabolismo lipídico em aves da linhagem *Avian farms* normais e hiperlipidêmicas.

Os ensaios biológicos foram realizados no aviário do Departamento de Zootecnia, e as dosagens bioquímicas, no Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

3.1 Ensaio biológico utilizando aves normolipidêmicas

Foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de flavonóides e corantes naturais sobre o metabolismo lipídico de aves normolipidêmicas. Foram utilizados aves da linhagem *Avian farms*, machos, com 1 dia de idade, pesando em média 40g e alimentados com ração (Tabela 1) e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais, contendo cada um 48 animais, de modo que a média de peso entre os grupos fosse a mais próxima possível. Foram constituídos os seguintes tratamentos:

- 1-Ração Basal (RB),
- 2-RB + norbixina,

- 3-RB + cúrcuma,
- 4-RB + naringina,
- 5-RB + rutina.

Os flavonóides e corantes naturais foram administrados via dieta, misturados à ração, diariamente, sendo fornecido 20mg de cada substância por ave por dia, durante 21 dias.

3.2 Ensaio biológico para indução de hiperlipidemia em aves

Foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de gordura suína em diferentes concentrações, colesterol e ácido cólico na indução de hiperlipidemia em aves.

Foram utilizadas aves da linhagem *Aviam farms*, machos, com um dia de idade, pesando em média 40g, os quais receberam ração (Tabela 1) e água ad libitum por 21 dias. As aves foram divididas em 4 tratamentos, contendo cada um 24 animais:

- 1-RB (Controle),
- 2-RB + 5% de Gordura suína,
- 3-RB + 10% de Gordura suína,
- 4-RB + 1% de Colesterol + 0,1% de ácido cólico.

A gordura suína, colesterol e ácido cólico foram administrados via dieta, durante 21 dias.

3.3 Ensaio biológico utilizando aves hiperlipidêmicas

Foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de flavonóides e corantes naturais sobre o metabolismo lipídico de aves hiperlipidêmicas. Foram utilizados 144 aves da linhagem *Avian farms*, machos, com 7 dias de idade, pesando em média 150g e alimentados com ração (Tabela 1) e água ad libitum e distribuídos em 6 grupos, contendo cada um 24 animais:

- 1-RB (Controle),
- 2-RB+10% de gordura suína + colesterol + ácido cólico,
- 3-RB+10% de gordura suína + colesterol + ácido cólico + norbixina,
- 4-RB+10% de gordura suína + colesterol + ácido cólico + cúrcuma,

5-RB+10% de gordura suína + colesterol + ácido cólico + naringina,

6-RB+10% de gordura suína + colesterol + ácido cólico + rutina.

Para indução da hiperlipidemia foi utilizado 0,1% de ácido cólico, 0,7% de colesterol e 10% de gordura suína, sendo que os ingredientes foram adicionados à ração.

Os flavonóides e corantes naturais foram administrados via dieta, misturados à ração, diariamente, sendo fornecido 20mg de cada substância por ave por dia, durante 21 dias.

3.4 Análise dos constituintes sanguíneos

Em todos os ensaios biológicos as amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca no 1^o, 7^o, 14^o e 21^o dia de tratamento, após jejum de 12 horas, para dosagens de colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilglicerol. As amostras de sangue foram centrifugadas a 7100 x g, durante 15 minutos, para obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé), utilizando-se kits da marca BioMérieux, e os resultados foram expressos em mg/dL.

3.5 Instalações

As aves foram alojadas em boxes de 1,25 x 1,80 m, com piso de cimento, cobertura na base com cepilho de maravalha de um galpão convencional com as seguintes características: construção em alvenaria, pé direito de 3,0 m de altura, cobertura em telha brasilit, presença de lanternim, e muretas laterais de alvenaria na altura de 0,5 m. As laterais do galpão foram cobertas com cortinas plásticas com a finalidade de controlar a temperatura no interior do galpão e evitar a entrada de correntes de ar frio.

Durante todo o período experimental foi adotado o programa de luz contínuo (24 horas de luz natural + artificial). Os pintos receberam aquecimento artificial do primeiro ao 14^o dia, com a utilização de lâmpadas de infravermelho de 250W em cada box, ajustando-se a altura de acordo com a sensibilidade à

temperatura e o crescimento dos mesmos. Foi utilizado como substrato para a cama, a maravalha.

Em todos os experimentos os pesos dos animais foram monitorados semanalmente, bem como o consumo alimentar, calculando-se assim, o ganho de peso e conversão alimentar. Para cálculo da conversão alimentar, dividiu-se o ganho de peso pelo consumo alimentar.

Tabela 1 - Composição das rações experimentais

INGREDIENTES	Ração Basal (RB)	RB + 5% Gordura Suína	RB + 10% Gordura Suína	RB + 1% Colesterol + 0,1% Ácido Cólico	RB + 0,7% Colesterol + 0,1% Ácido Cólico
Milho	53,635	51,724	46,724	55,624	45,900
Farelo de soja	38,860	38,860	38,860	38,860	38,860
Gordura suína	-	5,000	10,000	-	10,000
Óleo vegetal	3,100	-	-	-	-
Colesterol	-	-	-	1,000	0,700
Ácido cólico	-	-	-	0,100	0,100
Fosfato bicálcico	2,638	2,638	2,638	2,638	2,640
Calcário calcítico	0,836	0,836	0,836	0,836	0,840
Cloreto de sódio	0,387	0,387	0,387	0,387	0,390
Vitaminas	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
DL-metionina	0,235	0,235	0,235	0,235	0,235
Minerais	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Anticoccidiano	0,060	0,060	0,060	0,060	0,050
Promotor de crescimento (1)	0,050	0,050	0,050	0,050	0,075
Cloreto de colina	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060

1- Virginiamicina 2%

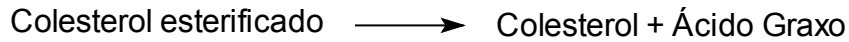
3.6 Dosagens dos constituintes sanguíneos

3.6.1- Dosagem de colesterol total

Para as dosagens sorológicas do colesterol total utilizou-se kit Biomérieux.

A análise colorimétrica do colesterol no soro obtido, baseia-se na transformação do colesterol esterificado em colesterol e ácidos graxos, mediado pela enzima colesterol esterase. O colesterol formado é oxidado pela enzima colesterol oxidase em colest-4-eno-3-ona, liberando água oxigenada. A

água oxigenada formada, juntamente com o fenol e amino 4 antipirina, pela ação da peroxidase, são transformados no cromogênio (que absorve em 500 nm) e em água, segundo as equações:



Para ser feita a dosagem, foi utilizado o equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé). Foi colocado no equipamento uma solução tampão fosfato pH 7,00 a 0,1 mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros sanguíneos a serem analisados.

Após programado o equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com o soro a ser analisado, que foram incubados por um tempo determinado à 37° C e analisados em um comprimento de onda de 500 nm.

O aparelho subtraiu a absorvância encontrada do branco (solução tampão das enzimas com soro fisiológico) e a comparou com a concentração da amostra padrão existente, fornecendo o resultado em mg/dL de colesterol total no soro sanguíneo.

A fórmula geral para a conversão da absorvância na concentração em mg/dL foi a seguinte:

$$A_{\text{amostra}} / A_{\text{padrão}} \times [\text{padrão}]$$

Onde: A = Absorvância

3.6.2- Dosagem de colesterol-HDL

Para as dosagem sorológica do colesterol-HDL foi utilizado kit Biomérieux. O método de dosagem baseia-se na precipitação dos quilomícrons e das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de baixa densidade (LDL) contidos no soro a ser analisado, pela adição do ácido fosfotúngstico em presença do íon magnésio. O sobrenadante obtido por centrifugação contém as

lipoproteínas de alta densidade (HDL), e o colesterol presente nesta lipoproteína foi determinado pelo mesmo processo já descrito na dosagem de colesterol total.

3.6.3- Dosagem de colesterol-LDL

Para as dosagem sorológicas do colesterol-LDL utilizou-se kit Biomérieux. As diversas classes de lipoproteínas se diferenciam pela sua densidade, migração eletroforética e sua reação frente a anticorpos específicos. O método de dosagem baseia-se na precipitação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) contidos no soro a ser analisado, pela adição do reativo precipitante (surfactante policíclico policondensado, surfactante aniônico policíclico, dioxano polisubstituído e tampão imidazol pH 6.1). O precipitado contendo LDL é então solubilizado. O colesterol presente nesta lipoproteína foi determinado pelo mesmo processo já descrito na dosagem de colesterol total.

3.6.4-Quantificação de VLDL

Para quantificação do VLDL utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{VLDL} = \text{triacilglicerol} / 5$$

3.6.5- Dosagem de triacilglicerol

A dosagem dos triacilgliceróis séricos foi feita por via inteiramente enzimática. Para a dosagem sorológica do triacilglicerol também utilizou-se kit Biomérieux.

A lipase degrada os triacilgliceróis em glicerol e ácidos graxos. O glicerol obtido, reage com ATP, em presença da enzima glicerolquinase, obtendo glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3-fosfato é oxidado a dihidroxiacetonafosfato, pela ação da enzima glicerol-3-fosfatato oxidase, liberando água oxigenada. A água oxigenada, juntamente com paraclorofenol e amino 4 antipirina, em presença da peroxidase, transforma-se no cromogênio (que absorve em 505 nm), liberando água.

As equações seguem-se abaixo:



Para ser feita a dosagem, foi utilizado o equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé). Foi colocado no equipamento uma solução tampão fosfato pH 7,00 a 0,1 mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente o soro sanguíneo a ser analisado.

Após programado o equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com o soro, que foram incubados por um tempo determinado 37° C e analisados em um comprimento de onda de 505 nm.

O aparelho subtraiu a absorvância encontrada no branco (solução tampão das enzimas com soro fisiológico) e a comparou com a concentração padrão existente, fornecendo o resultado em mg/dL de triacilglicerol no soro sanguíneo.

A fórmula geral para a conversão da absorvância na concentração em mg/dL foi a seguinte:

$$A_{\text{amostra}} / A_{\text{padrão}} \times [\text{padrão}]$$

Onde: A = Absorvância

3.7 Análise estatística

Os experimentos foram instalados segundo o delineamento inteiramente casualizado (Quadro 1).

Em todos os experimentos, as médias dos grupos controle foram comparadas entre si pela análise de variância e teste F ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) e os demais grupos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A comparação de cada grupo tratado com o controle foi feita por meio do teste de Dunnett ($P < 0,05$).

O efeito do tempo foi estudado por meio do desdobramento da interação tratamento x tempo em tempo dentro de tratamento, para os experimentos 1 e 2. No experimento 3 foi testado modelos de regressão e a escolha da melhor equação baseou-se no coeficiente de determinação (R^2) e na significância dos coeficientes de regressão pelo teste T ($P < 0,01$).

Quadro 1– Descrição dos experimentos.

Ensaio Biológico	Número de Repetições	Tratamentos
1	12	RB RB + NB RB + CA RB + NA RB + R
2	6	RB RB + 5% GS RB + 10% GS RB + 1% de C + 0,1% de AC
3	6	RB RB + 10% de GS + 0,7% de C + 0,1 % de AC RB + 10% de GS + 0,7% de C + 0,1 % de AC + NB RB + 10% de GS + 0,7% de C + 0,1 % de AC + CA RB + 10% de GS + 0,7% de C + 0,1 % de AC + NA RB + 10% de GS + 0,7% de C + 0,1 % de AC+ R

RB = Ração basal, GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido cólico, NB = Norbixina, CA = Cúrcuma NA = naringina, R = Rutina.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito dos flavonóides e corantes naturais na redução de lipídeos sangüíneos de aves normolipidêmicas

Os resultados obtidos para colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis no soro sangüíneo dos pintos machos, *Avian farms*, normolipidêmicos, encontram-se nas Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5, expressos em mg/dL, com suas respectivas porcentagens de variações.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1 pode-se observar que os flavonóides e corantes naturais testados não apresentaram alterações significativas nos níveis de colesterol total em pintos normais. Resultados semelhantes foram obtidos por KATO et al. (1983), que avaliando o efeito de quercetina sobre os níveis de lipídeos em ratos, recebendo ração comercial contendo 24% de proteína, 53% de carboidrato, 4,2% de fibra e outros nutrientes necessários, observaram que a adição de 0,5% de quercetina não afetou os níveis sangüíneos de colesterol total e fosfolipídeos bem como o crescimento dos animais, embora tenha apresentado redução significativa nos níveis sangüíneos de triacilgliceróis.

Tabela 1 – Colesterol total médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade.

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol total (mg/dL)	Variação (%)
1	Ao nascimento	476,92	-
7	G1 – Ração Basal (RB)	135,25	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	129,33 b	-4,38
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	144,75 a	+7,02
	G4 – RB + 20 mg de naringina	126,08 b	-6,78
	G5 – RB + 20 mg de rutina	138,33 ab	+2,28
14	G1 – Ração Basal (RB)	142,08	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	130,83 c	-7,92
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	147,58 ab	+3,87
	G4 – RB + 20 mg de naringina	133,00 bc	-6,39
	G5 – RB + 20 mg de rutina	150,25 a	+5,75
21	G1 – Ração Basal (RB)	137,33	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	128,17 a	-6,67
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	138,67 a	+0,98
	G4 – RB + 20 mg de naringina	132,75 a	-3,34
	G5 – RB + 20 mg de rutina	135,67 a	-1,21

Em cada tempo, médias Seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

O efeito de flavonóides sobre os níveis de colesterol sanguíneos em humanos também foram estudados por HODGSON et al (1998) que avaliaram o efeito dos isoflavonóides genisteína e daidzeína sobre os níveis de lipídeos sanguíneos em indivíduos saudáveis. Os isoflavonóides apresentam atividade estrogênica e são classificados como fitoestrógenos. Os estrógenos podem reduzir colesterol-LDL do soro e aumentar os níveis de colesterol-HDL. Durante oito semanas treze mulheres no período pós menopausa, não submetidas a terapia de reposição hormonal, e quarenta e seis homens receberam, diariamente, um tablete contendo 55 mg de isoflavonóides (predominantemente na forma de genisteína) ou um tablete de placebo. Os indivíduos mantiveram sua dieta habitual e atividade física durante todo o período de tratamento. Os níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL e subclasses de colesterol-HDL, triacilgliceróis e lipoproteína (a) foram avaliados na última semana de tratamento, sendo que nenhuma diferença significativa foi identificada. Embora este estudo não tenha demonstrado alterações nos níveis de lipídeos sanguíneos em indivíduos normais, estes resultados não eliminam a possibilidade de efeito hipolipidêmico de isoflavonóides em indivíduos hipercolesterolêmicos.

Pode-se observar, mediante resultados apresentados na Tabela 2, que as substâncias testadas não apresentaram alterações significativas nos níveis plasmáticos de colesterol-HDL, ao final do experimento, embora os animais que receberam cúrcuma e rutina tenham apresentado reduções significativas na segunda semana de tratamento.

Apesar das substâncias testadas não alterarem os níveis plasmáticos de HDL, a manutenção dos níveis desta lipoproteína é desejável, uma vez que esta pode ser antiaterogênica, provavelmente por facilitar o transporte reverso do colesterol.

QUILES et al. (1998) estudaram a capacidade antioxidante de extrato de *Curcuma longa* na peroxidação de lipídios de membranas de mitocôndrias e microsomas do fígado de coelhos com aterosclerose. Os coelhos foram alimentados com dieta contendo 3% banha e 1,3% de colesterol. Os resultados demonstraram que os compostos ativos presentes no extrato de cúrcuma previnem lipoperoxidação de membranas intracelulares.

