

NATHÉRCIA PERCEGONI

**EFEITOS DO FLAVONÓIDE CRISINA, XANTONA E DAS PROTEÍNAS DE
SOJA E CASEÍNA NOS LIPÍDEOS SANGÜÍNEOS E HEPÁTICOS DE
COELHOS.**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2002

NATHÉRCIA PERCEGONI

**EFEITOS DO FLAVONÓIDE CRISINA, XANTONA E DAS PROTEÍNAS DE
SOJA E CASEÍNA NOS LIPÍDEOS SANGÜÍNEOS E HEPÁTICOS DE
COELHOS.**

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

APROVADA: 25 de fevereiro de 2002.

Prof. Tanus Jorge Nagem
(Conselheiro)

Prof. Sérgio Luís Pinto da Matta
(Conselheiro)

Prof. George Henrique Kling de Moraes

Prof^a. Márcia Rogéria de Almeida

Prof^a. Tânia Toledo de Oliveira
(Orientadora)

Dedico este trabalho à Ziláh de Faria Salgado, mulher forte, decidida, corajosa e lutadora, que desde criança me fez querer ser como ela, minha querida avó, e que se não fosse por ela eu não estaria aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, amém.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade, e por ter me acolhido tão bem desde que cheguei aqui em 1995.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV, pela oportunidade.

Ao CNPq, CAPES e PIBIC por terem financiado o projeto e pela bolsa à mim concedida.

À professora Dra. Tania Toledo de Oliveira, por ter sido muito mais que orientadora, pela amizade, confiança, orientação e principalmente pelo enorme apoio. Pelos conhecimentos valiosos, científicos e de vida, serei eternamente grata.

Ao professor Dr. Tanus Jorge Nagem, pela co-orientação e pelo conselho na hora em que mais precisei.

Ao professor Dr. Sérgio Luis P. da Matta, pela co-orientação, alegria, amizade, compreensão das minhas falhas e pelo grande exemplo de profissionalismo e de vida.

Ao professor Dr. Adelson Luiz Araújo Tinoco, pela co-orientação, amizade, ensinamentos e sugestões.

À professora Dr^a. Márcia Rogéria de Almeida pela ajuda na correção da tese e pelo apoio;

A todos os professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV pelos ensinamentos de Bioquímica

Aos técnicos do laboratório de Biofármacos da UFV Maria Aparecida Leão, pela ajuda e amizade, e José Geraldo Pinto pelas horas a fio no Alizé e pelo companheirismo até na hora da fome.

Aos professores, funcionários e estagiários do departamento de Biologia Geral da UFV pela ajuda na condução dos trabalhos, sobretudo aos professores Dr. José Lino Neto e Dra. Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado.

Ao secretário da Pós-graduação em Bioquímica Agrícola, Eduardo Monteiro, pela disponibilidade e atenção sempre;

À Silvana Lages Ribeiro Garcia, pelo carinho, amizade e ensinamentos;

Aos estagiários do laboratório de Biofármacos: Tiago Ayupe, Fabrício Lélis, Daniele Cabrine, Luciana Cardoso, Elizabete Bessa, Fabrício Valente, Luis Roberto Amaral, Renata Marques e, principalmente, Eliene Martins pela ajuda imprescindível.

Aos colegas que tanto me ajudaram: Cíntia Chagas, Leonardo Ramos, Fabiana Carvalho, Renato Lopes, Vanessa Jóia, Cristiane Sampaio, Prof. Aloísio Pinto e Prof. Ednaldo Queiroga;

Aos alunos da disciplina BQI-101, da qual fui monitora, pela oportunidade de experiência e amizade;

Aos amigos de curso Simone Viana e Humberto Maximiano, pelas horas de estudos juntos;

À amiga Daniela Lund por toda a ajuda nos momentos mais difíceis e principalmente pela enzimologia,

Às amigas de república Aida Zorkot e Renata Cerqueira por aturarem minhas chatices (principalmente durante as disciplinas), pela amizade e pelos momentos bons de alegria.

Às eternas amigas e companheiras Vanessa Lanna Rodrigues, Melissa Basílio e Cýnthia Zúccolo, pela amizade e carinho sempre;

À minha mãe Sueli Salgado, por compreender minha ausência e por sempre me dar forças para seguir em frente;

Ao meu irmão Marcel Percegoni, por ser uma alavanca que impulsiona minha vida;

Ao meu pai Weuber Percegoni, por compreender minha escolha;

Ao meu amigo Policarpo Esteves pela amizade, carinho e grande exemplo de vida;

À Elbert Barros pela amizade, apoio, companheirismo e amor incondicionais.

Ao meu padrinho Inimá Valle, pela presença constante em todos os momentos de minha vida e apoio sempre.

BIOGRAFIA

Nathércia Percegoni filha de Weuber José Percegoni e Sueli Salgado da Silva nascida em Além Paraíba, Minas Gerais em 04 de julho de 1976.

Em fevereiro de 1995 iniciou sua graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa concluindo-a em janeiro de 2000.

Iniciou a Pós-graduação em Bioquímica Agrícola, em nível de Mestrado nesta mesma instituição em março de 2000, submetendo-se a defesa de tese em 26 de fevereiro de 2002.

CONTEÚDO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1 .INTRODUÇÃO.....	1
2 .REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1.Flavonóides.....	4
2.2. Crisina.....	14
2.3. Caseína e Proteína Isolada de Soja.....	16
2.4. Xantona.....	20
2.5. Dislipidemias.....	26
2.5.1. Tratamento Farmacológico.....	27
2.5.2. Dislipidemias x Aterosclerose.....	28
2.5.3. Condições Secundárias que Afetam o Metabolismo Lipídico	37
2.5.4. Obesidade: Um Fator de Predisposição às Dislipidemias.....	39
2.5.4.1. Doenças x Obesidade.....	40
2.6. Desordens Hepáticas.....	41
2.7. Fisiologia do Metabolismo de Coelhos.....	42
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.1. Animais e Locais dos Experimentos.....	46
3.2. Indução de Hiperlipidemia por Colesterol Sintético e Ácido Cólico Associados.....	47
3.3. Análise da Redução dos Níveis de Lipídeos Séricos pelo Flavonóide Crisina.....	47
3.4. Análise Comparada da Proteína de Soja e da Caseína na Redução dos Níveis de Lipídeos Séricos.....	48
3.5. Efeito da Xantona no Metabolismo Lipídico.....	49
3.6. Análise dos Parâmetros Bioquímicos: Colesterol Total, LDL-c, HDL-c, Triacilgliceróis e Glicose.....	50
3.6.1. Dosagem de Colesterol Total.....	50
3.6.2. Dosagem de Colesterol – HDL.....	51
3.6.3. Dosagem de Triacilglicerol.....	51
3.6.4. Estimativa de VLDL.....	52

3.6.5. Estimativa de LDL.....	52
3.6.6. Dosagem de Glicose.....	52
3.7. Análise Histopatológica do Fígado dos Animais.....	52
3.7.1. Confeção da Lâminas por Inclusão em Paraplast.....	53
3.7.2. Confeção da Lâminas por Inclusão em Historesina.....	54
3.8. Testes Estatísticos.....	54
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1. Análise da Redução dos Níveis de Lipídeos Séricos e Peso Corporal pelo Flavonóide Crisina.....	55
4.2. Análise Comparativa da Proteína de Soja (Proteimax) e da Caseína na Redução dos Níveis de Lipídeos Séricos e Peso Corporal.....	80
4.3. Efeito da Xantona no Metabolismo Lipídico e no Peso Corporal.....	104
4.4. Morfologia Hepática.....	116
4.4.1. Efeito da Crisina na Morfologia Hepática.....	116
4.4.1.1. Grupo Controle Ração (R).....	117
4.4.1.2. Grupo Controle Hipercolesterolêmico (R + AC + C).....	117
4.4.1.3. Grupo da Crisina (R + AC + C + Crisina).....	118
4.4.1.4. Grupo da Colestiramina (R + AC + C + Colestiramina).....	119
4.4.2. Efeito das Proteínas de Soja e Caseína na Morfologia Hepática.....	120
4.4.2.1. Grupo da Caseína (R + AC + C + Caseína).....	120
4.4.2.2. Grupo do Proteimax (R + AC + C + Proteimax).....	121
4.4.2.3. Grupo Controle Hipercolesterolêmico (R + C + AC).....	122
4.4.2.4. Grupo Controle Ração (R).....	122
4.4.3. Efeito da Xantona na Morfologia Hepática.....	123
4.4.3.1. Grupo da Xantona (R + AC + C + Xantona).....	123
4.4.3.2. Grupo Controle Hipercolesterolêmico (R + C + AC).....	123
4.4.3.3. Grupo Controle Ração (R).....	124
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	125
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127

RESUMO

PERCEGONI, Nathércia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2002.

Efeitos do Flavonóide Crisina, Xantona e das Proteínas de Soja e Caseína no Peso Corporal e nos Lipídeos Sanguíneos e Hepáticos de Coelhos.

Orientadora: Tânia Toledo de Oliveira. Conselheiros: Tanus Jorge Nagem, Sérgio Luís Pinto da Matta e Adelson Tinoco.

As anormalidades lipídicas são de grande importância, devido a sua ligação com a doença vascular aterosclerótica e com a doença cardíaca coronariana. Assim, objetivou-se comparar os efeitos da ingestão do flavonóide crisina, xantona, caseína e proteína de soja sobre a diminuição do colesterol e suas frações, triglicerídeos e glicose, sorológicos, deposição lipídica no tecido hepático e redução do peso corporal total. Coelhos da raça albino foram divididos durante 30 dias nos seguintes grupos: colesterol + ácido cólico + ração (hipercolesterolêmicos) e ração pura (controle), em todos os três experimentos, sendo que no primeiro experimento houveram mais 2 grupos, um para colestiramina e outro para crisina, no segundo experimento, um para caseína, um para proteimax e outro para colestiramina e, no terceiro experimento, um para xantona, além daqueles mencionados anteriormente.

Os níveis de colesterol plasmático, triglicerídeos, LDL-c e HDL-c foram medidos, no 16° e 31° dias de experimento, utilizando kits enzimáticos e os resultados foram expressos em mg/dL. Foram analisadas amostras de tecido hepático, sendo os cortes fixados em historesina e paraplast. Observou-se a indução significativa de hipercolesterolemia nos animais que receberam ração + colesterol + ácido fólico. Foi verificada redução nas taxas de colesterol, LDL-c, HDL-c, triacilgliceróis e glicose, menor deposição de gotículas de gordura nos hepatócitos bem como uma redução no peso corporal nos animais que receberam crisina. Conclui-se que a ingestão do flavonóide crisina exerceu proteção contra o aumento do colesterol plasmático e a deposição de triacilgliceróis nos hepatócitos evitando a esteatose e, conseqüente, degeneração hepática. Ainda, exerceu um efeito preventivo no ganho de peso corporal total. No segundo experimento, verificou-se maior aumento de colesterol, LDL-c e triglicerídeos no grupo que recebeu caseína, bem como maior deposição de gotículas de gordura nos hepatócitos, em comparação com o grupo que recebeu proteimax. Em contrapartida, houve aumento proporcional aos níveis de colesterol total nos níveis de HDL para o grupo que recebeu proteimax. Observou-se ainda redução no peso corporal total desencadeado pela proteína de soja. Verificou-se que a ingestão de maior quantidade de proteína vegetal na dieta em substituição a proteína animal, pode ser um fator de prevenção ao ganho de peso corporal, aumento do colesterol plasmático e a deposição de triacilgliceróis nos hepatócitos, levando à esteatose e a conseqüente degeneração hepática. No terceiro experimento, verificou-se um acréscimo nas taxas de colesterol, LDL-c, HDL-c e glicose no grupo que recebeu xantona, e decréscimo nas taxas de triacilgliceróis para este grupo. Não se verificou acúmulo de gotículas de gordura nos hepatócitos para este grupo, mas observou-se a ocorrência de múltiplas lesões focais nestas células. A xantona provocou redução no peso corporal total. Conclui-se que a ingestão de xantonas exerce proteção contra a elevação do peso corpóreo e da concentração de triacilgliceróis sanguíneos

ABSTRACT

PERCEGONI, Nathércia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2002.

Effects of Flavonoid Chrysin, Xanthone and Soya Protein and Casein in Body Weight and Serum and Hepatic Lipids of Rabbits. Adviser: Tânia Toledo de Oliveira. Committee members: Tanus Jorge Nagem, Sérgio Luís Pinto da Matta and Adelson Luís Araújo Tinoco.

The lipid abnormalities are of great importance due to their link between the atherosclerotic vascular disease and between the coronary disease. For this reason, the aim of this research was to compare the effects of the ingestion of flavonoid chrysin, xanthone, casein and soy protein over the reduction of the serum cholesterol and its fractions, triglycerides and glucose, lipid deposition in the hepatic tissue, and reduction of the total body weight. During thirty days, rabbits of the albino breed were divided into the following groups: cholesterol + colic acid + ration (hypercholesterolemics) and pure rations (control), in all the three experiments. However, in the first experiment there were two more groups, one for cholestyramine and other one for chrysin, in the second experiment, one group for casein, one for proteimax and other one for cholestyramine, and in the third experiment, one group for xanthone, besides those mentioned before. The levels of serum cholesterol, triglycerides, LDL-c and HDL-c were measured on the

sixteenth day and on the thirty-first day of the experiment using enzymatic kits and the results were expressed in mg/dl. Hepatic tissue samples were analyzed, being the cuts fixed on historesin and paraplant. A significant induction of hypercholesterolemie in the animals which received rations + cholesterol + colic acid was observed. A reduction in the rates of cholesterol, LDL-c, HDL-c, triglycerides and glucose, smaller deposition of drops of fat in the live cells as well as a reduction of the body weight of the animals which received chrysin were checked. One can conclude that the ingestion of the flavonoid chrysin exerted protection against the increase of serum cholesterol and the deposition of triglycerides in the liver cells, avoiding the steatosis and the consequent hepatic degeneration. It also exerted a preventive effect on the total body weight gain. In the second experiment, it was observed a larger increase of cholesterol, LDL-c and triglycerides in the group which received casein as well as a larger deposition of drops of fat in the liver cells, in comparison with the group which received proteimax. On the other hand, there was a proportional increase to the levels of total cholesterol in the levels of HDL for the group which received proteimax. A reduction of the total body weight broken out by the soy protein was also observed. It was verified that the ingestion of a larger quantity of vegetable protein on the diet in place of animal protein can be a factor of prevention in the body weight gain, increase of plasmatic cholesterol and the deposition of triglycerides in the liver cells which could lead to steatosis and consequent hepatic degeneration. In the third experiment, it was verified an increase of the rates of cholesterol, LDL-c, HDL-c and glucose in the group which received xanthone, and reduction of the rates of triglycerides for this group. The accumulation of drops of fat in the liver cells was not observed in this group, but it was verified the occurrence of multiple focal injuries in these cells. The xanthone caused the reduction of the total body weight. One can conclude that the ingestion of xanthone exerts protection against the increase of the body weight and of the concentration of blood triglycerides.

1. INTRODUÇÃO

É sabido que elevadas concentrações de colesterol total e LDL colesterol no sangue correlacionam-se a uma elevação do risco de desordens cardiovasculares. Existe uma evidência substancial que aumentos das concentrações de triacilgliceróis sanguíneos também podem estar envolvidos em patogenias da aterosclerose (FERNANDEZ et al., 2000).

A obesidade, principalmente a abdominal, entre outras patologias também consiste em um fator de risco para doenças ateroscleróticas (LAKKA et al., 2001).

O fígado é o principal órgão metabolizador de gorduras e por esse motivo, as desordens lipídicas e a obesidade podem levar à esteatose hepática, a qual consiste no acúmulo de gotículas de lipídeo nos hepatócitos (STUDENIK et al., 2000). Esse acúmulo é responsável por casos de necrose e mal funcionamento hepático e em alguns casos, podem culminar em óbito (TIERNEY JR et al., 2001).

A modulação dietética é considerada um dos fatores mais importantes envolvidos na homeostase do colesterol tanto em humanos, como em animais experimentais (YI-FA et al., 1997). Atualmente, mais de 600 fatores dietéticos em vegetais são considerados determinantes para a saúde humana. Os alimentos que contém estas substâncias são chamados alimentos funcionais, pois sua ingestão é

capaz de prevenir e/ou amenizar os efeitos de inúmeras desordens, incluindo às cardiovasculares (CARVALHO, 2000).

Têm-se demonstrado o efeito protetor dos flavonóides. Estudos epidemiológicos correlacionam estes compostos inversamente à mortalidade por desordens coronárias. Tais resultados baseiam-se principalmente em seus efeitos de inibição da peroxidação lipídica e antiplaquetário. Esses fitoquímicos podem beneficiar a saúde humana sempre que consumidos apropriadamente na dieta (YUSUKE et al., 2000).

A crisina é uma flavona com efeitos farmacológicos diversos, entre os quais efeito antidepressivo, antilipolítico e ainda, é um potente inibidor da aromatase, uma enzima que converte andrógenos em estrógenos, estando desta maneira intimamente ligada ao metabolismo de compostos lipídicos orgânicos (WALLE et al., 2001).

Muitos estudos têm demonstrado que o tipo de proteína da dieta também pode afetar os níveis de colesterol sanguíneo e, têm sugerido que as proteínas vegetais exercem efeito hipolipidêmico quando comparadas às proteínas animais. Na maioria desses estudos proteína de soja e caseína representam as proteínas vegetais e animais, respectivamente, pesquisadas. Entretanto, o mecanismo de ação detalhado necessita de estudos posteriores. Alguns parâmetros metabólicos, incluindo a composição aminoacídica destas proteínas e a regulação hormonal, foram revelados em estudos comparativos de dietas com caseína e proteína de soja, na tentativa de justificar seu mecanismo de ação (YI-FA et al., 1997).

O estudo de xantonas, outra classe de fitoquímicos, é interessante não apenas do ponto de vista químico e taxonômico como também do ponto de vista farmacológico. Estes compostos têm sido estudados por demonstrarem inúmeras funções na área de saúde, inclusive na atuação como agentes hipoglicemiantes, antidepressivos e hipertensores (PERES et al., 2000).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de testar o efeito do flavonóide crisina, do seu análogo xantona, proteína de soja e caseína, bem como a comparação entre seus efeitos hipolipidêmicos com a colestiramina, sobre o controle do colesterol, triglicérides, LDL-colesterol, HDL-colesterol e glicose no

soro sanguíneo. Também foi objeto de estudo verificar o efeito destas substâncias no peso corporal e na deposição de gordura no fígado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FLAVONÓIDES

Os flavonóides compreendem um grupo de compostos polifenólicos, de 15 carbonos, que tem sua estrutura contendo 2-fenil-benzopirano ($C_6C_3C_6$), sendo representados por várias classes (SANTOS et al., 1998). Estes compostos variam em estrutura química e características gerais e ocorrem naturalmente em vegetais, como frutas, grãos, flores, nozes, cascas, fazendo parte, deste modo da dieta humana. De acordo com PETERSON & DWYER (1998), estes compostos compreendem uma classe de fitoquímicos que não podem ser sintetizados por humanos.

Cada tipo de composto pode apresentar modificações como hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação ou ramnosilação, resultando em vários tipos de flavonóides (BATLOUNI, 1997).

Aproximadamente 4.200 flavonóides foram identificados, sendo suas maiores classes os flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas,

isoflavonas, diidroflavonóis e chalconas (COOK & SAMMAN, 1996). Na figura 1 observa-se as estruturas dos flavonóides das principais classes já estudadas.

É importante ressaltar que fatores abióticos naturais como radiação solar, raios UV, seca, nutrientes e estações do ano influenciam no metabolismo e na produção destes compostos e ainda, fatores artificiais, como poluentes, podem interferir também nesse mecanismo.

O preparo dos alimentos para consumo pode, algumas vezes, resultar em perdas destes compostos em maior ou menor grau, variando de acordo com o tipo de alimento e o tipo de preparo empregado. Todavia, os flavonóides são compostos relativamente estáveis, pois resistem a oxidação, altas temperaturas e moderadas variações de acidez (PETERSON & DWYER, 1998).

Segundo PETERSON & DWYER (1998), os flavonóides de uma maneira geral, encontram-se em frutas e plantas específicas, embora, estudos comprovem a existência destes compostos, ainda que em menor quantidade, em outros alimentos e produtos finais da indústria alimentícia, como vinhos e cervejas, ovos, carnes de aves e carnes vermelhas. Nestes (provavelmente proveniente da dieta de seus animais de origem), alguns óleos vegetais, grãos integrais, leite, açúcares e doces, como mel e chocolate (AHERNE et al., 2002)

Os maiores estudos sobre flavonóides foram feitos em chá, maçã e cebola. O vinho tinto é muito rico nestes compostos apresentando 22,5mg/L (MANN, 1987).

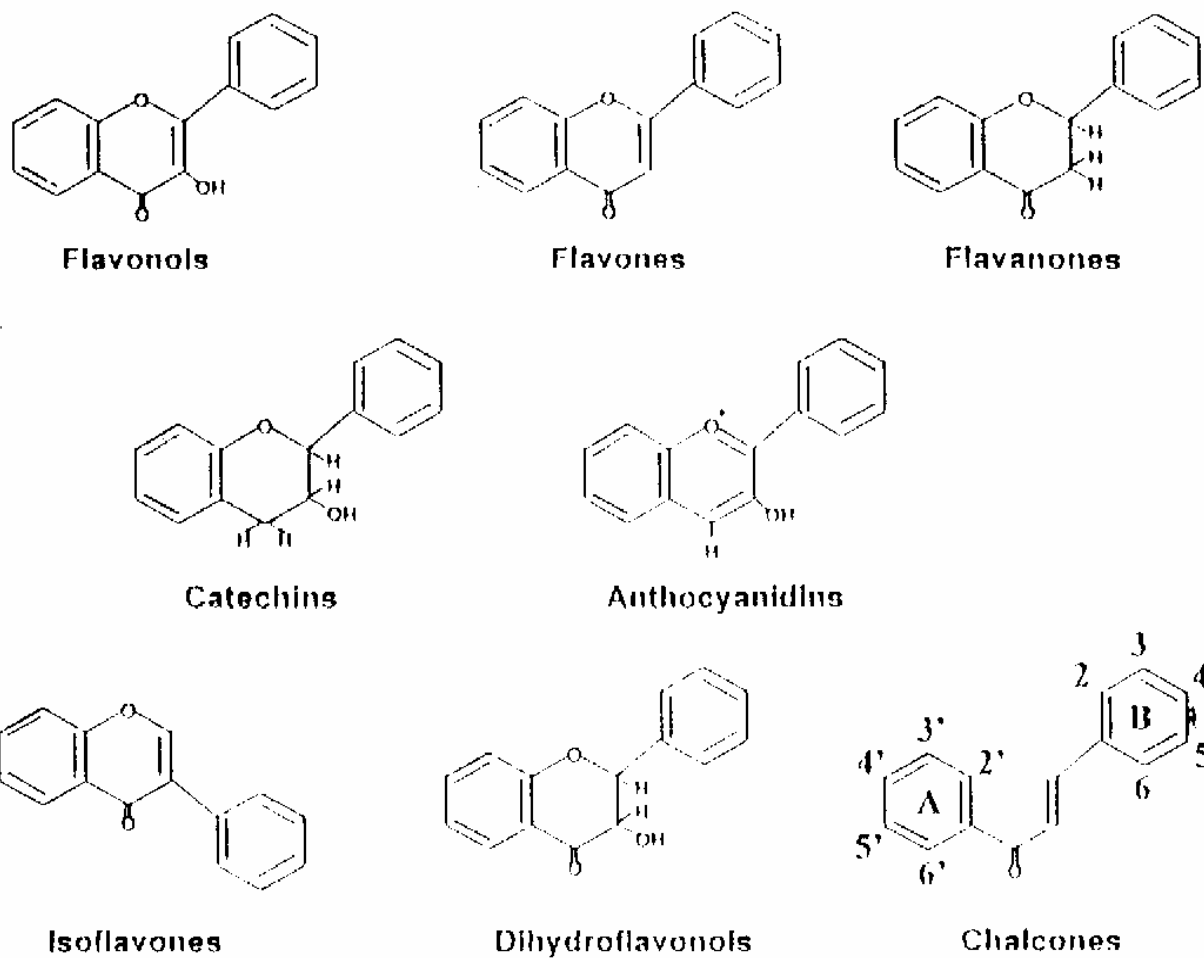
Uma das plantas mais ricas em flavonóides é o *Ginkgo biloba*, uma planta pré-histórica que serviu de alimento aos dinossauros herbívoros (LUNA, 1996).

A flavona luteolina ocorre frequentemente nos tecidos florais, enquanto a quercetina dá cor pálida ou branca às flores que são muito características de *Asteraceae*. A espécie *Stiffitia chrysantha* é uma produtora em potencial de flavonóides, destacando-se a quercetina pela atividade inibidora de crescimento e proliferação de células malignas e promoção de tumores (CARVALHO et al., 1999).

RUIDAVETS et al. (2000) determinaram qual o tipo de dieta que contribui melhor para a concentração plasmática de catequina, um flavonóide com

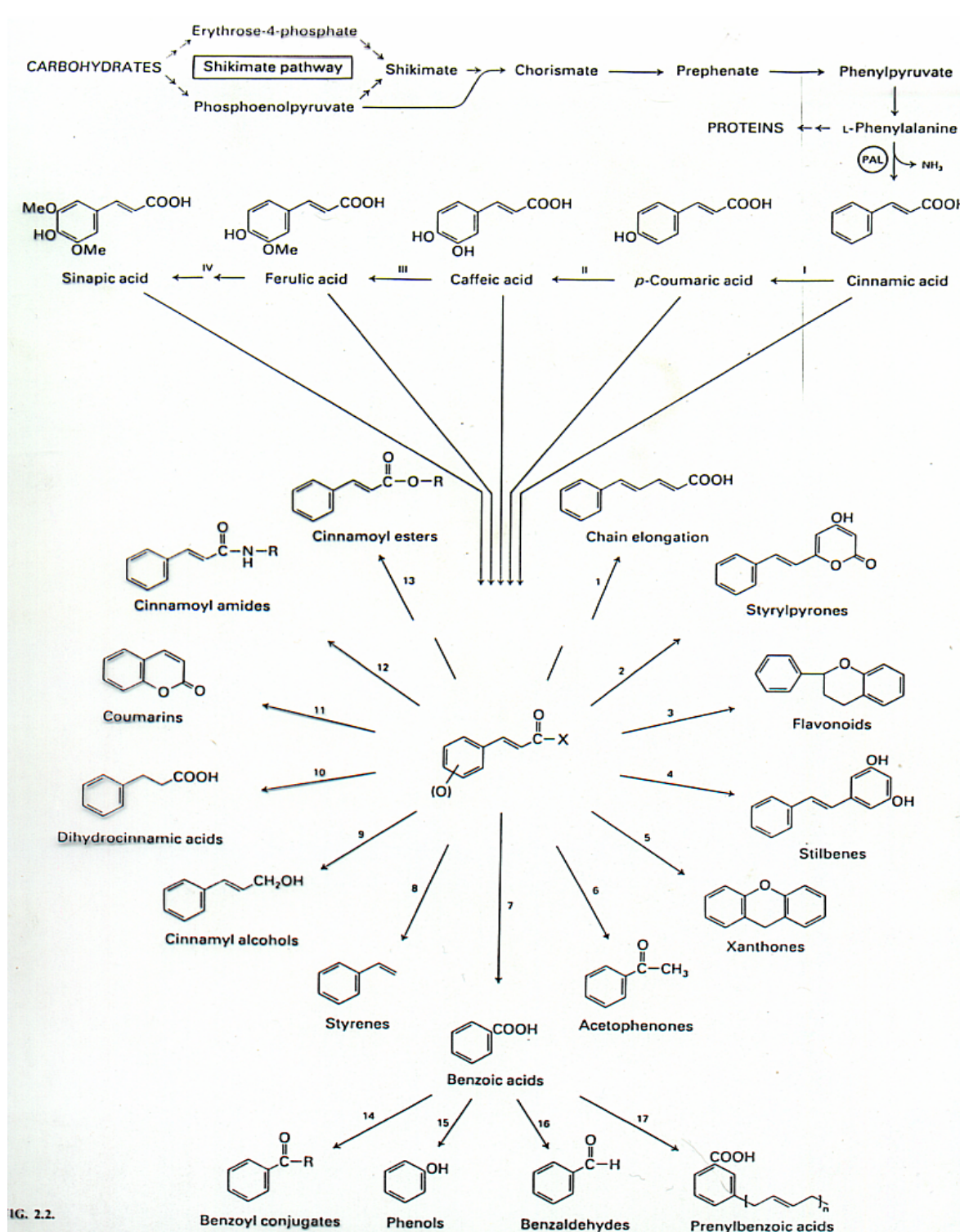
propriedades antioxidantes. Eles compararam o efeito de dietas contendo vinho tinto, frutas e vegetais, administrados junto e separadamente, para a contribuição dos níveis plasmáticos de catequina e demonstraram que a dieta com os três tipos de alimentos inclusos, é mais eficaz para o incremento deste flavonóide sanguíneo, explicando desta forma a quase ausência de desordens cardiovasculares na população mediterrânea, que tem a sua alimentação à base desses alimentos.

A figura 2 mostra a rota de formação de compostos fenólicos em plantas, incluindo os flavonóides. Enzimas como a fenil amônia liase, 3 malonil-CoA chalcona sintetase participam destas rotas. A fenilalanina amônia liase (PAL) é a enzima chave responsável pela regulação do metabolismo fenólico e tem sua atividade acrescida pela exposição da planta a níveis de etileno fisiologicamente ativo, o que se dá quando ocorrem injúrias mecânicas (DAREZZO, 2000).



FONTE: COOK & SAMMAN, 1996

Figura 1. Estruturas das maiores classes de flavonóides



IG. 2.2.

FONTE: HARBONE & DEY, 1989.

Figura 2. Rota de formação de compostos fenólicos em vegetais, incluindo os flavonóides.

Nos últimos anos tem-se observado um interesse crescente no estudo da atividade biológica de plantas que contém flavonóides. Neste sentido, tem-se desenvolvido trabalhos sobre a ação destes compostos na biologia das plantas, bioquímica ecológica, quimiotaxonomia, tecnologia de alimentos e farmacologia (CARVALHO et al., 1999).

As atividades bioquímicas dos flavonóides e de seus metabólitos dependem de sua estrutura química, que pode variar com substituições incluindo hidrogenações, hidroxilações, metilações, malonilações, sulfatações e glicosilações. Alguns flavonóides ocorrem naturalmente como flavonóides glicosilados e as substituições de carboidratos incluem D-glicose, L-ramnose, glucorarnose, galactose, lignina e arabinose. Quercetina, rutina e robinina são os flavonóides glicosilados mais comuns na dieta humana, sendo o primeiro, o flavonóide predominante em alimentos vegetais. Os flavonóides podem ser monoméricos, diméricos ou oligoméricos.