Tabela 2 – Colesterol-HDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamentos	Colesterol-HDL (mg/dL)	Variação (%)
1	Ao nascimento	40,17	-
7	G1 – Ração Basal (RB)	101,67	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	96,08 b	-5,50
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	116,00 a	+14,09
	G4 – RB + 20 mg de naringina	98,42 ab	-3,20
	G5 – RB + 20 mg de rutina	111,00 ab	+9,18
14	G1 – Ração Basal (RB)	112,50	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	97,25 a	-13,56
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	68,83 b	-38,82 *
	G4 – RB + 20 mg de naringina	98,50 a	-12,44
	G5 – RB + 20 mg de rutina	59,92 b	-46,74 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	108,50	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	100,83 a	-7,07
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	110,33 a	+1,69
	G4 – RB + 20 mg de naringina	100,58 a	-7,30
	G5 – RB + 20 mg de rutina	104,17 a	-3,99

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

GOODERHAM et al. (1996) avaliaram o efeito de um isolado protéico de soja, rico em genisteína e daidzeína, sobre as concentrações plasmáticas de isoflavonóides, agregação plaquetária, níveis de lipídeos sanguíneos e composição de ácidos graxos de fosfolipídeos plasmáticos em humanos normolipidêmicos. Observou-se um aumento nas concentrações plasmáticas de isoflavonóides, porém nenhuma alteração foi observada sobre a agregação plaquetária, níveis plasmáticos de colesterol total, colesterol-HDL e composição de ácidos graxos presentes em fosfolipídeos. Entretanto Carroll (1991) e Carroll e Kurowaska (1995) citado por GOODERHAM et al. (1996) relataram que indivíduos hipercolesterolêmicos geralmente apresentam reduções nos níveis de colesterol total e colesterol-LDL após consumo de isolado protéico de soja, quando comparados com indivíduos normocolesterolêmicos. Isto sugere que os flavonóides e corantes naturais testados neste experimento podem apresentar efeito hipolipidêmicos se testados em animais com hipercolesterolemia induzida.

A Tabela 3 mostra as médias de colesterol-LDL e suas respectivas porcentagens de variações. Pelos resultados observa-se que todos os grupos experimentais apresentaram reduções significativas no 14^o dia de tratamento, entretanto, não foram observadas alterações significativas no final do período experimental (21^o dia de tratamento).

Várias pesquisas têm mostrado que a ingestão de carotenóides reduzem os riscos de doenças cardiovasculares. A oxidação de LDL é o principal passo no desenvolvimento de aterosclerose e os antioxidantes podem inibir este processo. Os carotenóides são transportados no plasma predominantemente na forma de LDL, e devido a sua propriedade antioxidante, é possível que eles possam proteger a LDL de oxidação e conseqüentemente, prevenir a aterogênese (ROMANCHIK et al., 1997).

Tabela 3 – Colesterol-LDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol-LDL (mg/dL)	Variação (%)
1	Ao nascimento	177,67	-
7	G1 – Ração Basal (RB)	26,50	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	19,08 c	-28,00 *
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	20,83 bc	-21,40 *
	G4 – RB + 20 mg de naringina	25,33 ab	-4,42
	G5 – RB + 20 mg de rutina	27,00 a	+1,89
14	G1 – Ração Basal (RB)	26,08	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	17,50 a	-32,90 *
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	14,42 a	-44,71 *
	G4 – RB + 20 mg de naringina	18,33 a	-29,72 *
	G5 – RB + 20 mg de rutina	13,33 a	-48,89 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	16,67	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	18,67 a	+12,00
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	15,08 a	-9,54
	G4 – RB + 20 mg de naringina	14,25 a	-14,52
	G5 – RB + 20 mg de rutina	14,08 a	-15,54

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

Resultados similares foram observados por PRINCEN et al. (1998) que avaliaram o efeito da ingestão de chá preto, chá verde e polifenóis extraído de chá verde sobre a oxidação de LDL e sobre os níveis de lipídios plasmáticos em homens e mulheres saudáveis, fumantes. O chá é uma fonte importante de flavonóides que são potentes antioxidantes. O consumo de chá preto, verde ou polifenóis extraídos do chá verde durante um período de 4 a 6 semanas não alteraram os níveis de colesterol, triacilgliceróis, colesterol-HDL, colesterol-LDL, vitaminas C e E, beta-caroteno e ácido úrico, também não foi observada nenhuma diferença com relação à oxidação de LDL. Estes dados sugerem que o consumo de chá preto ou verde não alteram os níveis de lipídios plasmáticos de indivíduos saudáveis.

Outros pesquisadores avaliaram o efeito do consumo de chá preto sobre os níveis plasmáticos de lipídeos e modificação oxidativa de LDL em homens e mulheres, sendo que nenhuma alteração foi observada na capacidade antioxidante ou susceptibilidade de oxidação de LDL do plasma. Os níveis plasmáticos de colesterol total, triacilgliceróis, colesterol-LDL e colesterol-HDL também não apresentaram alterações significativas (McANLIS et al, 1998)

Estudos realizados com o objetivo de avaliar o efeito de proteínas de soja sobre os lipídeos sangüíneos, têm mostrado que uma redução dos níveis plasmáticos de colesterol-LDL ocorre geralmente em indivíduos com hipercolesterolemia (HODGSON et al., 1998).

Com relação às médias de colesterol-VLDL e triacilgliceróis, apresentadas nas Tabelas 4 e 5, observa-se que apenas os animais que receberam o flavonóide rutina (G5) apresentaram aumentos significativos (32,94%) no final do período experimental. O aumento nos níveis de colesterol-VLDL e triacilgliceróis, observadas após 7 dias de tratamento nos animais que receberam norbixina (G2) e naringina (G4) pode ser devido a alterações normais que ocorrem nos níveis de lipídeos plasmáticos de pintos durante os primeiros dias de vida. Segundo CASTILLO et al. (1995) a quantidade de lipoproteínas totais reduzem entre 4 e 7 dias após eclosão, mantendo os seus níveis praticamente constantes até aos 14 dias de idade.

Tabela 4 – Colesterol-VLDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol-VLDL (mg/dL)	Varição (%)
1	Ao nascimento	10,82	-
7	G1 – Ração Basal (RB)	6,51	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	8,28 a	+27,19 *
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	7,47 a	+14,75
	G4 – RB + 20 mg de naringina	8,65 a	+32,87 *
	G5 – RB + 20 mg de rutina	7,62 a	+17,05
14	G1 – Ração Basal (RB)	10,35	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	9,78 a	-5,51
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	9,92 a	-4,15
	G4 – RB + 20 mg de naringina	10,28 a	-0,68
	G5 – RB + 20 mg de rutina	9,65 a	-6,76
21	G1 – Ração Basal (RB)	6,83	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	8,03 ab	+17,57
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	7,42 b	+8,64
	G4 – RB + 20 mg de naringina	6,97 b	+2,05
	G5 – RB + 20 mg de rutina	9,08 a	+32,94 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

Tabela 5 – Triacilglicerol médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Triacilglicerol (mg/dL)	Variação (%)
1	Ao nascimento	54,08	-
7	G1 – Ração Basal (RB)	32,58	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	41,42 a	+27,13 *
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	37,33 a	+14,58
	G4 – RB + 20 mg de naringina	43,25 a	+32,75 *
	G5 – RB + 20 mg de rutina	38,08 a	+16,88
14	G1 – Ração Basal (RB)	51,75	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	48,92 a	-5,47
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	49,58 a	-4,19
	G4 – RB + 20 mg de naringina	51,42 a	-0,64
	G5 – RB + 20 mg de rutina	48,25 a	-6,76
21	G1 – Ração Basal (RB)	34,17	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	40,17 ab	+17,56
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	37,08 b	+8,52
	G4 – RB + 20 mg de naringina	34,83 b	+1,93
	G5 – RB + 20 mg de rutina	45,42 a	+32,92 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

RIBAYA MERCADO et al. (1995) estudaram o efeito da suplementação de beta-caroteno sobre a concentração e distribuição de carotenóides, triacilgliceróis e colesterol em lipoproteínas plasmáticas. Dez mulheres saudáveis ingeriram 90mg de beta-caroteno, diariamente, durante 3 semanas. Após a suplementação os níveis plasmáticos de beta-caroteno aumentaram, resultando em um enriquecimento de todas as frações de lipoproteínas, sendo que a maior proporção de carotenóides estava presente nas LDL (71%) antes e após o tratamento. A suplementação com beta-caroteno a curto prazo não alterou as concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL e colesterol-VLDL em mulheres saudáveis.

O efeito do tempo sobre os diferentes tratamentos para colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis de aves da linhagem *Aviam farms*, normolipidêmicas, encontra-se na Tabela 1 (Apêndice).

De acordo com os resultados, pode-se observar que o efeito do tempo sobre os níveis de colesterol total foi significativo apenas para o grupo 5 (rutina). Com relação aos níveis de colesterol-HDL, variações foram observadas nos grupos 3 (cúrcuma) e 5 (rutina), sendo que para os níveis de colesterol-LDL, os grupos 1 (controle), 3 (cúrcuma), 4 (naringina) e 5 (rutina) apresentaram variações significativas. Para os níveis plasmáticos de colesterol-VLDL e triacilgliceróis houve variações significativas para todos os grupos experimentais durante o período de tratamento.

Pela Tabela 2 (Apêndice) observa-se que o efeito do tempo sobre o ganho de peso e conversão alimentar foi significativo para todos os grupos experimentais.

Pelas Tabelas 6 e 7 pode-se observar que com relação ao ganho de peso e conversão alimentar não houve diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) entre o grupo controle (G1) e os grupos experimentais, e entre os grupos experimentais. Pode-se concluir, mediante o exposto, que as substâncias testadas não interferiram nesses parâmetros.

Tabela 6 – Ganho de peso médio, em g e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Ganho de peso (g)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	190,2	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	184,1	-3,18
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	166,7	-12,38
	G4 – RB + 20 mg de naringina	183,0	-3,78
	G5 – RB + 20 mg de rutina	186,3	-2,02
14	G1 – Ração Basal (RB)	294,6	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	283,6	-3,73
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	269,4	-8,22
	G4 – RB + 20 mg de naringina	273,2	-7,26
	G5 – RB + 20 mg de rutina	282,4	-4,12
21	G1 – Ração Basal (RB)	255,8	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	246,0	-3,84
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	248,7	-2,80
	G4 – RB + 20 mg de naringina	246,6	-3,61
	G5 – RB + 20 mg de rutina	248,6	-2,83

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

Tabela 7 – Conversão alimentar média e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 1, 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Conversão alimentar (g)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	1,367	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	1,358 a	-0,66
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	1,442 a	+5,49
	G4 – RB + 20 mg de naringina	1,336 a	-2,27
	G5 – RB + 20 mg de rutina	1,333 a	-2,49
14	G1 – Ração Basal (RB)	1,412	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	1,465 a	+3,75
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	1,500 a	+6,23
	G4 – RB + 20 mg de naringina	1,536 a	+8,78
	G5 – RB + 20 mg de rutina	1,493 a	+5,74
21	G1 – Ração Basal (RB)	1,540	-
	G2 – RB + 20 mg de norbixina	1,584 a	+2,86
	G3 – RB + 20 mg de cúrcuma	1,624 a	+5,45
	G4 – RB + 20 mg de naringina	1,638 a	+6,36
	G5 – RB + 20 mg de rutina	1,619 a	+5,13

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

4.2 Indução de hiperlipidemia em aves utilizando colesterol, ácido cólico e gordura suína em diferentes concentrações

Os valores obtidos para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis no soro sangüíneo de aves da linhagem *Avian farms* são apresentados nas Tabelas 8, 9, 10, 11 e 12, expressos em mg/dL.

Pela Tabela 8, pode-se observar que os animais do grupo 4, que receberam colesterol e ácido cólico na dieta, apresentaram aumento significativo nos níveis de colesterol total durante todo o período experimental (21 dias), sendo que no último dia de tratamento houve um aumento de 76,49%. Um aumento significativo nos níveis de colesterol total (39,53%) também foi observado ao final do experimento nos animais do grupo 3, que receberam 10% de gordura suína na dieta. Com relação aos animais do grupo 2, que receberam 5% de gordura suína na dieta, não foram observadas alterações significativas nos níveis deste constituinte sangüíneo. Uma vez que este experimento teve como objetivo a indução de hiperlipidemia em aves, o grupo de animais que receberam colesterol e ácido cólico na dieta (Grupo 4) foram os que apresentaram melhores resultados.

Aves têm sido muito utilizadas como modelo animal para a compreender a aterogênese em humanos (ALLEN e WONG, 1993). Os modelos experimentais para indução de hiperlipidemia em animais, são necessários quando se pretende avaliar o efeito hipolipidêmico de fármacos ou constituintes de dietas.

Os níveis de colesterol no organismo animal é obtido através da regulação da quantidade de colesterol ingerido e da taxa de catabolismo e síntese endógena (Wilson, 1964; Seperstem e Fagan, 1966; O'Brien et al., 1977; Aguilera et al, 1988 citados por JIANG et al., 1990).

O resultado obtido neste trabalho é coerente com várias pesquisas realizadas anteriormente, onde observa-se um aumento nos níveis de colesterol total em animais alimentados com dieta contendo colesterol e gorduras saturadas. YOUN et al (1993) avaliaram o efeito de adição de 1% de colesterol na dieta sobre a atividade da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA

(HMG-CoA) redutase no fígado e intestino delgado de pintos Leghorn com seis semanas de idade. A atividade da enzima HMG-CoA redutase no fígado e jejuno foram significativamente reduzidas nos animais que receberam dieta contendo colesterol. Foi também observado um aumento significativo nos níveis sanguíneos de colesterol livre e esterificado e do conteúdo de colesterol livre no fígado e células epiteliais de jejuno e íleo.

Experimentos realizados com ratos demonstraram que dietas contendo 0,05% de colesterol proporcionavam síntese de 70 a 80% do colesterol no organismo enquanto que, para valores dietéticos de 2%, a produção endógena de colesterol reduziu para 10 a 30% (Mayes, 1981 citado por MENDONÇA JR., 1996). Isto demonstra o efeito do colesterol dietético na inibição da enzima HMG-CoA redutase.

Alguns estudos experimentais têm mostrado que a digestibilidade de gordura em pintos jovens aumenta até a oitava semana de idade, concluindo que o mecanismo absorptivo de lipídeos e proteínas não está completamente desenvolvido em pintos jovens. Aumento na absorção aparente de lipídeos é observado quando ácidos biliares são incluídos na dieta, evidenciando as condições imaturas na função digestiva (IÑARREA et al., 1992).

CASTILLO et al. (1996) avaliaram o efeito de dieta suplementada com 10 e 20% óleo de coco em pintos machos Leghorn recém-eclodidos, durante duas semanas. A concentração plasmática de colesterol total (colesterol livre e esterificado) aumentou significativamente após uma semana de tratamento com 10 e 20% de óleo de coco, quando comparadas com os animais que receberam dieta controle, sendo que estes níveis permaneceram aumentados até o final do período experimental. Os animais que receberam 20% óleo de coco apresentaram aumentos significativos na concentração de colesterol total e triacilgliceróis em todas as frações de lipoproteínas (HDL, LDL, IDL, e VLDL), enquanto os que receberam 10% óleo de coco apresentaram aumentos significativos apenas nos níveis de colesterol em LDL e VLDL, e triacilgliceróis em LDL. Estes resultados mostram que pintos recém-eclodidos podem ser considerados como um modelo satisfatório para estudar o papel de lipoproteínas na aterogênese por apresentar uma resposta rápida à ingestão de ácidos graxos saturados com 12 e 14 carbonos.

Tabela 8 – Colesterol total médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol total (mg/dL)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	94,33	-
	G2 – RB + 5% de GS	133,33 a	+41,34
	G3 – RB + 10% de GS	139,33 a	+47,70
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	150,17 a	+59,20 *
14	G1 – Ração Basal (RB)	157,67	-
	G2 – RB + 5% de GS	168,33 b	+6,76
	G3 – RB + 10% de GS	170,00 b	+7,82
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	222,00 a	+40,80 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	136,17	-
	G2 – RB + 5% de GS	180,33 b	+32,43
	G3 – RB + 10% de GS	190,00 b	+39,53 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	240,33 a	+76,49 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

Além disso, estudos têm mostrado que populações que consomem grandes quantidades de ácidos graxos saturados, particularmente na forma de gordura animal, têm relativamente altos níveis de colesterol sérico (LEITE,1994).

Um dos mecanismos propostos, para a ação dos ácidos graxos saturados e colesterol da dieta em aumentar os níveis sanguíneos de colesterol, é devido à redução no número de receptores hepáticos de LDL (receptores B e E), o que pode inibir a remoção plasmática dessa partícula, possivelmente por alteração no conteúdo de ácidos graxos das membranas, e, em decorrência, elevar o nível dessa lipoproteína no plasma (QUINTÃO, 1992).

Esse efeito torna o colesterol ativo disponível para a supressão da transcrição do receptor de LDL. De fato, em experimentos animais, dietas ricas em ácidos graxos saturados diminuem a concentração de RNA mensageiro, necessário para a síntese de proteínas receptoras de LDL. Outro efeito é a alteração da composição dos fosfolípidos na membrana das células, de modo a retardar o movimento normal dos receptores de LDL para a superfície das células e seu mecanismo de interação com a partícula, interferindo na internalização da LDL. A composição das partículas de LDL também pode estar modificada, de modo a retardar sua ligação aos receptores (LEITE,1994).

Numerosos estudos indicam que aves são capazes de utilizar quantidades apreciáveis de gordura dietética como fonte de energia. Em pintos de corte, o efeito de gordura dietética sobre o ganho de peso é influenciado pela idade e pela quantidade de gordura adicionada na dieta (PEEBLES et al., 1997).

O ácido cólico da dieta têm mostrado atuar sinergicamente com o colesterol dietético para induzir o aumento dos níveis de colesterol plasmático. O ácido cólico atua aumentando a absorção de colesterol e inibe a conversão de colesterol a ácidos biliares, o que resulta no aumento nos níveis de colesterol sanguíneo (RADCLIFFE e LIEBSCH, 1985).

IÑARREA et al. (1992) avaliaram o desenvolvimento da atividade de HMG-CoA redutase e colesterol-7 α -hidroxilase microsomal hepática de pintos alimentados com dieta livre de gordura durante as 8 primeiras semanas de idade. A atividade da enzima HMG-CoA redutase aumentou durante as quatro primeiras semanas de idade, mas diminuiu da quarta a oitava semana de

idade. A atividade da enzima colesterol 7 α -hidroxilase também aumentou durante as quatro primeiras semanas de idade. Com relação aos níveis de colesterol livre e total, houve uma redução durante as seis primeiras semanas de idade, aumentando nas quatro últimas semanas de experimento.

Estudos realizados em pintos com 11 dias de idade, alimentados com dieta suplementada com 5% de colesterol, mostraram que esses animais apresentaram um rápido e significativo aumento no conteúdo de colesterol nos microssomas hepáticos, bem como, uma drástica diminuição na atividade da enzima HMG-CoA redutase (CASTILLO et al., 1994).

Dietas ricas em gorduras saturadas e, ou colesterol estão associados com um aumento nos níveis de colesterol e lipoproteínas plasmáticas. Porém, vários estudos mostraram que o aumento de lipídios plasmáticos em resposta a alta concentração de colesterol e, ou gordura na dieta é altamente variável até mesmo entre animais normolipidêmicos. CASTILLO et al. (1994) compararam o efeito hipercolesterolêmico de colesterol e óleo de coco em animais recém-nascidos e adultos. Os resultados mostraram que aves adultas alimentadas com dieta suplementada com 2% de colesterol apresentaram aumento significativo nos níveis sanguíneos de colesterol total após 3 dias de tratamento. Para os pintos recém-eclodidos, a hipercolesterolemia foi observada somente após 15 dias de tratamento. Os pintos recém-eclodidos alimentados com dieta suplementada com 10 e 20% de óleo de coco, rico em ácidos graxos saturados, apresentaram aumentos significativos nos níveis de colesterol total após 7 dias de tratamento. Aumento nos níveis de triacilgliceróis sanguíneos foi observado após 14 dias de tratamento com 20% de óleo de coco. Esses resultados demonstram que a resposta do organismo à dietas com níveis elevados de gordura e colesterol é influenciada pela idade dos animais.

Pela Tabela 9, pode-se constatar que com relação aos níveis de sanguíneos de colesterol-HDL o grupo 3 obteve aumentos significativos apenas na última semana de tratamento (20,83%), quando comparados com o grupo controle (Grupo 1). O grupo 4 obteve aumentos significativos na terceira semana (27,50%) e na quarta semana de tratamento (43,02%). Com relação ao grupo 2, não foram observados resultados significativos.

Tabela 9 – Colesterol-HDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	HDL (mg/dL)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	50,33	-
	G2 – RB + 5% de GS	62,17 a	+23,52
	G3 – RB + 10% de GS	54,17 a	+7,63
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	56,00 a	+11,27
14	G1 – Ração Basal (RB)	109,67	-
	G2 – RB + 5% de GS	119,67 b	+9,12
	G3 – RB + 10% de GS	124,67 ab	+13,68
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	139,83 a	+27,50 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	111,17	-
	G2 – RB + 5% de GS	115,17 c	+3,60
	G3 – RB + 10% de GS	134,33 b	+20,83 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	159,00 a	+43,02 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

A HDL desempenha um papel crucial na mobilização de colesterol dos tecidos periféricos. Os altos níveis de colesterol-HDL em pintos alimentados com colesterol pode indicar um elevado transporte reverso do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde ocorre catabolismo e excreção do colesterol. Estudos têm mostrado que em pintos recém-eclodidos, o depósito de colesterol no músculo esquelético estimula a síntese de apoproteína A-I, que é a apoproteína característica da HDL. Esta apoproteína ativa a enzima LCAT, que esterifica o colesterol presente na superfície da HDL, que converte o colesterol presente em quilomícrons, VLDL, LDL e tecidos periféricos em ésteres de colesterol, para serem transportados para o fígado. Quando pintos recém-eclodidos são alimentados com dieta aterogênica, a síntese de apoproteína A-1 e HDL pode ser mantida por mais tempo do que quando comparados com animais alimentados com dietas normais. O aumento de HDL pode ser causado pelo acúmulo de colesterol nos tecidos (JIANG et al., 1990).

Os resultados obtidos para os níveis sanguíneos de colesterol-HDL são semelhantes aos encontrados por Loo et al. (1990) citado por CASTILLO et al. (1995) que também observaram aumento nos níveis de colesterol-HDL em frangos alimentados com dieta suplementada com colesterol.

LIN et al., (1992) avaliaram as interações entre gordura saturada e colesterol sobre a homeostase do colesterol em porcos-da-índia. Os animais foram alimentados com dieta contendo 15% de banha, óleo de oliva ou óleo de milho isoladamente e com 0,08, 0,17 ou 0,33% de colesterol. As concentrações plasmáticas de colesterol total e colesterol-LDL aumentaram significativamente com o aumento dos níveis de colesterol dietético, sendo que os maiores níveis foram observados nos animais que receberam 0,33% de colesterol na dieta. Os animais que receberam gordura saturada e 0,33% de colesterol dietético apresentaram um aumento nas concentrações plasmáticas de colesterol-HDL, enquanto que gordura poliinsaturada minimizou o aumento mediado pelo colesterol dietético. Além disso o colesterol dietético suprimiu a atividade da enzima HMG-CoA redutase hepática, apresentando máxima inibição em todos níveis de colesterol testados. Esses resultados demonstram que colesterol dietético desempenha um papel importante na regulação na concentração plasmática de colesterol, apresentando efeito agudo (feedback sobre a síntese

de colesterol), enquanto que gordura saturada pode ter um efeito crônico (através de alteração nos receptores de LDL).

Com isso pode-se sugerir que a dieta suplementada com colesterol e gordura saturada apresenta um maior efeito na indução de hipercolesterolemia.

Beynen (1987) citado por LIN et al. (1992) também estudou o efeito de dieta suplementada com colesterol e diferentes tipos de gordura (saturada, monoinsaturada e poliinsaturada) sobre os níveis de colesterol sanguíneo e hepático. Os ratos alimentados com dieta contendo os diferentes tipos de gordura e livre de colesterol não apresentaram alterações significativas nos níveis de colesterol. Entretanto, quando o colesterol foi adicionado à dieta, observou-se um aumento nos níveis de colesterol hepático e sanguíneo.

A Tabela 10 mostra os efeitos das substâncias testadas sobre os níveis de colesterol-LDL. Os resultados evidenciaram que apenas os animais do grupo 4 apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$) nos níveis deste constituinte sanguíneo (255,06% na primeira semana, 8,86% na segunda semana e 12,00% na última semana de tratamento).

Resultados similares foram descritos por SPADY e DIETSCHY (1988) que observaram um aumento nas concentrações plasmáticas de colesterol-LDL associada à redução no *clearance* hepático de LDL em hamsters alimentados com dieta suplementada com 0,1, 0,25 e 1,0% de colesterol.

Muitas explicações têm sido dadas para o aumento nos níveis de colesterol-LDL induzidas por dietas aterogênicas, como por exemplo, redução na taxa de renovação de quilomícrons remanescentes, provavelmente devido a saturação de lipase lipoprotéica no soro; secreção de partículas de VLDL pelo fígado na qual há uma substituição dos ésteres de colesterol por triacilgliceróis, o que pode explicar pequenos aumentos nos triacilgliceróis do plasma (ALLEN e WONG, 1993).

Sabe-se que a gordura suína contém 42% de ácido graxo saturado, 48% de ácido graxo monoinsaturado e 10% de ácido graxo poliinsaturado, sendo que 24,8% do total de ácidos graxos é representado pelo ácido palmítico. Há evidências de que os ácidos graxos saturados diferem quanto à sua capacidade de elevar os níveis de colesterol total e colesterol-LDL. O ácido palmítico e mirístico são os que mais se relacionam com aumento de colesterol-LDL (LEITE, 1994).

Tabela 10 – Colesterol-LDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	LDL (mg/dL)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	13,33	-
	G2 – RB + 5% de GS	19,33 b	+45,01
	G3 – RB + 10% de GS	27,00 ab	+102,55
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	47,33 a	+255,06 *
14	G1 – Ração Basal (RB)	240,83	-
	G2 – RB + 5% de GS	252,00 a	+4,64
	G3 – RB + 10% de GS	254,83 a	+5,81
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	262,17 a	+8,86
21	G1 – Ração Basal (RB)	250,00	-
	G2 – RB + 5% de GS	261,67 a	+4,67
	G3 – RB + 10% de GS	278,00 a	+11,20
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	280,00 a	+12,00 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

O aumento da concentração de colesterol-LDL no plasma devido ao consumo de óleos vegetais e gorduras saturadas é explicado por uma diminuição da atividade do receptor hepático de LDL e um aumento na taxa de produção de colesterol-LDL. A atividade do receptor de LDL hepático pode ser regulada pela concentração de RNA mensageiro do receptor de LDL. Evidências sugerem que ácido capróico (6:0), ácido caprílico (8:0), e ácido cáprico (10:0) são neutros com relação à propriedade de aumentar os níveis de colesterol-LDL e modular o metabolismo de LDL. O ácido láurico (12:0), ácido mirístico (14:0), e ácido palmítico (16:0) são equivalentes no potencial de aumentar os níveis de colesterol-LDL, por reduzir a atividade de receptor de LDL hepático e aumentar a taxa de produção de colesterol-LDL (NICOLOSI, 1997).

O efeito da qualidade e quantidade de gordura dietética na regulação do colesterol e metabolismo de lipoproteínas foram estudados em porcos-da-índia. Os animais foram alimentados com dieta contendo com 7,5 ou 15% de óleo de milho (rico em ácidos graxos poliinsaturados), óleo de oliva (rico em ácidos graxos monoinsaturados) ou banha (rico em ácidos graxos saturados). Animais alimentados com óleo de milho apresentaram redução nos níveis de LDL. A ligação da LDL com o receptor de apoproteína B e E foi duas vezes maior nos animais alimentados com óleo de milho. Animais alimentados com óleo de oliva apresentaram redução da atividade da enzima HMG-CoA redutase e níveis aumentados de colesterol hepático. Níveis hepáticos de éster de colesterol foram mais baixos em animais alimentados com dieta contendo banha. Aumento da quantidade de gordura dietética resultou em um aumento dos níveis de colesterol-LDL e colesterol hepático, da atividade da enzima HMG-COA redutase e afinidade pelo receptor de LDL. Estes dados demonstram que, independente da quantidade de gordura dietética, dietas com óleo de milho reduzem os níveis plasmáticos de LDL, modificam a composição de LDL e aumentam o número de receptores hepáticos de apoproteína (FERNANDEZ e McNAMARA, 1991).

Com relação aos níveis de colesterol-VLDL e triacilglicerol, apresentados nas Tabelas 11 e 12, pode-se observar que todos os tratamentos apresentaram aumentos significativos, quando comparados com o grupo controle (G1), sendo que os melhores resultados foram apresentados pelos animais do grupo 4 que apresentaram aumento de 1.352,3% na última semana de tratamento.

Os triacilgliceróis e o colesterol na dieta têm uma influência direta no desenvolvimento da aterosclerose. Os ácidos graxos saturados aumentam a produção de lipoproteínas e quilomícrons que são a forma de transporte desses lipídeos no sangue (FETT, 2000). A susceptibilidade de hipercolesterolemia induzida por dieta depende de vários mecanismos homeostáticos do metabolismo de colesterol como absorção intestinal, síntese de colesterol endógeno, *clearance* de lipoproteínas e receptores, renovação de colesterol de células periféricas e excreção fecal de colesterol na forma de esteróis ácidos ou neutros (HAMMAD et al., 1997).

Os ácidos graxos saturados também aumentam os níveis de triacilgliceróis, no plasma, o que parece decorrer de estímulo na secreção hepática de triacilgliceróis sob a forma de VLDL. Esses efeitos são limitados àqueles com cadeia contendo 12 (ácido láurico), 14 (ácido mirístico), como também 16 átomos de carbono (palmítico) (QUINTÃO, 1992). Esses ácidos graxos representam aproximadamente 27% do total dos ácidos graxos presentes na gordura suína. Isto pode explicar, em parte, o aumento nos níveis sanguíneos de VLDL e triacilgliceróis observado nos animais do grupo 2, que receberam 5% de gordura suína, e do grupo 3, que receberam 10% de gordura suína.

Tabela 11 – Colesterol-VLDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	VLDL (mg/dL)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	7,57	-
	G2 – RB + 5% de GS	12,20 b	+61,16
	G3 – RB + 10% de GS	17,67 ab	+133,42 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	24,33 a	+221,40 *
14	G1 – Ração Basal (RB)	6,57	-
	G2 – RB + 5% de GS	33,57 a	+410,96 *
	G3 – RB + 10% de GS	38,17 a	+480,97 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	39,13 a	+495,59 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	5,80	-
	G2 – RB + 5% de GS	76,07 b	+1,211,55 *
	G3 – RB + 10% de GS	78,03 ab	+1,245,34 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	84,23 a	+1.352,24 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

Tabela 12 – Triacilglicerol médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Triacilglicerol (mg/dL)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	37,83	-
	G2 – RB + 5% de GS	61,00 b	+61,25
	G3 – RB + 10% de GS	88,33 ab	+133,49 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	121,67 a	+221,62 *
14	G1 – Ração Basal (RB)	32,83	-
	G2 – RB + 5% de GS	167,83 a	+411,21 *
	G3 – RB + 10% de GS	190,83 a	+481,27 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	195,67 a	+496,01 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	29,00	-
	G2 – RB + 5% de GS	380,33 b	+1.211,48 *
	G3 – RB + 10% de GS	390,17 ab	+1.245,41 *
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	421,17 a	+1,352,31 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

O efeito do tempo sobre os diferentes tratamentos para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis obtidos do soro sangüíneo de aves da linhagem *Avian farms*, encontra-se na Tabela 3 (Apêndice).

De acordo com os resultados pode-se observar que o efeito do tempo sobre os níveis de colesterol total, colesterol-HDL e colesterol-LDL foi significativo para todos os grupos. De acordo com esses resultados pode-se observar a importância do tempo na indução de hiperlipidemia em animais experimentais, uma vez que, quanto maior o tempo de tratamento maiores os níveis de colesterol total, colesterol-HDL e colesterol-LDL encontrados no soro sangüíneo dos animais dos diferentes grupos. Para os níveis de colesterol-VLDL e triacilgliceróis o efeito do tempo não foi significativo apenas para o grupo controle (Grupo 1), mostrando os níveis destes constituintes sangüíneos mantiveram-se constantes durante todo o experimento.