RATTY et al. (1987) relataram os efeitos dos flavonóides apigenina, aprina, diosmetina, diosmina, fisetina, crisina e outros na inibição da peroxidação lipídica não enzimática, induzida por ácido ascórbico ou sulfato ferroso, correlacionando simultaneamente tal função às estruturas destes compostos.

Os flavonóides com o grupo hidroxila no anel-B no são eficientes inibidores da glicação do colágeno, uma das vias que podem desencadear o processo ateromatoso, por haver liberação de radicais livres. Entretanto, os flavonóides sem o grupo hidroxila vicinal não têm o mesmo efeito. Uma relação similar é observada para os metabólitos dos flavonóides. A inibição da glicação pode ser resultante da ligação do grupo amino ao flavonóide (SCHAMM et al., 1998).

FERRIOLA et al. (1989) correlacionaram a inibição da proteína quinase C do cérebro de ratos à estrutura química dos flavonóides. Estudaram os compostos fisina, luteolina, quercetina, hesperetina e taxifolina e verificaram que os três primeiros foram mais potentes no desempenho desta função biológica. Em relação às estruturas, observaram ainda, que é necessária a presença de uma hidroxila livre do anel posições 3', 4'e 7' para inibir a proteína quinase C.

KO et al. (2000), demonstraram o efeito anticancerígeno de três polimetoxiflavonóides: vitecarpina, artemetina e trimetoxiflavona, isolados da *V. rotundifolia*. Observaram que o grupo metoxila no lugar da hidroxila no carbono 3' é essencial para esta atividade antiproliferativa e de indução à apoptose. Segundo HAKIM et al. (2000), os flavonóides constituintes do chá verde estão também implicados na prevenção primária do câncer.

De acordo com ANTON & BERETZ (1990), as propriedades farmacológicas dos flavonóides não tem sido totalmente exploradas. Um importante efeito inibitório de fosfodiesterase nucleotídeo cíclica, foi demonstrado como sendo um dos fatores terapêuticos contra a agregação plaquetária, responsável direta na gênese da aterosclerose.

Pesquisas têm demonstrado diversos efeitos biológicos dos flavonóides, incluindo efeitos antibacterianos, antivirais, anti-inflamatórios, antialérgicos, ações vasodilatadoras, inibição da peroxidação lipídica com efeito antioxidante que contribui para evitar a formação de radicais livres, inibição de alguns sistemas enzimáticos incluindo ciclo oxigenases e lipoxigenases, além de seu efeito como quelantes de cátions divalentes. Ainda não há evidências claras dos efeitos antioxidantes e quelatos de metais destes compostos *in vivo*. A inibição da lipoxigenase é influenciada pela estrutura dos flavonóides, como na presença de um grupo hidroxila na posição 3 do anel aromático ou quando há uma dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 do anel. O grupo carbonila no carbono 4 do anel é necessário para a atividade antiperoxidante em alguns estudos, o número de grupos hidroxila, a presença de uma molécula de açúcar e de grupos metoxila também influenciam positivamente (COOK & SAMMAN, 1996). Agem também na alimentação, reprodução e desenvolvimento animal. Podem também interferir na germinação de sementes e reprodução de plantas e tem efeitos mutagênicos, daí estarem sendo pesquisados atualmente no tratamento de alguns tipos de câncer (CARVALHO et al., 1999; PETERSON & DWYER, 1998).

Foram demonstradas por LUNA (1996) as seguintes atividades biológicas destes compostos fenólicos: atividade antiviral contra o vírus da imunodeficiência em humanos, herpes simples e pólio. Demonstrou ainda, que flavonóides como a

quercetina, induzem um aumento do crescimento celular diminuindo a peroxidação de lipídeos em nível de membrana, e outros flavonóides podem inibir a proliferação celular, indicando assim, a variedade de efeitos destes compostos em células de mamíferos.

Estudos revelaram que a quercetina inibe a atividade de algumas enzimas, incluindo a CAMP (adenosina 3', 5'- monofosfato cíclico) associada com tumores mamários (CARVALHO et al., 1999). Os flavonóides podem inibir a ação da proteína quinase C que atua como receptor celular na promoção de tumores. Estudos de relação estrutura – atividade, demonstraram que os flavonóides com hidroxilas nas posições 3', 4'e 7'são os melhores inibidores da proteína quinase C (FERRIOLA et al., 1989).

MASCOLO et al. (1998) relataram testes com os flavonóides quercetina, kaempferol e taninos com atividade antiinflamatória, inibidores de enzimas lisossômicas, responsáveis por aumentar a filtração transcapilar de água e proteínas, reduzindo o número e o diâmetro de poros capilares promovendo o retorno do fluxo sanguíneo para o coração.

Os flavonóides podem inibir a enzima xantina oxidase. Esta catalisa a oxidação da hipoxantina em xantina e esta em ácido úrico, tendo assim um importante papel na formação da gota. Durante a reoxidação da xantina oxidase se produz radical peróxido e peróxido de hidrogênio, espécies químicas que contribuem ao “stress” oxidativo dos organismos, característico dos processos como câncer, inflamação, aterosclerose e pericardite (COS et al., 1998).

Um efeito vasodilatador do endotélio foi descrito para alguns tipos de flavonóides. A diocleína, um flavonóide isolado da leguminosa “*Dioclea grandiflora*” teve sua ação investigada em aorta de ratos, apresentando um efeito vasorelaxante do endotélio, indução de formação de óxido nítrico com elevação de GMP cíclico. Tais efeitos conjuntos podem resultar na inibição do processo de trombose (LEMOS,1999).

Segundo WILLIAMS, et al.(1995), os flavonóides atuam principalmente como protetores da radiação solar, captadores de radicais livres, protetores das

membranas celulares, reguladores da permeabilidade e fragilidade capilar e antiinflamatórios.

Alguns flavonóides possuem propriedades sedativas e analgésicas, mas tais efeitos provavelmente têm origem periférica (PICQ et al., 1991). Os flavonóides utilizados como tranqüilizantes na medicina tradicional, possuem uma afinidade seletiva por receptores centrais de benzodiazepinas e alguns destes possuem atividade farmacológica compatível com uma ação agonista daqueles. Compostos representativos como o 6,3'- dinitroflavonas e 6 – bromo – 3'- nitroflavona exibem uma grande afinidade por esses receptores e tem efeitos ansiolíticos (MEDINA et al., 1998).

Segundo ESTEVES et al. (2001), as isoflavonas, uma classe de flavonóides, como a genisteína, daidzeína e a gliciteína, podem trazer benefícios no controle de doenças crônicas como câncer, diabetes mellitus, osteoporose e doenças cardiovasculares. Os mecanismos pelos quais as isoflavonas podem exercer estes efeitos parecem depender, em parte, das suas propriedades agonistas-antagonistas dos estrógenos. Outros mecanismos hipotéticos poderiam derivar de outras propriedades bioquímicas, tais como inibição da atividade enzimática e efeito antioxidante.

O “Kutphen Elderly Study”, um estudo longitudinal feito no período de cinco anos, ressaltou fatores de risco para doenças crônicas em homens. Neste estudo, foram avaliados alguns flavonóides contidos em 28 vegetais, 12 frutas e 9 bebidas comumente consumidas em Nova Zelândia. Os flavonóides consumidos na dieta habitual deste grupo tiveram uma relação inversa com as taxas de mortalidade por doenças coronárias e com infarto do miocárdio, especificamente. Todas as causas de mortalidade decorrentes neste período tiveram um decréscimo, com o acréscimo de flavonóides na dieta. Através desse estudo, pode-se observar ainda que a maior fonte de flavonóides desta população eram os chás, em sobreposição às frutas e verduras ricas nestes compostos (HERTOG et al., 1993 e 1995).

VINSON et al. (1998) relataram testes de flavonóides presentes no extrato de frutas cítricas e seus efeitos na inibição da peroxidação lipídica e ação hipolipidêmica em hamsters com hiperlipidemia induzida.

Foi demonstrado uma possível correlação entre algumas classes de flavonóides e o processo de lipólise no tecido adiposo de ratos. Segundo KUPPUSAMY & DAS (1992), estes compostos teriam atividade lipolítica. Dois deles, a buteína e a hesperetina, foram citados em seu estudo como sendo responsáveis pelo maior efeito lipolítico observado, na medida em que inibem a epinefrina induzida pela lipólise e seus efeitos seriam interdependentes.

Ensaio biológicos utilizando compostos isolados demonstraram que flavonóides também exercem atividades hipolipidêmicas (WILLIAMS, et al., 1995)

Resumidamente, a respeito dos flavonóides já identificados, podem ser citados os seguintes efeitos até então descobertos: proteção aos raios UV-B em plantas, atividade antioxidante, analgésica, anti-inflamatória, vascular, estrogênica, citotóxica, antitumoral, antiespasmolítica, antibacteriana, antidiarréica, antifúngica, potencial hepatoprotetor, inibição de enzimas, efeito calmante e ansiolítico, e prevenção da malária (HARBONE et al, 2000).

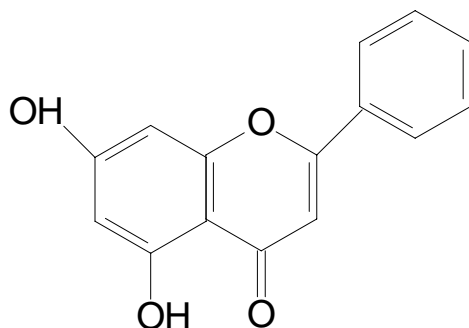
Pouco se sabe a respeito da absorção e metabolismo de flavonóides e os níveis usuais na dieta humana. De acordo com VINSON *et al* (1998), o consumo “per capita” de compostos fenólicos nos EUA foi estimado em aproximadamente 218 mg/dia, uma quantidade três vezes maior que a ingesta recomendada de vitaminas antioxidantes. Segundo Bravo et al., citados por COOK & SAMMAN (1996), há uma pequena fermentação pela flora intestinal e pouco menos de 5% da ingestão de taninos e catequinas são excretados nas fezes sugerindo que a absorção dos compostos polifenólicos tenha ocorrido. Alterações no metabolismo lipídico têm sido demonstradas em ratos consumindo dietas contendo ácido tânico ou catequinas. De acordo com PETERSON & DWYER (1998), as moléculas de açúcar nos flavonóides são usualmente quebradas durante o processo de absorção. Após a absorção, os flavonóides são freqüentemente conjugados no fígado e em menor proporção nos rins. As moléculas conjugadas são então excretadas na bile e na urina. Para aqueles flavonóides não absorvíveis, pode ocorrer uma quebra em sua estrutura no cólon, resultando em ácidos fenólicos, os quais podem ser absorvidos, conjugados e depois excretados novamente na bile ou urina.

KATAN & HOLLMAN (1999) estudaram os efeitos para a saúde e a biodisponibilidade dos flavonóides dietéticos. Segundo PETERSON et al.(1998) é estimado que os humanos ingerem menos de 100mg/dia destes compostos na dieta. Os flavonóides presentes em alimentos são considerados absorvíveis mesmo com a presença de um grupo glicosídeo. Já se sabe que a quercetina glicosilada, a mais difundida nos alimentos, pode ser absorvida em maior escala que a quercetina aglicona. A hidrólise dos flavonóides no intestino delgado é efetuada por microorganismos, não sendo enzimática (KATAN & HOLLMAN, 1999).

Alguns efeitos tóxicos têm sido documentados para flavonóides na ingestão de doses entre 1 a 1,5g/dia, incluindo problemas renais, anemia hemolítica, trombocitopenia, hepatite e reações epidérmicas. Os chás são alimentos ricos em flavonóides, mas chá preto em presença de taninos hidrolisáveis (ácido tânico) é um potente inibidor da absorção de ferro. Compostos fenólicos, como os monômeros fenólicos, polifenóis e taninos são considerados como interferentes na absorção de ferro, por formarem complexos insolúveis no lúmen gastrointestinal reduzindo sua biodisponibilidade (COOK & SAMMAN, 1996).

2.2. CRISINA

A crisina é um flavonóide da classe das flavonas. Possui hidroxila livre nos carbonos 5 e 7 do anel e fluorescência na faixa para o amarelo. Entre as flavonas, apenas a luteolina, apigenina e tricetina são comuns na natureza. Havendo ainda o Kaempferol, Quercetina, Diosmedina, Miricetina e Rutina. As flavonas são principalmente encontradas em grãos e ervas e contribuem para a coloração dos tecidos, quando ocorrem em altas concentrações ou são complexadas com íons metálicos (HAVSTEEN, 1989).



FONTE: Walle et al., 2001

Figura 3. Estrutura química da crisina

Um estudo feito por MEDINA et al. (1998) cita o flavonóide crisina capaz de exercer um efeito neuroativo devido a sua capacidade de se ligar aos receptores de benzodiazepina, um tranqüilizante comercial. Desta maneira, tal flavonóide teria um efeito ansiolítico atuando como agonista do medicamento. Entretanto, este efeito não é acompanhado de ação sedativa, relaxante muscular, anticonvulsivante, amnésico ou analgésico. Esse efeito descoberto em sistemas de mamíferos provavelmente só é ativado estando o flavonóide *in natura* e livre de ligantes (MIDDLETON & KANDASWAMI, 1994).

Recentemente foi demonstrada uma atividade anticancerígena para o flavonóide crisina, pela atividade e expressão da UDP-glucoronittransferase nas células intestinais Caco-2. Desta maneira torna-se importante para os processos de glicuronidação e detoxificação do cólon intestinal (GALIJATOVIC et al., 2001)

A espécie *Passiflora coulea* (*passifloraceae*), tem sido estudada por suas propriedades ansiolíticas. Ela contém crisina, que compete com o receptor celular para benzodiazepina (HARBONE & WILLIAMS, 2000). De acordo com ZANOLI et al. (2000), a crisina encontra-se particularmente na *Passiflora incarnata*. Estes autores citam um efeito de redução da capacidade locomotora para este flavonóide, quando administrado a 25g/kg.

DUARTE et al.(2001) descrevem um efeito vasorelaxante da crisina em aorta isolada de ratos. Este efeito é endotélio e óxido nítrico dependente, e é

mediado pela prevenção da inativação induzida por O₂ no endotélio, derivado de óxido nítrico e pela potencialização na indução de vasodilatação por GMP cíclico.

Muitos estudos têm sido conduzidos para esta classe de flavonóides, as flavonas, principalmente para quercetina e luteolina. Esta tem sido demonstrada por seus efeitos câncer-preventivos e antioxidantes, contribuindo desta forma para inibir a formação de placas ateroscleróticas. CAI et al. (1997) demonstraram os efeitos da quercetina e luteolina na remoção dos radicais superóxidos, inibição na formação de radicais livres, principalmente O₂, e inibição da oxidação lipídica induzida por FeCl₂ no fígado de ratos.

2.3. CASEÍNA E PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA

A modulação dietética é considerada como sendo um dos importantes fatores para a manutenção da homeostase do colesterol sanguíneo tanto em humanos quanto em animais experimentais (LU & JIAN, 1997).

Embora a função nutricional das proteínas e sua importância para a manutenção da boa saúde física e mental sejam amplamente reconhecidas, os conceitos de qualidade nutricional das proteínas têm sido largamente discutidos e modificados ao longo dos últimos anos. A qualidade nutricional das proteínas depende, basicamente, de sua composição em aminoácidos essenciais e sua digestibilidade. A proteína isolada de soja contém no mínimo 90% de proteína em base seca. É obtida à partir da farinha de soja desengordurada de alta qualidade pela remoção da maior parte dos constituintes não protéicos do grão. Durante o processo ocorrem a inativação do inibidor de tripsina e o aumento da digestibilidade das proteínas entre outros. A digestibilidade da proteína isolada de soja está estimada em aproximadamente 10 –17% e a correspondente da caseína está entre 94-97% em média (CHEFTEL et al., 1985).

O valor nutricional dos derivados protéicos de soja, é equivalente ao das proteínas de origem animal. Segundo STEELE & HARPER (1991), o perfil de aminoácidos essenciais da proteína isolada de soja é: histidina-isoleucina-leucina-lisina-metionina+cistina-fenilalanina+tirosina-treonina-triptofano-valina.

Inúmeros estudos dão à entender que a proteína animal (usualmente caseína) é mais colesterolêmica e aterogênica que as proteínas vegetais (usualmente proteínas de soja). Estas descobertas são geralmente verdadeiras, mas o efeito de um único componente dietético pode ser influenciado por outros componentes, tais como o tipo de carboidrato da dieta, o conteúdo em fibras e a presença de saponinas, freqüentemente na soja (KRITCHEVSKY, 1979).

Colesterol livre e dietas semipurificadas produzem hipercolesterolemia e aterosclerose em coelhos, quando a caseína é utilizada como fonte protéica, mas o mesmo não ocorre quando a fonte protéica é a proteína de soja, ou proteimax, como é conhecida comercialmente. De maneira geral, os animais apresentam altos níveis de colesterol no plasma quando recebem fonte de proteína animal, se comparados com o período que recebem fonte de proteína de origem vegetal. Diferenças na composição e no “turnover” de lipoproteínas no plasma são observadas. Estudos conduzidos em humanos com níveis normais ou elevados de colesterol têm demonstrado que tais níveis podem ser diminuídos, se for suprimida a dieta contendo proteína animal em função da mesma dieta contendo fontes de proteína vegetal. Estudos epidemiológicos demonstraram uma provável evidência da associação entre doenças coronárias e quantidade de proteína animal fornecida na dieta (CARROLL, 1981).

OLIVEIRA et al. (2001) administraram uma dieta contendo colesterol livre, gelatina e caseína por oito semanas a animais, e observaram que tal dieta promoveu diminuição nas taxas de HDL, aumento na relação colesterol total/HDL e diminuição nos níveis de triacilgliceróis por aumento da excreção fecal. Não observaram diferenças significativas no depósito de colesterol hepático. O aumento na razão colesterol total/HDL pode ter sido responsável pela aceleração do processo de aterosclerose.

NEVALA et al. (2000) estudaram os efeitos da proteína de soja e da caseína no desenvolvimento da hipertensão arterial e nas funções cardiovasculares em ratos machos e fêmeas previamente hipertensos. Verificaram que o desenvolvimento da hipertensão é atenuado em ambos os sexos pela proteína de soja acrescida na dieta, quando comparada à caseína. Observaram

ainda um efeito redutor da mesma no colesterol sérico e na concentração de estradiol 17 β . Um evento que merece atenção foi a indução de hipertrofia renal ocorrida nos animais devido à administração de caseína.

Varias hipóteses têm sido postuladas em torno do mecanismo de ação dessas proteínas na dinâmica do colesterol. O efeito hipocolesteremiante da proteína de soja pode ser explicado por vários fatores: diferenças na composição aminoacídica, e razão lisina/arginina menor; ação coadjuvante de substâncias não protéicas acompanhantes como fibras, tipo de carboidrato e presença de saponinas; (SAUTIER et al., 1983; KRITCHEVSKI, 1979), diminuição na absorção de colesterol intestinal e aumento da excreção fecal de esteróides; aumento no “turnover” do colesterol sérico; possível atuação em conjunto com as isoflavonas presentes na soja (ESTEVES & MONTEIRO, 2001), aumento na formação de esteróides hepáticos; possível efeito hormonal (NAGATA et al., 1982). O efeito hipercolesteromiante da caseína pode ser em parte explicado também pela sua composição aminoacídica, principalmente no que diz respeito à razão lisina/arginina maior e na sua capacidade de induzir a diminuição na conversão de colesterol à sais biliares (NAGATA et al., 1982).

Segundo WOODWARD et al. (1985), a diferença nas frações de colesterol LDL induzidas pelas diferentes fontes protéicas, pode resultar em diferentes graus de aterosclerose. De acordo com os autores, uma das características das proteínas que influencia as taxas séricas de colesterol é a sua composição aminoacídica. É conhecido que estas misturas de aminoácidos de proteínas animais ou vegetais promovem respectivamente taxas de colesterol altas e baixas. Contudo, ainda não se sabe o aminoácido específico que causaria tal evento; sabe-se apenas que a glicina aumenta a síntese de fosfolipídeos. SAUTIER et al. (1983) verificaram que as diferenças nos efeitos da proteína de soja e caseína são atribuídas à proporção diferenciada em seus aminoácidos, e não à origem destas proteínas.

A digestibilidade da proteína da dieta é uma propriedade que pode afetar os níveis de colesterol séricos. Em um estudo, conduzido *in vitro*, a proteína de soja foi menos rapidamente hidrolizada em relação à caseína pelas enzimas

pancreáticas ou intestinais. “In vivo”, evidências sugeriram que a proteína de soja é relativamente digerida mais lentamente (CARROLL, 1981; CAMUS et al., 1973)

HUFF & CARROL (1980) demonstraram que em coelhos e em ratos, a ingestão de proteína de soja resultou em estimulação da excreção fecal de esteróides, reduzindo assim a absorção de colesterol pelo intestino.

TANAKA et al. (1983) estudaram os efeitos das proteínas animal e vegetal na síntese intestinal e no transporte de colesterol e apolipoproteína A-I, constituinte das LDL-colesterol, em ratos; e verificaram que, dietas com baixos níveis de colesterol resultam em baixos níveis de colesterol sérico e apolipoproteína A-I, quando a fração protéica da mesma é composta por proteína de soja em comparação à caseína.

TERPSTRA et al. (1982) estudaram o efeito de dietas semipurificadas contendo diferentes proporções de caseína ou proteína de soja na concentração de colesterol sérico, concentração de lipoproteínas séricas e deposição hepática em ratos machos e fêmeas. Em machos, a concentração de caseína na dieta resultou em níveis significativamente altos de colesterol sérico, quando comparados à dietas contendo proteína de soja. Em fêmeas não existiram grandes diferenças e neste grupo houve um aumento acentuado nos níveis de LDL. A concentração de colesterol hepática foi afetada por modulações no tipo e proporção da proteína da dieta em ambos os sexos. A concentração de colesterol no fígado foi maior quando 50% de caseína foi ministrada e progressivamente menor em animais com dietas contendo 20% de caseína, 20% de proteína de soja e 50% de proteína de soja.

Segundo NAGATA et al. (1980), estudos feitos com caseína e proteína de soja têm sido conduzidos em diferentes espécies animais, tais como ratos, coelhos, galinhas e porcos. Em homens também há evidências que a proteína vegetal possa reduzir os níveis de colesterol séricos, quando comparada à proteína animal.

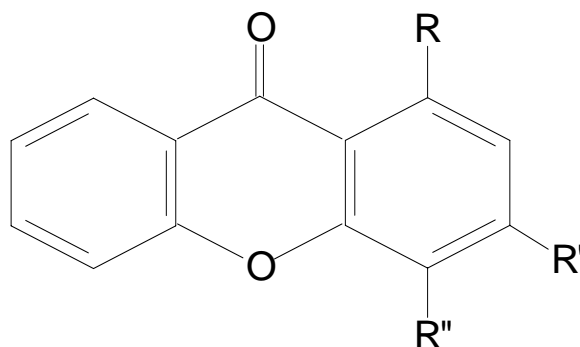
ESTEVES & MONTEIRO (2001) estudaram as isoflavonas, flavonóides presentes na soja, na redução do colesterol sérico. Eles verificaram que os isolados protéicos de soja que tiveram as isoflavonas removidas mostraram-se

normo ou até hipercolesterolêmicos. Atentos ainda para outro aspecto, o aumento do consumo de produtos de soja pode implicar na redução do consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e colesterol e, sendo assim, exercem um efeito indireto na redução da colesterolemia.

2.4. XANTONA

Xantonas são metabólitos secundários que ocorrem comumente em algumas famílias de plantas superiores, fetos, fungos e líquens. As xantonas isoladas até o momento podem ser classificadas em cinco grupos principais: xantonas com padrão simples de oxigenação, xantonas preniladas e relacionadas, xantolignóides, xantonas complexas e xantonas glicosiladas (Mandal, 1992, citado por PERES, 1996). As xantonas identificadas somam hoje 542 na forma aglicona e 83 glicosiladas (PERES, 1996).

Xantonas naturais, apresentando diferentes atividades biológicas ocorrem com frequência em diferentes famílias de plantas superiores, incluindo *Guttiferae* (clusiaceae). Do ponto de vista químico, as espécies dessa família são reconhecidas como fontes de xantonas, benzofenonas, terpenos e esteróides. O gênero *Tovomita*, com cerca de 60 espécies, contém ao lado de benzofenonas e terpenóides, xantonas simples e preniladas. Ensaio farmacológicos com xantonas naturais mostraram diferentes atividades, como antiinflamatória, antileucêmica, antitumoral, antihepatotóxica, antiulcerogênica, antiviral (herpes), antifúngica, estimulante do miocárdio e do sistema nervoso central, hipertensora, antimicrobiana, analgésica, bactericida e imunossupressora, o que evidencia o potencial desses metabólitos especiais como agentes medicinais (TAVARES et al, 2001).



FONTE: RECANATINI et al., 2001

Figura 4. Estrutura química da xantona

GAION et al. (1982) obtiveram 2 compostos derivados de xantona análogos ao clorfibrato, como a isômero-3-clorina. Estes autores verificaram uma atividade lipolítica destes compostos em células adiposas em ratos.

Os efeitos de aproximadamente 20 derivados de xantonas na agregação plaquetária tem sido avaliados. Algumas inibem a indução de trombina na agregação plaquetária. O composto mais ativo até agora demonstrado foi o 7 – cloro – 2 – metil xantona, na concentração de 40 microgramas/mL. Segundo LIN et. al. (1996) uma série de derivados de xantonas podem exercer a habilidade de inibir a agregação plaquetária, prevenindo desta forma a aterosclerose. Em sua avaliação, os autores verificaram atividade “in vitro” e “in vivo” destas substâncias. A feniloxixantona demonstrou ser um potente inibidor da agregação plaquetária induzida por ácido araquidônico em plaquetas de coelhos. O mesmo composto também inibiu a agregação plaquetária em humanos, induzida por noradrenalina. Eles concluíram que este efeito antiplaquetário pode ser devido a uma inibição na síntese de tromboxano. Estes mesmos autores em 1993 já haviam estudado os efeitos antiplaquetários de alguns derivados de xantona, como o xantodilol, entre outros. De acordo com TENG et al. (1989), derivados de xantona como o tripterosídeo acetato e o acetato noratriol inibem a agregação plaquetária por diminuir a formação de tromboxano e inositolfosfato. CHEN et al. (1994)

estudaram um derivado sintético de xantona e sua atividade antiplaquetária em animais experimentais e em humanos. Observaram que o composto inibiu a agregação plaquetária em plaquetas lavadas de coelhos e também inibiu esta agregação, estimulada por epinefrina e ADP, em humanos. JANTAN et al. (2001) estudaram 9 tipos de xantonas extraídas de plantas e verificaram seu efeito inibitório do receptor do fator de ativação plaquetária “in vitro”. Todos estes compostos apresentaram potente efeito antagonista para este receptor.

Segundo VALENTI et al. (1990) uma série de derivados de xantona 1,4 diidropiridina são antagonistas de Ca^{++} , mas exercem efeito potente de bradicardia.

CHANG et al (1994) estudaram o efeito antiperoxidação lipídica de algumas xantonas, obtidas de *Cudrania cochinchinensis var. gerontogea*. Eles observaram que a maioria das xantonas testadas inibiram efetivamente a peroxidação lipídica, que foi estimulada experimentalmente em seu trabalho por $FeCl_2$ - mistura de ácido ascórbico e CCl_4 – mistura de nicotinamina adenina dinucleotídeo fosfato.

De acordo com MAHABUSARAKAM et al. (2000), os derivados fenólicos de xantona também exercem atividade antioxidante, assim como os flavonóides. Estes autores estudaram a mangostina, uma xantona prenilada na inibição de LDL e verificaram que as modificações estruturais neste composto podem aumentar ou diminuir este efeito. Derivação dos grupos hidroxila no C-3 e C-6 com metil acetato, propano-diol ou nitrila diminuem a atividade antioxidante da mangostina. Em contraste, derivação no C-3 e C-6 com derivados aminoetílicos aumenta esta atividade antioxidante.

Uma série de derivados aminoalcoólicos de xantona tem sido examinados em alguns modelos experimentais de epilepsia. Observou-se ação destes compostos no sistema nervoso central, na atividade locomotora espontânea, na hiperatividade induzida por anfetamina e no sono induzido por fenobarbital, assim como sua influência no nível de ácido gama aminobutírico (GABA). (RAJTAR et al., 1999).

MIURA et al. (2001) demonstraram atividade antidiabética, para diabetes tipo II de um composto derivado de xantona, o magiferin, isolado da *Anemarrhena*

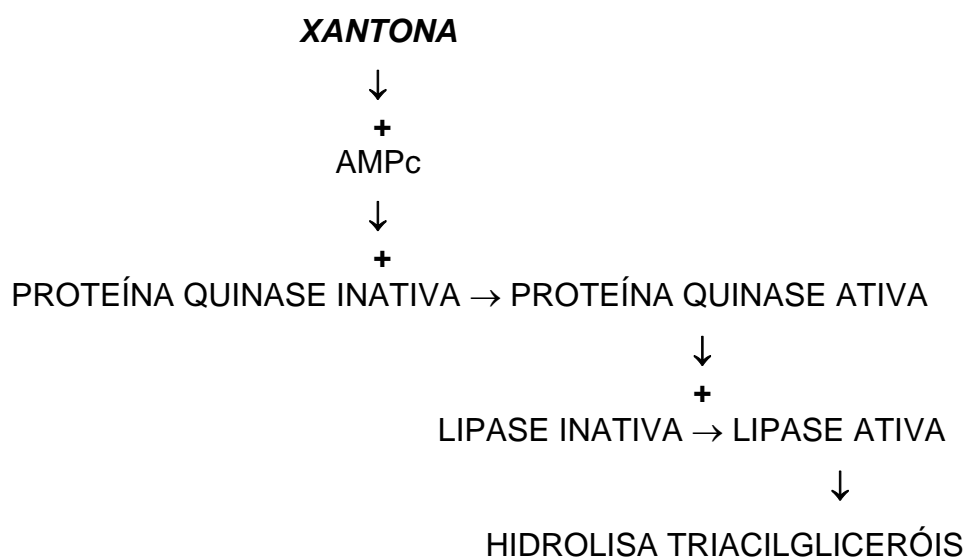
aspodeloides. Este composto exerce tal atividade por causar um decréscimo na resistência à insulina, comum em indivíduos com esta patologia.

RECANATINI et al. (2001) citaram o efeito de derivados de xantona, como fadrozole, entre outros, na inibição da atividade de aromatase, uma enzima de interesse farmacológico para o tratamento do câncer de mama.

Segundo KELLY et al. (2002), as hidroxixantonas tem sido identificadas como agentes antimalária. Acredita-se que estes compostos exerçam tal atividade através da complexação ao radical heme da hemoglobina sanguínea e pela inibição da formação de hemozoína.