Pelos resultados mostrados nas Tabelas 13 e 14, pode-se observar que houve pequenas variações entre o grupo controle (G1) e os grupos experimentais no que se refere ao ganho de peso e conversão alimentar.

Tabela 13 – Ganho de peso médio, em g e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Ganho de peso (g)	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	369,2	-
	G2 – RB + 5% de GS	372,5	+0,90
	G3 – RB + 10% de GS	390,0	+5,64
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	382,5	+3,61
14	G1 – Ração Basal (RB)	628,4	-
	G2 – RB + 5% de GS	619,1	-1,49
	G3 – RB + 10% de GS	637,0	+1,36
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	630,0	+0,25
21	G1 – Ração Basal (RB)	487,0	-
	G2 – RB + 5% de GS	510,0	+4,79
	G3 – RB + 10% de GS	503,3	+3,42
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	463,0	-4,93

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

Tabela 14 – Conversão alimentar média e percentual de variação em relação ao grupo controle (G1), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Conversão Alimentar	Variação (%)
7	G1 – Ração Basal (RB)	1,426	-
	G2 – RB + 5% de GS	1,342	-5,89
	G3 – RB + 10% de GS	1,260	-11,64
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	1,252	-12,20
14	G1 – Ração Basal (RB)	1,321	-
	G2 – RB + 5% de GS	1,329	+0,61
	G3 – RB + 10% de GS	1,316	-0,38
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	1,304	-1,29
21	G1 – Ração Basal (RB)	1,623	-
	G2 – RB + 5% de GS	1,543	-4,93
	G3 – RB + 10% de GS	1,462	-9,92
	G4 – RB + 1% de C + 0,1% de AC	1,564	-3,64

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

4.3 Efeito de flavonóides e corantes naturais na redução de lipídeos sangüíneos de aves hiperlipidêmicas

Os resultados obtidos, para colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis obtidos do soro sangüíneo dos animais, com hiperlipidemia induzida por colesterol, ácido cólico e gordura suína, encontram-se nas Tabelas 15, 16, 17, 18 e 19, expressos em mg/dL, com suas respectivas porcentagens de variações.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 15, pode-se observar que todas as substâncias testadas apresentaram reduções significativas nos níveis sangüíneos de colesterol total, quando comparados com o grupo 2 (controle). No entanto, deve-se destacar que os animais do grupo 4 (cúrcuma) apresentaram os melhores resultados na redução dos níveis de colesterol total, apresentando redução de 57,55%, no final do período experimental. Estes resultados demonstram que os flavonóides e corantes naturais testados apresentam efeito hipocolesterolêmico em aves alimentadas com dieta suplementada com colesterol, ácido cólico e gordura suína.

Diversos estudos em animais experimentais têm mostrado que cúrcuma apresenta efeito hipolipidêmico envolvendo vários mecanismos de ação. Segundo SUBBA RAO et al (1970) ratos alimentados com curcumina apresentaram reduções nos níveis séricos e hepáticos de colesterol, além de aumentar a excreção fecal de sais biliares e colesterol em ratos normais e hiperlipidêmicos.

Redução nos níveis hepáticos e séricos de colesterol, bem como triacilgliceróis e fosfolipídeos foram observados por SRINIVASAN e SAMBAIAH (1991) e por SURESH BABU e SRINIVASAN (1997) que relataram um aumento na atividade da enzima colesterol-7- α -hidroxilase, enzima chave na conversão de colesterol a ácidos biliares, em ratos alimentados com curcumina

Um outro possível mecanismo para explicar a redução nos níveis plasmáticos e hepáticos de colesterol seria a diminuição na reabsorção intestinal de ácidos biliares o que induz um aumento na conversão hepática de colesterol em ácidos biliares, levando a uma maior mobilização do colesterol do sangüíneo e hepático.

Tabela 15 – Colesterol total médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo padrão (G1) e controle (G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol total (mg/dL)	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
7	-	145,50	-	-
14	G1 – Ração Basal (RB)	143,83 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	232,67 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	212,00 ab	+47,40 *	-8,88
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	229,17 a	+59,33 *	-1,50
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	175,83 b	+22,25	-24,43 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	215,17 ab	+49,60 *	-7,52
21	G1 – Ração Basal (RB)	131,17 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	291,33 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	242,17 a	+84,62 *	-16,87 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	209,00 ab	+59,34 *	-28,26 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	215,17 ab	+64,04 *	-26,14 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	171,50 b	+30,75	-41,13 *
28	G1 – Ração Basal (RB)	141,67 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	338,83 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	271,83 a	+91,88 *	-19,77 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	143,83 b	+1,52	-57,55 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	229,83 a	+62,23 *	-32,17 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	241,17 a	+70,23 *	-28,82 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F ($P<0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

GS= Gordura suína, C= Colesterol, AC= Ácido Cólico, NB= Norbixina, CA= Cúrcuma, NA= Naringina, R= Rutina.

SURESH BABU e SRINIVASAN (1995) também relatam efeito hipocolesterolêmico de curcumina em ratos diabéticos com hiperlipidemia induzida por 1% de colesterol dietético. Curcumina também apresentou efeito na redução da peroxidação lipídica no plasma e urina quando comparados com outros grupos diabéticos. Este estudo revela que curcumina melhora o estado metabólico de animais diabéticos, apesar de não apresentar nenhum efeito nos níveis glicêmicos ou peso corporal. O mecanismo pelo qual curcumina melhora este perfil metabólico é provavelmente devido ao seu efeito hipocolesterolêmico, natureza antioxidante e propriedade de eliminação de radicais livres.

Estudo do efeito de flavonóides e corantes naturais em aves é interessante uma vez que cada substância com ação farmacológica deve ser testada em diferentes animais, para verificar o seu efeito e depois a sua toxicologia antes que possa ser utilizada como medicamento.

Efeito antioxidante de flavonóides foi estudado por AFANAS et al. (1989) que observaram que rutina e quercetina inibiram efetivamente peroxidação lipídica dependente de ferro e foram quelantes dos íons ferro com formação de complexos inertes incapazes de iniciar a peroxidação lipídica. Esses flavonóides foram capazes de suprimir os estágios do processo de formação de radicais livres, formação do radical hidroxila e formação de radicais peróxidos.

Outra ação dos flavonóides está relacionado com a liberação de ácido araquidônico dos fosfolipídeos, presentes nas membranas celulares, por ação da fosfolipase A₂. Alguns trabalhos têm mostrado que quercetina inibe a fosfolipase A₂ de leucócitos em coelhos e humanos (Lee et al., 1982; Lanni e Backer, 1985 citado por HARBORNE, 1994). Os flavonóides inibem também a síntese de eicosanóides através da inibição da atividade das enzimas lipoxigenase e cicloxigenase e também pela inibição da peroxidação não enzimática de ácidos graxos poliinsaturados que também atuam na ativação dessas oxigenases (FORMICA e REGELSON, 1995).

Vários estudos sobre o efeito de flavonóides nos níveis sangüíneos de colesterol total foram realizados. SANTOS et al. (1999a) verificaram efeito hipolipidêmico dos flavonóides morina e quercetina isoladamente e associados ao ácido nicotínico em ratos. NAGEM et al (1999), também verificaram efeito

hipolipidêmico bastante acentuado do flavonóide naringina isoladamente e associados aos corantes naturais antocianina e carmim em ratos. ITAYA e IGARASHI (1992) também relataram atividade hipolipidêmica dos flavonóides taxifolina, rutina e catequina.

Estudos realizados por SANTOS et al (1999b) também relatam o efeito dos flavonóides naringenina, rutina e ácido nicotínico isoladamente e associados na redução dos lipídeos sangüíneos. Também SANTOS et al. (1999c) relatam ações hipolipidêmicas dos flavonóides naringenina, rutina e dos corantes naturais monascus e antocianina isoladamente e associados. Para que no futuro estas substâncias possam ser utilizadas como medicamentos torna-se necessário o seu estudo farmacológico e toxicológico em diferentes espécies de animais.

Experimentos realizados em ratos mostraram que flavonóides extraídos de beringela (*Solanum melongena*) apresentaram efeito na redução nos níveis sangüíneos de colesterol total e triacilgliceróis (SUDHEESH et al., 1997). Este efeito pode ser explicado, em parte, pelo aumento da atividade da enzima LCAT, enzima presente na superfície das HDL, que converte o colesterol presente em quilomícrons, VLDL, LDL e tecidos periféricos em ésteres de colesterol, transportando-os para o fígado para serem metabolizados, reduzindo assim os níveis de colesterol sangüíneo; e pelo aumento da atividade da enzima lipase lipoprotéica, que remove os ácidos graxos dos triacilgliceróis presentes em quilomícrons e VLDL para o tecido adiposo, resultando numa redução dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis. Observou-se também neste experimento um aumento nos níveis de ácidos biliares hepáticos e fecais, bem como esteróis neutros fecais, indicando uma alta taxa de degradação de colesterol e redução na reabsorção intestinal de ácidos biliares.

A regulação dos níveis de colesterol plasmático envolve fatores que influenciam o metabolismo intracelular e extracelular do colesterol. As duas enzimas chaves envolvidas são a HMG-CoA redutase e a acil CoA colesterol-O-aciltransferase. Os inibidores da enzima HMG-CoA redutase são muito efetivos em reduzir o colesterol plasmático em muitas espécies animais, incluindo humanos (Amin, 1993 citado por BOK et al., 1999).

Estudos sobre mecanismo de ação têm mostrado que os flavonóides naringina e hesperedina reduzem os níveis de colesterol hepático e plasmático através da inibição da enzima HMG-CoA redutase, enzima chave na síntese de colesterol, e acil CoA: colesterol transferase, enzima que esterifica o colesterol livre utilizando ácido graxo. O colesterol esterificado é armazenado na célula como gotículas ou, no caso do fígado, é incorporado às VLDL e “exportado” para o plasma (BOK et al., 1999; QUINTÃO, 1992).

A inibição da enzima HMG-CoA redutase leva a um aumento no número de receptores hepáticos para LDL, e conseqüentemente, diminui o nível plasmático de colesterol-LDL (QUINTÃO, 1992).

PEREIRA (1999) avaliou o efeito dos flavonóides kaempferol, biochanina A, naringina, isoliquiritigenina, genisteína, baicaleína, naringina e dos corantes naturais monascus, antocianina, carmin e clorofila sobre os níveis de lipídeos sangüíneos em ratos. Os resultados mostraram que todos os compostos testados apresentaram efeito na redução dos níveis de colesterol total e triacilgliceróis sangüíneos não reduzindo, entretanto, os níveis de colesterol-HDL. Isto é importante, uma vez que o colesterol-HDL é responsável pelo transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde é metabolizado.

UNNIKRISHNAN & RAO, (1992) relatam os efeitos de curcumina como antiinflamatórios inibindo a formação de prostaglandinas e leucotrienos. Este mecanismo de ação também é interessante uma vez que estas substâncias inibem a ciclooxigenase e lipoxigenase, enzimas responsáveis pela formação destas substâncias em processos inflamatórios que ocorrem na aterosclerose.

Estudo sobre o efeito de cúrcuma, antocianina, carmin e monascus nos níveis de colesterol e triacilgliceróis sangüíneos, em ratos hipercolesterolêmicos, mostraram que os estes corantes naturais reduziram, significativamente, os níveis séricos de colesterol total e colesterol-HDL. Cúrcuma, antocianina e monascus também reduziram os níveis séricos de triacilgliceróis (VALENTE, 1998).

O efeito de curcumina na agregação plaquetária, hiperlipidemia, peroxidação lipídica e função imune foram estudados por LIU (1997). Curcumina apresentou acentuada inibição da agregação plaquetária sangüínea em humanos e peroxidação lipídica induzida por adenosina difosfato (ADP) em

ratos. Além disso curcumina reduziu significativamente os níveis sanguíneos de colesterol total em ratos alimentados com dieta suplementada com colesterol e aumentou a função imune em ratos imunossuprimidos.

MATSUMOTO et al. (1998) observaram a influência de polifenóis presentes no chá preto sobre os níveis de lipídeos do soro em ratos alimentados com dieta contendo 15% de banha e 1% de colesterol. A dieta foi suplementada com 1% polifenóis extraído de chá preto. Os animais alimentados com dieta contendo banha e colesterol apresentaram um aumento nos níveis de colesterol do fígado e plasma, quando comparados com os animais do grupo controle. A suplementação com polifenóis extraídos do chá preto na dieta contendo colesterol e banha diminuíram os níveis de lipídios no plasma e aumentaram a excreção fecal de lipídios totais e colesterol. Estes resultados sugerem que uma dose alta de polifenóis extraído do chá apresentam efeito hipocolesterolêmico em ratos alimentados com dieta suplementada com colesterol e banha.

Nos adipócitos, hormônios lipolíticos como catecolaminas, glucagon e corticotropina atuam na mobilização de ácidos graxos estocados na forma de triacilgliceróis. Muitos agentes terapêuticos têm apresentado efeito lipolítico através da inibição da enzima fosfodiesterase. KUPPUSAMY e DAS (1992) avaliaram o efeito de vários flavonóides sobre a enzima fosfodiesterase do AMPc e mobilização de lipídeos nos adipócitos de ratos. Os flavonóides quercetina, luteonina, scutelareina, fletetina e genisteína apresentaram significativa inibição sobre a enzima fosfodiesterase quando comparado com o 3-isobutil-2-metilxantina, um potente inibidor de fosfodiesterase. Os flavonóides fisetina, quercetina, fletetina e buteína, potentes inibidores competitivos de fosfodiesterase, apresentaram um potente efeito lipolítico, embora nem todos os inibidores de fosfodiesterase apresentem este efeito.

Estudos também têm mostrado que cúrcuma estimula a conversão de AMP a AMPc. O AMPc atua estimulando a proteína quinase, que por sua vez, atua ativando lipase inativa, tornando-as ativas. Essas enzimas agem hidrolisando os triacilgliceróis (HASMEDA e POLYA, 1995). Os compostos que promovem lipólise, como cúrcuma e flavonóides, podem ser utilizados no tratamento de obesidade.

Ratos machos foram alimentados com dieta purificada contendo 10% de óleo de amendoim ou óleo de fígado de bacalhau suplementadas com curcumina (1g/100 g), eugenol (0.05 g/100g) ou vitamina E (0.02g/100 g) durante 8 semanas. Dieta contendo curcumina, eugenol ou vitamina E não alteraram a composição de ácidos graxos de fosfolipídeos microsomais de fígado de ratos alimentados com os diferentes tipos de óleo. A peroxidação lipídica no soro e fígado foram mais altas em ratos alimentados com óleo de fígado de bacalhau quando comparado com os ratos alimentados com óleo de amendoim. A curcumina, eugenol e vitamina E reduziram significativamente a peroxidação lipídica no soro e fígado de ratos alimentados com óleo de amendoim e óleo de fígado de bacalhau. Este estudo sugere que, além de vitamina E, curcumina e eugenol podem ser úteis na redução da peroxidação lipídica em ratos alimentados com lipídeos insaturados (PULLA REDDY e LOKESH, 1994).

Os valores médios dos níveis sanguíneos de colesterol-HDL, mostrados na Tabela 16, indicam que os tratamentos não apresentaram variações significativas, estatisticamente, quando comparados com o grupo 2 (controle). Esses resultados são favoráveis, pois a manutenção ou a tendência de elevação do colesterol-HDL, em animais que se encontram com os níveis de colesterol aumentados, resulta num benefício, pois o colesterol-HDL é o responsável pelo transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado onde é metabolizado. Além disso, estudos demonstraram o papel protetor das HDL na função endotelial. Justifica-se assim a utilização de medidas e fármacos para elevar os níveis de HDL, com a finalidade de preservar a função endotelial e prevenir a aterogênese (BATLOUNI E RAMIRES, 1994).

Tabela 16 – Colesterol-HDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo padrão (G1) e controle (G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade.