O efeito vasorelaxante de xantona foi estudado em aorta torácica isolada de ratos. A xantona promoveu relaxamento da aorta isolada e este efeito persistiu no endotélio da aorta, sugerindo que o relaxamento induzido pela xantona é endotélio dependente. Ainda, a xantona, causou um incremento no nível intracelular de adenosina cíclica 3',5'-monofosfato (AMP_c), o que sugere que o mecanismo de indução do vasorelaxamento de xantona talvez envolva um acréscimo de AMP_c e um bloqueio nos canais de Ca^{++} (CHENG & KANG, 1997). A figura 5 ilustra bem este mecanismo de ação.

Figura 5. Mecanismo de ação da xantona via aumento de AMP cíclico



FONTE: CHENG & KANG, 1997

Segundo HE et al. (1998), a xantona exerce um efeito protetor para o miocárdio. Este efeito pode ser associado com a redução da peroxidação lipídica no miocárdio exercida por xantonas e alguns derivados, como 1,8-diidroxi-3,5-dimetoxixantona e outros. Eles observaram que injeções destes derivados a 1mg/kg entre a ligação da artéria coronária esquerda, diminui a incidência de arritmia ventricular.

Atualmente o maior interesse farmacológico em xantonas reside na sua ação inibidora sobre as enzimas monoaminooxidases (MAO). Citam-se como exemplo a bedifolina (1,5,8-triidroxi-3-metoxixantona), a qual foi observada como um inibidor seletivo da MAO A (Suzuki, 1981, citado por PERES, 1996). A Figura 6 mostra a rota biossintética para xantonas oxigenadas nas posições 1,3,5 e 1,3,7.

2.5. DISLIPIDEMIAS

As dislipidemias compreendem as desordens lipídicas comumente observadas no sangue principalmente de indivíduos de meia idade (MAHAN & ARLIN, 1995).

Vários ensaios clínicos estabeleceram que a redução dos níveis de colesterol em homens saudáveis de meia idade, sem doença cardíaca coronária (prevenção primária) reduz seu risco e, que a redução do risco é proporcional à redução do colesterol LDL e ao aumento do colesterol HDL. Indivíduos nos grupos de tratamento tiveram reduções estatisticamente significantes e clinicamente importantes das taxas de infartos do miocárdio, de novos casos de angina e de necessidade de cirurgias de revascularização miocárdica. Em indivíduos que já tem doença coronária, os benefícios da redução do colesterol (prevenção secundária) são mais claros, com reduções na progressão da aterosclerose coronária, menor número de eventos coronários subsequentes, menor mortalidade por doença cardíaca coronária e uma redução na mortalidade por todas as causas. Nestes casos, a prevenção secundária desempenharia um papel mais expressivo, na medida em que seria necessária uma intervenção de um menor número de indivíduos em comparação com a prevenção primária, o que, em termos econômicos seria menos dispendioso. (TIERNEY JR et al., 2001).

Alguns estudos também demonstraram que a redução agressiva dos níveis de colesterol leva à regressão de placas ateroscleróticas em alguns indivíduos, reduz a progressão da aterosclerose em enxertos de veia safena, e pode retardar ou reverter a aterosclerose das carótidas. Uma análise recente sugere que este último efeito resulta em uma diminuição significativa dos acidentes vasculares cerebrais (TIERNEY JR et al., 2001).

KIRK et al. (1997) relataram os efeitos de isoflavonóides, presentes em soja, como a genisteína, na redução do colesterol sanguíneo, por aumentar a atividade de receptores de LDL em camundongos.

2.5.1 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

Atualmente é comum a utilização e a comercialização de drogas hipolipidêmicas para o tratamento das dislipidemias. As drogas mais utilizadas estão esquematizadas na tabela 1.

Tabela 1. Principais drogas utilizadas no tratamento de alterações lipídicas

Tipos de Drogas	Drogas
Niacina (Ácido Nicotínico)	–
Resinas Quelantes de Ácidos Biliares	Colestiramina, Colestipol
Inibidores da HMG – CoA Redutase	Lovastatina, Pravastatina, Simvastatina, Fluvastatina, Atorvastatina
Derivados do Ácido Fíbrico	Gemfibrosil, Clofibrate
Probucol	-

(TIERNEY JR et al., 2001).

A colestiramina é uma resina que funciona como quelante dos ácidos biliares no intestino. A redução resultante de sua concentração na circulação entero-hepática faz com que o fígado aumente sua produção de ácidos biliares, usando para isso o colesterol hepático. Assim, a atividade do receptor hepático de LDL aumenta, provocando um declínio nos níveis plasmáticos de LDL. O nível de triglicérides tende a aumentar levemente em alguns indivíduos tratados com resinas (TIERNEY JR et al., 2001).

A dose usual de colestiramina é de 12 - 36g de resina por dia. Esses agentes freqüentemente causam sintomas gastrintestinais, tais como obstipação e meteorismo. Eles podem interferir com a absorção de vitaminas lipossolúveis e podem ainda quelar outras drogas no intestino (TIERNEY JR et al., 2001).

Os efeitos colaterais que limitam o uso de resinas mais freqüentemente estão associados à distensão abdominal por ar deglutido, desconforto abdominal, constipação e impactação fecal. Como resinas de intercâmbio amoníaco, estes fármacos podem ligar-se a qualquer composto de carga elétrica negativa

encontrado. As resinas foram relatadas como capazes de diminuir a absorção de tiroxina, glicosídeos, digitálicos, anticoagulantes, algumas tiazidas, propanolol, tetraciclina e furosemida, bem como os fármacos hipolipidêmicos genfibrozila, prastavastatina e fluvastatina (HARDMAN et al., 1996).

2.5.2 DISLIPIDEMIAS X ATEROSCLEROSE

As enfermidades cardiovasculares incluem o infarto e a aterosclerose, que podem causar problemas vasculares como o acidente vascular cerebral. A causa principal destas enfermidades é a obstrução do fluxo de sangue nos vasos sanguíneos em virtude da formação de placas gordurosas na íntima das artérias que, à medida que aumentam de tamanho, reduzem o fluxo, até que, em casos extremos, chegam a obstruí-lo por completo.

Um dos principais fatores que levam à ocorrência dessas enfermidades são os níveis elevados de colesterol no sangue, pois este é um dos maiores constituintes das placas de ateroma (ESTEVES & MONTEIRO, 2001). De acordo com WANG (2001), a aterosclerose é responsável por 50% de todas as mortes nos EUA, Europa e Japão.

Segundo BLOCK et al. (1994), a dislipidemia aumenta os riscos de desenvolvimento da aterosclerose por um acúmulo de tecido adiposo nas paredes internas das artérias e com isto eleva o risco de doenças coronárias e derrame.

Está atualmente bem estabelecido que níveis plasmáticos elevados de lipoproteína de baixa densidade constituem fator de risco para o desenvolvimento da aterosclerose. Um fator importante é a hipótese oxidativa da aterosclerose, que postula ser a modificação oxidativa da LDL importante, e possivelmente, obrigatória na patogênese da doença. Presume-se que a peroxidação lipídica se inicie nos ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolípides da superfície de LDL e, a seguir, se propague aos lípides do núcleo, resultando em modificação oxidativa tanto nos ácidos graxos poliinsaturados, como do colesterol e fosfolípides e, finalmente, modificação e degradação da apo-B. Todas as células da parede arterial podem iniciar a oxidação da LDL; admite-se que a liberação de ânion

superóxido pelas células endoteliais e musculares lisas, no processo de formação de endoperóxidos cíclicos e prostaglandinas, pode ser responsável pelo início da oxidação em algumas condições, enquanto a atividade aumentada da lipoxigenase em macrófagos poderia gerar aumento de peróxidos lipídicos (BATLOUNI, 1997).

Na íntima da artéria, as LDL oxidadas são aprisionadas numa trama de fibras e fibrilas secretadas pelas células parietais. Este LDL modificado dará origem às células espumosas, que consistem no primeiro estágio da formação da placa ateromatosa. Estas são formadas principalmente por partículas de LDL oxidadas e macrófagos. Os radicais livres secretados pelas células parietais e macrófagos difundem as LDL aprisionadas e iniciam a peroxidação lipídica. Este processo ocorre em dois estágios: o 1º antes que os monócitos sejam ativados, resulta na oxidação dos lípidos da LDL, com pequenas alterações na apo-B. O 2º começa quando os monócitos são ativados e convertidos em macrófagos, que contribuem com sua grande capacidade oxidativa. Neste estágio, os lípidos da LDL são adicionalmente oxidados e a fração proteica (apo-B), também. Estas LDL altamente oxidadas deixam de ser reconhecidas pelos receptores para LDL e passam a ser reconhecidas pelos receptores de LDL acetilados (removedores) e/ou receptores oxidados, que não são regulados pelo conteúdo celular de colesterol. Em consequência, ocorre acúmulo maciço de colesterol, formando-se células espumosas, que são a marca característica das estrias gordurosas (BATLOUNI, 1997).

A modificação oxidativa da LDL além de induzir a captação aumentada pelos macrófagos produz muitas moléculas modificadas com efeitos biológicos diversos inclusive efeito acentuado na injúria endotelial e na ativação de células endoteliais. As LDL-oxidadas induzem à produção, pelas células endoteliais, de potentes ativadores dos monócitos, como a proteína quimiostática para monócitos, o fator estimulador de colônias de monócitos, que estimulam o crescimento e a diferenciação dos monócitos em macrófagos. As LDL-oxidadas estimulam a produção de interleucina-1 pelos monócitos que é um fator de crescimento para células musculares lisas. A LDL-oxidada tem um aumento no seu conteúdo de

lisofosfatidilcolina. Esta é quimiostática para monócitos e inibe o relaxamento dependente do endotélio induzindo a expressão da molécula de adesão às células vasculares, e ainda, provocando um aumento dos níveis de fator de crescimento epidermal ligado à heparina nas células endoteliais. As LDL altamente oxidadas também podem inibir a migração das células endoteliais e comprometer a reparação de placas ulceradas em lesões ateroscleróticas avançadas; como são tóxicas para macrófagos, podem contribuir à amplificação do processo inflamatório e à formação do núcleo necrótico encontrado nas lesões avançadas. As LDL-oxidadas são também imunogênicas, pois há tanto uma resposta humoral quanto imunológica, típica de lesão inflamatória. Ainda, LDL-oxidada e seus produtos podem alterar outras propriedades vitais da parede arterial, tais como inibir o relaxamento das artérias coronárias mediado pelo fator de relaxamento dependente do endotélio. Certos produtos da LDL-oxidada são tóxicos para as células endoteliais e podem comprometer a integridade endotelial. Outros, podem estimular a liberação do fator tissular e iniciar o processo de coagulação, e ainda, podem participar da ruptura da placa e trombose (BATLOUNI, 1997).

As placas achadas nas paredes arteriais de indivíduos com aterosclerose contém grandes quantidades de colesterol, fornecendo uma pista de que o colesterol sérico pode ser um fator importante no seu desenvolvimento (TIERNEY JR et al., 2001). De acordo com JIALAL et al. (1996), um aumento na concentração de LDL no plasma constitui o maior fator de risco para aterosclerose.

Estudos epidemiológicos estabeleceram que quanto maior o nível de colesterol LDL, maior o risco de doença coronária aterosclerótica. Recentes trabalhos sugerem que partículas de LDL que se tornaram oxidadas podem ser particularmente aterogênicas. Assim, há interesse crescente no papel de antioxidantes, tais como vitaminas C e E, beta-caroteno e flavonóides entre outros, na prevenção e no tratamento da doença aterosclerótica. O tamanho da própria molécula de LDL pode influenciar na sua aterogênese. Assim para as mesmas concentrações de LDL, as pessoas com grande número de partículas menores

parecem ter um risco mais alto para doença cardíaca coronariana (TIERNEY JR et al., 2001).

Acredita-se que a oxidação da LDL colesterol ocorra no interior das artérias quando estas partículas se tornam isoladas dos antioxidantes hidrossolúveis circulantes (ESTEVES & MONTEIRO, 2001).

A concentração de LDL no plasma sanguíneo tem sido associada com a aceleração do processo ateromatoso. Estudos têm demonstrado a associação inversa entre uma dieta rica em compostos polifenólicos antioxidantes e a incidência de doenças cardiovasculares. A habilidade dos flavonóides de proteger a LDL das modificações oxidativas *in vivo* depende de sua absorção, metabolismo e em particular, da associação destes compostos com as lipoproteínas. O mecanismo exato pelo qual os flavonóides inibem a oxidação de LDL é incerto. Sabe-se que estes podem reduzir a formação de radicais livres ou proteger o α -tocoferol da molécula de LDL da oxidação. Alternativamente, ainda podem regenerar o α -tocoferol por doação de um átomo de hidrogênio à molécula deste. Podem inibir a oxidação de LDL por quelar um íon divalente metálico e reduzir a fermentação dos radicais livres. A hidroxilação do núcleo flavona é vantajosa na medida em que a flavona isoladamente é um pobre inibidor da oxidação de LDL. Entretanto, a polihidroxilação dos flavonóides aglicona como quercetina e morina são potentes inibidores desta oxidação (COOK & SAMMAN, 1996).

Muitos estudos demonstraram que algumas classes de flavonóides podem inibir o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas em coelhos (HELLER et al., 1998).

Segundo NAGEM et al. (1994) as altas taxas de colesterol no organismo, são responsáveis pelo aparecimento de distúrbios cardiovasculares. Em seu trabalho, dentre os flavonóides testados, a quercitrina, isoquercitrina, formonometina, biochanina A, rutina e quercetina foram os flavonóides que mais influenciaram na diminuição dos teores de lipídeos sanguíneos, nessa ordem. Os mesmos compostos flavonoídicos testados induziram também a síntese de enzimas metabolizadoras de drogas, que atuam com o objetivo de facilitar a metabolização destas substâncias. Alguns flavonóides particulares inibem a

agregação plaquetária e sua adesão aos capilares reduzindo a tendência à trombose. Outros inibem este processo plaquetário por antagonizarem a formação de tromboxano e a função do receptor de tromboxano. Um dos mais potentes mecanismos de inibição deste processo é mediado pelo incremento nos níveis de AMPc nas plaquetas, pela simulação da adenilato ciclase ou inibição da atividade da AMPc fosfodiesterase. Em adição aos efeitos antiagregatórios, os flavonóides atuam no incremento da vasodilatação, através da inibição da proteína quinase C ou pelo decréscimo na recaptação celular de cálcio (COOK & SAMMAN, 1996).

SCHRAMM et al. (1998) citaram os efeitos inibitórios de alguns flavonóides na etiologia de desordens cardiovasculares. O processo de formação da aterosclerose pode ser desencadeado por vários fatores. Um deles é a oxidação de carboidratos através de receptores de glicação e glicosilação. Estas transformações levam a oxidação do LDL, por liberação de radicais livres, que se liga a receptores causando lesão no endotélio. Também pode ocorrer replicação viral ou bacteriana. Na replicação bacteriana, há liberação de toxinas, ocorrendo ativação de leucócitos e liberação de mediadores inflamatórios, seguido de adesão de leucócitos, liberação de interleucinas, formação e liberação de células espumosas e isquemia do tecido, o que leva à ativação de proteases, danos aos miócitos e instabilidade das plaquetas. Os flavonóides quercetina, genisteína, isoliquiritigenina, apigenina e outros atuam impedindo todos esses processos por inibir o crescimento e a replicação bacterianas, causando danos ao DNA bacteriano, inibindo a autooxidação da glicose, provocando o decréscimo no ataque proteolítico em proteínas fibrosas e a acumulação de proteoglicanos e hialuroma, inibindo a atividade da elastase, tripsina e alfacianotripsina, inibição da ativação leucocitária, protegendo as células contra o ataque de vírus, por inibir a replicação de partículas do vírus ou por inibir a atividade da tirosina kinase, responsável pela formação de mediadores do metabolismo viral. SCHRAMM et al.(1998) ainda citaram a habilidade dos flavonóides em inibir a peroxidação lipídica, promover vasodilatação e atuar como compostos estrogênicos, impedindo também desta forma a agregação plaquetária.

De acordo com CHUNG (1993) os flavonóides quercetina, kaempferol, rhamnazina, rhamnetina, rutina e o composto fenólico semelhante xantona, demonstraram uma ação vasodilatadora em aorta de ratos, tendo sido ainda uma ação antiplaquetária atribuída a estes compostos.

Os efeitos do flavonóide quercetina na inibição da oxidação do LDL e inibição da proliferação de linfócitos foram demonstrados por CARRERO *et al* (1998), "in vitro". Segundo HEINONEN *et al.* (1998) os flavonóides presentes em cerejas também contém atividade antioxidante, prevenindo a oxidação do LDL. Em seu estudo, citaram ainda que a quantidade destes compostos presentes na fruta analisada é consideravelmente elevada, de 100mg/kg de flavan – 3 – ois e 300mg/kg de flavonóis.

Os flavonóides sorbarina, luteolina, cirsimarina, baicalina, 6 – hidroxiluteolina, baicaleína, 7 – glicosil - luteolina, scutellareína, apigenina e outros foram demonstrados por apresentar atividade antioxidante "in vitro" (YOKOZAWA *et al.*, 1997).

Um estudo feito com bagas, frutos pequenos de polpa mole e sem caroço, tais como a uva, demonstrou a correlação entre compostos fenólicos presentes em sua composição, e o efeito antioxidante em LDL. Em LDL, o extrato destes frutos pode inibir a formação de hexanal na seguinte ordem: amoras>framboesas>cerejas>mirtilo>morangos. Análises por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) demonstraram a presença predominante de antocianinas em amoras, ácido hidroxicinâmico em mirtilo e cerejas, flavonol em mirtilo e flavan-3-ol em framboesas. A atividade antioxidante para LDL foi associada diretamente com antocianinas e indiretamente com flavonóis (HEINONEN *et al.*, 1998). De acordo com TEISSEDRE *et al.*(1996), os flavonóis puros, como a quercetina, rutina e miricetina, somente inibem completamente a oxidação de LDL quando testados a 7,5 e 10µg/Kg. MEYER *et al.* (1998) salientaram ainda que pode não haver sinergismo entre compostos fenólicos como entre quercetina e cianidina ou entre quercetina e ácido cafeico no sistema LDL.

JORGE *et al.* (1998) estudaram os efeitos da beringela sobre os lipídeos plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na

hipercolesterolemia experimental e observaram que, o suco de beringela administrado a coelhos hipercolesterolêmicos reduziu significativamente o peso corpóreo, o colesterol total, as LDL plasmáticas, os triglicérides, o colesterol tecidual, a peroxidação lipídica das LDL nativas, oxidadas e da parede arterial, assim como aumentou o relaxamento dependente do endotélio.

VELIOGLU et al. (1998) estimaram a atividade antioxidante de flavonóides e o total de compostos fenólicos presentes em alguns frutos, vegetais e grãos, incluindo semente de girassol, de linho, germe de trigo e outros. O conteúdo total de compostos fenólicos variou entre 169 a 1548 mg/100g do produto úmido. A correlação entre o total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante foi estatisticamente significativa.

De acordo com BATLOUNI (1997), os flavonóides são compostos essencialmente antioxidantes. A quercetina, principal flavonóide, é removedora dos radicais superóxido, oxigênio simpleto e peróxidos lipídicos inibindo a oxidação das LDL e os efeitos citotóxicos das LDL-OX.

No vinho tinto, as frações de antocianina são mais eficazes para inibir a oxidação de LDL (GHISELLI *et al*, 1998). O mesmo vale para sucos de frutas (FRANK *et al*, 1998). STEIN et al. (1999) demonstraram em seu estudo que o suco de uva pode prevenir eventos cardiovasculares, independente do álcool pois seus flavonóides, são suficientes para induzir a vasodilatação do endotélio dependente e inibir a oxidação de LDL. O chá preto também foi estudado por conter flavonóides antioxidantes e observou-se uma relação direta entre o consumo deste e a menor incidência de aterosclerose (DUFFY et al., 2001).

De acordo com PACKER et al. (1999), o Pyenogenol (PYC) é um extrato composto de uma mistura de flavonóides, ácidos fenólicos e procianidinas com atividade antioxidante. Estudos indicam que seus componentes são altamente biodisponíveis. PYC tem sido estudado por seus efeitos cardiovasculares como atividade vasorelaxante e aumento de permeabilidade capilar, entre outros. De acordo com os autores, estas propriedades da substância se devem em grande parte à presença de flavonóides em sua composição.

Segundo HODGSON et al. (2002) os compostos flavonóidicos presentes nos chás, de uma maneira geral, podem prevenir casos de doenças cardiovasculares, pois estes podem inibir a peroxidação lipídica.

A hipótese de que a peroxidação lipídica desempenha importante papel na patogênese da aterosclerose despertou crescente entusiasmo sobre o uso de antioxidantes como agentes antiaterogênicos. Antioxidantes intracelulares incluem as moléculas de baixo peso que oxidam espécies, e enzimas que degradam os superóxidos e hidroperóxidos. Os hidrofóbicos são encontrados nas membranas celulares onde eles inibem ou interrompem reações de peroxidação lipídica. Em células animais, eles incluem os α -tocoferol (vitamina E) e os carotenóides. Reações cooperativas e sinérgicas entre eles protegem contra a peroxidação lipídica e promovem a proteção contra enzimas (CHAUDIÉRE & FERRARI-ILIOU, 1999). Os antioxidantes mais investigados tanto em experimentação animal como no homem estão demonstrados no quadro 1. A ingestão diária elevada de frutas e vegetais, refletindo provavelmente a ingestão de vitaminas antioxidantes e de outros componentes ativos neles contidos, associou-se inversamente com a incidência de doenças cardiovasculares (WTZTUM, 1994; PIETTA, 2000).

Quadro 1. Propriedades dos principais agentes antioxidantes estudados

COMPOSTO	PROPRIEDADE
Vitamina E	<ul style="list-style-type: none"> - Antioxidante lipossolúvel potente - Previne a peroxidação lipídica - Reduz a ativação plaquetária e inibe os fatores de coagulação dependente da vitamina K - Inibe as ações da LDL-oxidada no endotélio - Inibe a secreção de interleucina 1 pelos monócitos
Beta-caroteno	<ul style="list-style-type: none"> - Antioxidante lipossolúvel - Potente seqüestrador do oxigênio simpleto
Vitamina C	<ul style="list-style-type: none"> - Antioxidante lipossolúvel - Removedor dos radicais superóxido, hidroxila e oxigênio singlet - Preserva os níveis de vitamina E e beta-caroteno durante o estress oxidativo
Flavonóides	<ul style="list-style-type: none"> - Atividade antioxidante potente, atribuída aos radicais polifenólicos - Quercetina remove radicais superóxido, oxigênio singlet e peróxidos lipídicos - Inibem oxidação das LDL e atividade citotóxica das LDL-OX
Probucol	<ul style="list-style-type: none"> - Potente antioxidante, protege a LDL da modificação oxidativa - Reduz a captação e degradação das lipoproteínas pelos macrófagos - Inibe a liberação de interleucina 1 pelos monócitos e ativação da proteína quinase C

FONTE: BATLOUNI , 1997.

2.5.3. CONDIÇÕES SECUNDÁRIAS QUE AFETAM O METABOLISMO LIPÍDICO

Numerosos fatores afetam o colesterol plasmático e representam potencial interferência com efeitos específicos no metabolismo lipídico. O colesterol sérico depende de muitas condições, como o tipo de proteína consumida, a presença ou ausência de colesterol na dieta, a composição da dieta como um todo, a idade e o estado nutricional do indivíduo (GUERMANI-NICOLE, 2001). A tabela 3 esquematiza as principais causas de anormalidades lipídicas comumente observadas na população mundial.

Tabela 2. Causas secundárias das anormalidades lipídicas

Causa	Anormalidade Lipídica Associada
Obesidade	Aumento de triglicérides, diminuição do colesterol HDL
Estilo de vida sedentário	Diminuição do colesterol HDL
Diabetes	Aumento de triglicérides, aumento do colesterol total
Uso de álcool	Aumento de triglicérides, aumento do colesterol HDL
Hipotiroidismo	Aumento do colesterol total
Hipertireoidismo	Diminuição do colesterol total
Síndrome nefrótica	Aumento do colesterol total
Insuficiência renal crônica	Aumento do colesterol total, aumento de triglicérides
Doença hepática (cirrose)	Diminuição do colesterol total
Doença hepática obstrutiva	Aumento do colesterol total
Câncer	Diminuição do colesterol total
Doença de Cushing (ou uso de esteróides)	Aumento do colesterol total
Contraceptivos orais	Aumento de triglicérides, aumento do colesterol total
Diuréticos	Aumento do colesterol total, aumento de triglicérides
Beta-bloqueadores	Aumento do colesterol total, diminuição do HDL

FONTE: TIERNEY JR et al., 2001

2.5.4. OBESIDADE – UM FATOR DE PREDISPOSIÇÃO ÀS DISLIPIDEMIAS

Definida simplesmente como um acúmulo ou excesso de tecido gorduroso corporal há alguns anos atrás (FELDMAN, 1988), a obesidade é hoje um problema de saúde mundial e emergente. Doença de evolução crônica e caráter epidêmico, atravessa fronteiras acometendo países economicamente desenvolvidos ou em vias de desenvolvimento. Não respeita idades crescendo entre crianças, jovens e adultos. Estudos realizados pela OMS, como o “Monitoring of trends and determinants in Cardiovascular diseases” (MONICA), onde foram avaliados mulheres e homens, entre 35 e 64 anos, de 48 populações diferentes, predominantemente européias, entre 1983 e 1986, mostraram que em quase todas populações, os índices de sobrepeso / obesidade (IMC 25 - 30 kg/ m) variaram entre 50% e 75%, sendo mais prevalentes as mulheres do que os homens. Estes números chamaram a atenção da comunidade científica internacional, na medida que os estudos apontavam a enfermidade como um indicador prognóstico de morbidade e mortalidade. Foram organizadas campanhas governamentais e congressos internacionais onde o tema recebeu destaque. A afirmação de que a perda do excesso ponderal poderia contribuir para a melhora da qualidade de vida destes indivíduos, bem como para sua longevidade, foi constatada e divulgada. Nesta mesma época foi criado o “International Obesity Task Force” (IOTF), reunindo representantes renomados de várias nacionalidades, inclusive do Brasil, onde foi proposto encontros anuais com o objetivo urgente de se criar uma estratégia mundial capaz de controlar o crescimento desenfreado desta epidemia. A partir deste momento ficou estabelecido que quando a meta é saúde, não basta perder o excesso de peso corporal, é preciso algo mais; é preciso estabelecer novos hábitos de vida, mais saudáveis, que permitam a manutenção do peso perdido. A obesidade está relacionada com um grande número de distúrbios e associada em diferentes graus com níveis de mortalidade. (FELDMAN, 1988)

2.5.4.1. DOENÇAS X OBESIDADE

Entender a obesidade é o melhor caminho para evitá-la. A relação entre a obesidade e o risco de doenças, tanto para homem como para mulher, é hoje área de muita pesquisa. Sabe-se que a obesidade severa está associada a um aumento de 12 vezes na mortalidade em pessoas entre 25 e 35 anos, em comparação a indivíduos com peso normal (BLOCK, 1994).

Estudos epidemiológicos encontraram relações fortes entre a obesidade e uma série de doenças, tais como diabetes, hipertensão, derrame, apnéia do sono, alguns tipos de câncer, doenças hepáticas, doenças da vesícula biliar, doenças ósseas e das articulações, doenças cardiovasculares, hipertensão arterial sistêmica e hiperlipidemias (SIMON-VERMONT & KELLER, 2000).

Segundo OLDENBURG & PIJL (2001), a obesidade está associada com fatores metabólicos e hemodinâmicos que oferecem risco à desordens cardiovasculares. Estes riscos provavelmente resultam do contínuo depósito de ácidos graxos no fígado via veia porta. Hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, hipertensão, resistência à insulina e aumento na síntese de glicose hepática, comuns no indivíduo obeso, constituem todos em fatores de risco independentes para aterosclerose. Suas combinações aumentam o risco de desordens cardiovasculares consideravelmente. Um aumento de triglicérides nos hepatócitos é outra conseqüência do aumento de ácidos graxos no fígado, decorrente da obesidade. Recentemente, a esteatose hepática foi considerada uma condição secundária à obesidade.

Existe uma grande associação entre obesidade e hiperlipidemia, que é caracterizada pelo excesso de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que carregam colesterol e triglicérides no sangue. A concentração elevada destas lipoproteínas pode acelerar o desenvolvimento da aterosclerose, com chances de evoluir para trombose e infarto. Segundo relatório publicado pela “*Synergy Medical Education*”, cerca de 30% dos pacientes obesos apresentam hiperlipidemia. Isto ocorre pelo aumento do colesterol total do corpo, armazenado no tecido adiposo. Na maioria dos países, pelo menos um em cada 12 pacientes obesos apresentam problemas de hipertensão e hiperlipidemia, concomitantemente (BLOCK, 1994).

Homens e mulheres com uma elevada proporção de gordura abdominal freqüentemente apresentam hipertensão, concentrações elevadas de glicose, insulina plasmática, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de densidade baixa (LDL); e baixas concentrações de lipoproteínas de densidade alta (HDL) (BLOCK, 1994).

A relação de longo prazo entre obesidade e o risco de doenças cardiovasculares, incluindo hipertensão, aterosclerose e derrame é considerável tanto para homens quanto para mulheres. Dados estatísticos apontam que uma mulher com índice de massa corporal (IMC) > 29, apresenta um risco 3,5 vezes maior de desenvolver doenças cardiovasculares do que uma mulher com o IMC entre 21 e 25. A relação entre obesidade e morte por doença coronária torna-se mais pronunciada quanto mais tempo uma pessoa permaneça obesa. Um dos maiores estudos de longo prazo sobre hipertensão (ainda em andamento), o “Framingham Heart Study”, considerou o peso como o terceiro maior indicador de doenças coronárias entre homens (BLOCK, 1994).

Segundo LAKKA et al. (2001), a obesidade abdominal, aferida pela medida da razão cintura/quadril, é um fator acelerador da progressão da aterosclerose, principalmente do processo ateromatoso da carótida, sendo um importante fator de risco cardiovascular.

2.6. DESORDENS HEPÁTICAS

Muitas pessoas obesas têm níveis anormais de gordura em seu fígado (esteatose). Esse excesso de gordura pode inflamar o fígado e acabar causando hepatite crônica ou cirrose hepática. Para evitar essa doença, a perda de peso é a melhor alternativa (BLOCK, 1994).

Segundo HENIER et al. (1991), a susceptibilidade para se acumular gotículas gordurosas no fígado é particularmente genética. No entanto, os mecanismos que levam a esteatose hepática são pouco conhecidos, mas estes podem envolver perturbações na síntese de lipoproteínas hepática.

HILDEN & CLAUSEN (1975) estudaram a relação entre a esteatose hepática e as anormalidades lipídicas no soro sanguíneo. Dentre os pacientes hepatopatas observou-se incidência de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, sustentando a tese de interligação entre estas desordens.

De acordo com GUZZALONI et al. (2000), existe uma estreita relação entre obesidade, desordens lipídicas e a ocorrência de esteatose hepática. Em seu estudo realizado com adolescentes, o autor observou que a obesidade juvenil envolve um grande risco de desenvolvimento de esteatose hepática, associada à desordens lipídicas.

O fígado é o principal órgão metabolizador de colesterol e triglicerídeos e responsável pela síntese das lipoproteínas. As desordens lipídicas primárias do metabolismo podem levar à esteatose hepática. O fator de risco principal é a hipertrigliceridemia, já a hipercolesterolemia não é um fator de risco potencial para a etiologia da esteatose (STUDENIK, 2000).

Há a esteatose alcoólica e a não alcoólica. Muitas podem ser as causas da não alcoólica, incluindo o rápido ganho de peso em indivíduos obesos, administração de nutrição parenteral total, drogas, toxinas industriais e desordens caracterizadas por extrema resistência à insulina, entre outros. Entretanto, a etiopatogênese em muitos casos de esteatose não alcoólica parece multifatorial. Obesidade, diabetes tipo II e hipertrigliceridemia são freqüentemente associados à esteatose hepática. O fígado gordo é vulnerável à injúria hepatocelular iniciada por espécies de O₂ reativas (CHITTURI & FARRELL, 2001).

2.7. FISILOGIA DO METABOLISMO DE COELHOS

Os animais podem classificar-se de acordo com o seu comportamento alimentar e a fisiologia do trato digestivo. Presuposto que a capacidade digestiva do coelho é diferente dos animais domésticos, é conveniente descrever brevemente seu distinto comportamento alimentar, a fim de compreender as características únicas destes animais (ARRINGTON et al., 1974).

Os coelhos são herbívoros selecionadores de concentrados, o que os difere em parte dos outros animais herbívoros. Eles são preferencialmente consumidores de alimentos de origem vegetal de baixo teor de fibras e alto teor de proteínas e carboidratos (ARRINGTON et al., 1974).

Os herbívoros são animais que normalmente só ingerem produtos de origem vegetal. Eles tem, na maioria dos casos, tratos digestivos que abrigam uma população microbiana que participa da digestão das fibras dos vegetais. Os principais locais do trato digestivo destes animais que se produzem o crescimento microbiano e a fermentação são o estômago e o intestino grosso. Nos coelhos, esta fermentação ocorre principalmente no intestino grosso. O crescimento microbiano nestes animais determina a síntese de aminoácidos, digestão de fibras, formação de ácidos graxos procedentes da fermentação dos carboidratos e síntese de vitaminas do complexo B. estes produtos são utilizados por absorção direta ou por reabsorção fecal, o que se denomina coprofagia (CHEEKE et al., 1986).

O coelho está adaptado para utilizar rações de alto conteúdo em alimentos fibrosos, sendo sua estratégia diferente daquela para os ruminantes e os que fermentam alimentos no cólon. Em essência, a estratégia digestiva para o coelho consiste em eliminar a fibra do intestino o mais rapidamente possível e dedicar os processos digestivos à degradação dos componentes não fibrosos da ração. Desta maneira, a ingestão não se encontra limitada pela fibra. Provavelmente esta é uma conseqüência do pequeno tamanho dos coelhos. A atividade metabólica dos animais de pequeno tamanho é muito elevada. Esta adaptação fisiológica permite aos coelhos utilizar a erva sem o inconveniente de necessitar de um intestino excessivamente grande. Em comparação com outros herbívoros não ruminantes o coelho é pouco eficiente na digestão de fibras e como conseqüência obtém menos energia digestiva dos alimentos grosseiros que outros herbívoros e ruminantes. A figura 7 mostra as características gerais do trato digestivo do coelho (ARRINGTON et al., 1974).

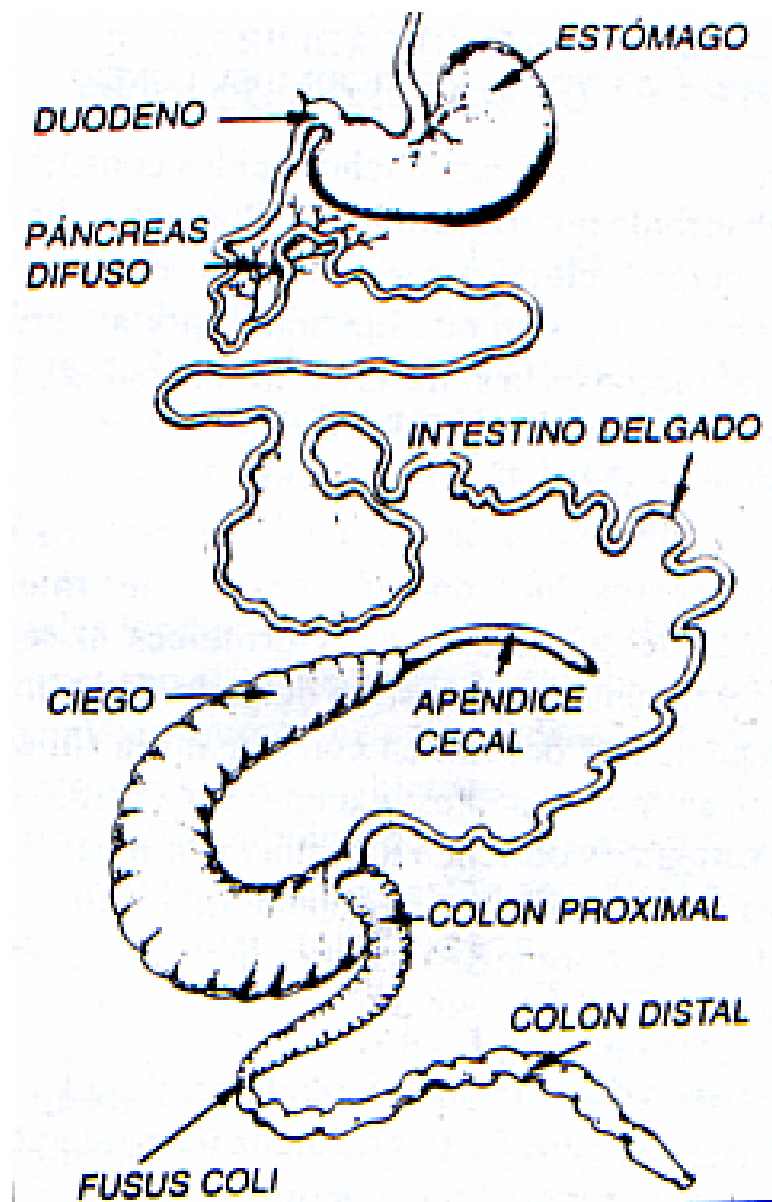
Os processos digestivos iniciam-se no momento da ingestão dos alimentos. A mastigação dos alimentos é muito intensa, reduzindo o alimento à partículas de

pequeno tamanho. O estômago do coelho tem o pH extremamente baixo, o que é muito eficaz para matar as bactérias e outros microorganismos, de maneira que o estômago e o intestino delgado deste animal são praticamente estéreis. Apesar da alta acidez do estômago, este órgão dá lugar a uma pequena fermentação. O intestino delgado é o principal local de digestão e absorção. O pâncreas é o principal produtor das enzimas que participam do processo digestivo (CHEEKE et al., 1986).

A bile se forma nas células hepáticas e seus principais componentes são os ácidos biliares, estes por suas vez são provenientes do colesterol hepático. O coelho se diferencia na formação dos pigmentos biliares. A maioria dos mamíferos secretam bilirrubina, o coelho secreta principalmente biliverdina (CHEEKE et al., 1986).

As proteínas são digeridas no coelho pelas enzimas próprias sintetizadas pelo animal e pelos processos microbianos. Ambos os processos tem importância. Essa digestão é feita no estômago e intestino delgado. A elevada acidez do estômago provavelmente origina a hidrólise das proteínas. ROBINSON et al (1985) indicaram que a capacidade dos coelhos para digerir eficientemente as proteínas é consequência da retenção seletiva dos componentes não fibrosos no intestino (FEKETE et al., 1985)

Os lipídeos alimentares são digeridos no intestino delgado, através de enzimas lípases secretadas pelo pâncreas. Os ácidos graxos insaturados consumidos pelos ruminantes se hidrogenam no rúmen, convertendo-se em ácidos graxos saturados, que determinam o alto conteúdo de ácidos graxos saturados nos lipídeos séricos de ruminantes. Não se sabe se esta hidrogenação tem lugar no intestino grosso do coelho, mas sabendo-se que a absorção de ácidos graxos se realiza no intestino delgado, é pouco provável que se produza uma hidrogenação apreciável de ácidos graxos insaturados no coelho (FEKETE et al., 1985)



FONTE: FEKETE et al., 1985

Figura 7. Representação esquemática das distintas partes do trato digestivo do coelho

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS E LOCAIS DOS EXPERIMENTOS

Coelhos Nova Zelândia, machos e fêmeas, albinos, com 45 dias de idade, pesando em média 2kg, foram fornecidos pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Os ensaios Biológicos foram realizados no laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais à temperatura ambiente na área de criação do mesmo laboratório, recebendo 120g/dia de ração comercial SOCIL e água à vontade. As dosagens analíticas foram efetuadas no mesmo laboratório.

A segunda parte experimental, que consistiu na análise morfológica dos tecidos hepáticos dos animais utilizados nos três ensaios biológicos realizados, foi feita no laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV.

3.2. INDUÇÃO DE HIPERLIPIDEMIA POR COLESTEROL SINTÉTICO E ÁCIDO CÓLICO ASSOCIADOS

Os testes foram executados utilizando-se 7 animais para cada grupo de substâncias testadas. Foram administrados para cada grupo de animais a ração acrescida de 1% de colesterol sintético e 0,1% de ácido cólico, ambos em relação ao peso da ração consumida. Assim esses grupos foram induzidos ao estado de hiperlipidemia.

3.3. ANÁLISE DA REDUÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPÍDEOS SÉRICOS PELO FLAVONÓIDE CRISINA

Conduzido com o objetivo de verificar a eficácia do flavonóide crisina na redução de lipídeos séricos em coelhos albinos machos alimentados com ração da marca SOCIL e induzidos à dislipidemia por oferta de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%) adicionados à ração. Os compostos utilizados e seus respectivos grupos estão relatados na Tabela 3.

Tabela 3. Relação dos grupos de substâncias testadas

Grupos	Dieta
1 (grupo controle)	Ração
2 (grupo controle hipercolesterolêmico) (RCAC)	Ração + Colesterol (1%) + Ácido cólico (0,1%)
3	RCAC+ Crisina (10mg)
4	RCAC + Colestiramina* (10mg)

R: Ração / C: Colesterol / AC: Ácido Cólico / RCAC: Ração + Colesterol (1%)+ Ácido Cólico (0,1%)

* Colestiramina: Medicamento comercial hipolipidêmico

Delineamento inteiramente casualizado, com número de repetições = 7

Estes compostos foram fornecidos aos animais durante 25 dias, por via oral, sendo a crisina e a colestiramina em cápsulas e os demais homogeneizados

à ração. Nos primeiros 5 dias do experimento, os animais dos quatro grupos receberam somente ração e água, a fim de promover um período de adaptação anterior ao início do experimento propriamente dito. Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, com 7 animais cada, de modo que a média de peso entre os grupos fosse a mais próxima possível. Os pesos dos animais foram monitorados quinzenalmente, a partir do primeiro dia do período de adaptação.

As amostras de sangue foram coletadas quinzenalmente nos tempos zero (primeiro dia de experimento, antes da administração dos compostos), 16° e 31° dias do ensaio. Estas foram centrifugadas e no soro foram feitas dosagens de colesterol, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose, utilizando-se Kits específicos para análise da marca Biolab. Estes parâmetros sanguíneos foram determinados analiticamente utilizando o analisador automático Alizé.

Após o término do experimento foram coletadas amostras de fígado dos animais, numa repetição de quatro amostras para cada grupo de substâncias, escolhidos ao acaso. Estes cortes de tecido hepático foram colocados em solução fixadora de formol tamponado 10%, após 24h, as amostras de tecido foram transferidas para álcool 70' onde permaneceram até a inclusão. Eles foram incluídos em paraplast e historesina. Os cortes incluídos em paraplast foram corados em hematoxilina e eosina, enquanto que aqueles incluídos em historesina foram corados em solução de azul de toluidina-Borato de sódio 1%. Para os cortes incluídos em paraplast procedeu-se a desparafinização anterior à coloração. Lâminas de cortes destes tecidos foram confeccionadas, na proporção de três preparações para cada animal para paraplast, e três de cada animal para historesina. Estas lâminas foram analisadas qualitativamente de acordo com o número de gotículas de gordura depositadas no tecido para cada grupo, tendo sido comparadas umas às outras e aos grupos controle.

3.4. ANÁLISE COMPARADA DAS PROTEÍNAS DE SOJA E DA CASEÍNA NA REDUÇÃO DOS NÍVEIS DE LIPÍDEOS SÉRICOS

Conduzido com o objetivo de verificar o efeito hipolipidêmico da proteína de soja (proteimax) na redução de lipídeos séricos; verificar o efeito hiperlipidêmico

da proteína de origem animal (caseína); e ainda, comparar os efeitos da ingestão de proteimax e caseína nas dislipidemias em coelhos albinos machos alimentados com dieta da marca SOCIL, e induzidos à dislipidemia por oferta de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%) adicionados à ração. Os compostos utilizados e seus respectivos grupos estão relatados na tabela 4.

Tabela 4. Relação dos grupos de substâncias testadas

GRUPOS	Dieta
1	R
2	(RCAC)
3	RCAC + Caseína (10%)
4	RCAC + Proteimax (10%)
5	RCAC + Colestiramina* (10mg)

R: Ração / C: Colesterol / AC: Ácido Cólico / RCAC: Ração + Colesterol (1%)+ Ácido Cólico (0,1%)

* Colestiramina: Medicamento comercial hipolipidêmico

Delineamento inteiramente casualizado, com número de repetições = 6

Neste experimento procedeu-se a mesma metodologia empregada para o primeiro ensaio biológico, descrita anteriormente, exceto que foram utilizadas 6 repetições.

3.5. EFEITO DA XANTONA NO METABOLISMO LIPÍDICO

Conduzido com o objetivo de verificar um possível efeito da xantona no metabolismo lipídico, comparando-se este efeito com flavonóides análogos descritos na literatura, em coelhos albinos fêmeas alimentados com dieta da marca SOCIL, e induzidos à dislipidemia por oferta de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%) adicionados à ração. Os compostos utilizados e seus respectivos grupos estão relatados na Tabela 5.

Tabela 5. Relação dos grupos de substâncias testadas

GRUPOS	Dieta
1	R
2	(RCAC)
3	(RCAC) + Xantona (10mg)

R: Ração / C: Colesterol / AC: Ácido Cólico / RCAC: Ração + Colesterol (1%)+ Ácido Cólico (0,1%)

Delineamento inteiramente casualizado, com número de repetições = 7

Neste experimento procedeu-se a mesma metodologia empregada para o primeiro ensaio biológico, descrita anteriormente.

3.6. ANÁLISES DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS: COLESTEROL TOTAL, LDL-COLESTEROL, HDL-COLESTEROL, TRIACILGLICERÓIS E GLICOSE

3.6.1. Dosagem de Colesterol Total

Para efetuar as dosagens sorológicas de colesterol total, nos três experimentos, foi utilizado o kit Biolab-bioMérieux S/A. A análise deste constituinte sanguíneo foi efetuada no soro, após centrifugação do sangue, retirado do plexo retro-orbital dos animais.

A análise colorimétrica do colesterol no soro obtido, baseia-se na transformação do colesterol esterificado em colesterol e ácidos graxos, catalisada pela enzima colesterol oxidase. O colesterol formado é oxidado em reação catalisada pela enzima colesterol esterase 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 500nm e em água.

As dosagens foram feitas utilizando o equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé). Foi colocado no equipamento uma solução tampão fosfato pH 7,0 a 0,1 mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas

e separadamente para os soros sanguíneos a serem analisados. Após programado, o equipamento promoveu a mistura da solução mencionada acima com o soro a ser analisado, que foram incubados por um tempo determinado, a uma temperatura de 37°C. As leituras de absorvância foram feitas a um comprimento de onda de 500nm, fornecendo o resultado em mg/dL de colesterol total no soro sanguíneo.

3.6.2. Dosagem de colesterol-HDL

Para a dosagem sorológica do colesterol-HDL foi utilizado o kit Biolab-bioMérieux S/A.

O princípio do método se baseia na precipitação dos quilomícrons e das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de baixa densidade (LDL), pela adição de ácido fosfotúngstico na presença de íons magnésio. No sobrenadante obtido por centrifugação, estarão presentes as lipoproteínas de alta densidade (HDL), e o colesterol presente nesta lipoproteína será determinado pelo mesmo processo descrito na dosagem de colesterol total. A técnica consiste em homogeneizar 500µg do soro, obtido por centrifugação, a 50µg do reativo 1. Essa mistura é deixada inerte durante 10 min e após esse período, procede-se à nova centrifugação durante 15 min a 5000 rpm. O sobrenadante é utilizado para a análise.

3.6.3. Dosagem de Triacilglicerol

A dosagem dos triacilgliceróis séricos foi feita por via inteiramente enzimática, utilizando-se o kit Biolab-bioMérieux S/A.

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

As dosagens foram feitas utilizando o equipamento de dosagens multiparamétrico de bioquímica (Alizé). Foi colocado no equipamento uma solução tampão fosfato pH 7,0 a 0,1 mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros sanguíneos a serem analisados. Após programado, o equipamento promoveu a mistura da solução mencionada acima com o soro a ser analisado, que foram incubados por um tempo determinado a uma temperatura de 37°C. As leituras de absorbância foram feitas a um comprimento de onda de 505nm, fornecendo o resultado em mg/dL de triacilglicerol no soro sanguíneo.

3.6.4. Estimativa de VLDL

Os valores de VLDL foram estimados em função do teor de triacilgliceróis, de acordo com QUINTÃO (1992), para a determinação dos níveis de LDL.

3.6.5. Estimativa de LDL

Os valores de LDL foram estimados, de acordo com QUINTÃO (1992), através da equação:

$$\text{Colesterol total} - \text{HDL} - \text{VLDL} = \text{LDL}$$

Onde os valores de HDL, colesterol total e triglicerídeos foram previamente obtidos, como mencionado anteriormente.

3.6.6. Dosagem de glicose

A glicemia (nível de glicose sanguínea) foi determinada pelo método enzimático de glicose oxidase utilizando-se o kit Biolab-bioMérieux S/A e o aparelho Alizé. Este método se baseia na formação de um cromógeno vermelho cinza, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose.

3.7. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO DOS ANIMAIS

Após o término dos experimentos, foram coletadas amostras de fígado dos animais, numa repetição de quatro amostras para cada grupo de substâncias, escolhidos ao acaso, a fim de proceder a análise histopatológica do órgão, verificando-se deste modo o acúmulo de gordura hepática, caracterizada

patologicamente como esteatose hepática. Estes cortes de tecido hepático foram mantidos em solução fixadora (formol tamponado 10%) e passados à solução de álcool 70' até o momento da inclusão. Eles foram incluídos em paraplast e historesina. Os cortes incluídos em paraplast foram corados em hematoxilina e eosina a 1% e os cortes incluídos em historesina foram corados em solução de azul de toluidina-Borato de sódio 1%. Lâminas de cortes destes tecidos foram confeccionadas, na proporção de três lâminas para cada animal para paraplast e três lâminas para cada animal para historesina. Estas lâminas foram analisadas qualitativamente de acordo com o número de gotículas de gordura depositadas no tecido para cada grupo, tendo sido comparadas umas às outras e aos grupos controle.

3.7.1. Confeção das lâminas por inclusão em paraplast

Foram coletados fragmentos diminutos do fígado. Estes fragmentos foram banhados em todos os álcoois, do 70 ao 95, passando após pelo álcool absoluto três vezes. Passaram por uma mistura de álcool + xilol e por xilol três vezes. O tempo de permanência em cada solução alcoólica foi de 30 min para os álcoois 70 a 95, 1 h para cada banho de álcool absoluto, 30 min para a mistura de álcool + xilol e 50 min para cada banho de xilol. Foram banhados em paraplast três vezes e deixados em inclusão na terceira solução de paraplast de um dia para o outro. O tempo de permanência para cada banho de paraplast foi de 1h. No dia seguinte, foram colocados em suportes de madeira e levados desta forma para o micrótomo, onde foram cortados e colocados nas lâminas. Procedeu-se o processo de desparafinização destes cortes, nas lâminas passando-as em todos os álcoois, começando do xilol até chegar ao álcool 70. Esta etapa foi executada sem tempo de permanência mínima em cada solução. Estas lâminas foram coradas com hematoxilina durante 1min e eosina durante ½ min, deixados em água corrente e após secagem analisadas microscopicamente.

3.7.2. Confeção das lâminas por inclusão em historesina

Fragmentos diminutos do fígado foram coletados. Estes fragmentos foram banhados em todos os álcoois, do 70' ao 95', passando após pelo álcool absoluto três vezes. Passaram por uma mistura de álcool + xilol e por xilol três vezes. Não houve tempo mínimo de permanência em cada solução. Foram banhados em resina e deixados nesta de um dia para o outro. No dia seguinte, os fragmentos foram retirados da solução de resina e passados à uma nova solução de resina, permanecendo nesta durante 2 horas. Decorrido o tempo, estes foram homogeneizados ao endurecedor e colocados em fôrmas próprias. Após o completo endurecimento, os fragmentos foram colocados em suportes de madeira e levados desta forma para o micrótomo, onde foram cortados e colocados nas lâminas. Estas lâminas foram coradas em azul de toluidina-Borato de sódio 1% durante 1 min, passados em água corrente e após secagem, analisadas microscopicamente.

3.8. TESTES ESTATÍSTICOS

Para comparar as dietas, as médias de colesterol, HDL, LDL, triacilglicerol e glicose foram submetidas ao teste t de Student, para duas amostras independentes, a 5% de probabilidade, em cada tempo de avaliação.

Para complementar, foram calculadas as porcentagens de variação de cada dieta, em relação à dieta com ração e à dieta (Ração + colesterol + ácido cólico).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise da Redução dos Níveis de Lipídeos Séricos e Peso Corporal pelo Flavonóide Crisina

Na tabela 6 foram analisados os teores de colesterol-total, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 4 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 6. Teores de colesterol (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Colesterol ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	39,42 ± 1,94 ³ b	-	-
	RCAC ²	128,82 ± 11,00 ³ a	+226,79	-
	RCAC ² + crisina	122,03 ± 2,95 ³ a	+209,56	-5,27
	RCAC ² + colestiramina	108,36 ± 4,24 ³ a	+357,53	-15,88
16	Ração	88,55 ± 2,51 ³ b	-	-
	RCAC ²	810,38 ± 187,81 ³ a	+815,17	-
	RCAC ² + crisina	424,49 ± 126,74 ³ a	+379,38	-47,62
	RCAC ² + colestiramina	545,79 ± 159,84 ³ a	+516,36	-32,65
31	Ração	132,33 ± 15,07 ³ b	-	-
	RCAC ²	1.112,02 ± 382,43 ³ a	+740,34	-
	RCAC ² + crisina	494,17 ± 78,86 ³ a	+273,44	-55,56
	RCAC ² + colestiramina	890,71 ± 320,47 ³ a	+573,10	-19,90

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

Pode-se observar que no tempo zero todos os animais, de todos os grupos de tratamento, apresentavam valores de colesterol dentro da faixa de normalidade, não sendo encontrado animal com estes valores acima de 200mg/dl.

A indução da hipercolesterolemia foi observada a partir do 16º dia de experimento. Pode-se confirmar tais resultados quando compara-se os dados do grupo controle que somente recebeu ração aos dados do grupo controle que recebeu ração + colesterol + ácido cólico (grupo controle hipercolesterolêmico). Este último obteve um aumento nas taxas de colesterol total de 815,17% e 740,34% nos 16º e 31º dias, respectivamente em relação ao grupo 1 controle para ração. O teste t de Student mostra uma diferença significativa entre os dois grupos controle. Entretanto, no tempo zero, os animais ainda não recebiam nenhuma substância além da ração, portanto, os dados deste tempo refletem na verdade o início do experimento, onde os animais ainda não apresentavam hipercolesterolemia. Observa-se que, mesmo após tendo sido induzida a hipercolesterolemia, no 16º dia, o aumento nas taxas de colesterol total continuaram, para o grupo controle hipercolesterolêmico, sugerindo que esse aumento é diretamente proporcional ao fornecimento de colesterol via oral.

Em relação ao flavonóide testado, crisina, verificou-se um efeito hipolipidêmico deste, na diminuição do colesterol total, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16º e 31º dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -47,62% e -55,56%, respectivamente. Tais valores foram maiores do que a porcentagem de variação para o grupo que recebeu colestiramina, -32,65% e -19,90% respectivamente, sugerindo uma maior eficácia do flavonóide em relação ao medicamento colestiramina vendido comercialmente. Contudo os valores de colesterol em mg/dL não apresentaram diferença significativa pelo teste t de Student entre estes dois grupos citados acima. Tal confirmação pode ser devida a dosagem utilizada no experimento, 10mg/dia/animal, sugerindo a necessidade de uma dosagem maior para a obtenção de diferenças significativas.

Alguns experimentos citam dosagens aumentadas. Segundo KELI et al (1996) a administração de 30mg de flavonóides/dia, reduzem o colesterol

sanguíneo e podem reduzir o risco de doenças coronarianas. Entretanto, observam-se estudos que citam dosagens menores. KOSHY & VIJAYALAKSHMI (2001) citam a atividade hipolipidêmica dos flavonóides de *Garcinia cambogia* numa administração a 10mg/kg/dia. Estes autores alertam ainda para um possível efeito tóxico destes flavonóides caso as dosagens sejam muito superiores.

A crisina tem sido citada por suas propriedades ansiolíticas devido a sua capacidade de se ligar a receptores benzodiazepínicos. Ela desenvolve este papel a 4 μ M/dia. Entretanto, para a atuação eficaz na diminuição do colesterol sanguíneo, pode ser necessária uma dosagem maior, devido a um mecanismo de ação indireto. Este pode estar ligado ao fato deste flavonóide ser ansiolítico, já que o “stress” emocional é um fator considerável, responsável pela elevação do colesterol total em muitos casos. (MAHAN & ARLIN, 1995).

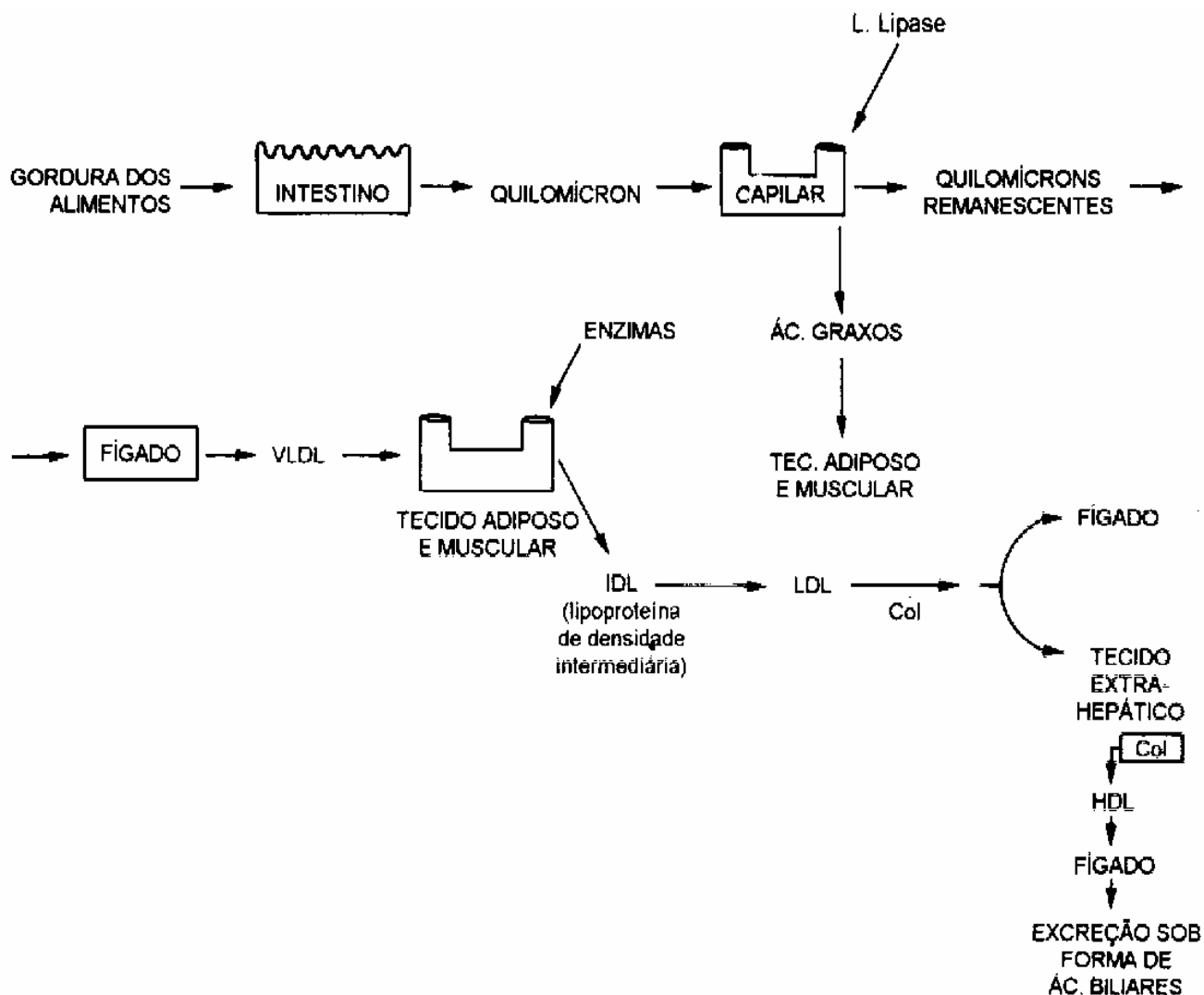
Pôde-se observar ainda, que a colestiramina diminuiu o colesterol total mais eficazmente no 16^o dia em relação ao 31^o dia, sugerindo um mecanismo de ação desta droga mais eficaz no início do tratamento, tendendo à menor eficácia com o decorrer do tempo. Entretanto, a crisina demonstrou ter um efeito inverso, pois manteve esta redução nos níveis de colesterol crescente com o decorrer do tempo. Tal resultado sugere um mecanismo de ação mais prolongado deste flavonóide e otimizado com o tempo de tratamento.