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol-HDL (mg/dL)	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
7	-	64,50	-	-
14	G1 – Ração Basal (RB)	102,67 A	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	105,17 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	100,67 a	-1,95	-4,28
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	103,83 a	+1,13	-1,27
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	120,33 a	+17,20	+14,41
	G6 – RB+GS+C+AC+R	103,33 a	+0,64	-1,75
21	G1 – Ração Basal (RB)	87,00 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	101,67 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	104,67 a	+20,31	+2,95
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	121,67 a	+39,85 *	+19,67
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	114,00 a	+31,03 *	+12,13
	G6 – RB+GS+C+AC+R	105,17 a	+20,89	+3,44
28	G1 – Ração Basal (RB)	102,17 A	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	84,33 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	83,17 a	-18,60	-1,38
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	83,83 a	-17,95	-0,59
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	103,83 a	+1,62	+23,12
	G6 – RB+GS+C+AC+R	82,67 a	-19,09	-1,97

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F (P<0,05).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett (P<0,05), em cada tempo.

GS= Gordura suína, C= Colesterol, AC= Ácido cólico, NB= Norbixina, CA= Cúrcuma, NA= Naringina, R= Rutina.

Resultados similares foram encontrados por JAHROMI et al. (1993) que avaliaram o efeito de extrato de *Pterocarpus marsupium* ou de seus flavonóides constituintes marsupsina, pterosupina, e liquiritigenina sobre os níveis de lipídeos do soro de ratos com hiperlipidemia induzida tanto por dieta quanto por Triton WR-1339. Administração do extrato (120 mg/kg) durante 14 dias reduziu significativamente níveis sangüíneos de triacilgliceróis, colesterol total, colesterol-LDL e colesterol-VLDL, sem qualquer efeito significativo sobre os níveis de colesterol-HDL. Os flavonóides liquiritigenina e pterosupina reduziram significativamente os níveis sangüíneos de colesterol total e colesterol-LDL, sendo que pterosupina foi também efetiva em reduzir os níveis triacilgliceróis.

Pintos Leghorn machos foram usados como modelo experimental para estudar a aterogênese. Para isto, determinou-se o efeito de uma dieta contendo colesterol, óleo de semente de algodão e carotenóide sobre a composição das lipoproteínas plasmáticas. Este modelo também incluiu tratamento com diazepam, uma droga utilizada para reduzir a formação de placas ateroscleróticas. Após seis semanas de tratamento com dieta aterogênica contendo carotenóides, as aves apresentaram aumentos significativos nos níveis plasmáticos de colesterol total, colesterol-LDL, triacilgliceróis e carotenóides quando comparados com os pintos que consumiram dieta padrão, sendo que nenhuma alteração sobre os níveis de HDL foi observada. Animais tratados com diazepam não apresentaram alterações nas concentrações plasmáticas destes lipídeos. O ganho de peso não foi afetado pela dieta, mas o peso do fígado expresso como porcentagem de peso corporal aumentou significativamente em aves alimentadas com dieta aterogênica (ALLEN e WONG 1993).

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 17, pode-se observar que os animais tratados com o corante natural cúrcuma apresentaram reduções significativas nos níveis de colesterol-LDL nas duas últimas semanas de tratamento (40,12% na segunda semana e 69,87% na terceira semana de tratamento). Os flavonóides naringina e rutina também apresentaram reduções significativas, sendo que os animais que receberam naringina apresentaram reduções de 51,83% na primeira semana, 25,29% na segunda semana e 49,85% na terceira semana de tratamento. Já os animais que receberam rutina

apresentaram reduções de 45,74% na segunda semana e 28,32% na terceira semana de tratamento. Os animais que receberam norbixina não apresentaram reduções significativas quando comparados com o grupo controle (G2).

O fator mais importante no processo de desenvolvimento da aterosclerose consiste na presença de altas concentrações plasmáticas de colesterol na forma de LDL, portanto, redução dos níveis plasmáticos do colesterol destas lipoproteínas auxilia na prevenção da doença aterosclerótica coronária.

Vários estudos têm demonstrado que flavonóides reduzem os níveis plasmáticos de colesterol-LDL. KIRK et al. (1998) avaliaram o efeito dos flavonóides genisteína e daidzeína em camundongos, com e sem receptores de LDL. Neste estudo observou-se que, nos animais com receptores de LDL os flavonóides testados aumentaram a atividade dos receptores. A LDL transporta o colesterol para os tecidos periféricos, e os flavonóides ao ativarem os receptores de LDL no hepatócito, aumentam a endocitose o que leva à redução dos níveis sanguíneos de colesterol.

SEETHARAMAIAH e CHANDRASEKHARA (1993) avaliaram o efeito hipocolesterolêmico de orizanol, curcumina e ácido ferulico em ratos alimentados com dieta contendo 1% de colesterol, e constataram que estes compostos apresentaram efeito na redução dos níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol-LDL e colesterol VLDL. Observou-se também neste experimento, um aumento nos níveis sanguíneos de colesterol-HDL. Com relação à redução dos níveis hepáticos de colesterol, apenas orizanol e curcumina apresentaram efeitos significativos.

Além do efeito hipocolesterolêmico estudos têm mostrado que curcumina e capsaicina, princípios ativos em turmeric (*Curcuma longa*) e pimenta (*Capsaicin annuum*) inibem a peroxidação lipídica induzida por ácido ascórbico e sulfato ferroso em membrana de eritrócito. A concentração de curcumina necessária para inibir 80% de peroxidação foi de 4 μ M, enquanto que, 40 μ M do antioxidante químico tolueno hidroxilado (BHT) resultam na inibição de 53% e 59% da peroxidação lipídica. Estes resultados sugerem que componentes dietéticos podem apresentar mecanismo de defesa efetivo contra peroxidação lipídica induzida por radical livre (SALIMATH et al., 1986)

Tabela 17 – Colesterol-LDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo padrão (G1) e controle (G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade.

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol-LDL (mg/dL)	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
7	-	29,50	-	-
14	G1 – Ração Basal (RB)	21,17 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	113,83 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	90,17 ab	+325,93 *	-20,79
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	103,17 ab	+387,34 *	-9,36
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	54,83 b	+159,00	-51,83 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	105,33 a	+397,54 *	-7,47
21	G1 – Ração Basal (RB)	24,00 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	145,00 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	140,50 a	+485,42 *	-3,10
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	86,83 b	+261,79 *	-40,12 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	108,33 ab	+351,38 *	-25,29
	G6 – RB+GS+C+AC+R	78,67 b	+227,75 *	-45,74 *
28	G1 – Ração Basal (RB)	26,83 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	213,00 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	180,67 a	+573,39 *	-15,18
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	64,17 c	+139,17	-69,87 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	106,83 bc	+293,19 *	-49,85 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	152,67 ab	+461,91 *	-28,32 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F ($P<0,05$).

Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

GS= Gordura suína, C= Colesterol, AC= Ácido cólico, NB= Norbixina, CA= Cúrcuma, NA= Naringina, R= Rutina.

Extrato cítrico contendo flavonóides e ácido ascórbico foi utilizado como suplemento em dietas para avaliar o seu efeito sobre níveis de lipídios em hamsters hipercolesterolêmicos. Após um mês de tratamento, o extrato cítrico mais o ácido ascórbico reduziram significativamente os níveis plasmáticos de colesterol total, LDL+VLDL e triacilgliceróis, quando comparado com o grupo de controle. O extrato cítrico também inibiu a oxidação in vitro, de LDL+VLDL pelo íon cobre quando comparado com ácido ascórbico ou flavonóides isoladamente, sendo que o ácido ascórbico ou os flavonóides não apresentaram efeito hipocolesterolêmico. Em um segundo experimento com hamster de 10 semanas de idade, o extrato cítrico mais o ácido ascórbico também reduziram significativamente os níveis de lipídios do plasma, peróxido de lipídio, e também reduziu significativamente a oxidação de LDL+VLDL in vitro, quando comparados com o grupo controle. Extrato cítrico mais ácido ascórbico inibiram aterosclerose, e houve uma correlação significativa entre vários índices de suscetibilidade de oxidação e aterosclerose (VINSON et al., 1998).

YUGARAN et al. (1992) também encontraram efeito hipolipidêmico dos flavonóides quercetina e morina em ratos alimentados com dieta rica em gordura. Os animais tratados com esses flavonóides apresentaram redução nos níveis de colesterol total, colesterol-LDL e triacilgliceróis do plasma.

Pelas Tabelas 18 e 19, pode-se observar que todas as substâncias testadas foram efetivas em reduzir os níveis de colesterol VLDL e triacilgliceróis, quando comparadas com o grupo controle (G2), ao longo de todo o período experimental.

O colesterol absorvido via remanescentes de quilomícrons aumenta o conteúdo hepático de colesterol, que induz à supressão da síntese de receptores de Colesterol-LDL, quanto maior a sua concentração. A diminuição das atividades dos receptores de LDL, leva ao aumento da concentração de LDL por dois mecanismos: demora do clearance (renovação) de LDL circulante e diminuição da metabolização de remanescentes de VLDL, que resulta em um aumento na conversão de VLDL para LDL. Também a demora na remoção de remanescentes de VLDL leva a um aumento na concentração dessas lipoproteínas (LEITE, 1994).

Tabela 18 – Colesterol-VLDL médio, em mg/dL e percentual de variação em relação ao grupo padrão (G1) e controle (G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Colesterol-VLDL (mg/dL)	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
7	-	7,57	-	-
14	G1 – Ração Basal (RB)	6,57 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	32,17 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	5,20 a	-20,85	-83,84 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	5,57 a	-15,22	-82,69 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	7,45 a	+13,70	-76,78 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	6,93 a	+5,48	-78,46 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	5,80 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	48,53 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	5,40 a	-6,90	-88,87 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	5,43 a	-6,38	-88,81 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	4,37 a	-24,66	-91,00 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	5,40 a	-6,90	-88,87 *
28	G1 – Ração Basal (RB)	4,93 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	48,90 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	5,17 a	+4,87	-89,43 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	3,87 a	-21,50	-92,09 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	4,80 a	-2,64	-90,18 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	4,97 a	+0,81	-89,84 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F (P<0,05).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett (P<0,05), em cada tempo.

GS= Gordura suína, C= Colesterol, AC= Ácido cólico, NB= Norbixina, CA= Cúrcuma, NA= Naringina, R= Rutina.

Tabela 19 – Triacilglicerol médio, em mg/dL e percentual de variação em relação aos grupos controle (G1 e G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Triacilglicerol (mg/dL)	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
7	-	37,83	-	-
14	G1 – Ração Basal (RB)	32,83 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	160,83 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	26,00 a	-20,80	-83,83 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	27,83 a	-15,23	- 82,70 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	37,33 a	+13,71	-76,79 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	34,67 a	+5,60	-78,44 *
21	G1 – Ração Basal (RB)	29,00 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	240,17 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	27,00 a	-6,90	-88,76 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	27,17 a	-6,31	-88,69 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	21,83 a	-24,72	-90,91 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	27,00 a	-6,90	-88,76 *
28	G1 – Ração Basal (RB)	24,67 B	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	244,50 A	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	25,83 a	+4,70	-89,44 *
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	19,33 a	-21,65	-92,09 *
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	24,00 a	-2,72	-90,18 *
	G6 – RB+GS+C+AC+R	24,83 a	+0,65	-89,84 *

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Em cada tempo, A difere de B pelo teste F (P<0,05).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett (P<0,05), em cada tempo.

GS= Gordura suína, C= Colesterol, AC= Ácido cólico, NB= Norbixina, CA= Cúrcuma, NA= Naringina, R= Rutina.

Outros estudos epidemiológicos sugerem que o aumento do conteúdo de colesterol dos quilomícrons e remanescentes de quilomícrons, que ocorre depois da ingestão de alimentos ricos em colesterol, leva à formação de partículas que são similares em tamanho aos remanescentes de VLDL, e parecem também ser aterogênicas. Outro mecanismo seria, no nível da parede arterial, a liberação de colesterol na hidrólise dos quilomícrons pela lipase lipoprotéica. Excesso de colesterol hepático forma partículas de VLDL muito ricas em colesterol, e desse modo com aumento de sua aterogenicidade. Partículas de HDL, enriquecidas com colesterol, têm seu papel no transporte reverso prejudicado (transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado) (LEITE,1994).

O efeito hipolipidêmico dos flavonóides sobre os níveis de triacilgliceróis podem ser explicados, em parte, pelo aumento da atividade da enzima lipase, provocadas pelos flavonóides. GOMES (1998) relata os efeitos dos flavonóides morina, naringina, naringenina e rutina sobre o aumento da atividade da enzima lipase. Esta enzima é responsável pela hidrólise dos triacilgliceróis, portanto, um aumento na atividade desta enzima promoverá maior mobilização dos ácidos graxos dos triacilgliceróis sanguíneos para o fígado, tecido muscular e tecido adiposo.

O efeito do tempo sobre os diferentes tratamentos e o efeito dos tratamentos sobre o tempo para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis obtidos do soro sanguíneo de aves da linhagem *Avian farms*, encontram-se nas Tabelas 4 e 5 (Apêndice), respectivamente.

De acordo com a Tabela 4 (Apêndice), pode-se observar que o efeito do tempo sobre os níveis de colesterol total foi significativo para todos os grupos, com exceção do grupo 1, que receberam apenas ração. Esses resultados comprovam a importância do tempo na indução de hiperlipidemia em animais experimentais, uma vez que, quanto maior o tempo maior os níveis de colesterol total. Para os níveis de colesterol-HDL e colesterol-LDL o efeito do tempo foi significativo apenas para os Grupos 4 e 6 e para os Grupos 2, 3, 5 e 6, respectivamente. Com relação aos níveis sanguíneos de colesterol-VLDL e triacilgliceróis o efeito do tempo foi significativo apenas para o grupo 2, sendo que os demais tratamentos os níveis destes constituintes sanguíneos

mantiveram-se constantes durante todo o experimento. Estes resultados comprovam o efeito hipolipidêmico dos flavonóides e corantes naturais em aves alimentadas com dieta suplementada com colesterol, ácido cólico e gordura suína.

Pela Tabela 5 (Apêndice), pode-se observar que houve um aumento estatisticamente significativo nos níveis de colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis no Grupo 2 (dieta hipercolesterolêmica), quando comparados com o Grupo 1 (Ração), comprovando assim o efeito hipercolesterolêmicos das substâncias testadas. Para os níveis de colesterol-HDL, os tratamentos apresentaram efeitos significativos apenas na segunda semana de tratamento.

Pelos resultados mostrados nas Tabelas 20 e 21, pode-se observar que houve pequenas variações entre os diferentes grupos, quando comparados com o grupo padrão (G1) e controle (G2), no que se refere ao ganho de peso e conversão alimentar.

Tabela 20 – Ganho de peso médio, em g e percentual de variação em relação ao grupo padrão (G1) e controle (G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Ganho de peso (g)	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
14	G1 – Ração Basal (RB)	890,0	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	928,3	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	917,0	+3,00	-1,26
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	950,0	+6,74	+2,33
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	938,3	+5,43	+1,08
	G6 – RB+GS+C+AC+R	793,3	-10,86	-14,54
21	G1 – Ração Basal (RB)	817,0	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	862,0	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	848,0	+3,81	-1,62
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	810,4	-0,76	-5,96
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	829,0	+1,52	-3,79
	G6 – RB+GS+C+AC+R	834,0	+2,10	-3,25
28	G1 – Ração Basal (RB)	467,0	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	495,0	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	487,0	+4,29	-1,62
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	497,3	+6,57	+0,54
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	493,3	+5,71	-0,27
	G6 – RB+GS+C+AC+R	496,0	+6,29	+0,27

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

Tabela 21 – Conversão alimentar média e percentual de variação em relação ao grupo padrão (G1) e controle (G2), em %, de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade

Idade (dias)	Tratamento	Conversão alimentar	Variação (%) em relação a:	
			G1	G2
14	G1 – Ração Basal (RB)	1,382	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	1,301	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	1,309	-5,28	+0,61
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	1,282	-7,24	-1,46
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	1,314	-4,92	+1,00
	G6 – RB+GS+C+AC+R	1,565	+13,24	+20,29
21	G1 – Ração Basal (RB)	1,866	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	1,579	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	1,504	-19,40	-4,75
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	1,570	-15,86	-0,57
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	1,566	-16,08	-0,82
	G6 – RB+GS+C+AC+R	1,585	-15,06	+0,38
28	G1 – Ração Basal (RB)	1,751	-	-
	G2 – RB + GS+C+AC	1,590	-	-
	G3 – RB+GS+C+AC+NB	1,575	-10,05	-0,94
	G4 – RB+GS+C+AC+CA	1,461	-16,56	-8,11
	G5 – RB+GS+C+AC+NA	1,518	-13,31	-4,53
	G6 – RB+GS+C+AC+R	1,475	-15,76	-7,23

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$), em cada tempo.