Normalmente até 97% dos ácidos biliares são reabsorvidos pela circulação êntero-hepática e apenas 3% são excretados nas fezes. As resinas de troca de ânions como a colestiramina, trocam o íon cloreto por ácidos biliares negativamente carregados. Como as resinas não são absorvidas, o efeito final é promover a excreção de ácidos biliares (REIHNER et al, 1990). A inibição do retorno de ácidos biliares ao fígado resulta em aumento na conversão de colesterol em ácidos biliares. Provavelmente há também uma leve diminuição na reabsorção de esteróis devido à perda de ácidos biliares. A perda de ácidos biliares, bem como de esteróides neutros, leva a aumento compensatório do número de receptores hepáticos de LDL e à indução da atividade HMG-COA redutase. Assim, o conteúdo de colesterol no hepatócito é restaurado pelo aumento de captação da LDL do plasma mediado pelo aumento da expressão do

receptor de LDL e pelo aumento da biossíntese de colesterol endógeno. Isso resulta tanto na diminuição dos níveis de LDL do plasma quanto na restauração da produção de ácidos biliares (ANGELIN et al, 1990). Entretanto, o aumento na biossíntese de colesterol parcialmente nega o potencial de diminuição dos níveis de LDL. Conseqüentemente, quando um inibidor de HMG-CoA redutase é adicionado, há uma maior depleção dos níveis de colesterol intracelular (ou pelo menos de um “pool” metabólico crítico), um maior aumento na expressão do receptor de LDL e uma diminuição aditiva dos níveis de LDL do plasma. A inibição do retorno de ácidos biliares ao fígado leva tanto ao aumento da biossíntese de colesterol quanto ao aumento da síntese de triglicerídeos, que por sua vez promove o aumento da liberação de VLDL e uma temporária elevação dos níveis de VLDL em indivíduos tratados com uma resina (HARDMAN et al, 1996).

Segundo ANILA & VIJAYALAKSHMI (2002), os flavonóides promovem uma redução no colesterol sanguíneo por promoverem uma redução na atividade da HMGCOA-redutase, um incremento na degradação e no consumo do colesterol e uma inibição na colesterogênese. Ainda, alguns estudos citam a propriedade dos flavonóides de promover um decréscimo na atividade da hidroxometilglutaril-CoA redutase e da esterol *o*-aciltransferase, duas enzimas chave para o metabolismo do colesterol (KUROWSKA et al., 2000).

Uma das maiores ações de flavonóides estão relacionadas também à formação de ácidos graxos pela ação da fosfolipase A_2 responsável pela hidrólise de fosfolípídeos presentes nas membranas celulares com a liberação de ácido araquidônico. Outros autores mostraram também que alguns flavonóides podem inibir a cicloxigenase e a lipoxigenase, impedindo a formação das prostaglandinas e leucotrienos, diminuindo com isso a formação de processos inflamatórios que ocorre na aterosclerose, por exemplo (LEE, et al, 1982; HOPE et al., 1983; MEYERS et al., 1984; SANTOS et al., 1999).



FONTE: BEVILACQUA et al., 1998

Figura 8. Destinos da gordura alimentar e as lipoproteínas

A Figura 8 acima ilustra o destino da gordura alimentar no metabolismo humano e as respectivas funções das lipoproteínas em relação ao transporte desta gordura. As LDL também conhecidas como “*mau colesterol*”, resultantes das VLDL transportam os lipídeos do fígado para os tecidos e uma pequena parte

retorna ao fígado. As HDL conhecidas como “*bom colesterol*”, desempenham o papel contrário, pois transportam o colesterol dos tecidos para o fígado, promovendo desta forma uma homeostase nas taxas de colesterol sanguíneas (BELAVACQUA et al., 1998).

Na Tabela 7 foram analisados os teores de LDL-colesterol, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 4 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 7. Teores de LDL (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	LDL ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	86,37 ± 19,54 ³ a	-	-
	RCAC ²	60,31 ± 4,78 ³ ab	-30,17	-
	RCAC ² + crisina	75,00 ± 41,16 ³ a	-13,16	+24,36
	RCAC ² + colestiramina	37,13 ± 6,53 ³ b	-57,01	-38,43
16	Ração	63,61 ± 7,76 ³ c	-	-
	RCAC ²	869,26 ± 72,28 ³ a	+1266,55	-
	RCAC ² + crisina	212,23 ± 39,97 ³ b	+233,64	-75,58
	RCAC ² + colestiramina	379,93 ± 160,87 ³ b	+497,28	-56,29
31	Ração	122,65 ± 16,52 ³ c	-	-
	RCAC ²	924,16 ± 126,11 ³ a	+653,49	-
	RCAC ² + crisina	538,63 ± 119,44 ³ b	+339,16	-41,72
	RCAC ² + colestiramina	519,91 ± 183,14 ³ b	+323,90	-43,74

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

Mesmo tendo sido observadas diferenças significativas estatisticamente no tempo zero, pode-se observar também que neste tempo todos os animais, de todos os grupos de tratamento, apresentavam valores de LDL-colesterol dentro da faixa de normalidade, não sendo encontrado animal com estes valores acima de 200mg/dl.

Da mesma forma que foi observado para colesterol total, observou-se um aumento nas taxas de LDL-colesterol nos 16° e 31° dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 1266,55% e 653,49% respectivamente. Este resultado é significativo. Tais resultados indicam a indução de um tipo de dislipidemia mais comum, onde o aumento do colesterol total é acompanhado de um aumento nas taxas de LDL-colesterol. Esta fração do colesterol total é a responsável pelas conseqüências danosas da elevação do colesterol sanguíneo, entre estas, as desordens cardiovasculares (TIERNEY JR et al., 2001). A oxidação do LDL-colesterol, que mais comumente ocorre quando há uma quantidade aumentada deste constituinte no sangue, é responsável em grande parte pela formação de placas ateromatosas no processo de aterosclerose (YOSHIDA et al., 1999).

Em relação ao flavonóide testado, crisina, verificou-se um efeito hipolipidêmico deste, na diminuição do LDL-colesterol, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -75,58% e -41,72%, respectivamente. Estes resultados foram considerados significativos pelo teste estatístico aplicado.

Em relação à colestiramina, não foram observadas diferenças significativas entre este grupo e o grupo que recebeu crisina, o que iguala o efeito hipolipidêmico deste flavonóide ao medicamento. Quando se observa as diferenças em relação as porcentagens de variação, verifica-se no tempo do 16° dia, uma redução mais eficaz proporcionada pela crisina, quando comparada à redução proporcionada pela colestiramina, de -75,58% e -56,29% respectivamente. No tempo do 31° dia, este efeito está praticamente igualado entre os dois grupos, -41,72% e -43,74% respectivamente para o grupo da crisina

e o grupo da colestiramina, todos em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico.

Os medicamentos seqüestradores de ácidos biliares diminuem os níveis de LDL-colesterol de 10-35%, dependendo da dose. A queda de LDL-colesterol ocorre normalmente dentro da primeira semana de terapia, um efeito quase máximo ocorre dentro de duas semanas (HARDMAN et al., 1996).

A inibição da oxidação do LDL-colesterol pode ser um mecanismo potencial dos flavonóides de redução das desordens cardiovasculares (STEIN et al., 1999). Os flavonóides quercetina e miricetina inibiram a oxidação do LDL-colesterol a 7,5-10 μ g/dia (TEISSEDRE et al., 1996); agliconas e antocianinas também demonstraram ter ação antioxidante. No vinho, a fração de antocianina foi a mais eficaz na inibição da oxidação de LDL-colesterol (GHISELLI et al., 1998).

De acordo com BEST & JENKINS et al. (2001), a ênfase futura para a correção de anormalidades lipídicas, com decréscimo de desordens cardiovasculares, será preferencialmente focada na redução do LDL-colesterol, por meio de substâncias naturais, como os flavonóides e derivados.

O mecanismo de ação dos flavonóides na redução do LDL-colesterol foi postulado por WILCOX et al.(2001). De acordo com estes autores, os flavonóides promovem um decréscimo na secreção de apo B, devido à uma diminuição da atividade e expressão da Acil-CoA: colesterol acil transferase. Ainda, os flavonóides reduzem a atividade e expressão da proteína de transferência de triglicerídeos microssomais, promovem um aumento na expressão dos receptores para LDL, o que resulta em um acréscimo na recaptação e degradação da LDL-colesterol. Tais eventos proporcionam uma redução na biodisponibilidade de lipídeos que contém a proteína apoB em sua estrutura.

Os flavonóides parecem ter a capacidade de, além de aumentar a expressão dos receptores de LDL, ainda, aumentar a atividade destes no hepatócito que, aumentando a endocitose, levam a uma redução nos níveis sanguíneos de colesterol. Por outro lado, as partículas de LDL oxidadas, participam do processo de formação das células em espuma, provocando o desencadeamento de lesões ateroscleróticas. Os lipídeos poliinsaturados da

partícula de LDL são peroxidados pelos radicais libertados pelas células ou pelos lipídeos oxidados transferidos da partícula de LDL para as células, formando hidroperóxidos altamente reativos, como os aldeídos, que são libertados e podem ligar-se aos resíduos lisil da apolipoproteína B-100, proteína de LDL. Como consequência a sua carga positiva é abolida e, assim, a possibilidade de oxidação de LDL é aumentada. A ação dos flavonóides ocorre exatamente no processo oxidativo da partícula de LDL, promovendo a sua inibição ao reagir com íons superóxido, via transferência de um elétron para o radical peróxido (PINTO et al, 1999).

Os flavonóides podem bloquear diversas reações bioquímicas a fim de impedir a formação de desordens vasculares, como a aterosclerose. De uma maneira geral, estes compostos podem impedir a glicação e a glicooxidação. Na glicação há ligação de proteínas, lipídeos ou DNA à carboidratos causando modificações em suas estruturas por oxidação. A glicação é a condensação não enzimática do açúcar com uma amina. Estas reações causam a oxidação do LDL levando à danos no endotélio. Com este mecanismo de ação, o flavonóide impede a oxidação do LDL-colesterol (SHRAMM et al., 1998). A figura 9 ilustra os eventos que podem ser bloqueados por flavonóides para inibir o desencadeamento de desordens vasculares em humanos, como a aterosclerose.

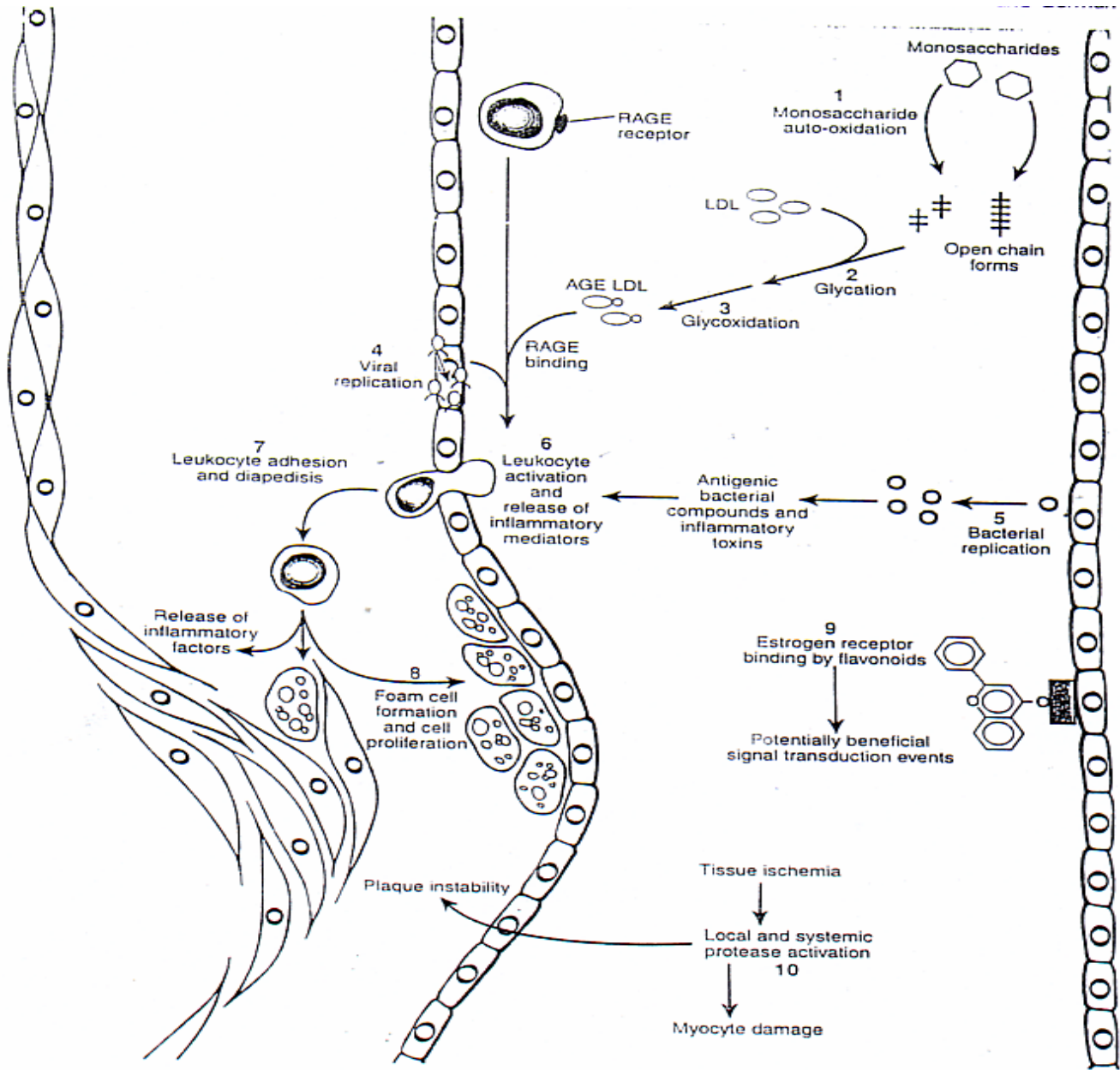


Figura 9: Uma ilustração dos eventos que flavonóides podem bloquear para inibir a formação de desordens vasculares em humanos: (1) oxidação de monossacarídeos, (2) glicação, (3) replicação viral, (5) replicação bacteriana, (6) ativação leucocitária e aumento de mediadores inflamatórios, (7) adesão leucocitária e diapedese, (8) formação das células em espuma e proliferação celular, (9) formação de receptor para estrogênio, (10) ativação local e sistêmica de proteases.

Na Tabela 8 foram analisados os teores de triacilgliceróis, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 4 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 8. Teores de triacilglicerol (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Triacilglicerol ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	100,54 ± 2,14 ³ a	-	-
	Ração	85,62 ± 8,65 ³ a	-14,84	-
	Ração	91,17 ± 14,61 ³ a	-9,32	+6,48
	Ração	84,16 ± 11,05 ³ a	-16,29	-1,71
16	Ração	99,78 ± 6,16 ³ b	-	-
	RCAC ²	210,48 ± 1,54 ³ a	+110,94	-
	RCAC ² + crisina	117,31 ± 14,23 ³ b	+17,57	-44,27
	RCAC ² + colestiramina	174,10 ± 77,49 ³ ab	+74,48	-17,28
31	Ração	87,95 ± 12,68 ³ b	-	-
	RCAC ²	309,00 ± 0,69 ³ a	+251,34	-
	RCAC ² + crisina	123,83 ± 15,64 ³ b	+40,80	-59,93
	RCAC ² + colestiramina	123,67 ± 35,66 ³ b	+40,61	-59,98

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas estatisticamente. Pôde-se observar também que neste tempo todos os animais, de todos os grupos de tratamento, apresentavam valores de triacilgliceróis dentro da faixa de normalidade, não sendo encontrado animal com estes valores acima de 200mg/dl.

Observou-se um aumento nas taxas de triacilgliceróis nos 16^o e 31^o dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 110,94% e 251,34% respectivamente. Este resultado é significativo.

Em relação ao flavonóide testado, crisina, verificou-se um efeito hipolipidêmico deste, na diminuição das taxas de triacilgliceróis, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16^o e 31^o dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -44,27% e -59,93%, respectivamente. Estes resultados foram significativos pelo teste estatístico aplicado.

Em relação à colestiramina, foram observadas diferenças significativas entre este grupo e o grupo que recebeu crisina, no 16^o dia. O mesmo não ocorreu no 31^o dia, indicando um efeito progressivo do flavonóide, com o decorrer do tempo e um efeito menor para o medicamento no início do experimento, tendo sido aumentado no final deste, quando alcançou o efeito produzido pela crisina. As porcentagens de variação da colestiramina foram -17,28% no 16^o dia e 59,98% no 31^o dia, confirmando a afirmação anterior.

Os triacilgliceróis afetam diretamente o processo de formação de aterosclerose, mas não são responsáveis pela elevação do colesterol total sanguíneo (KRITCHEVSKY et al., 2001).

Diversos experimentos com a utilização de flavonóides tem exercido um efeito hipotrigliceridêmico. Uma das possíveis explicações tem sido um aumento na atividade da lipase. Esta enzima hidrolisa os triacilgliceróis ocasionando uma maior mobilização dos ácidos graxos sanguíneos para o fígado, tecido muscular e tecido adiposo (GOMES, 1998; LIMA, 1999).

Um mecanismo de ação de flavonóides na redução de triacilgliceróis envolve a inibição da 5' deiodinase que catalisa a bioativação do hormônio da

tireóide T_4 em T_3 . Esta ação é extremamente importante pois a síntese aumentada do hormônio da tireóide poderia acarretar problemas. O AMP cíclico pode formar o 5'AMP em maiores quantidades. O hormônio da tireóide age impedindo a formação de 5'AMP. O AMP cíclico atua, por sua vez como modulador positivo sobre a proteína quinase. Esta enzima ativa a lipase e esta por sua vez hidrolisa os triacilgliceróis (KORHLE et al, 1985; SANTOS et al., 1999). A figura 10 esquematiza este processo bioquímico.

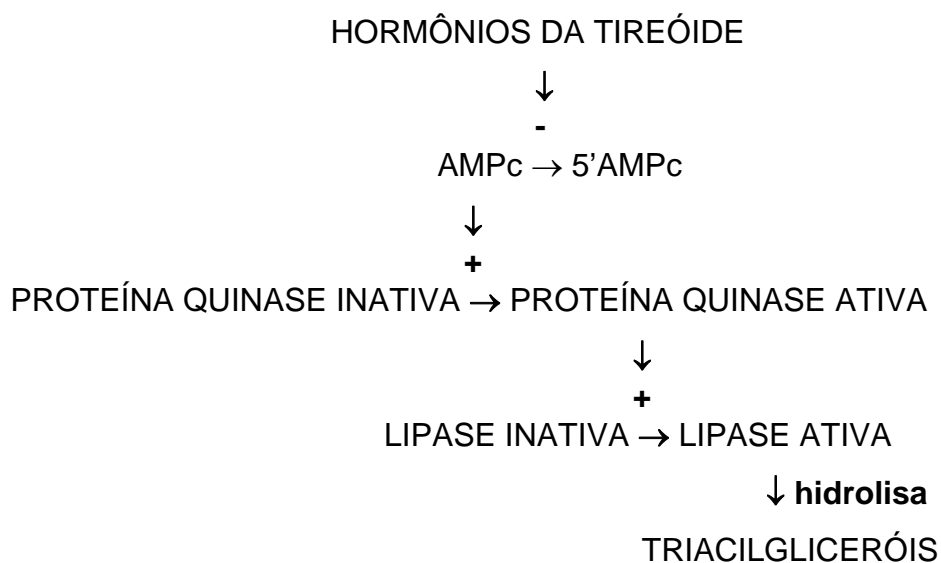


Figura 10: Mecanismo de ação de flavonóides via AMPc na hidrólise de triacilgliceróis

Na tabela 9 foram analisados os teores de HDL-colesterol, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 4 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 9. Teores de HDL (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	HDL ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	30,60 ± 1,73 ³ a	-	-
	Ração	245,97 ± 136,49 a	+703,82	-
	Ração	28,79 ± 2,57 ³ a	-5,92	-88,30
	Ração	54,41 ± 13,83 ³ a	+77,81	-77,88
16	Ração	42,70 ± 4,05 ³ c	-	-
	RCAC ²	92,22 ± 19,38 ³ a	+115,97	-
	RCAC ² + crisina	59,33 ± 4,88 ³ ab	+38,95	-35,66
	RCAC ² + colestiramina	46,81 ± 5,50 ³ bc	+9,63	-49,24
31	Ração	18,52 ± 2,56 ³ b	-	-
	RCAC ²	95,52 ± 20,02 ³ a	+415,77	-
	RCAC ² + crisina	40,61 ± 3,96 ³ ab	+119,28	-57,49
	RCAC ² + colestiramina	31,11 ± 57,45 ³ a	+608,94	+37,26

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas estatisticamente. O grupo controle para hipercolesterolemia apresenta valores mais elevados para esta fração do colesterol, o que não afeta a homogeneidade da amostra, já que esta diferença não é considerada significativa pelo teste estatístico aplicado.

Observou-se um aumento nas taxas de HDL-colesterol nos 16° e 31° dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 115,97% e 415,77%, respectivamente. Este resultado é significativo. Tais resultados refletem em segunda instância, um aumento nos níveis de colesterol total, acompanhado de suas frações lipídicas.

Em relação ao flavonóide testado, crisina, verificou-se um efeito hipolipidêmico deste, na diminuição das taxas de HDL-colesterol, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -35,66% e -57,49%, respectivamente. Estes resultados foram significativos pelo teste estatístico aplicado.

Em relação à colestiramina, foram observadas diferenças significativas entre este grupo e o grupo que recebeu crisina, nos dois tempos de análise. As porcentagens de variação da colestiramina foram -49,24% no 16° dia e -37,26% no 31° dia, confirmando a afirmação anterior.

Para os dois compostos testados, crisina e colestiramina, o efeito hipolipidêmico destes evidencia este efeito nas taxas de colesterol total. Tais compostos reduzindo os níveis de colesterol total sanguíneo, conseqüentemente reduzem os níveis de HDL-colesterol, uma de suas frações lipídicas.

Estudos epidemiológicos tem estabelecido que uma baixa concentração de HDL-colesterol no plasma sanguíneo é um fator de risco independente para desordens coronárias. Nos Estados Unidos, uma baixa concentração nas taxas de HDL é uma anormalidade lipídica comum observada em homens com desordens coronárias. O “Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Trial”, tornou verídica a hipótese de que uma alta concentração de HDL-colesterol poderia reduzir o risco

de desordens coronárias e a mortalidade em pacientes com anormalidades lipídicas (BROUSSEAU & SCHAEFER, 2001).

Outros estudos tem evidenciado a ação de flavonóides como a morina e a quercetina sobre a lipoproteína HDL-colesterol na dose de 5mg/dia. A quercetina aumentou o HDL-colesterol em 17,99% e a morina apenas o reduziu em 4,68% (SANTOS et al., 1999). PEREIRA et al.(1999) verificaram que o flavonóide kaempherol foi capaz de aumentar o HDL-colesterol em 8,57%.

Pesquisas com flavonóides mostram que a varicose, uma desordem vascular periférica, mostrou-se sensível à ação dos flavonóides rutina, heperetina e diosmina. Caracterizada por dilatação sinuosa de veias visíveis na extremidade da pele, provocam dores e edemas resultantes da destruição de proteoglicanos no tecido elástico da parede das veias por enzimas lisossomais. Esta situação causa uma dilatação anormal da veia, permitindo a passagem de eletrólitos, proteína e água através da parede, causando o edema. Substâncias que tem a habilidade de inibir enzimas lisossomais diminuem a filtração transcapilar de água ou proteínas por redução do número e/ou diâmetro dos poros capilares, aumentam o tônus da veia e melhoram o retorno do fluxo sanguíneo para o coração. Quercetina, kaempherol, rutina e hesperidina inibem a ação de enzimas lisossomais (PEREIRA et al., 1999)

Na Tabela 10 foram analisados os teores de glicose, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 4 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 10. Teores de glicose (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Glicose ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	148,91 ± 2,67 ³ a	-	-
	Ração	147,87 ± 3,47 ³ a	-0,70	-
	Ração	128,64 ± 3,16 ³ b	-13,61	-13,00
	Ração	128,09 ± 5,25 ³ b	-13,98	-13,38
16	Ração	125,56 ± 1,34 ³ b	-	-
	RCAC ²	154,33 ± 4,77 ³ a	+22,91	-
	RCAC ² + crisina	125,97 ± 3,10 ³ b	+0,33	-18,38
	RCAC ² + colestiramina	124,09 ± 2,21 ³ b	-1,17	-19,59
31	Ração	126,99 ± 2,59 ³ b	-	-
	RCAC ²	156,20 ± 10,46 ³ a	+23,00	-
	RCAC ² + crisina	155,49 ± 5,04 ³ a	+22,44	-0,45
	RCAC ² + colestiramina	146,60 ± 5,31 ³ a	+15,44	-6,15

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero observou-se diferenças significativas entre os grupos no que se refere aos valores médios de glicose sanguínea. Os grupos controle não diferiram estatisticamente, porém os dois grupos teste, para crisina e para colestiramina diferiram ambos dos grupos controle, mas não diferiram entre si.

A glicose sanguínea é um parâmetro que constantemente sofre as alterações do meio, e o “stress” consiste em um dos principais fatores interferentes (TIERNEY JR et al., 2001).

Nos dias 16 e 31 houve um aumento nas taxas de glicose sanguínea dos animais, pertencentes ao grupo controle para hipercolesterolemia de +22,91% e +23,00%, respectivamente.

Vários fatores, incluindo o diabetes mellitus, podem influenciar os lipídeos séricos. Estes são de importância por duas razões: níveis de lipídeos anormais (ou mudanças nos níveis de lipídeos) podem ser o sinal inicial de alguma destas condições e a correção da condição de base pode tornar evidente a necessidade de tratar um distúrbio lipídico aparente. O diabetes mellitus, caracterizado pelas altas concentrações de glicose no sangue, em particular é comumente associado à altos níveis de triglicérides sanguíneos.

Em relação ao flavonóide testado, crisina, verificou-se um efeito hipoglicêmico deste, na diminuição das taxas de glicose sanguínea, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -18,38% e -0,45%, respectivamente. No 16° dia, estes resultados foram significativos pelo teste estatístico aplicado, mas no 31° dia esta diferença não foi significativa estatisticamente. Tais resultados sugerem um efeito imediato do flavonóide testado na hiperglicemia, que pode decair com o tempo de administração. O mesmo efeito se observou para o comportamento da colestiramina, que promoveu a redução da hiperglicemia em -19,59% no 16° dia e de apenas -6,15% no 31° dia, sendo este último não diferindo do grupo controle hipercolesterolêmico estatisticamente.

Quando se compara o efeito da colestiramina ao efeito da crisina, observa-se que em nenhum tempo eles diferiram estatisticamente, apesar de

demonstrarem diferenças sutis na % de variação. Ambos demonstraram ter um efeito hipoglicêmico, sendo o efeito do flavonóide crisina igualado em magnitude ao efeito da colestiramina.

Flavonóides agem como hipoglicemiantes por se ligarem a receptores de insulina. A insulina tem um papel central na regulação da glicemia e atua de uma maneira coordenada no metabolismo lipídico e protéico. Atua a nível celular através de seu receptor transmembrana que tem uma atividade tripsina-quinase. Em células de cultura e no animal intacto a ativação do receptor de insulina leva à uma subsequente fosforilação dos resíduos tirosina de uma proteína citoplasmática com PM aparente de 160 a 185Kda denominado IRS₁. Esta atividade tirosina quinase é fundamental para os efeitos biológicos finais da insulina. Sabe-se que os flavonóides são potentes inibidores da proteína quinase e da proteína tirosina quinase. Entretanto algumas classes, tais como as flavanonas tem a capacidade de estimular estas enzimas (CARVALHO et al., 1996; AGULLO et al., 1997; HARBONE et al., 2000).

Na Tabela 11 foi analisada a variação de peso corpóreo em relação as substâncias utilizadas no tratamento apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 4 dietas administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 11. Peso (g) de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental.

Tempo (dias)	Dietas	Peso ¹ (g)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	2.133,33 ± 66,71 ³ a	-	-
	Ração	2.005,33 ± 85,92 ³ ab	-6,00	-
	Ração	1.825,71 ± 60,32 ³ b	-14,42	-8,96
	Ração	1.835,00 ± 69,00 ³ b	-13,98	-8,49
16	Ração	2.656,67 ± 27,72 ³ a	-	-
	RCAC ²	2.671,67 ± 177,96 ³ a	+0,56	-
	RCAC ² + crisina	2.482,14 ± 55,69 ³ a	-6,57	-7,09
	RCAC ² + colestiramina	2.399,29 ± 83,71 ³ a	-9,69	-10,20
31	Ração	2.794,17 ± 15,04 ³ a	-	-
	RCAC ²	2.891,17 ± 139,79 ³ a	+3,47	-
	RCAC ² + crisina	2.669,29 ± 48,22 ³ ab	-4,47	-7,67
	RCAC ² + colestiramina	2.585,00 ± 69,89 ³ b	-7,49	-10,59

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero observou-se diferenças significativas entre os grupos no que se refere aos valores médios de peso corporal.

Nos dias 16 e 31 houve um aumento nos valores de peso corporal dos animais, pertencentes ao grupo controle para hipercolesterolemia de +0,56% e +3,47%, respectivamente.

Em relação ao flavonóide testado, crisina, verificou-se um efeito redutor do peso corporal deste, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -7,09% e -7,67%, respectivamente. No 16° dia, estes resultados não foram significativos, mas no 31° dia esta diferença foi significativa. Estes resultados coincidem com aqueles demonstrados por DULLOO et al. (1999). Estes autores verificaram o efeito redutor de peso corpóreo do chá verde, atribuindo tal efeito aos flavonóides que compõem a bebida. Eles administraram o extrato do chá verde à indivíduos adultos durante 6 semanas e mensuraram a energia gasta por esses indivíduos durante 24 horas. Observaram que os indivíduos que receberam o extrato do chá verde obtiveram um gasto energético aumentado em comparação àqueles que não receberam o extrato do chá. Estes autores sugeriram que os flavonóides podem alterar o uso de norepinefrina pelo organismo, um neurotransmissor químico, aumentando desta forma o gasto calórico total diário. ARAI et al. (2000) analisou a correlação entre flavonóis, isoflavonas e flavonas com o indicador antropométrico índice de massa corporal, que reflete a adequação do peso corporal total em kilogramas em relação à altura em metros. Estes compostos foram inversamente relacionados ao colesterol total e ao LDL-colesterol sanguíneos após ter sido feito um ajuste em termos de índice de massa corporal.

O mesmo efeito se observou para o comportamento da colestiramina, que promoveu a redução do peso corporal em -10,20% no 16° dia e de -10,59% no 31° dia, sendo este último diferindo do grupo controle hipercolesterolêmico estatisticamente.

Quando se compara o efeito da colestiramina ao efeito da crisina, observa-se que eles diferiram estatisticamente no 31° dia, apesar de demonstrarem

diferenças sutis na % de variação também no 16º dia. Ambos demonstraram ter um efeito redutor do peso.

De acordo com LAKKA et al. (2001) a obesidade, principalmente a abdominal tem sido considerada como sendo um risco a mais para o desencadeamento de desordens cardiovasculares, principalmente para a aterosclerose. Estes autores observaram uma maior incidência de níveis elevados de LDL-colesterol sanguíneo em indivíduos obesos e ainda, uma maior predisposição nestes indivíduos ao desenvolvimento de aterosclerose da carótida.

ZWIAUER et al. (1992) correlacionaram os níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicérides e, glicose entre outros com o peso corporal total e verificaram uma relação positiva e diretamente proporcional para todos esses indicadores bioquímicos, demonstrando desta forma o risco cardiovascular que a obesidade representa. As tabelas 19, 20 e 21 em anexo mostram a correlação entre todos os parâmetros bioquímicos avaliados e o peso corporal nos três experimentos.