GS = Gordura suína, C = Colesterol, AC = Ácido Cólico

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Foram realizados três ensaios biológicos, com o objetivo de avaliar o efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina e dos corantes naturais cúrcuma e norbixina, isoladamente, sobre os níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis e avaliar o efeito de colesterol, ácido cólico e diferentes concentrações de gordura suína na indução de hiperlipidemia em aves da linhagem *Avian farms*.

No primeiro ensaio, avaliou-se o efeito dos flavonóides e dos corantes naturais, administrados por via oral, em pintos de um dia, machos, normolipidêmicos, na dose de 20 mg/ave/dia. No segundo ensaio, também realizado em pintos de um dia, machos, as substâncias foram administradas por via oral, na ração, nas seguintes doses: 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico, 5% de gordura suína e 10% de gordura suína. No terceiro ensaio, os flavonóides e os corantes naturais foram administrados via oral, na ração, na dose de 20mg/ave/dia, em pintos de sete dias, machos, com hiperlipidemia induzida por 0,7% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 10% de gordura suína.

Pelos resultados obtidos no primeiro ensaio, pode-se concluir que as substâncias testadas não apresentaram alterações significativas sobre os níveis plasmáticos de lipídeos de pintos normolipidêmicos. No ensaio de indução de hiperlipidemia observou-se que os animais que receberam ração suplementada com 10% de gordura suína e os que receberam 0,7% de

colesterol e 0,1% de ácido cólico apresentaram aumentos significativos nos níveis de todos os constituintes avaliados, constatando-se que estas substâncias, nas concentrações testadas, são efetivas na indução de hiperlipidemia. No terceiro ensaio, observou-se que todas as substâncias testadas (naringina, rutina, cúrcuma e norbixina) apresentaram efeito significativo na redução dos níveis plasmáticos de colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis, não apresentando alterações nos níveis de colesterol-HDL. A manutenção dos níveis de colesterol-HDL é de grande importância uma vez que estas lipoproteínas são responsáveis pelo transporte do excesso de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde é metabolizado. Estes resultados demonstram que estas substâncias apresentam efeito hipolipidêmico quando administradas em pintos com hiperlipidemia induzida por dieta.

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que os flavonóides naringina e rutina e os corantes naturais cúrcuma e norbixina testados apresentam propriedades hipolipidêmicas, sugerindo o uso destas substâncias no controle do metabolismo lipídico de humanos com hiperlipidemia. Entretanto o estudo em outras espécies animais bem como o estudo do efeito toxicológico torna-se necessário para que estas substâncias possam ser utilizadas como medicamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFANAS, E.V.B., DOROZHKO, A.I., BRODOKII, A.V., KOTYUK, A., POTAPOVIT, I.A. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v. 38, n. 11, p. 1763-1769, 1989.
- ALLEN, P.C., WONG, H.Y.C. Effect of atherogenic diet on chicken plasma lipids and lipoproteins. **Poultry Science**, v. 72, p. 1673-1678, 1993.
- ALLIANGONA, D.M. Effects of beta-carotene, flavonoid quercitrin and quinacrine on cell proliferation and lipid peroxidation breakdown products in BHK-21 cell. **East African Medical Journal**, v. 73, n. 11, p. 752-757, 1996.
- ANGELUCCI, E. Corantes naturais versus corantes artificiais: vantagens e desvantagens. In: **Resumos do Seminário: Corantes Naturais para Alimentos ITAL**, Campinas, p. 8-10, 1989.
- AMMON, H. P. T., WAHL, M. A. Pharmacology of *Curcuma longa* - review. **Planta Medica**, v. 57, p. 1-7, 1991.
- BADIMON, J.J., FUSTER, V., BADIMON, L. Role of high density lipoprotein in the regression of atherosclerosis. **Circulation**, v. 86, p. 86-94, 1992.
- BAKER, K.R., MEYDANI, M. β -Carotene as an antioxidant in immunity and cancer. **Journal Optimal Nutrition**. v.3, p.39-50, 1993.
- BATLOUNI, M., RAMIRES, J.A.F. Importância do endotélio na doença arterial coronariana e na aterogênese. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.62, n. 4, p 255-270, 1994.
- BENDICH, A., OLSON, J.A. Biological actions of carotenoids. **FASEB Journal**, v.3, p.1927-1932, 1989.

- BHAVANISHANKAR, T.N., NARASIMHA MURTHY, K., SREENIVASA MURTHY, V. Toxicity studies on turmeric (*Curcuma longa* L.) – Long term toxicity studies in albino rats and monkeys. **Journal of Food Science and Technology**, v. 23, p. 287-290, 1986.
- BIDLACK W.R., OMAYE, S.T., MESKIN, M.S., JAHNER, D. **Phytochemicals: A New Paradigm**. Lancaster Basel, Pennsylvania, 1998. 179p.
- BOBBIO, F. O., BOBBIO, P. A. **Introdução à química dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992a. 223 p.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. **Química de Processamento de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992b. 223 p.
- BOK, S.H, LEE, S.H., PARK, Y.B., BAE, K.H., SON, K.H., JEONG, T.S., CHOI, M.S. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1182-1185, 1999.
- BORZELLECA, F. HALLAGAN, B. J. Safety and regulatory status of food, drug and cosmetic color additives. In: FINLEY, J. W., ROBSON, S. F., ARMSTRONG, D. J. **Food Safety Assessment**, 1992. Cap. 31, 377 p.
- BRODY, T. **Nutritional Biochemistry**. San Diego: Academic Press. 1994. 658p
- CASTILLO, M., HORTAL, J.H., AGUILERA, J.A., ZAFRA, M.F., CARCIA-PEREGRIN, E. Different hypercholesterolemic effects of cholesterol and saturated fat on neonatal and adult chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 107A, v. 1, p. 209-213, 1994.
- CASTILLO, M., HORTAL, J.H., GARCIA FUENTES, E., ZAFRA, M.F.; GARCIA PEREGRIN, E. Coconut oil affects lipoprotein composition and structure of neonatal chicks. **Journal of Biochemistry**, v. 119, n. 4, p. 610-616; 1996.
- CERVATO, A. M., MAZZILLI, I. S. M., MARUCCI, M. F. N. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 3, p. 227-235, 1997.
- CHACO, M. C., BOATENG, T. A., QUARTEY, J. A. K. Essential oils from west African plants: isolation of a sesquiterpene from *Bixa orellana*. **Perfumery**, v. 60, p. 247-248, 1969.
- CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre. Artes Médicas. 1996. 446p.
- CIORLIA, L.A.S. Intervenção dietética e níveis de colesterol plasmático em grupo de eletricitário. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 68, n. 1, p. 21-25, 1997.

- CLINTON, S.K. Lycopene: chemistry, biology and implications for human health and disease. **Nutrition Reviews**, v.56, n.2, p.35-51, 1998.
- CONNEY AH et al. Inhibitory effects of curcumin and some related dietary compounds on tumor promotion and arachidonic acid metabolism in mouse skin. **Advances in Enzyme Regulation**, v. 31, p. 385-396, 1991.
- COOK, N.C., SAMMAN, S. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources – review. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 7, n. 1, p. 66-76, 1996.
- FERNANDEZ, M.L.; MCNAMARA, D.J. Regulation of cholesterol and lipoprotein metabolism in guinea pigs mediated by dietary fat quality and quantity. **Journal of Nutrition**, v. 121, n. 7, p. 934-943, 1991.
- FETT, C. **Ciência da suplementação alimentar**, Rio de Janeiro: Sprint, 2000. 390p.
- FORMICA, J. V. REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Food Chemistry Toxicology**, v. 33, n. 12, p. 1061-1080, 1995.
- FRANCIS, F. J. A new group of food colorants. **Trends in food sciences & Technology**, v. 3, p. 27-30, 1992.
- FREUND, P. R., WASHAM, C. J., MAGGION, M. Natural color for use in foods. **Cereal Foods World**, v. 33, n. 7, p. 553-559, 1988.
- FUKUSHIMA, M., NAKANO, M. The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in rats. **British Journal of Nutrition**, v.73, p.701-710, 1995.
- GALVEZ, J., DE LA CRUZ, J.P., ZARZUELO, A., DE LA CUESTA, F.S. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differs from its influence on the glutathione-related enzymes. **Pharmacology**, v. 51, p. 127-133, 1995.
- GARRETT, R.H., GRISHAN, C.M. **Biochemistry**. New York, Hartcourt Brace College Publishers, 1999. 1127 p.
- GERSTER, H. Anticarcinogenic effect of common carotenoids. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.63, n.2, p.93-121, 1993.
- GOLDBERG, A.N., SCHONFELD, G. Effects of diet on lipoprotein metabolism. **Annual Review Nutrition**, v.5, p.195-212. 1985.
- GOMES, S.M. **Efeitos de flavonóides no metabolismo lipídico**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

- GOODERHAM, M.J., ADLERCREUTZ, H., OJALA, S.T., WÄHÄLÄ, K., HOLUB, B.J. A soy protein isolate rich in genistein and daidzein and its effects on plasma isoflavone concentrations, platelet aggregation, blood lipids and fatty acid composition of plasma phospholipid in normal men. **Journal of Nutrition**, v. 126, p. 2000-2006, 1996.
- GOUD, V. K., POLASA, K., KRISHNASWAMY, K. Effect of turmeric on xenobiotic metabolising enzymes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 44, n. 1, p. 87-92, 1993.
- GOVINDARAJAN, V.S. Turmeric-chemistry, technology and quality. **CRC Critical Review Food Science Nutrition**, v.12, n.3, p. 199-301, 1980.
- GRIFFIN, H.D. Plasma lipoprotein metabolism and fat deposition in poultry. **Zootecnica Internacional**, january, p. 46-49, 1996.
- GRYGLEWSKI, J.R., KORBUT, R., ROBAK, J., SWIES, J. On mechanism of antithrombotic action of flavonoids. **Biochemical Pharmacology**, v. 36, n. 3, p.317-322, 1987.
- GUIMARÃES, I.S.S. Bixina I. Aproveitamento do resíduo do beneficiamento do urucum. **EMBRAPA: Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar-CTAA**, n. 6, 05 p, 1983.
- GUIMARÃES, I.S.S. Corantes naturais : os sucedâneos dos artificiais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 2, n. 2, p. 98-110, 1996.
- GUYTON, A.C. e HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014 p.
- HALLAGAN, J.B. The use of certified food color additives in the United States. **Cereal Foods World**, v. 36, n. 11, p. 982, 1991.
- HAMMAD, S.M.; SIEGEL, H.S. e MARKS, H.L. Dietary cholesterol effects on plasma and yolk cholesterol fractions in selected lines of japanese quail. **Poultry Science**, v. 75, p. 933-942, 1996.
- HAMMAD, S.M., SIEGEL, H.S. e MARKS, H.L. Dietary cholesterol metabolism in japanese quail lines selected for plasma cholesterol levels. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 214, p. 62-68, 1997.
- HARBORNE, J.B. **The flavonoids: Advances in Research Science 1986**. 5. ed. London: Chapman e Hall, 1994. 676 p.
- HARPER, H.A, RODWELL, V.W., MAYES, P.A. **Manual de química fisiológica**. São Paulo: Atheneu, 1982. 736p.
- HASMEDA, M., POLYA, G.M. Inhibition of cyclic AMP-dependent protein kinase by curcumin. **Phytochemistry**, v. 42, n. 3, p. 599-605, 1995.

- HERMIER, D. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 805S-808S, 1997.
- HODGSON, J.M.; PUDDEY, I.B.; BEILIN, L.J.; MORI, T.A.; CROFT, K.D. Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations: a randomized controlled trial in humans. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 4, p. 728-732, 1998.
- HUANG, H.C., WANG, H.R., HSICH, L.M. Antiproliferative effect of baicalein, a flavonoid from a chinese herb, on vascular smooth muscle cell. **European Journal of Pharmacology**, v. 251, p. 91-93, 1995.
- INÁRREA, P., VILLAREAL, E., MOYA, I., AGUIRRE, P., PALACIOS, J. Development of hepatic microsomal activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase and cholesterol 7 α -hydroxylase in the young chick. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.103A, n. 2, p. 417-420, 1992.
- ITAYA, S., IGARASHI, K. Effects of taxifolin on the serum cholesterol level in rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 56, n. 9, p. 1492-1494, 1992.
- JACKMAN, R.L., YADA, R.Y., TUNG, M.A. Anthocyanins as food colorants-A review. **Journal Food Biochemistry**. Westport, v.11, p.201-247, 1987.
- JANSSEN, P.L.T. M.K., MENSINK, R.P., COX, F.J.J., HARRYVAN, J.L., HOVENIER, R. HOLLMAN, P.C.H., KATAN, M. B. Effects of the flavonoids quercetin and apigenin on homostasis in healthy volunteers: results from an *in vitro* and a dietary supplement study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 255-262, 1998.
- JAHROMI, M.A.F.; RAY, A.B., CHANSOURIA, J.P.N. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 7, p. 989-994, 1993
- JIANG, Z., CHERIAN, G., ROBINSON, F.E., SIM, J.S. Effect of feeding cholesterol to laying hens and chicks on cholesterol metabolism in pre- and posthatch chicks. **Poultry Science**, v. 69, p.1694-1701, 1990.
- JOE, B., LOKESH, B.R. Effect of curcumin and capsaicin on arachidonic acid metabolism and lysosomal enzyme secretion by rat peritoneal macrophages. **Lipids**, v. 32, n.11, p. 1173-1180, 1997.
- JONDIKO, I.J., PATTENDEN, G. Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa Orellana*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3159-3162, 1989.
- KATO, N., TOSA, N., DOUDOU, T., IMAMURA, T. Effects of dietary quercetin on serum lipids. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 47, n. 99, p. 2119-2120, 1983.