4.2. Análise Comparativa da Proteína de Soja (Proteimax) e da Caseína na Redução dos Níveis de Lipídeos Séricos e Peso Corporal

Na Tabela 12 foram analisados os teores de colesterol total, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 5 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 12. Teores de Colesterol (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Colesterol ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	39,42 ± 1,94 ³ c	-	-
	Ração	128,82 ± 11,00 ³ a	+226,79	-
	Ração	158,60 ± 29,64 ³ a	+302,33	+23,12
	Ração	86,85 ± 9,16 ³ b	+120,32	-32,58
	Ração	105,62 ± 20,48 ³ ab	+167,94	-18,01
16	Ração	42,70 ± 2,51 ³ c	-	-
	RCAC ²	810,38 ± 187,81 ³ ab	+1797,85	-
	RCAC ² + caseína	1.247,03 ± 197,25 ³ a	+2820,44	+53,88
	RCAC ² + proteimax	652,47 ± 165,11 ³ b	+1428,03	-19,49
	RCAC ² + colestiramina	496,56 ± 175,81 ³ b	+1062,90	-38,73
31	Ração	132,33 ± 15,97 ³ c	-	-
	RCAC ²	1.112,02 ± 382,43 ³ ab	+740,34	-
	RCAC ² + caseína	1.721,21 ± 172,36 ³ a	+1200,70	+54,78
	RCAC ² + proteimax	1.038,92 ± 293,36 ³ b	+685,10	-6,57
	RCAC ² + colestiramina	787,76 ± 313,46 ³ b	+495,30	-29,16

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero observaram-se diferenças significativas estatisticamente entre os grupos. Entretanto, quando se observa os valores de colesterol total para todos os grupos, verifica-se que nenhum grupo apresentou concentrações de colesterol total acima dos valores considerados normais, portanto, neste período todos os animais apresentavam-se normolipidêmicos.

A indução da hipercolesterolemia pôde ser observada após o 16º dia, pois verificou-se um aumento nas taxas de colesterol nos 16º e 31º dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 2820,44% e 1200,70% respectivamente. Este resultado é significativo.

Em relação à proteínas testadas, caseína e proteimax, verificou-se um efeito hiperlipidêmico da primeira e hipolipidêmico da segunda, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16º e 31º dias destas em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico. Para caseína observou-se um aumento de +53,88% e +54,78% nos 16º e 31º dias, respectivamente; e para proteimax uma redução de -19,49% e -6,57%, nos 16º e 31º dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado. Tais resultados coincidem com aqueles verificados por LU & JIAN (1997). Estes autores administraram semelhantemente 1% de colesterol à dieta dos animais e observaram valores aumentados de colesterol total e frações no sangue dos animais alimentados com caseína em comparação a proteína de soja. AOYAMA et al. (2001) observaram o efeito hipolipidêmico de proteína isolada de soja em apenas 10 dias de administração desta a ratos machos, com uma dosagem maior desta proteína, ou seja, 20% do valor energético total da dieta.

Em relação à colestiramina, foram observadas diferenças significativas entre este grupo e o grupo que recebeu caseína, nos dois tempos de análise. Entretanto, quando se compara o grupo da colestiramina ao grupo do proteimax, não se observam diferenças significativas, sugerindo uma redução eficaz no colesterol total por parte do proteimax. As porcentagens de variação da colestiramina foram de -38,73% no 16º dia e -29,16% no 31º dia, em relação ao

grupo controle hipercolesterolêmico. Esta variação foi significativa quando se compara estes dois grupos.

O mecanismo de ação pelo qual a proteína de soja promove um efeito hipocolesterolêmico não está bem estabelecido. Um possível caminho seria a diferença entre a caseína e a proteína de soja em sua composição aminoacídica. KRITCHEVSKI et al (1979) chamaram a atenção para a razão arginina:lisina em proteína de soja em comparação à caseína. Para a primeira, esta razão é duas vezes maior que para a segunda. POTTER et al (1979) sugeriram que a ação hipocolesterolêmica da proteína de soja ou do hidrolisado protéico de soja é atribuído à presença de saponinas nesta proteína. Segundo CARROLL (1981) o “*turnover*” do colesterol plasmático e a excreção de esteróides neurais e de ácidos biliares sofrem um acréscimo em coelhos que recebem proteína de soja comparado àqueles que recebem caseína. Este acréscimo no “*turnover*” do colesterol e na excreção de lipídeos estão associados à um aparente decréscimo na habilidade da proteína de soja de absorver colesterol do intestino. Uma possibilidade é que os produtos da digestão parcial da proteína de soja podem seqüestrar o colesterol e/ou os sais biliares em maior quantidade que os produtos da digestão da caseína. Outra possibilidade é que essa proteína vegetal pode influenciar os níveis plasmáticos de lipoproteínas por alterar a síntese e o metabolismo de algumas das apoproteínas. Segundo NAGATA et al. (1982) a distribuição de colesterol nos tecidos também difere quando se administra proteína de soja e caseína à animais experimentais. No fígado, glândulas adrenais e soro sanguíneo observa-se um menor acúmulo de colesterol quando se administra proteína de soja. Ainda, segundo estes autores, além dos efeitos citados, a proteína de soja também atuaria na diminuição da esteroigênese; perda de esteróis pelas fezes com uma conseqüente redução da absorção intestinal.

A digestibilidade das proteínas dietéticas é uma propriedade que pode afetar os níveis de colesterol sanguíneo. Quanto menos digerida ou mais lentamente digerida é uma proteína, menores são as chances de acréscimo nos níveis de colesterol sanguíneo, já que a permanência da proteína no trato gastrointestinal promove uma menor reabsorção dos sais biliares e um atraso na

reabsorção de aminoácidos. WOODWARD e CARROL (1985) avaliaram que a digestibilidade da caseína e da proteína de soja através do decréscimo nos valores de pH durante a hidrólise de ligações peptídicas “in vitro”. Eles utilizaram para este processo as enzimas pancreatina, pepsina, quimiotripsina e tripsina em diferentes proteínas. A solubilidade é um parâmetro de influência para a digestibilidade de proteínas. A caseína foi mais solúvel em pH alcalino que ácido, um fator que teria uma possível influência em sua digestibilidade, por isso esta proteína é mais bem digerida por pancreatina e a proteína de soja por pepsina. Também, estes autores verificaram que em diferentes proteínas a proteína de soja é menos rapidamente hidrolisada que a caseína por enzimas pancreáticas ou intestinais. Este fator pode ser responsável pelo efeito hipocolesterolêmico da proteína de soja, pois, por ser mais lentamente digerida pelo organismo, ela promoveria um atraso na reabsorção de aminoácidos pelo intestino e, ainda poderia se ligar aos ácidos biliares e inibir a sua reabsorção pela última porção do íleo.

Na tabela 13 foram analisados os teores de LDL-colesterol, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 5 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 13. Teores de LDL (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	LDL ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	86,37 ± 19,54 ab	-	-
	Ração	60,31 ± 4,78 ³ b	-30,17	-
	Ração	120,90 ± 11,66 ³ a	+39,98	+100,46
	Ração	27,43 ± 4,05 ³ c	-68,24	-54,52
	Ração	37,13 ± 6,53 ³ bc	-57,01	-38,43
16	Ração	63,61 ± 7,76 ³ c	-	-
	RCAC ²	869,26 ± 72,28 ³ a	+1266,55	-
	RCAC ² + caseína	915,23 ± 204,18 ³ a	+1338,81	+5,29
	RCAC ² + proteímax	562,65 ± 152,70 ab	+784,53	-35,27
	RCAC ² + colestiramina	379,93 ± 160,87 ³ b	+497,28	-56,29
31	Ração	122,65 ± 16,52 ³ c	-	-
	RCAC ²	924,16 ± 126,10 ³ b	+653,49	-
	RCAC ² + caseína	1.543,41 ± 133,19 ³ a	+1158,39	+67,01
	RCAC ² + proteímax	933,05 ± 168,46 ³ b	+660,74	+0,96
	RCAC ² + colestiramina	519,89 ± 183,15 ³ b	+323,88	-43,74

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, observaram-se diferenças significativas estatisticamente entre os grupos. Entretanto, quando se observa os valores médios de LDL-colesterol para todos os grupos, verifica-se que nenhum grupo apresentou valores de LDL-colesterol acima dos valores considerados normais, portanto, neste período todos os animais apresentavam-se normolipidêmicos.

Verificou-se um aumento nas taxas de LDL-colesterol nos 16° e 31° dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 1266,55% e 653,49% respectivamente.

Em relação à proteínas testadas, caseína e proteimax, observou-se para caseína um aumento de +5,29% e +67,01% nos 16° e 31° dias, respectivamente; e para proteimax uma redução de -35,27% e um aumento de +0,96%, nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado. NAGATA et al. (1982) concluíram em seu estudo que a maior redução nas taxas de colesterol total, induzida pela proteína de soja, foi acompanhada principalmente pela redução nas taxas de LDL-colesterol sanguíneas.

Em relação à colestiramina, foram observadas diferenças significativas entre este grupo e o grupo que recebeu caseína, nos dois tempos de análise, preferencialmente no final do experimento onde se observou um acréscimo de 67,01% no LDL-colesterol no grupo que recebeu caseína e uma redução de -43,74% no grupo que recebeu esse medicamento. Tais resultados foram significativos estatisticamente. Entretanto, quando se compara o grupo da colestiramina ao grupo do proteimax, não se observam diferenças significativas no final do experimento, sugerindo uma redução eficaz no colesterol total por parte do proteimax. A diferença é significativa para os dois grupos (proteimax e colestiramina) apenas no 16° dia, sugerindo um possível efeito tardio da proteína de soja. As porcentagens de variação da colestiramina, foram de -56,29% no 16° dia e -43,74% no 31° dia, em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico. Esta variação foi significativa quando se compara estes dois grupos apenas no 16° dia, sugerindo a perda da eficácia deste medicamento com o decorrer do tratamento, efeito este contrário àquele demonstrado pela proteína de soja.

A comparação entre as lipoproteínas no plasma de coelhos recebendo caseína ou proteína de soja, demonstrou que o excesso de colesterol no plasma de coelhos que recebem caseína é carregado principalmente por lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (CARROLL, 1981). De acordo com TANAKA et al.(1983), a redução nas lipoproteínas de baixa densidade no plasma ocorre devido à redução na síntese de apoB no lúmen intestinal causado pela proteína de soja.

NAGATA et al.(1982) utilizaram em seu estudo ratos machos recebendo proteína de soja e caseína intactas durante 4 semanas. A maior redução nos níveis lipídicos foi observada para àqueles animais que receberam proteína de soja intacta, e dentre estes, a maior redução foi observada nas taxas de LDL-colesterol.

Na tabela 14 foram analisados os teores de triacilgliceróis, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 5 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 14. Teores de triacilglicerol (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Triacilglicerol ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	100,54 ± 2,15 ³ a	-	-
	Ração	85,62 ± 8,65 ³ a	-14,84	-
	Ração	98,77 ± 9,07 ³ a	-1,76	+15,36
	Ração	88,65 ± 11,53 ³ a	-11,83	+3,54
	Ração	84,16 ± 11,05 ³ a	-16,29	-1,71
16	Ração	99,78 ± 6,16 ³ b	-	-
	RCAC ²	210,48 ± 1,54 ³ a	+110,94	-
	RCAC ² + caseína	119,84 ± 46,38 ³ b	+20,10	-43,06
	RCAC ² + proteímax	88,53 ± 8,20 ³ b	-11,27	-57,94
	RCAC ² + colestiramina	174,10 ± 77,49 ³ ab	+74,48	-17,28
31	Ração	87,95 ± 12,68 ³ b	-	-
	RCAC ²	309,90 ± 1,69 ³ a	+252,36	-
	RCAC ² + caseína	202,71 ± 107,56 ³ ab	+130,48	-34,59
	RCAC ² + proteímax	81,75 ± 22,81 ³ b	-7,05	-73,62
	RCAC ² + colestiramina	123,67 ± 35,66 ³ b	+40,61	-60,09

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero não se observaram diferenças significativas estatisticamente entre os grupos, portanto, neste período todos os animais apresentavam-se normolipidêmicos.

Verificou-se um aumento nas taxas de triacilgliceróis nos 16° e 31° dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 110,94% e 252,36% respectivamente. Este resultado é significativo.

Em relação à proteínas testadas, caseína e proteimax, observou-se para caseína uma redução de -43,06% e -34,59% nos 16° e 31° dias, respectivamente; e para proteimax uma redução de -57,94% e -73,62%, nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado, apenas no final do experimento, mas não diferiram estatisticamente no 16° dia, apesar de numericamente observarmos uma diferença grande na porcentagem de variação quando se compara os dois neste tempo.

Em relação à colestiramina, foram observadas diferenças significativas entre este grupo e o grupo que recebeu caseína, nos dois tempos de análise. No 16° dia a caseína demonstrou uma atividade hipotrigliceremiante maior que àquela demonstrada pela colestiramina. Entretanto, ao final do experimento, verificou-se uma atividade hipotrigliceremiante da colestiramina maior. No 16° dia, -17,28% e no 31° dia -60,09% de redução promovida por este medicamento. Neste caso, verifica-se uma ação retardada da colestiramina na redução dos triacilgliceróis plasmáticos quando comparada ao efeito das proteínas de soja e caseína.

TANAKA et al. (1983) observaram em seu estudo uma redução nos níveis de triglicerídeos para os animais que receberam proteína de soja + óleo de soja a 1%, em relação àqueles que receberam caseína + óleo de soja à 1%. Entretanto esta redução foi pequena. Para os animais que receberam proteína de soja + óleo de soja a 5%, observou-se um incremento nestas taxas para 27,3mg/ml em média em comparação aos animais que receberam caseína + óleo de soja a 5%. Para estes últimos a taxa média foi de 20,9mg/ml, sugerindo que o óleo de soja em maiores quantidades promove um incremento nas taxas de triacilgliceróis.

NAGATA et al. (1982) observaram uma grande diferença nos níveis de triacilgliceróis entre os animais que receberam proteína de soja e àqueles que receberam caseína; 251mg/ml para o primeiro e 485mg/ml para o segundo, respectivamente. Este efeito não foi observado quando eles administraram misturas de aminoácidos correspondentes às proteínas testadas anteriormente (caseína e proteína de soja) aos animais. Neste caso, não houve redução nos teores de triacilgliceróis provocada pelas misturas de aminoácidos, nem pela mistura de aminoácidos equivalente à caseína e tampouco pela mistura equivalente à proteína de soja, constatando desta forma um efeito positivo hipotrigliceremiante apenas quando é administrada a proteína intacta.

Na tabela 15 foram analisados os teores de HDL-colesterol, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 5 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 15. Teores de HDL (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	HDL ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	30,60 ± 1,73 ³ a	-	-
	Ração	245,97 ± 136,49 ³ a	+703,82	-
	Ração	28,03 ± 3,34 ³ a	-8,40	-88,60
	Ração	45,30 ± 12,90 ³ a	+48,04	-81,58
	Ração	54,41 ± 13,83 ³ a	+77,81	-77,88
16	Ração	42,70 ± 4,05 ³ b	-	-
	RCAC ²	92,22 ± 19,38 ³ a	+115,97	-
	RCAC ² + caseína	63,93 ± 35,16 ³ ab	+49,72	-30,68
	RCAC ² + proteímax	337,66 ± 136,48 ³ a	+690,77	+266,15
	RCAC ² + colestiramina	46,81 ± 5,50 ³ b	+9,63	-49,24
31	Ração	18,52 ± 2,56 ³ b	-	-
	RCAC ²	95,52 ± 20,02 ³ a	+415,77	-
	RCAC ² + caseína	34,93 ± 8,20 ³ b	+88,61	-63,43
	RCAC ² + proteímax	285,66 ± 125,74 ³ a	+1442,44	+199,06
	RCAC ² + colestiramina	131,11 ± 57,45 ³ a	+607,94	+37,26

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas estatisticamente entre os grupos, o que demonstra a homogeneidade da amostra em relação à este parâmetro.

Verificou-se um aumento nas taxas de HDL-colesterol nos 16° e 31° dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de +115,97% e +415,77% respectivamente. Este resultado é significativo.

Em relação as proteínas testadas, caseína e proteimax, observou-se para caseína uma redução de -30,68.% e -63,43% nos 16° e 31° dias, respectivamente; e para proteimax um aumento de +266,15% e +199,06%, nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado, nos dois tempos finais de análise. Tais resultados demonstram um dos efeitos benéficos da administração de proteína de soja à dieta, pois a fração do colesterol HDL é responsável pelo transporte lipídico dos tecidos periféricos para o fígado, para posterior metabolismo e excreção do excesso lipídico no organismo (KRAUSE, 1995).

Em relação à colestiramina, verificou-se uma redução de -49,24% nas taxas de HDL-colesterol no 16° dia e um acréscimo de +37,26% nestas taxas no 31° dia, para o grupo que recebeu esse medicamento. Estes resultados evidenciam uma ação benéfica do medicamento no final do experimento, mas atentam para uma possível ação deletéria do mesmo ao se iniciar o tratamento, já que a fração HDL é considerada um elemento preventivo nas desordens cardiovasculares. Quando se compara os resultados expressos pela colestiramina com as duas proteínas testadas, verifica-se uma diferença significativa entre a sua ação em relação ação da proteína de soja no 16° dia, que se igualam no 31° dia. Em relação à caseína, esta diferença é significativa quando se compara a colestiramina nos dois tempos de análise.

Segundo SAUTIER et al., (1983) a diferença entre a composição aminoacídica entre as duas proteínas testadas, caseína e proteína de soja, sugerem que os efeitos na fração HDL do colesterol proporcionados por ambas, pode se dar em função da razão aminoacídica em cada uma delas. Comparando-se a concentração de aminoácidos destas proteínas com os níveis de HDL-

colesterol, observou-se relações positivas com a tirosina e o ácido glutâmico e negativas com a cistina e a alanina. Estes autores verificaram uma redução nos níveis de HDL-colesterol para o grupo de animais que recebeu proteína de soja.

Em ratos, a hipercolesterolemia é acompanhada por um acréscimo em HDL-colesterol, no entanto, em coelhos esta hipercolesterolemia sempre vem acompanhada de um acréscimo nos níveis de LDL-colesterol (SAUTIER et al., 1983).

Na tabela 16 foram analisados os teores de glicose, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 5 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 16. Teores de glicose (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Glicose ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	148,91 ± 2,67 ³ a	-	-
	Ração	147,87 ± 3,47 ³ ab	-0,70	-
	Ração	134,71 ± 6,07 ³ bc	-9,54	-8,90
	Ração	127,38 ± 5,32 ³ c	-14,46	-13,86
	Ração	128,09 ± 5,25 ³ c	-13,98	-13,38
16	Ração	125,56 ± 1,34 ³ b	-	-
	RCAC	154,33 ± 4,77 ³ a	+22,91	-
	RCAC ² + caseína	121,23 ± 3,90 ³ b	-3,45	-21,45
	RCAC ² + proteímax	126,05 ± 2,11 ³ b	+0,39	-18,32
	RCAC ² + colestiramina	124,09 ± 2,21 ³ b	-1,17	-19,59
31	Ração	126,99 ± 2,59 ³ b	-	-
	RCAC ²	156,20 ± 10,46 ³ a	+23,00	-
	RCAC ² + caseína	142,21 ± 1,99 ³ a	+11,99	-8,96
	RCAC ² + proteímax	147,28 ± 14,07 ³ a	+15,98	-5,71
	RCAC ² + colestiramina	146,60 ± 5,31 ³ a	+15,44	-6,15

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, observou-se diferenças significativas entre os grupos no que se refere aos valores médios de glicose sanguínea. Todos os animais encontravam-se com valores de glicemia acima do considerado normal, que seria de 70-110mg/dL. Entretanto, como já mencionado anteriormente a glicose sanguínea é um parâmetro que constantemente sofre as alterações do meio.

Nos dias 16 e 31 houve um aumento nas taxas de glicose sanguínea dos animais, pertencentes ao grupo controle para hipercolesterolemia de +22,91% e +23,00%, respectivamente.

Em relação à proteínas testadas, caseína e proteína de soja, verificou-se um efeito hipoglicêmico de ambos, que pode ser observado através de porcentagens de variação nos 16° e 31° dias destes em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -21,45% e -8,96% para caseína e de -18,32% e -5,71% para proteimax, respectivamente. Estes resultados não diferiram estatisticamente.

A colestiramina também demonstrou possuir efeito hipoglicemiante, não diferindo estatisticamente das duas proteínas testadas, o que demonstra a magnitude do efeito destas proteínas na redução da glicose sanguínea. Esta apresentou um redução de -19,59% e -6,15% nos dias 16 e 31, respectivamente.

Na Tabela 17 foi analisada a variação de peso corpóreo em relação as substâncias utilizadas no tratamento, caseína, proteína de soja e colestiramina em comparação aos grupos controle, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 5 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 17. Peso (g) de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Peso ¹ (g)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	2.133,33 ± 66,71 ³ a	-	-
	Ração	2.005,33 ± 85,92 ³ ab	-6,00	-
	Ração	1.970,71 ± 72,72 ³ ab	-7,62	-1,73
	Ração	1.915,71 ± 98,67 ³ ab	-10,20	-4,47
	Ração	1.835,00 ± 69,00 ³ b	-13,98	-8,49
16	Ração	2.656,67 ± 27,72 ³ ab	-	-
	RCAC	2.671,67 ± 177,96 ³ ab	+0,56	-
	RCAC ² + caseína	2.683,57 ± 80,79 ³ a	+1,01	+0,45
	RCAC ² + proteímax	2.426,67 ± 140,43 ³ ab	+8,66	-9,17
	RCAC ² + colestiramina	2.399,29 ± 83,71 ³ b	-9,69	-10,20
31	Ração	2.794,17 ± 15,04 ³ b	-	-
	RCAC ²	2.891,17 ± 139,79 ³ ab	+3,47	-
	RCAC ² + caseína	2.932,86 ± 66,86 ³ a	+4,96	+1,44
	RCAC ² + proteímax	2.640,83 ± 140,70 ³ bc	-5,49	-8,66
	RCAC ² + colestiramina	2.585,00 ± 69,89 ³ c	-7,49	-10,59

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, observou-se diferenças significativas entre os grupos no que se refere aos valores médios de peso corporal.

Nos dias 16 e 31 houve um aumento nos valores de peso corporal dos animais, pertencentes ao grupo controle para hipercolesterolemia de +0,56% e +3,47%, respectivamente.

Em relação à proteínas testadas, caseína e proteína de soja, verificou-se um efeito redutor do peso apenas para proteína de soja, que pode ser observado através de porcentagens de variação nos 16° e 31° dias desta em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -9,17% e -8,66% respectivamente. Estes resultados diferiram daqueles observados para o grupo controle no 31° dia e para o grupo da caseína nos dois tempos.

A caseína resultou em um aumento de peso corpóreo total de +0,45% e +1,44% nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estes resultados foram significativos, pois diferiram estatisticamente daqueles observados para o grupo controle hipercolesterolêmico nos dois tempos de análise.

Estes resultados diferem daqueles observados por YI-Fa et al.(1997). Eles investigaram os efeitos da caseína e da proteína de soja no metabolismo lipídico e peso corporal em animais experimentais em fase de amamentação. As proteínas não demonstraram exercer influência no peso corporal destes animais durante o período de aleitamento materno, apesar de terem exercido efeitos de redução nas taxas de colesterol sanguíneo e frações lipídicas. SAUTIER et al. (1982) ao compararem os efeitos da caseína e da proteína de soja no peso corporal, observaram uma diferença nos valores das médias finais entre as duas proteínas, que foram de 432g e 424g de peso dos animais, respectivamente. KRITCHEVSKI (1979) verificou um ganho de peso maior para os animais que receberam caseína em seu experimento em relação aos animais que receberam proteína de soja concentrada ou isolada. Este ganho foi em média de 27g/dia para caseína, de 12g/dia para proteína de soja concentrada e 4g/dia para proteína de soja isolada, sugerindo uma maior eficácia na prevenção do ganho de peso corporal para este último. TERPSTRA et al (1982) observaram, entretanto, um ganho de peso uniforme para as duas proteínas de 212g/dia para caseína e de 220g/dia para

proteína de soja em média, quando administradas a 50% na dieta total diária. NAGATA et al. (1982) avaliaram em seu estudo o ganho ponderal de tecido adiposo corporal em animais submetidos à administração de caseína e proteína de soja. Verificaram um ganho de 288dpm/g de tecido adiposo corporal para o grupo que recebeu proteína de soja e 296dpm/g para o grupo que recebeu caseína. Ainda, compararam esses valores quando a administração destas duas proteínas se deu por meio dos aminoácidos que compõe suas estruturas. Neste caso, observaram um ganho de 1000dpm/g de tecido adiposo para o grupo que recebeu aminoácidos referentes à cadeia protéica de soja, e um ganho de 1390dpm/g de tecido adiposo corporal para o grupo que recebeu aminoácidos referentes à cadeia protéica da caseína.

Em relação à colestiramina, observou-se um efeito redutor no peso corporal de -10,20% no 16° dia e de -10,59% no 31° dia, sendo este último diferindo do grupo controle hipercolesterolêmico estatisticamente.

Quando se compara o efeito da colestiramina ao efeito da proteína de soja, observa-se que eles diferiram estatisticamente nos 31° e no 16° dia. Ambos demonstraram ter um efeito redutor do peso.

4.3. Efeito da Xantona no Metabolismo Lipídico e no Peso Corporal

Na tabela 18 foram analisados os teores de colesterol total, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 3 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 18. Teores de colesterol (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Colesterol ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	83,58 ± 2,82 ³ a	-	-
	RCAC ²	136,96 ± 32,55 ³ a	+63,87	-
	RCAC ² + xantona	98,57 ± 12,04 ³ a	+17,93	-28,03
16	Ração	104,76 ± 14,93 ³ b	-	-
	RCAC ²	530,59 ± 135,47 ³ a	+406,48	-
	RCAC ² + xantona	752,30 ± 82,29 ³ a	+618,12	+41,79
31	Ração	107,63 ± 6,07 ³ c	-	-
	RCAC ²	731,09 ± 164,00 ³ b	+579,26	-
	RCAC ² + xantona	1.249,57 ± 132,95 ³ a	+1060,99	+70,92

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas estatisticamente entre os grupos. E ainda, verifica-se que nenhum grupo

apresentou valores de colesterol total acima dos valores considerados normais. Portanto, neste período todos os animais apresentavam-se normolipidêmicos.

A indução da hipercolesterolemia pôde ser observada após o 16º dia, pois verificou-se um aumento nas taxas de colesterol nos 16º e 31º dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de 406,48% e 579,26% respectivamente. Este resultado é significativo ao se comparar os dois grupos.

Em relação ao composto testado, xantona, verificou-se um efeito hiperlipidêmico desta, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16º e 31º dias desta em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico. Observou-se um aumento de +41,79% e +70,92% nos 16º e 31º dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado no final do experimento. Estes resultados demonstram a diferença no comportamento da xantona em relação aos flavonóides de uma maneira geral, que são hipolipidêmicos, postulando que a diferença estrutural, mesmo que pequena, pode impor modificações na ação dos compostos fenólicos.

O mecanismo de ação pelo qual a xantona promove um efeito hipercolesterolêmico não está bem estabelecido (PERES et al., 2000).

Na Tabela 19 foram analisadas as concentrações de LDL-colesterol, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 3 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 19. Teores de LDL (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	LDL ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	37,45 ± 3,46 ³ b	-	-
	RCAC ²	84,09 ± 17,58 ³ a	+124,54	-
	RCAC + xantona	47,00 ± 10,19 ³ b	+25,50	-44,11
16	Ração	45,82 ± 15,45 ³ b	-	-
	RCAC ²	428,79 ± 144,56 ³ a	+835,81	-
	RCAC + xantona	674,06 ± 74,87 ³ a	+1371,10	+57,20
31	Ração	56,03 ± 6,37 ³ c	-	-
	RCAC ²	680,94 ± 163,74 ³ b	+1115,31	-
	RCAC ² + xantona	1.130,20 ± 118,82 ³ a	+1917,13	+65,98

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, observaram-se diferenças significativas estatisticamente entre os grupos. Entretanto, verifica-se que nenhum grupo apresentou valores de LDL-colesterol total acima dos valores considerados normais, portanto, neste período todos os animais apresentavam-se normolipidêmicos.

A indução da hipercolesterolemia pôde ser observada após o 16° dia, pois verificou-se um aumento nas taxas de LDL-colesterol nos 16° e 31° dias para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de +835,81% e +1115,31% respectivamente. Este resultado é significativo ao se comparar os dois grupos.

Em relação ao composto testado, xantona, verificou-se um efeito hiperlipidêmico desta também para o acréscimo sanguíneo de LDL-colesterol, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias desta em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico. Observou-se um aumento de +57,20% e +65,98% nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado no final do experimento. Estes resultados demonstram a diferença no comportamento da xantona em relação aos flavonóides de uma maneira geral, também no que se refere às frações lipoprotéicas aterogênicas do colesterol. Tais dados coincidem com àqueles verificados por MAHABUSARAKAM et al.(2000). Estes autores verificaram a atividade antioxidante exercida pela xantona, ao promover a inibição na síntese da fração LDL-colesterol. Segundo estes autores, uma modificação estrutural neste composto pode promover um aumento ou uma diminuição no efeito hipolipidêmico. A derivação no grupo hidroxila nos carbonos 3 ou 6 do anel fenólico, com radicais metil, acetato, propano-triol ou nitrila substancialmente reduz a capacidade antioxidante da xantona.

PERES et al.(2000) também citam o efeito antioxidante de algumas classes de xantonas. Estes compostos podem inibir a peroxidação lipídica através da inibição da enzima lipídeo peroxidase. Os autores também citam um efeito antiinflamatório das xantonas, fatores em conjunto que podem contribuir para evitar a formação de placas ateromatosas.

A atividade antioxidante de 6 derivados de xantonas isoladas de “senburi” (*Swertia japonica*) foi estudada e comparada à atividade do α -tocoferol (Ashida et al., 1994; citados por PERES et. al., 2000). De acordo com os autores os compostos isolados de xantonas ou o seu extrato etanólico exibem atividade anti-peroxidante “in vivo” e “in vitro”.

Na tabela 20 foram analisados os teores de triacilgliceróis, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 3 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 20. Teores de triacilglicerol (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Triacilglicerol ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	73,91 ± 4,92 ³ a	-	-
	RCAC ²	67,74 ± 6,89 ³ a	-8,35	-
	RCAC ² + xantona	75,93 ± 10,23 ³ a	+2,73	+12,09
16	Ração	92,60 ± 8,58 ³ b	-	-
	RCAC ²	152,11 ± 21,31 ³ a	+64,27	-
	RCAC ² + xantona	145,00 ± 20,93 ³ a	+56,59	-4,67
31	Ração	90,10 ± 8,11 ³ a	-	-
	RCAC ²	128,53 ± 21,65 ³ a	+42,65	-
	RCAC ² + xantona	122,51 ± 14,79 ³ a	+35,97	-4,68

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas estatisticamente entre os grupos. E ainda, verifica-se que nenhum grupo

apresentou valores de triacilgliceróis acima dos valores considerados normais, portanto, neste período todos os animais apresentavam-se normolipidêmicos.

A indução da hipertrigliceridemia pôde ser observada no 16° dia, pois verificou-se um aumento nas taxas de triacilglicerol para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de +64,27%. Este resultado é significativo ao se comparar os dois grupos, neste tempo. Contudo, no 31° dia, não se observaram diferenças significativas entre os grupos. Tal resultado deixa claro que, nem sempre, a administração de colesterol à dieta resulta em um aumento de triacilgliceróis no sangue.

Em relação ao composto testado, xantona, verificou-se um efeito hipotrigliceremiante desta, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias desta em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico. Observou-se uma redução de -4,67% e -4,68% nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estas diferenças não foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado, pois a esta redução promovida pela xantona foi pequena.

O mecanismo de ação pelo qual a xantona promove um efeito hipotrigliceremiante não está bem estabelecido.

Na tabela 21 foram analisados os teores de HDL-colesterol, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 3 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 21. Teores de HDL (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	HDL ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	31,33 ± 2,09 ³ a	-	-
	RCAC ²	54,84 ± 13,91 ³ a	+75,04	-
	RCAC ² + xantona	36,39 ± 3,32 ³ a	+16,15	-33,64
16	Ração	41,74 ± 2,39 ³ a	-	-
	RCAC ²	35,09 ± 2,84 ³ a	-15,93	-
	RCAC ² + xantona	49,23 ± 9,15 ³ a	+17,94	+40,30
31	Ração	33,30 ± 1,83 ³ ab	-	-
	RCAC ²	27,94 ± 4,12 ³ b	-16,10	-
	RCAC ² + xantona	41,83 ± 5,60 ³ a	+25,62	+49,71

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas estatisticamente entre os grupos, o que denota a homogeneidade da amostra em relação a esta lipoproteína.

Verificou-se um decréscimo nas taxas de HDL-colesterol para o grupo controle hipercolesterolêmico em relação ao grupo controle ração, de -15,93% e -16,10% nos 16° e 31° dias respectivamente. Este resultado é significativo ao se comparar os dois grupos, no final do experimento. Contudo, no 16° dia, não se observaram diferenças significativas entre os grupos.

Em relação ao composto testado, xantona, verificou-se um acréscimo nas frações HDL do colesterol total promovido por esta, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias desta em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico. Observou-se um aumento de +40,30% e +49,71% nos 16° e 31° dias, respectivamente. Estas diferenças foram consideradas significativas pelo teste estatístico aplicado, no final do experimento.

Tais resultados demonstram um efeito benéfico da xantona, ao elevar os níveis de HDL-colesterol, já que esta fração constitui em um fator de proteção cardiovascular. De acordo com PERES (1996) as xantonas possuem um efeito cardiotônico e hipotensivo, resultando desta maneira em um efeito cardioprotetor.

Na tabela 22 foram analisados os teores de glicose, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 3 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 22. Teores de glicose (mg/dL), de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Glicose ¹ (mg/dL)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	118,24 ± 3,37 ³ a	-	-
	RCAC ²	124,03 ± 4,96 ³ a	+4,90	-
	RCAC ² + xantona	111,97 ± 5,41 ³ a	-5,30	-9,72
16	Ração	127,95 ± 2,31 ³ b	-	-
	RCAC ²	143,00 ± 7,38 ³ a	+11,76	-
	RCAC ² + xantona	116,36 ± 3,22 ³ c	-9,06	-18,63
31	Ração	152,76 ± 5,62 ³ a	-	-
	RCAC ²	145,56 ± 2,93 ³ a	-4,71	-
	RCAC ² + xantona	147,20 ± 3,61 ³ a	-3,64	+1,13

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observaram diferenças significativas entre os grupos no que se refere aos valores médios de glicose sanguínea. Todos os animais encontravam-se com valores de glicemia acima do considerado normal, que seria de 70-110mg/dl.

Nos dias 16 houve um aumento nas taxas de glicose sanguínea dos animais, pertencentes ao grupo controle para hipercolesterolemia de +11,76% e no dia 31 houve uma redução nestes níveis, para este grupo, de -4,71%, respectivamente.

Em relação à xantona, verificou-se um efeito hipoglicêmico desta, que pode ser observado através da porcentagem de variação no 16º dia do experimento em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -18,63%. Este resultado foi considerado significativo pelo teste estatístico aplicado. Esta ação não se prolongou até o final do experimento, pois no 31º dia verificou-se um acréscimo por parte da xantona nas taxas de glicose sanguínea de +1,13%. Apesar deste último resultado não ter sido considerado significativo pelo teste estatístico, demonstra o comportamento irregular da xantona em relação à este parâmetro bioquímico utilizado.

Recentemente as xantonas tem sido demonstradas por possuírem atividade hipoglicemiante. De acordo com Basnet et al. (1994), citado por PERES et al. (2000), o extrato etanólico de *S. japonica* e suas frações demonstraram um potente efeito hipoglicêmico em ratos diabéticos.

Na tabela 23 foi analisada a variação de peso corpóreo em relação a substância utilizada no tratamento, xantona, em comparação aos grupos controle, apresentando a descrição dos resultados estatísticos das 3 dietas diferentes administradas durante todo o período do experimento.

Tabela 23. Peso (g) de coelhos submetidos a diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias do período experimental

Tempo (dias)	Dietas	Peso ¹ (g)	% de variação em relação a:	
			Ração	RCAC
0	Ração	1.954,38 ± 68,70 ³ a	-	-
	RCAC ²	1.930,00 ± 139,48 ³ a	-1,26	-
	RCAC ² + xantona	1.980,00 ± 99,10 ³ a	+1,31	+2,59
16	Ração	2.536,25 ± 32,28 ³ a	-	-
	RCAC ²	2.525,71 ± 131,50 ³ a	-0,42	-
	RCAC ² + xantona	2.452,86 ± 169,78 ³ a	-3,29	-2,88
31	Ração	2.698,75 ± 27,62 ³ a	-	-
	RCAC ²	2.717,86 ± 137,20 ³ a	+0,71	-
	RCAC ² + xantona	2.656,43 ± 148,48 ³ a	-1,57	-2,26

¹Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste t de Student (P>0,05).

²RCAC: Ração + Colesterol + Ácido cólico

³Desvio padrão

No tempo zero, não se observou diferenças significativas entre os grupos no que se refere aos valores médios de peso corporal.

No dia 16 houve uma redução nos valores de peso corporal dos animais, pertencentes ao grupo controle para hipercolesterolemia de -0,42% e no dia 31 houve um aumento nestes valores de +0,71%. Entretanto, devido ao valor reduzido, estas variações não foram consideradas significativas.

Em relação ao composto testado, xantona, verificou-se uma redução do peso corporal dos animais, que pode ser observado quando se compara as porcentagens de variação nos 16° e 31° dias deste em relação ao grupo controle hipercolesterolêmico, -2,88% e -2,26%, respectivamente. Estes resultados, contudo, não foram significativos pelo teste estatístico aplicado.

De acordo com GAION et al. (1982) alguns compostos derivados de xantona podem exercer atividade lipolítica, fator que contribui para a perda de peso corporal, devido a lise de triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo.

4.4. Morfologia hepática

O fígado é constituído por um grande número de unidades funcionais chamadas lóbulos, que têm a forma cilíndrica com uma estrutura venosa central, a veia centrolobular, que percorre seu maior eixo longitudinal. Os hepatócitos, que formam lâminas ou placas irregulares e interligadas, irradiam-se para o exterior a partir da veia centrolobular e constituem o parênquima do lóbulo. Essas lâminas de hepatócitos são separadas por capilares sinusóides que desembocam nas veias centrais dos lóbulos.

Ramos da artéria hepática e da veia porta são facilmente identificáveis no espaço porta. Esta descrição reflete as características dos animais do grupo controle, nos quais os hepatócitos e capilares sinusóides apresentaram-se com seu padrão normal. Os hepatócitos dos animais do grupo controle, assim como na maioria dos outros grupos, apresentaram vacuolizações citoplasmáticas. Segundo ROSS et al. (1995), estas lacunas representam depósitos de glicogênio que não foram imobilizados durante o processo de fixação, devido ao tipo de fixador utilizado. A arquitetura hepática dos animais controle é semelhante àquela encontrada em outros animais e em humanos (ROSS et al., 1995; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). Não foi encontrado nos animais normais qualquer acúmulo lipídico nos hepatócitos, embora, segundo ROSS et al. (1995), a quantidade de lipídeo e glicogênio no tecido hepático, em condições normais, reflitam a ingestão da dieta, não sendo incomum a presença de gotículas lipídicas em partes do parênquima hepático de animais normais.

4.4.1. Efeito da Crisina na Morfologia Hepática

Foram analisados cortes de tecido hepático de quatro animais de cada grupo, escolhidos ao acaso.

4.4.1.1. Grupo Controle Ração (R): sua descrição corresponde à estrutura hepática normal já descrita anteriormente. A Figura 11 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

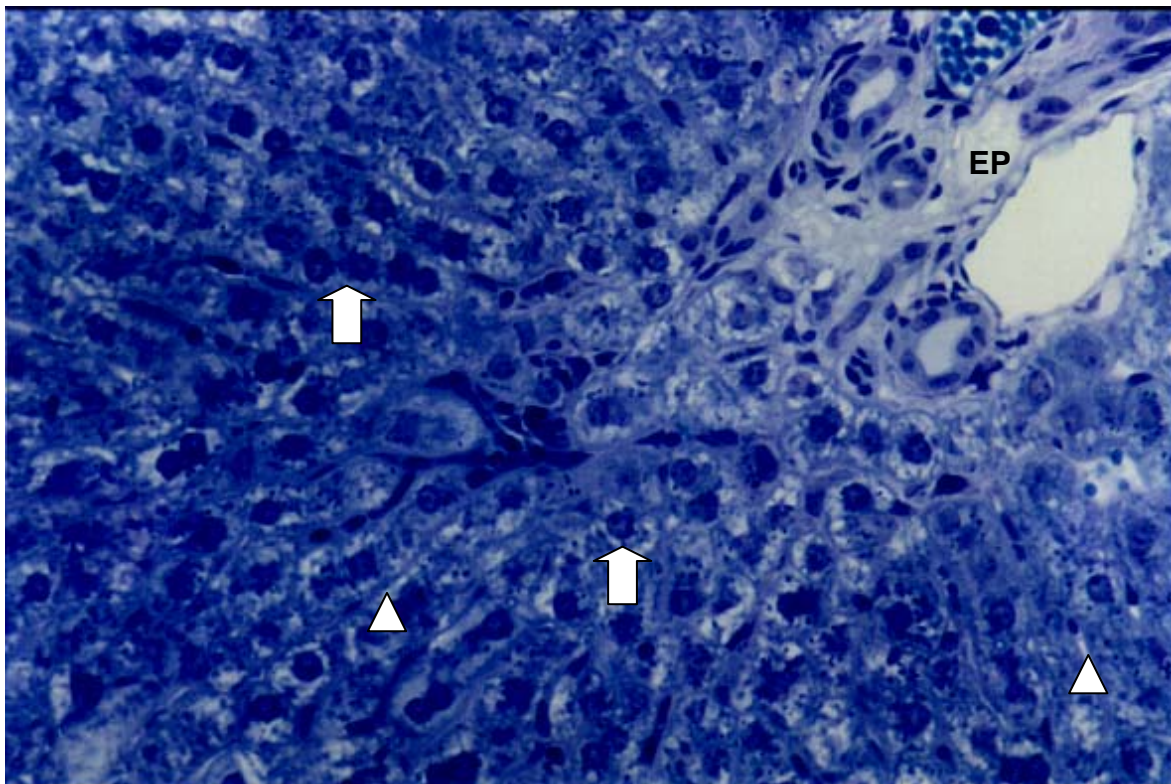


Figura 11. Corte de tecido hepático de animal do grupo controle, que recebeu apenas ração, onde são observados hepatócitos (setas), capilares sinusóides entre cordões de hepatócitos (cabeças de seta) e espaço porta (EP). 395X

4.4.1.2. Grupo Controle Hipercolesterolêmico (R + AC + C): foram observados grupos de hepatócitos com gotículas de gordura citoplasmática. A ocorrência de espaços intracelulares nos hepatócitos certamente deveu-se à saída do glicogênio devido ao tipo de fixação utilizada. A presença de lesões focais foi evidenciada no parênquima hepático. A Figura 12 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

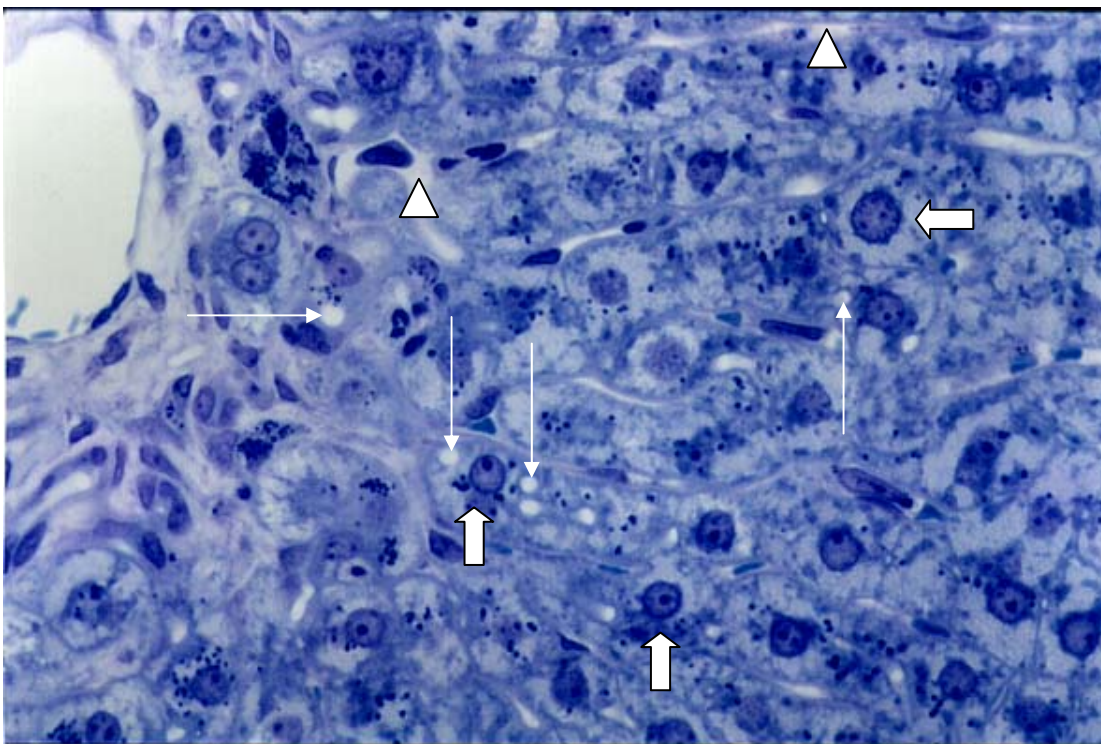


Figura 12. Corte de tecido hepático de animal do grupo controle hipercolesterolêmico, que recebeu ração + colesterol + ácido cólico. São observadas gotículas de gordura (seta fina) no interior de hepatócitos (seta espessa), e capilares sinusóides (cabeças de seta). 415X

4.4.1.3. Grupo da Crisina (R + AC + C + Crisina): não foram evidenciadas lesões focais nos animais desse grupo. Foram observadas porções parenquimáticas mais coradas nas proximidades da veia centrolobular. Não foram observadas gotículas de lipídeos (triacilglicerol) nos hepatócitos, sugerindo um efeito hepatoprotetor para esse flavonóide. Aparentemente os hepatócitos da região centrolobular estão mais preservados por terem sido melhor fixados.

De acordo com ARAYA et al. (2001) os compostos flavonóicos do vinho podem contribuir com um efeito hepatoprotetor na medida em que são capazes de

prevenir o acúmulo de triacilgliceróis no fígado. A Figura 13 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

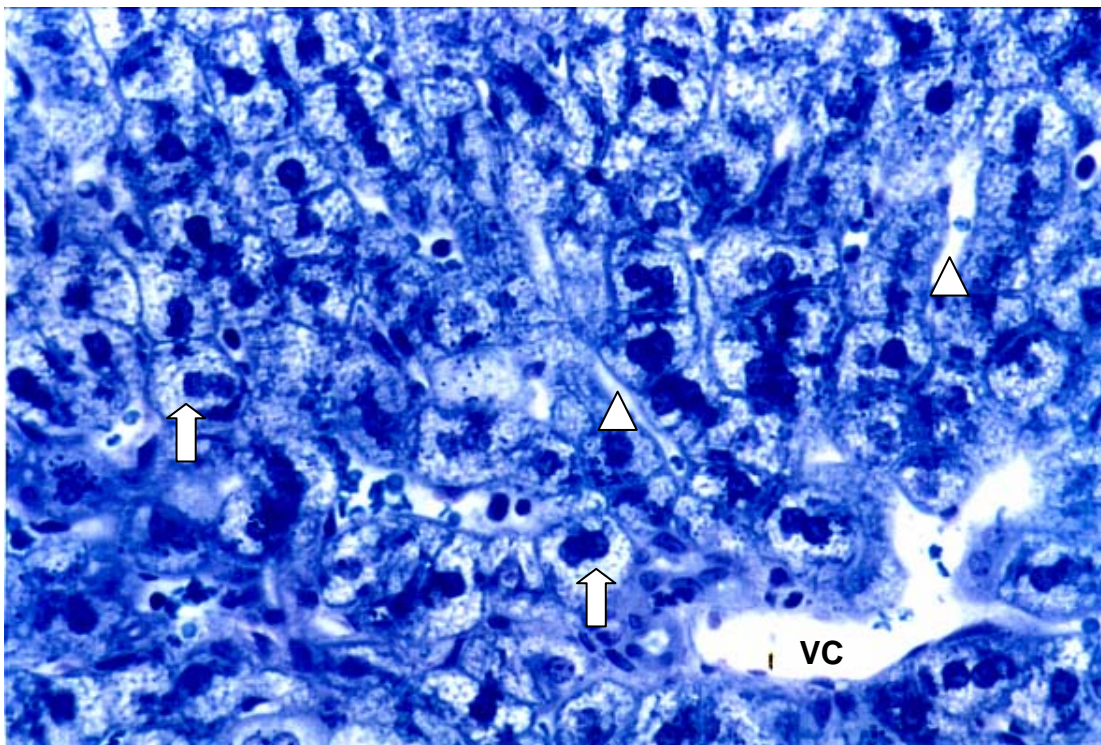


Figura 13. Corte de tecido hepático de animal do grupo crisina, que recebeu ração + colesterol + ácido cólico + crisina. São observados hepatócitos (setas), capilares sinusóides (cabeças de seta) e veia centro lobular (VC). 395X

4.4.1.4. Grupo da Colestiramina (R + AC + C + Colestiramina): não foram observados depósitos de gordura no tecido hepático. Os hepatócitos pareceram bem conservados, especialmente próximos a tríade portal (arteríola, vênula e canalículo biliar, no espaço porta) e nos espaços interlobulares. Estes dados confirmam o efeito hipolipidêmico desse medicamento e sugere ainda um efeito hepatoprotetor do mesmo já que não houve gotículas de gordura no citoplasma dos hepatócitos.

FERNANDEZ et al. (2000) verificaram o efeito da colestiramina em porcos, recebendo dieta hipercolesterolêmica, na redução dos lipídeos plasmáticos e

hepático. No fígado, os teores de triacilglicerídeos e colesterol livre e esterificado foram menores 37-60% do que aqueles encontrados para o grupo que apenas recebeu dieta hipercolesterolêmica. A atividade de HMG-CoA redutase aumentou nos animais que receberam colestiramina diariamente. A Figura 14 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

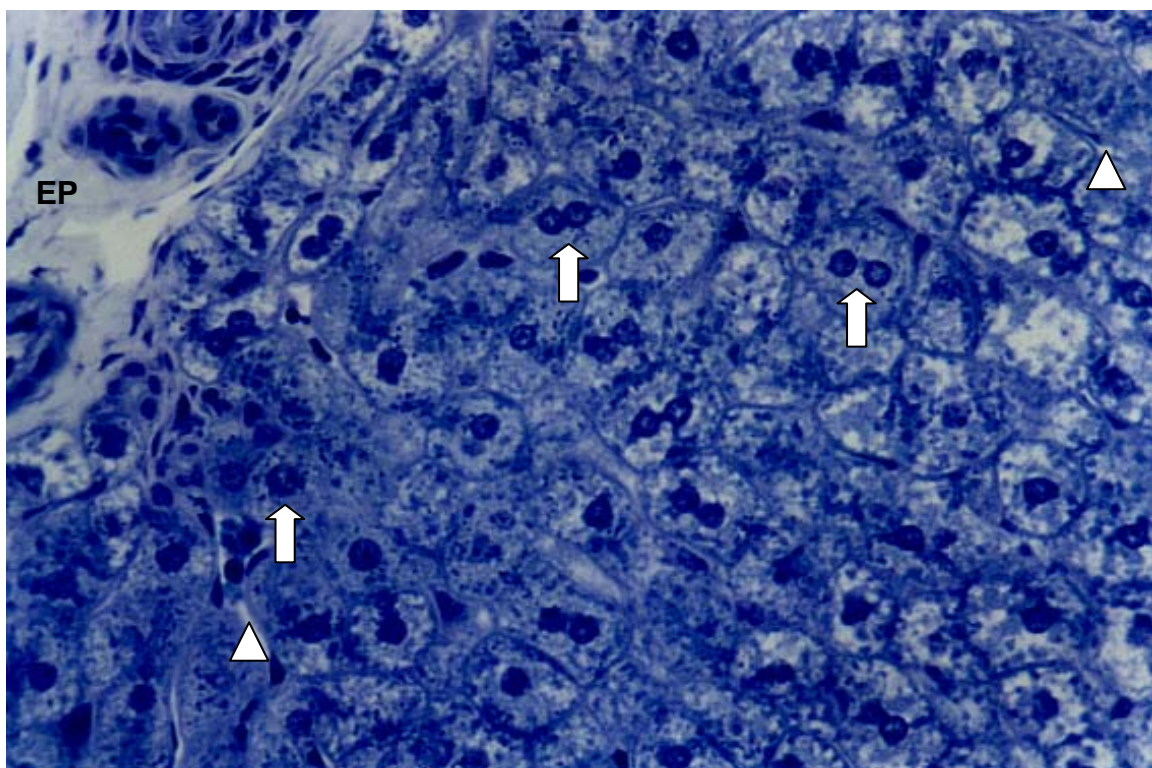


Figura 14 Corte de tecido hepático de animal do grupo colestiramina, que recebeu ração + colesterol + ácido cólico + colestiramina, onde são observados hepatócitos (setas), capilares sinusóides (cabeças de seta) e espaço porta (EP). 395X

4.4.2. Efeito das Proteínas de Soja e Caseína na Morfologia Hepática

4.4.2.1. Grupo da Caseína (R + AC + C + Caseína): o tecido não apresentou lesões parenquimatosas mas a presença de gordura foi a mais acentuada comparando-se aos outros animais dos três ensaios biológicos. Gotículas de

gordura, de forma esférica e bem delimitada, foram observadas principalmente no interior de hepatócitos da região interlobular e portal. Este acúmulo é prejudicial ao tecido hepático e está de acordo com o efeito hiperlipidêmico demonstrado pela caseína. A Figura 15 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

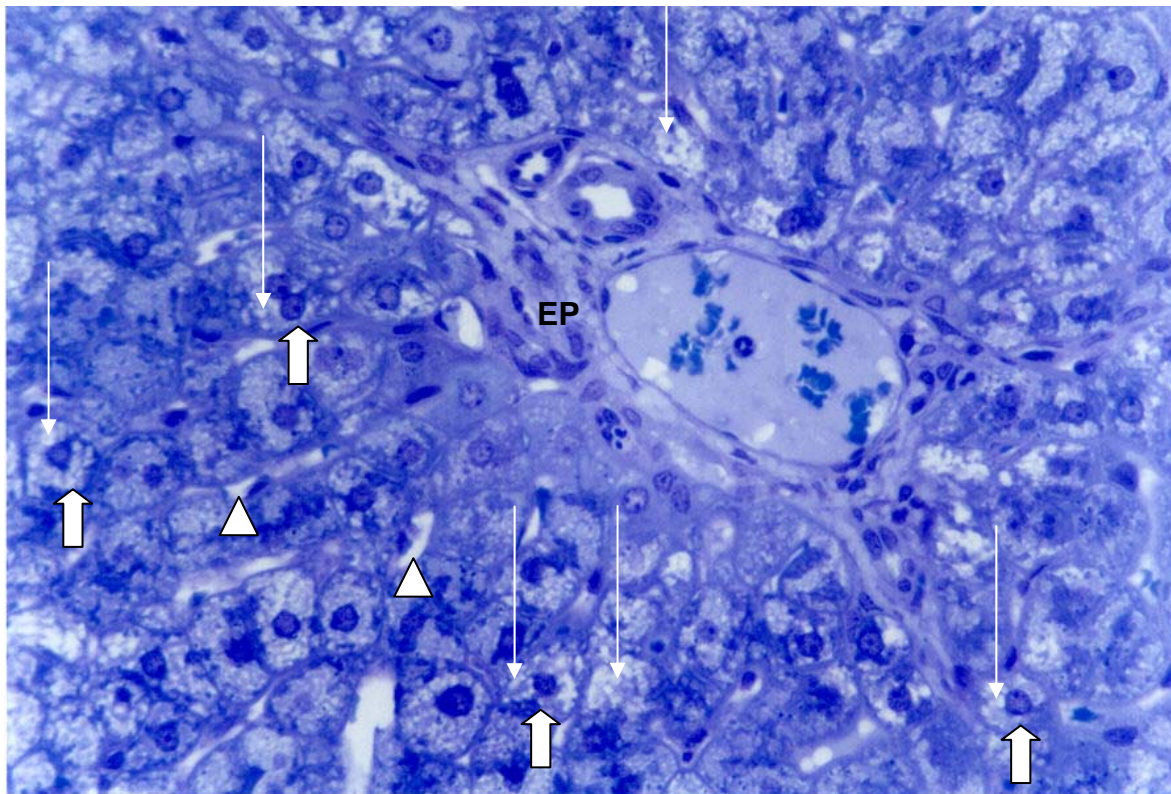


Figura 15. Corte de tecido hepático de animal do grupo caseína, que recebeu ração + colesterol + ácido cólico + caseína, onde são observados hepatócitos (setas largas) com gotículas de gordura (setas finas), capilares sinusóides (cabeças de seta) e espaço porta-hepático (EP). 395X

4.4.2.2. Grupo do Proteimax (R + AC + C + Proteimax): o tecido hepático apresentou-se sem lesões focais e com raras gotículas de gordura em hepatócitos isolados sugerindo um efeito hepatoprotetor da proteína de soja. Estes resultados coincidem com aqueles obtidos por TOMOTAKE et al. (2000) que verificaram em

seu estudo um menor acúmulo de gordura no fígado de ratos tratados com proteína isolada de soja em comparação àqueles tratados com caseína. A Figura 16 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

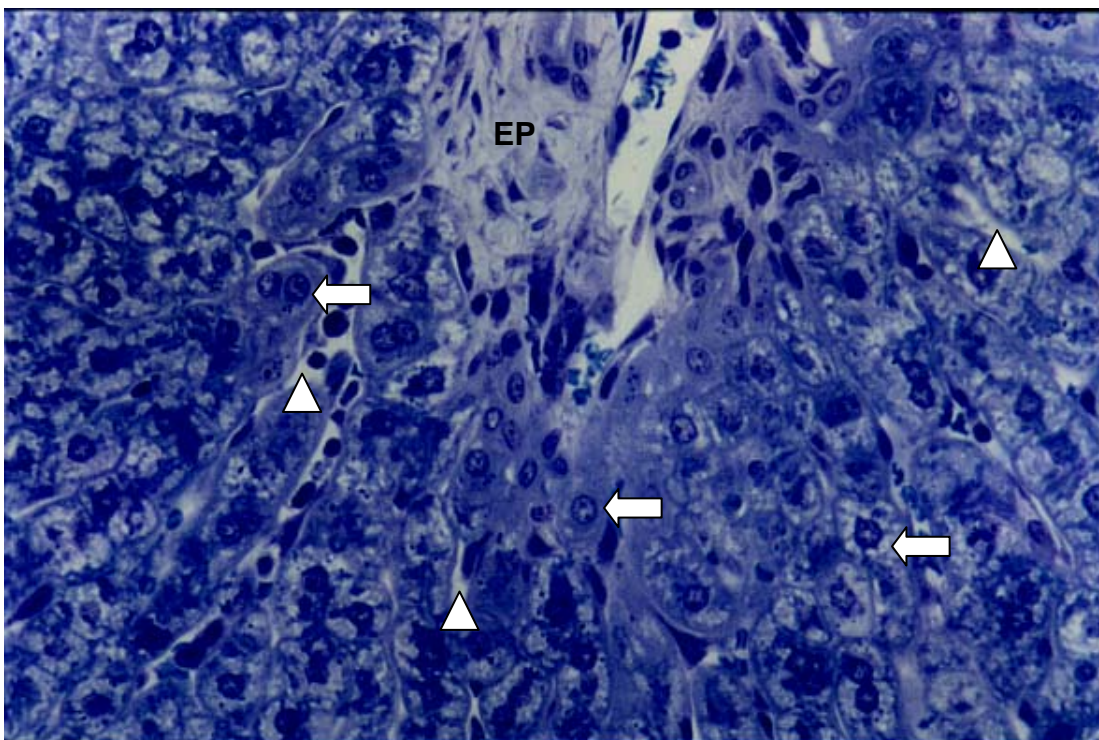


Figura 16. Corte de tecido hepático de animal do grupo proteimax, que recebeu ração + colesterol + ácido cólico + proteimax. São observados hepatócitos (setas), capilares sinusóides (cabeças de seta) e espaço porta (EP). 395X

4.4.2.3. Grupo Controle Hipercolesterolêmico (R + C + AC): ver resultados do primeiro ensaio biológico;

4.4.2.4. Grupo Controle Ração (R): ver resultados descritos no item 4.4.

4.4.3. Efeito da Xantona na Morfologia Hepática

4.4.3.1. Grupo da Xantona (R + AC + C + Xantona): os animais desse grupo apresentaram lesões focais, distribuídas aleatoriamente no parênquima do fígado, nas várias regiões dos lóbulos hepáticos. Foram também observados raros hepatócitos com pequenas gotículas lipídicas em seu citoplasma. A Figura 17 mostra um corte de tecido hepático de coelho pertencente a este grupo.