- KATZUNG, B.G. **Farmacologia**: básica e clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 854p.
- KINSELLA, J.E. A. α - Linolenic acid: functions and effects on linolenic acid metabolism and eicosanoid-mediated reactions. **Advances in Food and Nutrition Research**. Academic Press. V. 35, p. 89-101, 1991.
- KIRK, E. A.; SUTHERLAND, P.; WANG, S. A.; CHAIT, A.; LEBOEUF, R. C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor deficient mice. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 954-64, 1998
- KRAUSE, M.V., MAHAN, L.K., ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.
- KROGDAHL, A. Digestion and absorption of lipids in poultry. **Journal of Nutrition**, v. 115, p. 675-685, 1985.
- KUPPUSAMY, U.R., DAS, N.P. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes. **Biochemical Pharmacology**, v. 44, n. 7, p. 1307-1315, 1992.
- LALE, A., HERBERT, J. M. Ability of different flavonoids to inhibit the procoagulant activity of adherent human monocytes. **Journal Natural Products**, v. 59, p. 273-276, 1996.
- LANDOLFI, R., MOWER, R.L., STEINER, M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 9, p. 1525-1530, 1984.
- LEITE, P.F. **Risco Cardiovascular. Fatores Metabólicos e Nutricionais: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo: Loyola, 1994. 175 p.
- LIM, B.O., YU, B.P., CHO, S.H., HER, E., PARK, D.K. The inhibition by quercetin and ganhuangenin on oxidatively modified low density lipoprotein. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 340-345, 1998.
- LIN, E.C.K.; FERNANDEZ, M.L.; MCNAMARA, D.J. Dietary fat type and cholesterol quantity interact to affect cholesterol metabolism in guinea pigs. **Journal of Nutrition**, v. 122, n. 10, p. 2019-2029, 1992.
- LIU, Y. Curcumin: an ingredient that reduces platelet aggregation and hyperlipidemia, and enhances antioxidant and immune functions. **Spices Flavor Chemistry and Antioxidant Properties**. p. 199-205, 1997
- MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999. 360 p

- MASUDA, T., HIDAKA, K., SHINOHARA, A., MAEKAWA, T., TAKEDA, Y., YAMAGUCHI, H. Chemical studies on antioxidant mechanism of curcuminoid: analysis of radical reaction products from curcumin. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 47, p. 71-77, 1999.
- MASCARENHAS, J. M. O. **Uso, restrições e perspectivas dos corantes utilizados em alimentos (ou Corantes em alimentos: Perspectivas, usos e restrições)**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 155 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- MATHAI, C. K. The pattern of rhizome yield and their accumulation of commercially important chemical constituents in turmeric (curcuma spices) during growth and development. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 28, n. 3, p. 219-225, 1979.
- MATSUMOTO, N, OKUSHIO, K, HARA, Y. Effect of black tea polyphenols on plasma lipids in cholesterol-fed rats. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 44, n. 2, p. 337-342, 1998
- McANLIS, G.T., McENENY, J., PEARCE, J., YOUNG, I.S. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 52, n. 3, p. 202-206; 1998
- MENDONÇA JR., C.X. Colesterol no ovo – possibilidades de sua redução. Simpósio Latino-Americano de Nutrição de Suínos e Aves. **Anais...** Campinas, p. 87-117, 1996.
- MORAN JÚNIOR, E. T. Digestão e absorção de gorduras. In: **Fisiologia da digestão e absorção das aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994. p. 71-82.
- MOTILVA, V., DE LA LASTRA, C.A., MARTIN, M.J. Ulcer-protecting effects of naringenin on gastric lesions induced by ethanol in rat: role of endogenous prostaglandins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 46, p. 91-94, 1994.
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. RODWELL, V.W. **Harper: Bioquímica**. 8. ed. São Paulo: Atheneu. 1998. 763p.
- NAGEM, T.J., PEREIRA, W.L., OLIVEIRA, T.T., PINTO, A.S., OLIVEIRA, M.G.A., STRINGHETA, P.C. Efeitos de naringina e corantes naturais antocianina e carmim no metabolismo lipídico. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 80, n. 1, p. 25-28, 1999.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Principles of biochemistry**. 3. ed. New York, Worth Publishers, 2000. 1200p.

- NICOLOSI, R.J. Dietary fat saturation effects on low-density-lipoprotein concentrations and metabolism in various animal models. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 5, p. 1617S-1627S, 1997.
- NIMPF, J., SCHNEIDER, W.J. Receptor-mediated lipoprotein transport in laying hens. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 1471-1474, 1991.
- OHASHI, E. Y., FALES, I. C., EGASHIRA, Y. **Urucu: uma opção para o estado do Pará**. Pará: Secretaria de Estado de Agricultura, Governo do Estado do Pará, n. 6, 1982. 25 p.
- PEEBLES, E.D., CHEANEY, J.D., BRAKE, J.D., BOYLE, C.R., LATOUR, M.A. Effects of added dietary lard on body weight and serum glucose and low density lipoprotein cholesterol in randombred broiler chickens. **Poultry Science**, v. 76, p. 29-36, 1997.
- PELZER, L.E., GUARDIA, T., JUAREZ, O.A., GUERREIRO, E. Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. **IL Farmaco**, v. 53, p. 421-4, 1998.
- PEREIRA, W.L. **Efeito hipolipidêmico de flavonóides, corantes naturais e suas associações**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 138 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- PETERSDORF, R.G.; ADAMS, R.D.; BRAUNWALD, E.; ISSELBACHER, K.J.; MARTINS, J.B , WILSON, J.D. **Harrison-Medicina Interna**. v. 1. 1984. 1407 p.
- PETERSON, J., DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.
- PRINCEN, H.M.; VAN DUYNENVOORDE, W., BUYTENHEK, R., BLONK, C., TIJBURG, L.B., LANGIUS, J.A., MEINDERS, A.E., PIJL, H. No effect of consumption of green and black tea on plasma lipid and antioxidant levels and on LDL oxidation in smokers. **Arteriosclerosis and Thrombosis**, v. 18, n. 5, p. 833-841, 1998.
- PULLA REDDY, A.C., LOKESH, B.R. Dietary unsaturated fatty acids, vitamin E, curcumin and eugenol alter serum and liver lipid peroxidation in rats. **Nutrition Research**, v. 14, n. 9, p. 1423-1437, 1994.
- QUILES, J.L., AGUILERA, C., MESA, M.D., RAMIREZ TORTOSA, M.C., BARO, L., GIL, A. An ethanolic-aqueous extract of *Curcuma longa* decreases the susceptibility of liver microsomes and mitochondria to lipid peroxidation in atherosclerotic rabbits. **Biofactors**, v. 8, n. 1-2, p. 51-57 1998.
- QUINTÃO, E.C.R. **Colesterol e Aterosclerose**. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1992. 276 p.

- RADCLIFFE, J.D., LIEBSCH, K.S. Dietary induction of hypercholesterolemia and atherosclerosis in japanese quail of strain SEA. **Journal of Nutrition**, v. 115, p. 1154-1161, 1985.
- REDDY, S., AGGARWAL, B. B. Curcumin is a non-competitive and selective inhibitor of phosphorylase kinase. **FEBS Letters**, Elsevier, v. 341, p. 19-22, 1994.
- REITH, J. F., GIELEN, J. W. Properties of bixin and norbixin and the composition of annatto extracts. **Journal of Food Science**, v.36, p. 861-864, 1971.
- RIBAYA MERCADO, J.D., ORDOVAS, J.M., RUSSELL, R.M. Effect of beta-carotene supplementation on the concentrations and distribution of carotenoids, vitamin E, vitamin A, and cholesterol in plasma lipoprotein and non-lipoprotein fractions in healthy older women. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 14, n.6, p. 614-620, 1995.
- RICARDO, K.F.S. **Efeitos hipolipidêmico e sinérgico de flavonóides, corantes naturais e fármacos**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 127 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- RODRIGUES, P. **Alimentos: Química e Derivados**, v. 30, n.33, p. 53, 1995.
- ROMANCHIK, J.E.; HARRISON, E.H, MOREL, D.W. Addition of lutein, lycopene, or beta-carotene to LDL or serum in vitro: effects on carotenoid distribution, LDL composition, and LDL oxidation. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 8, n. 12, p. 681-688, 1997.
- RUDNEY, H., SEXTON, R.C. Regulation of cholesterol biosynthesis. **Annual Review Nutrition**, Palo Alto, v.6, p.245-272, 1986.
- SALIMATH, B.P., SUNDARESH, C.S., SRINIVAS, L. Dietary components inhibit lipid peroxidation in erythrocyte membrane. **Nutrition Research**, v. 6 n. 10, p. 1171-1178, 1986.
- SAMBIAH, K., RATANKUMAR, S., KAMANNA, V.S., SATYANARAYANA, M.N., RAO, M.V.L. Influence of turmeric and curcumin on growth, blood constituents and serum enzymes in rats. **Journal of Food Science and Technology**, v. 19, p. 187-190, 1982.
- SANTOS, K.F.R., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., OLIVEIRA, M.G.A., SOARES, J.F. Efeitos das associações de morina-ácido nicotínico e quercetina-ácido nicotínico no controle de lipídeos. **RBAC**, v. 31, n. 1, p. 5-7, 1999a.
- SANTOS, K.F.R., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., OLIVEIRA, M.G.A. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacological Research**, v. 40, n. 6, p. 41-46, 1999b.

- SANTOS, K.F.R., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., Stringheta, P.C. Associations of flavonoids and natural dyes in the control of lipidic metabolism. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 18, n. 2, p. 127-30, 1999c.
- SCHRAMM, D.D., GERMAN, J.B. Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 9, p.560-566, 1998
- SEETHARAMAIAH, G.S., CHANDRASEKHARA, N. Comparative hipocholesterolemia activities of oryzanol, curcumin and ferulic acid in rats. **Journal of Food Science and Technology**, v.30, n. 4, p. 249-252, 1993.
- SERRANO JR, C.V., RAMIRES, J.A.F. Dislipidemia e coagulação. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.65, n.3, p.273-277, 1995.
- SMITH, E.L., HILL, R.L., LEHMAN, I.R., LEFKOWITZ, R.J., HANDLER, P., WHITE, A. **Bioquímica Mamíferos**. 7^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 620 p.
- SOROITA, Y., TAKAHAMA, U., KIMURA, M. Protective effect of quercetin and rutin on photosensitized lysis of human erythrocytes in the presence of hematoporphyrin. **Biochemistry Biophysical Acta**, v.799, p.313-7, 1982.
- SPADY, D.K., DIETSCHY, J.M. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. **Journal of Clinical Investigation**, v. 81, p. 300-309, 1988.
- SRINIVASAN K, SAMBAIAH K. The effect of spices on cholesterol levels 7 α -Hidroxilase activity and on serum e hepatic cholesterol levels in the rat. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 61, p. 364-369, 1991.
- SREEJAYAN, RAO, M.N.A. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 49, p. 105-107, 1997.
- STAHL, W., SIES, H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. **Archives Biochemistry Biophysics**, v. 336, n.1, p. 1-9, 1996.
- STRYER, L. **Biochemistry**. 4 ed. New York: W.H. Freeman and Company, 1995. 1064 p.
- STRINGHETA, P. C., BOBBIO, P.A. Copigmentação de antocianinas. **Biotechnology: Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, n.14, p.34-37, 2000.
- SUBBA RAO, D., CHANDRA SEKHARA, N., SATYANARAYANA. M. N., SRINIVASAN, M. Effect of curcumin on serum and liver cholesterol levels in the rat. **Journal of Nutrition**, Bethesda. v.100, p. 1307-1316, 1970.
- SUDHEESH, S.; PRESANNAKUMAR, G.; VIJAYAKUMAR, S. & VIJAYALAKSHMI, N.R. Hypolipidemic effect of flavonoids from *Solanum melogena*. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 51, p. 321-330, 1997.

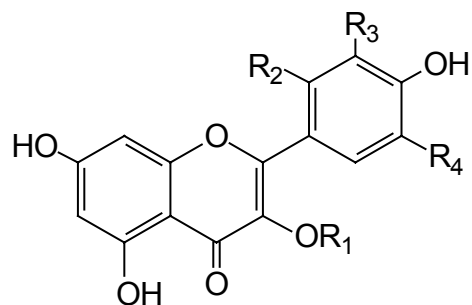
- SURESH BABU, P.S., SRINIVASAN, K. Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 152, p. 13-21, 1995.
- SURESH BABU, P.S., SRINIVASAN, K. Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 166, p. 169-175, 1997.
- SUTTON, C.D.; MUIR, W.M.; MITCHELL JR, G.E. Cholesterol metabolism in the laying hen as influenced by dietary cholesterol, caloric intake, and genotype. **Poultry Science**, v. 63, p. 972-980, 1984.
- TAKAHAMA, U. Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin: mechanism of antioxidativ function. **Phytochemistry**, v. 24, p.1443-6, 1985.
- TAKAHASHI, Y.M. **Monografias de corantes naturais para fins alimentícios**. São Paulo: TAKAHASHI, p. 8-36, 1987.
- TIJBURG, L.B.M., MATTERN, T., FOLTS, J.D., WEISGERBER, U.M., KATAN, M.B. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 8, p. 771-785, 1997.
- TSUDA, T.; WATANABE, M.; OHSHIMA, K.; NORINOBU, S.; CHOL, S. W.; KAWAKISHI, S.; OSAWA, T. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O- β -D-glucoside and cyanidin. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.42, n.11, p.2407-2410, 1994.
- UNNIKRISHNAN, MBS, RAO, MNA. Curcumin inhibits nitrate induced methaemoglobin formation. **FEBS Letters**,v. 301, p. 195-96, 1992.
- VALENTE, S.T.X. **Efeito de corantes naturais nos níveis de colesterol e triacilgliceróis séricos em ratos hiperlipidêmicos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 102 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- VINSON, J.A.; HU, S.J.; JUNG, S.; STANSKI, A.M. A citrus extract plus ascorbic acid decreases lipids, lipid peroxides, lipoprotein oxidative susceptibility, and atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 1453-1459, 1998.
- VOET, D., VOET, J.G. **Biochemistry**. 2. ed. John Wiley & Sons, 1995. 1361p.
- WEITZ, J. H. Plantas da Amazônia e seu aproveitamento tecnológico. CONGRESSO BRASILEIRO DE CORANTES NATURAIS, 2; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE URUCUM, n.1, 1994, Belém. **Anais...Belém: EMBRAPA-CPATU**,1994, p. 2-9.

- WYNGAARDEN, J.B.; SMITH, L.H.JR.; BENETT, J.C. **Cecil - Tratado de Medicina Interna**. v. 2, 19. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 1338 p.
- YABIKU, H. Corantes sintéticos resistem ao ataque. **Química e Derivados**. São Paulo, SP. v.26, n. 229, p. 28-30, 1992.
- YOKAZAWA, T., DONG, E., LIU, Z. W., SHIMIZU, M. Antioxidative activity of flavones and flavonols *in vitro*. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 446-440, 1997.
- YOUN, B.S., TANAKA, K., OHATANI, S. SANTOSO, U. Effect of dietary cholesterol on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase activity of growing chicks. **Animal Science and Technology**, v. 64, n. 12, p. 1156-1162, 1993.
- YUGARAN, T., TAN, B.K., DAS, D.Y. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profile of rats fed high fat diets. **Lipids**, v. 27, p. 181-186, 1992.
- WISEMAN, S.A., BALENTINE, D.A. e FREI, B. Antioxidants in tea. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 8, p. 705-718, 1997.
- ZHAO, W., HAN, Y., ZHAO, B., HIROTA, S., HOU, J. e XIN, W. Effect of carotenoids on the respiratory burst of rat peritoneal macrophages. **Biochimica et Biophysica Acta**, n. 1381, p. 77-88, 1998.

APÊNDICE

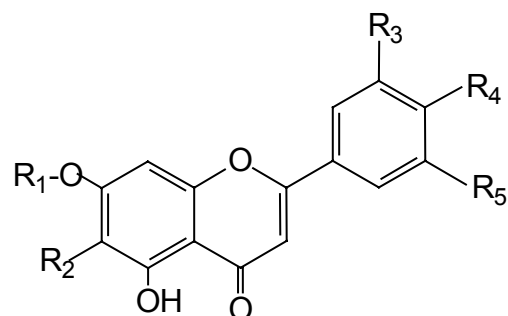
ESTRUTURAS DOS FLAVONÓIDES

FLAVONÓIS



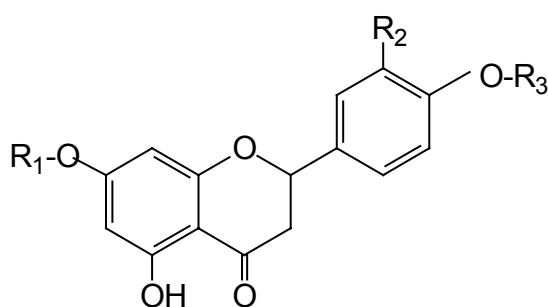
Flavonóis	R1	R2	R3	R4
Kaempferol (4)	H	H	H	H
Quercetina (5)	H	H	OH	H
Miricetina (6)	H	H	OH	OH
Morina (18)	H	OH	H	H
3-O-Metilquercetina (31)	CH ₃	H	OH	H
Rutina (7)	Rha	H	OH	H

FLAVONAS

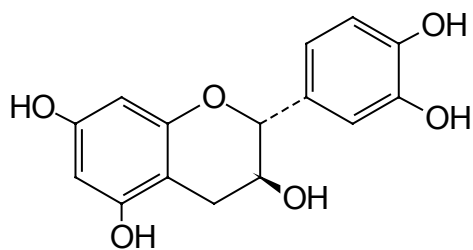


Flavonas	R1	R2	R3	R4	R5
Apigenina (2)	H	H	H	OH	H
Baicaleína (33)	H	OH	H	H	H
Crisina (34)	H	H	H	H	H
7, 4'-Di-O-metilapigenina (30)	CH ₃	H	H	OCH ₃	H
Jaceosidina (32)	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	H
Luteolina (1)	H	H	OH	OH	H
Tricetina (3)	H	H	OH	OH	OH

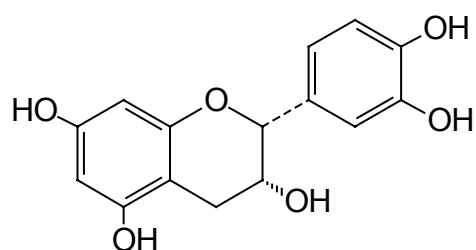
FLAVANONAS



Flavanonas	R1	R2	R3
Eriodictiol (28)	H	OH	H
Hesperedina (19)	Rha	OH	CH ₃
Hesperetina (29)	H	OH	CH ₃
Naringina (9)	β-D-ramnosil (1→2)-D-glicose	H	H
Naringenina (8)	H	H	H

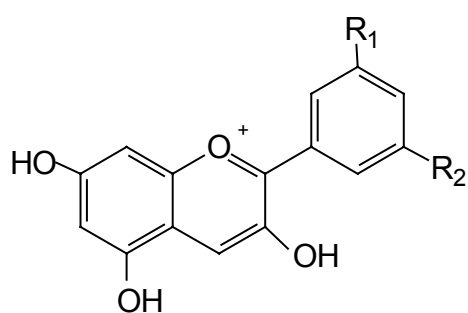


(+)-Catequina (10)



(-)-Epicatequina (27)

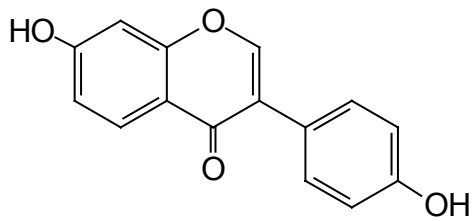
ANTOCIANINAS



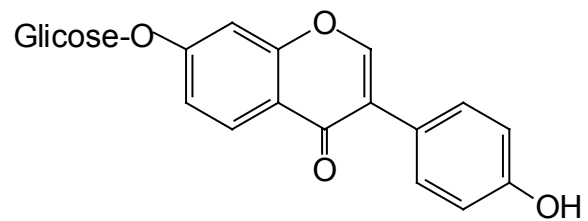
Cátion Flavilium

Sal Flavilium	R1	R2
Pelargonidina (11)	H	H
Cianidina (12)	OH	H
Peonidina (13)	O-me	H
Delfinidina (14)	OH	OH
Petunidina (15)	O-me	OH
Malvinidina (16)	O-me	O-me

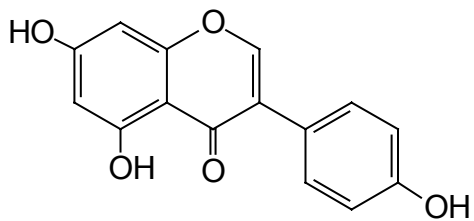
ISOFLAVONAS



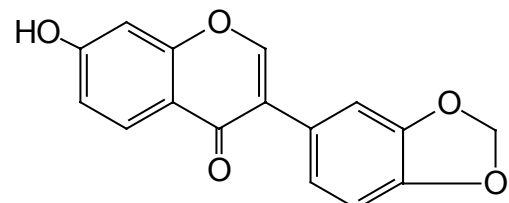
Daidzeína (20)



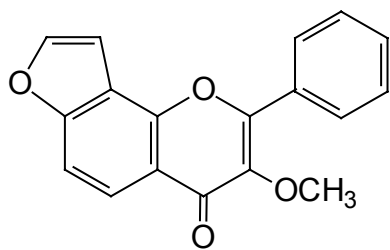
Daidzina (21)



Genisteína (17)

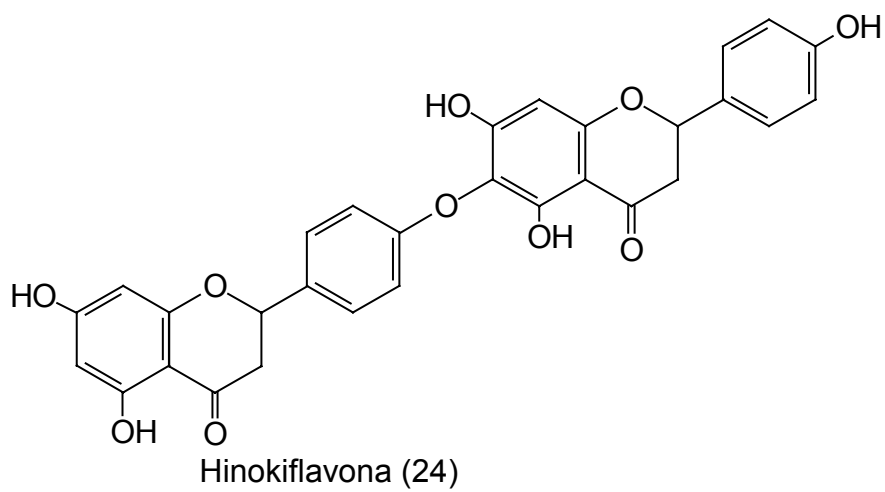
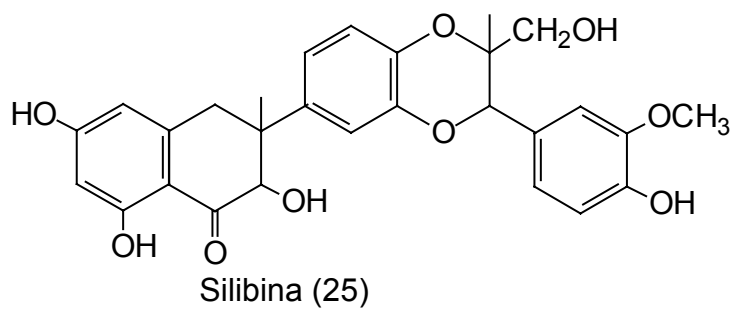


Pseudobaptigenina (22)

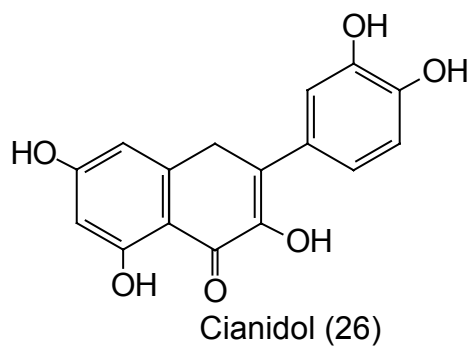


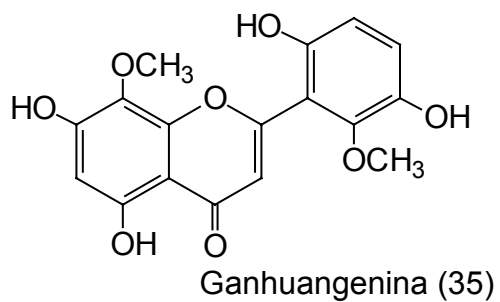
Karangina (23)

BIFLAVONAS



FLAVANAS





ESTRUTURAS DOS CORANTES NATURAIS

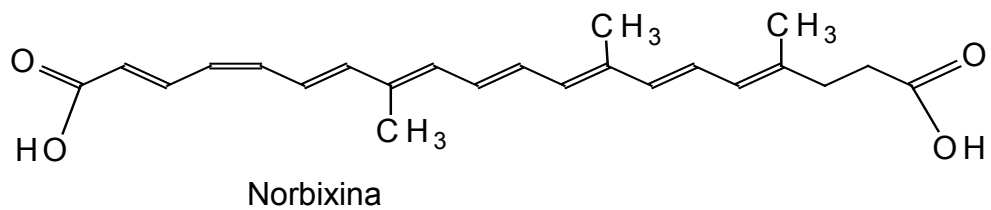
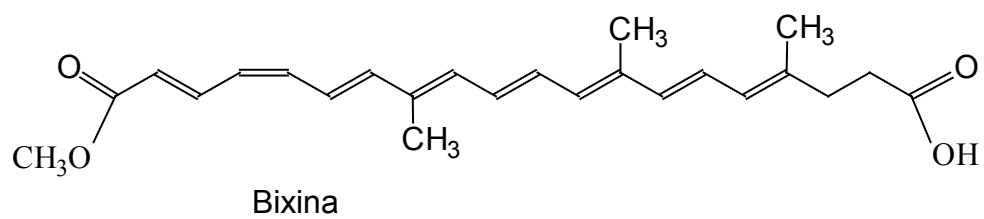
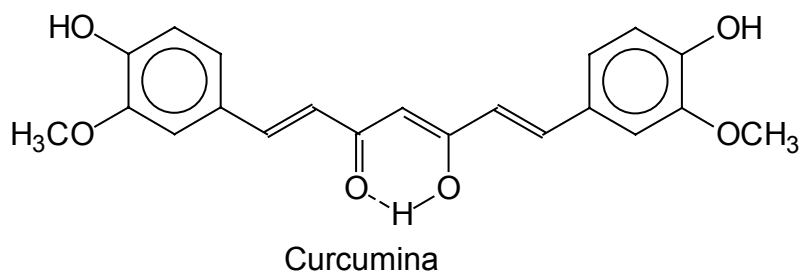


Tabela 1 – Resumo da análise de variância e desdobramento de tempo dentro de tratamentos para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

FV	GL	Quadrado médio				
		Colesterol total	HDL	LDL	VLDL	Triacilgliceróis
Tempo (T)	2	749,0891 *	6.027,1730 **	1.026,0060 **	106,7459 **	2.668,6490 **
Tratamentos (Tr)	4	1.465,3110 **	1.150,7230 **	204,1445 **	4,8880 *	122,2001 *
T x Tr	8	144,2278 ns	2.902,7980 **	146,9777 **	7,2635 **	181,5874 **
Tempo/G1	2	147,1945 ns	360,1111 ns	371,0834 **	54,3233 **	1.358,0830 **
Tempo/G2	2	21,4444 ns	73,5278 ns	8,0833 ns	10,7500 **	268,7500 **
Tempo/G3	2	249,0833 ns	7.958,1100 **	149,3611 **	24,5100 **	612,7498 **
Tempo/G4	2	184,6945 ns	18,0833 ns	377,0277 **	33,0033 **	825,0839 **
Tempo/G5	2	723,5833 *	9.228,5270 **	708,3608 **	13,2133 **	330,3334 **
Resíduo	165	202,6086	286,4682	30,5323	1,4933	37,3319
CV (%)		10,42	17,10	28,86	14,45	14,45

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância e desdobramento de tempo dentro de tratamentos para o ganho de peso e a conversão alimentar de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 7, 14 e 21 dias de idade

FV	GL	Quadrado médio	
		Ganho de peso	Conversão alimentar
Tempo (T)	2	14.858.010,00 **	0,2735 **
Tratamentos (Tr)	4	88.980,64 ns	0,0120 ns
T x Tr	8	16.341,25 ns	0,0053 ns
Tempo/G1	2	3.123.701,00 **	0,0321 **
Tempo/G2	2	2.836.754,00 **	0,0509 **
Tempo/G3	2	3.491.070,00 **	0,0348 **
Tempo/G4	2	2.683.141,00 **	0,0943 **
Tempo/G5	2	2.788.725,00 **	0,0826 **
Resíduo	45	36.580,27	0,0047
CV(%)		6,02	4,61

** F significativo a 1% de probabilidade.
ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Resumo da análise de variância e desdobramento de tempo dentro de tratamentos para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas durante 21 dias de idade

FV	GL	Quadrado médio				
		Colesterol total	Colesterol-HDL	Colesterol-LDL	Colesterol-VLDL	Triacilgliceróis
Tempo (T)	2	23.478,0500 **	40.601,9200 **	436.353,7000 **	13.102,3100 **	327.558,0000 **
Tratamentos (Tr)	3	16.937,6000 **	2.462,2740 **	2.667,3840 **	6.782,3290 **	169.558,3000 **
T x Tr	6	1.285,6900 ns	750,5789 **	167,0501 ns	1.579,6410 **	39.491,0100 **
Tempo/G1	2	6.223,3870 **	7.223,3870 **	107.851,3650 **	4,7089 ns	117,7223 ns
Tempo/G2	2	3.578,0011 *	6.135,4995 **	112.952,6350 **	6.341,7339 **	158.543,3700 **
Tempo/G3	2	3.907,5559 *	11.490,3870 **	115.445,7150 **	5.653,7389 **	141.343,3445 **
Tempo/G4	2	13.626,1645 **	18.004,3880 **	100.605,1500 **	5.841,0597 **	146.026,4700 **
Resíduo	60	1.050,8830	175,3482	363,7323	24,5484	613,7062
CV (%)		19,63	12,85	10,47	10,05	10,05

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Resumo da análise de variância e desdobramento de tempo dentro de tratamentos para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 14, 21 e 28 dias

FV	GL	Quadrado médio				
		Colesterol total	HDL	LDL	VLDL	Triacilgliceróis
Tempo (T)	2	6.534,1760 **	3.014,4560 **	16.704,3500 **	33,8826 *	793,5916 *
Tratamentos (Tr)	5	44.322,1600 **	752,6317 *	39.283,3100 **	4.275,1960 **	105.938,4000 **
T x Tr	10	8.026,0780 **	498,8650 ns	5.481,5720 **	109,3809 **	2.667,7150 **
Tempo/G1	2	275,3890 ns	475,7222 ns	48,1667 ns	4,0067 ns	100,1667 ns
Tempo/G2	2	16.969,3900 **	746,7223 ns	15.429,3900 **	548,0068 **	13.312,6700 **
Tempo/G3	2	5.370,1670 **	784,5001 ns	12.337,0500 **	0,0956 ns	2,3889 ns
Tempo/G4	2	11.935,1700 **	2.149,3890 **	2.301,5560 ns	5,3622 ns	134,0556 ns
Tempo/G5	2	4.678,2220 *	415,7222 ns	5.568,5000 *	16,9089 ns	422,7223 ns
Tempo/G6	2	7.436,2260 **	936,7223 *	8.427,5560 **	6,4067 ns	160,1667 ns
Resíduo	90	1.072,3950	297,7759	1.240,8400	10,0755	268,1965
CV (%)		15,37	17,16	34,92	27,02	27,95

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 5 – Desdobramento de tratamentos dentro de tempo para o colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL e triacilgliceróis de aves submetidas a diferentes tratamentos e avaliadas aos 14, 21 e 28 dias de idade

FV	GL	Quadrado médio				
		Colesterol total	Colesterol-HDL	Colesterol-LDL	Colesterol-VLDL	Triacilgliceróis
Tratamentos/14 dias	(5)	7.221,6430 **	309,0000 ns	7.811,0490 **	670,9568 **	16.773,9200 **
Controles (C)	1	23.674,0800 **	18,7500 ns	25.761,3300 **	1.966,0800 **	49.152,0200 **
Tratados (Tra)	3	3.100,1530 *	482,7083 ns	3.269,2640 ns	7,0195 ns	175,4861 ns
C vs Tra	1	3.133,6760 ns	78,1251 ns	3.486,1230 ns	1.367,6455 **	34.191,1217 **
Tratamentos/21 dias	(5)	18.449,3100 **	829,3612 *	12.111,4500 **	1.872,2390 **	45.730,9300 **
Controles (C)	1	76.960,0900 **	645,3334 ns	43.923,0000 **	5.478,4130 **	133.774,1000 **
Tratados (Tra)	3	5.086,9280 **	392,7083 ns	4.573,6110 *	1,6378 ns	40,9445 ns
C vs Tra	1	25,6760 ns	2.323,3477 **	2.913,4170 ns	3.877,8686 **	94.757,7165 **
Tratamentos/28 dias	(5)	34.703,3700 **	612,0001 ns	30.323,9600 **	1.950,7620 **	48.769,0600 **
Controles (C)	1	116.624,1000 **	954,0834 ns	103.974,1000 **	5.799,2030 **	144.980,1000 **
Tratados (Tra)	3	18.043,3300 **	638,5972 ns	15.780,5000 **	1,9867 ns	49,6667 ns
C vs Tra	1	2.762,7600 ns	190,1255 ns	304,2000 ns	3.948,6469 **	98.716,1999
Resíduo	90	1.072,3950	297,7759	1.240,8400	10,0755	268,1965

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.