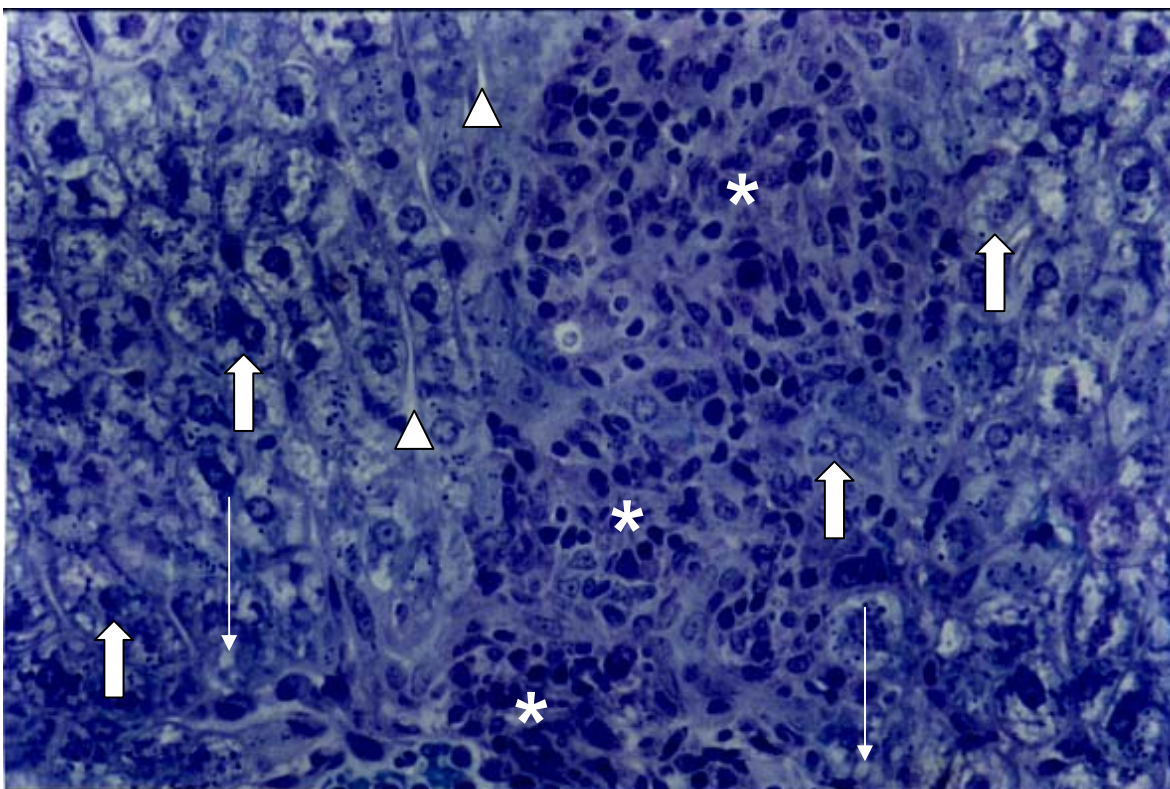


Figura 17. Corte de tecido hepático de animal do grupo xantona, que recebeu ração + colesterol + ácido cólico + xantona. Observar os hepatócitos (setas grossas), capilares sinusóides (cabeças de seta) e extensas lesões focais (asterisco); alguns hepatócitos apresentam gotículas de gordura (setas finas). 395X

4.4.3.2. Grupo Controle Hipercolesterolêmico (R + C + AC): ver resultados do primeiro ensaio biológico;

4.4.3.3. Grupo Controle Ração (R): ver resultados descritos no item 4.4.

Devido ao tipo de fixador utilizado não foi possível imobilizar o glicogênio em seus depósitos intra-hepáticos. Nessas condições, a visualização das gotículas de gordura no citoplasma dos hepatócitos pode ter sido prejudicada pois os locais antes ocupados pelo glicogênio formaram lacunas que podem ter mascarado a observação das gotículas lipídicas no interior de hepatócitos.

5. CONCLUSÕES GERAIS

O flavonóide crisina demonstrou ter ação hipolipidêmica em todos os parâmetros bioquímicos avaliados. Promoveu redução no colesterol total, em suas frações LDL-colesterol e HDL-colesterol e nas taxas de triacilgliceróis. Obteve-se também um efeito hipoglicemiante da crisina ao reduzir a concentração de glicose no soro dos animais.

A proteína de soja teve um efeito hipolipidêmico em quase todos os parâmetros analisados, em contra partida, a caseína promoveu uma ação inversa, sendo hiperlipidêmica, aumentando assim as taxas de colesterol total e LDL-colesterol. A proteína animal só não provocou um acréscimo nas taxas de triacilgliceróis, tendo sido hipolipidêmica para este indicador. Entretanto, a redução dos níveis de triacilgliceróis provocada pela caseína foi menor do que aquela provocada pela proteína isolada de soja. O comportamento das duas proteínas de natureza alimentar diferente foi oposto também à concentração da fração HDL-colesterol. Enquanto que a proteína de soja promoveu um acréscimo na sua concentração, a caseína promoveu a redução. Em relação à glicose, ambas as proteínas se mostraram hipoglicêmicas.

Comparando-se os efeitos da crisina e das proteínas testadas aos do medicamento comercial colestiramina, verificou-se que: a crisina obteve um melhor efeito hipolipidêmico para colesterol total e um efeito semelhante para a fração LDL-colesterol e triacilgliceróis. No caso do HDL-colesterol, a colestiramina provocou um acréscimo, no entanto, a ação obtida pela crisina foi um decréscimo neste parâmetro. Em relação à glicose, a colestiramina demonstrou um efeito redutor mais eficaz do que os outros compostos. A proteína de soja provocou um efeito hipolipidêmico para colesterol total menor do que aquele obtido pela colestiramina; um efeito redutor para triacilglicerol maior que a colestiramina; um aumento nas taxas de HDL-colesterol mais eficaz que a colestiramina e um efeito hipoglicêmico semelhante ao medicamento.

A xantona exerceu um efeito hiperlipidêmico, pois elevou a concentração de colesterol total, LDL-colesterol e HDL-colesterol. Reduziu somente as taxas de triacilgliceróis, exercendo concomitantemente um efeito hiperglicemiante.

Em relação à deposição lipídica no fígado, de todas as substâncias estudadas, a caseína demonstrou ter uma ação favorável ao depósito de gotículas de gordura nos hepatócitos. As demais substâncias, crisina, proteína de soja, xantona e colestiramina não manifestaram esta propensão.

No que diz respeito ao peso corporal total, a crisina, a xantona e a proteína de soja tiveram um efeito redutor. Entretanto, o efeito redutor promovido pela colestiramina foi maior do que aquele demonstrado pela crisina e pela proteína isolada de soja. Em respeito à caseína, observou-se um acréscimo no peso corporal total. Tanto para a crisina quanto para a proteína de soja e para a xantona, o peso foi diretamente proporcional aos parâmetros avaliados. Atentando-se para o parâmetro bioquímico glicose, não se verificou uma relação direta com o peso para a proteína de soja.

Estes resultados indicaram um efeito preventivo do flavonóide crisina e da proteína de soja principalmente para as dislipidemias, o ganho de peso corporal e a deposição de lipídeos hepática, patologias que conferem risco às desordens cardiovasculares, sobretudo à aterosclerose.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGULLO, G.; GAMET-PAYRASTRE, L.; MANETI, S.; VIALA, C.; RÉMESY, C., CHAP, H.; PAYRASTRE, B. Relationship between flavonoids structure and inhibition of phosphatidylinositol-3-kinase: a comparison with tyrosine kinase and protein kinase e inhibition. **Biochemical Pharmacology**, v.53, p.1649-57, 1997.
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v.18, p.75-81, 2002.
- ANGELIN, B.; LEIJID, B.; HULTCRANTZ, R.; EINARSSON, K. Increased turnover of very low density lipoprotein triglyceride during treatment with cholestiramine in familial hypercholesterolaemia. **J. Int. Med.**, v.227, p.201-6, 1990.
- ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N.R. Flavonoids from emblica officinalis and Mangifera indica-effectiveness for dyslipidemia. **J. Ethnophar.**, v.79, n.1, p.81-7, 2002.

- ANTON, R.; BERETZ, A. Les flavonoides: médicaments antithrombotiques or nutriments? **Bull. Acad. Natle. Méd.**, v. 174, n.6, p. 709-17, 1980.
- AOYAMA, T.; KOHNO, M.; SAITO, T.; FUKUI, K.; TAKAMATSU, K.; YAMAMOTO, T.; HASSHIMOTO, Y.; HIROTSUKA, M.; KITO, M. Reduction by phytate-reduced soybean beta-conglycinin of plasma triglyceride level of young and adult rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 65, n.5, p.1071-5, 2001.
- ARAI, Y.; WATANABE, S.; KIMIRA, M.; SHIMOI, K.; MOCHIZUKI, K. Dietary Intakes of flavonois, flavones and isoflavones by japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. **J. Nutr.**, v.130, p.2243-50, 2000.
- ARRINGTON, L.R.; PLATT, J.K.; FRANKE, D.E. Fat utilization by rabbits. **J. Anim. Sci.**, v.38, p.76-80, 1974.
- BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Arq. Bras. de Cardiol.**, v. 68, n.1, p.1-16, 1997.
- BEVILACQUA, F.; BENSOUSSAN E.; JANSEN, J.M.; SPÍNOLA E CASTRO, F. **Fisiopatologia Clínica**. Ed. Atheneu, 5° ed., p.646, 1998.
- BEST, J.D.; JENKINS, A.J. Novel agents for managing dyslipidaemia. **Expert Opin. Investing Drugs.**, v.10, n.11, p.1901-11, 2001.
- BROUSSEAU, M.E.; SCHAEFER, E.J. New developments in the prevention of atherosclerosis in patients with low-density lipoprotein cholesterol. **Curr. Atheros. Repr.**, v.3, n.5, p.365-72, 2001.

- CAI, Q.; RANHN, R.O.; ZHANG, R. Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. **Cancer Letters**, v.119, p.99-107, 1997.
- CAMUS, M.C.; LAPORTE, J.C.; SAUTIER, C. *Analles de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique.*, v. 13, p.193–202, 1973.
- CARROL, K.K. Soya protein and athersclerosis. **JAOCs**, v.2.,p.416–19, 1981.
- CARVALHO, C.R.O.; BRENELLI, S.L.; SILVA, A.C.; NUNES, A.L.B.; VELLOSO, L.A.; SAAD, M.J.A. Effects of aging on insulin receptor, insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol-3-kinase in liver and muscle of rats. **Endocrinology.**, v.137, n.1, p.151-9, 1996.
- CARVALHO, P.R.C. **Medicina ortomolecular: um guia completo sobre os nutrientes e suas propriedades terapêuticas.** Record: Nova era. 441p., 2000.
- CARVALHO, M.G; OLIVEIRA, M.C.C.; FERREIRA, D.T.; FILHO, R. B. Flavonóides das flores de *Stiffitia chrysantha* Mikan. **Quím. Nova**, v. 22 n. 2, 1999.
- CHANG, C.H.; LIN, C.C.; HATTORI, M.; NAMBA, T. Effects on anti-lipid peroxidation of *Cudrania cochinchinensis* var. *gerontogea*. **J. Ethnopharmacol.**, v.44, n.2, p.79-85, 1994.
- CHAUDIÉRE, J.; FERRARI-ILIOU, R. Intracellular Antioxidants: from chemical to biochemical mecanisms. **Food and Chem. Tox.**, vl.37, p. 949-62, 1999.
- CHEEKE, P.R.; GROBNER, M.A.; PATTON, N.M. Fiber digestion and utilization in rabbits. **J. Appl. Rabbit Res.**, v.9, p. 25-30, 1986.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. Protéines Alimentaires Paris, **Tecniq
ue et Documentation**, 1985.

CHEN, W.Y.; KO, F.N.; LIN, C.N.; TENG, C.M. The effect of 3-[2-(cyclopropylamino)ethoxy]xanthone on platelet thromboxane formation. **Tromb. Res.**, v.75, n.1, p. 81-90, 1994.

CHENG, Y.W.; KANG, J.J. Mechanism of vasorelaxation of thoracic aorta caused by xanthone. **Eur. J. Pharmacol.**, v.336, n.1, p.23-8, 1997.

CHITTURI, S.; FARRELL, G.C. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. **Semin. Liver Dis.**, v.21, n.1, p. 27-41, 2001.

CHUNG, M.; GAN, K.; LIN, C. Antiplatelet effects and vasorelaxing action of some constituents of formosan plants. **J. Natural Products**, v.56, n.6, p.929-34, 1993.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nut. Biochem.**, v. 7, p.66-76, 1996.

COS, P.; YING, L.; COLAMME, M.; HU, J.P.; CIMANGA, K.; POLL, B.; PRETERS, L. Uheting inibitions of xanthine oxidase and superoxide scavengers. **J.Nat.Pord.**, v. 61, p.71-6, 1998.

DAREZZO, H.M. Processamento mínimo de alface (*lactuca sativa l.*). In: **Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças**, II, 2000. Viçosa, UFV. P.117–124.

DJAHANSOUZI, S.; BRAESEN, J.H.; KOENIG, K.; BEISIEGEL, U.; KONTUSH, A. The effect of pharmacological doses of different antioxidants on oxidation

- parameters and atherogenesis in hyperlipidaemic rabbits. **Atherosclerosis.**, v.154, n.2,p. 387-98, 2001
- DUARTE, J.; JIMENEZ, R.; VILLAR, I.C.; PEREZ-VIZCAINO, F.; JIMENEZ, J.; TAMARGO, J. Vasorelaxant effects of the bioflavonoid chrysin in isolated rat aorta. **Planta Med.**, v.67, n.6, p.567-9, 2001.
- DUFFY, S.J.; KEANEY, J.F.; HOLBBROOK, M.; GOKCE, N.; SWERDLOFF, P.L.; FREI, B.; VITA, J.A. Short and long term black tea consumption reverses endothelial dysfunction in patients whit coronary artery disease. **Circulation**, v.104, n.2, p.151-56, 2001.
- DULOO, A. Green tea may aid weight loss. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.70, p.1040-45, 1999.
- ESTEVEZ, E.A.; MONTEIRO, J.B.R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Rev. Nutr.**, v.14, n.1, p. 43–52, 2001.
- FEKETE, BOKORI, J. The effect of the fober and protein level of the ration upon the cecotropy of rabbit. **J.Appl. Rabbit Res.**, v.8, p.68-71, 1985.
- FELDMAN W. Culture vs. biology: Children's attitudes toward thinness and fatness. **Pediatrics.**, v.7, p..1988.
- FERRIOLA, P.C.; CODY, V.; MIDDLETON, E. Protein kinase inhibition by plant flavonoids. **Biochem. Pharmacology.**, v.38, n.10, p.1617-24, 1989.
- FERNANDEZ, M.L.; ROY, S.; JIMENEZ, M.V. Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. **Nutr. Research.**, v.20, n.6, p.837-49, 2000.

- FRANK, E.N.; BOSANEK, C.A.; MEYER, A.M.; SILLIMAN, K.; KIRK, L.L. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. **J. Agric. Food Chem.**, v.346, p. 834–838, 1998.
- GAION, R. M.; VALENTI, P.; MONTANARI, P.; DA RE, P. Xanthone analogues of clofibrate/synthesis and biological evaluation as antagonists of lipolysis in vitro. **Arzneimittel forschung.**, v.32, n.5, p.499-502, 1982.
- GALIJATOVIK, A.; OTAKE, Y.; WALLE, U.K.; WALLE, T. Induction of UDP-glucuronosyltransferase UGT1A1 by the flavonoid chrysin in caco-2-cells-potential role in carcinogen bioinactivation. **Pharm. Res.**, v.18, n.3, p.374-9, 2001.
- GHISELLI, A.; NARDINI, M.; BALDI, A.; SCACCINI, C. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from Italian red wine. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p.361–67, 1998.
- GUERMANI-NICOLE, L.; VILLAUME, C.; BAU, H.M.; SCHWERTZ, A.; NICOLAS, J.P.; MEJEAN, L. The colesterol-lowering property of soybeans fed to rats is related to the fasting duration. **Plant Foods Hum. Nutr.**, v.56, n.3, p.239-49, 2001.
- GUZZALONI, G.; GRUGNI, G.; MINOCCI, A.; MORO, D.; MORABITO, F. Liver steatosis in juvenile obesity: correlations with lipid profile, hepatic biochemical parameters and giycemic and insulinemic responses to an oral glucose tolerance test. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.24, n.6, p.772-6, 2000.
- HAKIM, I.A.; WEISGERBER, U.M.; HARRIS, R.B.; BALENTINE, D.; VAN-MIERLO, C.A.J.; ROBINSON, P. Preparation, composition and consumption patterns of tea-based beverages in Arizona. **Nutrition Reseach**, v.20, n.12, p.1715-24, 2000.

HARBONE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, p.481–504, 2000.

HARBONE, J.B.; DEY, P.M. **Methods in Plant Biochemistry**. v.1, Series Ed., 552p, 1989.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **The pharmacological basis of therapeutics**. Mc Graw-Hill Inter editors, S.A. de C.V., 9° ed, 699p., 1996.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Bioq. Phar.**, v.32, n.7, p.1141-48, 1989.

HE, Q.; XU, S.; PENG, B. Mechanism of canoscora lucidissima xanthenes against arrhythmia induced by myocardial ischemia-reperfusion in rats. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v.23, p.556-7, 1998.

HEINONEN, I.M.; MEYER, A.S.; FRANKEL, E.N. Antioxidant activity of Berry phenolics on human low-density-lipoprotein and liposome oxidation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, n.10, p.4107-12. 1998.

HELLER, F.R.; DECAMPS, O.; HONDEKIJIN, J.C. LDL oxidation: therapeutic perspectives. **Atherosclerosis**, v.137, p.25-31, 1998.

HERMIER, D.; SAADOUN, A.; SALICHON, M.R.; SÉLLER, N.; ROUSSELOT-PAILLET, D.; CHAPMAN, M.J. Plasma lipoproteins and liver lipids in two breeds of geese with different susceptibility to hepatic steatosis: changes induced by development and force-feeding. **Lipids**, v..26, n.5, p.331-9, 1991.

HERTOG, M.G.L.; FESKENS, E.J.M.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. **The Lancet**, v. 342, n.23, 1993.

- HERTOG, M.G.L.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; BLACBURN, H.; BUZINA, R.; FIDANZA, F.; GIAMPAOLI, S.; JANSEN, A.; MENOTTI, A.; NEDEJKOVIC, S.; PEKKARINEN, M.; SIMIC, B.S.; TOSHIMA, H.; FESKENS, E.J.M.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Arch. Intern. Med.**, v.155, p.381–386, 1995.
- HILDEN, M.; CLAUSEN, J. Studies on the serum lipid and lipoproteins in steatosis of the liver. **Acta Med. Scand.**, v..198, n.3, p.207-12, 1975.
- HODGSON, J.M.; CROFT, K.D.; MORI, T.A.; BURKE, V.; BEILIN, L.J.; PUDDEY, I. B. regular ingestion of tea does not inhibit in vivo lipid peroxidation in humans. **J. Nutr.**, v.132, n.1, p.55-9, 2002.
- HOPE, W.C.; WELTON, A.F.; FIEDLER-NAGY, C.; BATULA, B.C.; COFREY, J.W. In vitro: Inhibition of the biosynthesis of sow reating substance of anaphylaxis (SRS-A) and lipoxigenase by quercetin. **Bioquem. Pharm.**, v.32, p.367, 1983.
- HUFF, M.W.; CARROL, K.K. Effects of dietary protein on turnover, oxidation, and absortion of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. **J. Lipid Res.**, v. 21, p.546–58, 1980.
- JANTAN, I.; JURİYATI, J.; WARIF, N.A. Inhibitory effects of xanthones on platelet activating factor receptor binding in vitro. **J. Ethnopharmacol.**, v.75, n.2-3, p. 287-90, 2001.
- JORGE, P.A.R.; NEYRA, L.C.; OSAKI, R.M.; ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N. Efeito da beringela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arqu. Bras. de cardiol.** v.70, n.2, p.1-11, 1998.

- JIALAL, I.; DEVARAJ, S. Low density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. **Clin. Chem.**, v.42, n.4, p. 498 –506, 1996.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9° ed. Ed. Guanabara Koogan S.A., 552p., 1999.
- KATAN, M.B.; HOLLMAN, P.C.H. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food and Chem. Tox.**, v.37, p.927-42, 1999.
- KEEVIL, J.G.; OSMAN, H.; MAALEJ, N.; FOLTS, J.D. Grape juice inhibits human ex vivo platelet aggregation while orange and grapefruit juices do not. **J. the Am. Coll. Cardiology.**, v.31, n.2, 1998.
- KELLY, J.X.; WINTER, R.; PEYTON, D.H; HINRICHS, D.J.; RISCOE, M. Optimization of xanthenes for antimalarial activity: the 3,6-bis-omega-diethylaminoalkoxyxanthone series. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.46, n.1, p.144-50, 2002.
- KHORLE, E.J.; AUF'MKOLK, M.; SPANKA, M.; SOYI, G.; HESCH, R.D. Flavonoids inhibit enzymic thyroid hormone deiodination. In: Farkas L. Gabor, M., Kallay, F (Eds). **Flavonoids and bioflavonoids**, Budapest: Hungarian, **Acad. Sci.**, p.441-421, 1985.
- 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. **J. Nutrition.**, v.128, p.964-64, 1998.
- KRITCHEVSKY, D. Vegetable protein and atherosclerosis. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.56, p.135-39, 1979.

- KO, W.G.; KANG, T.H.; LEE, S.L.; KIM, N.Y.; KIM, Y.C.; SOHN, D.H.; LEE, B.H. Polymethoxyflavonoids from *Vitex rotundifolia* inhibit proliferation by inducing apoptosis in human myeloid leukemia cells. **Food and Chem. Tox.**, v.38, n.10, p.861-5, 2000.
- KOSHY, A.S.; VIJAYALAKSHMI, N.R. Impact of certain flavonoids on lipid profiles – potential action of *garcinia cambogia* flavonoids. **Phytother. Res.**, v.15, n.5, p.395-400, 2001.
- 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.1307-55, 1992.
- KUROWSKA, E.M.; SPENCE, J.D.; JORDAN, J.; WETMORE, S.; FREEMAN, D.J.; PICHÉ, L.A.; SERRATONE, P. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.72, n.5, p.1095-100, 2000.
- LAKKA, T.A.; LAKKA, H.M.; SALONEN, R.; KAPLAN, G.A.; SALONEN, J.T. Abdominal obesity is associated with accelerated progression of carotid atherosclerosis in men. **Atherosclerosis**, v.154, n.2, p.497-504, 2001.
- LEE, T.P.; MATTELIANO, M.L.; MIDDLETON, E.J.R. Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte lysosome enzyme release and phospholipid metabolism. **Life Sci.**, v.31, p.2765-74, 1982.
- LEMO, V.S.; FREITAS, M.R.; MULLER, B.; LINO, Y.D.; QUEIROGA, C.E.G.; CÔRTEZ, S.F. Dioclein, a new nitric oxide and endothelium-dependent vasodilator flavonoid. **European Journal Pharmacology**, v.386, p.41-6, 1999.

LIN, C.N.; HSIEH, H.K.; LIOU, S.J.; KO, H.H.; LIN, H.C.; CHUNG, M.I.; KO, F.N.; LIU, H.W.; TENG, C.M. Synthesis and antithrombotic effect of xanthone derivatives. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.48, n.9, p.887-90, 1996.

LIMA, I.R.P. **Efeitos farmacológicos e toxicológicos e mecanismo de ação dos flavonóides e corantes naturais extraídos do urucum (*Bixa Orelana* L.) no metabolismo lipídico de coelhos.** Viçosa, MG, UFV, 2001.

LU, Y.F.; JIAN, M.R. Effects of soy protein and casein on lipid metabolism in mature and suckling rats. **Nutr.Research.**, v.17, n.8, p.1341-50, 1997.

LUNA, D.; RODRIGUES, O.M.; RADA, M.; MENDEZ, J. **Actividad biológica de flavonóides.** IV Simposio Internacional de Química de Productos naturales Y sus Aplicaciones, p.134-135, 1996.

MAHABUSARAKAM, W.; PROUDFOOT, J.; TAYLOR, W.; CROFT, K. Inhibition of lipoprotein oxidation by prenylated xanthenes derived from mangostin. **Free Radic. Res.**, v.33, n.5, p.643-59, 2000.

MAHAN, L.K.; ARLIN, M.T. **KRAUSE: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia.** 8^o ed., São Paulo, Roca, 1995. 957p

MANDAL, S.; DAS, P.C.; JOSHI, P.C. Naturally Occuring xanthenes from terrestrial flora. **J. Indian Chem. Soc.**, v.69, p.611-36, 1992.

MASCOLO, N.; BORRELI, F.; CAPSSO, R.; CAPASSO, F.; CARLO, G.G.; IZZO, A.A.; PINTO, L.; CASTALDO, S.; LONGO, R. Natural products and cardiovascular disturbances. **Phytoterapy Research.**, v. 12, p. 121-23, 1998.

MEDINA, J. H.; VIOLA, H.; WOLFMAN, C.; MARDER, M. WASOWSKI, C. CALVO, D.; PALADINI, A.C. Neuroactive flavonoids: new ligands for the benzodiazepine receptors. **Phytomedicine**, Vol 5(2), 235 – 246, 1998.

MEYER, A.S.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E. N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin and ellagic acid on human LDL oxidation. **Food Chem.** 61, pp.71 – 75, 1998.

MEYERS, K., COFFREY, J.W. Differential effects of cyclooxygenase and lipoxigenase on carrageenan pleurisy in the rat. **Fed Proc.**, vol.43, pp.388, 1984.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. 619-645, in: Harbone J.B. (ed). **The flavonoids**, 1994.

MIURA, T., ICHIKI, H., HASHIMOTO, I., IWAMOTO, N., KATO, M., KUBO, M., ISHIHARA, E., KOMATSU, Y., OKADA, M., ISHIDA, T., TANIGAWA, K. Antidiabetic activity of a xanthone compound, magiferin. **Phytomedicine.**, vol.8(2), pp.85-7, 2001.

NAGATA, Y.; IMAIZUMI, K.; SUGANO, M. Effects of soya-bean protein and casein on serum cholesterol levels in rats. **Br. J. Nutr.**, 44, 113 – 121, 1980.

NAGATA, Y.; YSHIWAKI, N.; SUGANO, M. studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. **J. Nutr.** 112, pp.1614 – 1625, 1982.

- NAGEM, T.J.; OLIVEIRA, T.T.; MIRANDA, L.C.G.; PEREIRA, C.A.S. Efeito de flavonóides sobre lipídeos em ratos e sobre enzimas metabolizadoras de drogas. **Arq. Biol. Technol.** 37 (3), pp.171–182, 1994.
- NEVALA, R.; VASKONEN, T.; VEHNIAINEN, J; KORPELA, R. VAPAATALO, H. Soy based attenuates the development of hipertension when compared to casein based diet in spontaneously hypertensive rat. **Life Sciences**, Vol. 66, No 2, pp. 115-124, 2000.
- OLDENBURG, B.; PIJL, H. Abdominal obesity: metabolic complications and consequences for the liver. **Ned Tijdschr geneeskd.** Vol 145(27), pp.1290-4, 2001.
- OLIVEIRA, D.R.; PORTUGAL, L.R.; CARA, D.C.; VIEIRA, E.C.; LEITE, J.I.A. gelatin intake increases the atheroma formation in apoE knock out mice. **Atherosclerosis**, vol.154 (I), 71-77, 2001.
- PACKER, L.; RIMBACH, G.; VIRGILI, F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*pinus maritima*) bark, pycnogenol. **Free Radical Biology & Medicine**, vol 27 (5/6), pp.704-724, 1999.
- PERES, V. **Xantonas: visão geral e estudo por RMN de ¹H**. In: tese de doutorado- departamento de química/UFMG. 280p, 1996.
- PERES, V., NAGEM, T.J., OLIVEIRA, F.F. Tetraoxygenated naturally occurring xanthones. **Phytochemistry**, vol.55, pp.683-710, 2000.
- PEREIRA, L.W. **Efeito Hipolipidêmico de flavonóides, corantes naturais e suas associações**. Viçosa, MG, UFV, 1999.

- PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutr. Research**, vol.18, No. 12, pp. 1995-2018, 1998.
- PICQ, M.; CHEAV, S.V.; PRINGENT, A.F.; Effect of two flavonoid compounds on the central nervous system. Analgesic activity. **Life sci.** 49: 1979 – 1988, 1991.
- PIETTA, P.G. Flavonopids as antioxidants. **J. of Nat. Products**, vol.63 (7), pp.1035-1042, 2000.
- PINTO, A.S., PEREIRA, W.L., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., COSTA, N.M.B., STRINGHETA, P.C. Sinergismo de kaempherol e corantes naturais antocianina e carmim no controle do metabolismo lipídico. **Rev. Port. de Farm.**, vol.XLIX(4), pp.147-152, 1999.
- POTTER, J.D., TOPPING, D.L., OAKENFULL, D.G. Effects of soya protein in lipids. **Lancet**, vol.223, 1979.
- QUINTÃO, E. C. R. **Hiperlipidemias**. Rio de Janeiro: Qualitymark, pp. 71-123. 1992.
- RAJTAR, G., ZOLKOSKA, D., KLEINROK, Z., MARONA, H. Antiplatelets activity of some xanthone derivatives. **Acta Pol. Pharm.**, vol.56(4), pp.319-24, 1999.
- RAJTAR, G., ZOLKOSKA, D., KLEINROK, Z., MARONA, H. Pharmacological properties of some xanthone derivatives. **Acta Pol. Pharm.**, vol.56(4), pp.311-8, 1999
- RATTY, A. K., DAS, N.P. Effects of flavonoids on nonenzimatic lipid peroxidation struture – activity relationship. **Biochem. Med. and Metabol. Biol.**, vol.39, pp.69-79, 1988.

- RECANATINI, M., BISI, A., CAVALLI, A., BELLUTI, F., GOBBI, S., RAMPA, S., VALENTI, P., PALZER, M., PALUSCZAK, A. HARTMANN, R.W. A New class of nonsteroidal aromatase inhibitors: design and Synthesis of chromone and xanthone derivatives and inhibition of the P450 enzymes aromatase and 17 α -hydroxylase/C17,20-lyase. **J. Med. Chem.**, vol.44, pp.672-80, 2001.
- REIHNER, E., ANGELIN, B., RUDLING, M., EWERTH, S., BJORKEM, I., EINARSSON, K. Regulation of hepatic cholesterol metabolism in humans: stimulatory effects of cholestiramine on HMG-COA reductase activity and low density lipoprotein receptor expression in gallstone patients. **J. Lipid. Res.** Vol.31, pp.2219-1126, 1990.
- ROSS, M.H., REITH, E.J., ROMRELL, L.J. **Histologia – atlas**. 2^oed., São Paulo, Panamericana, 779p., 1995.
- RUIDAVETS, J.B.; TEISSEDE, P.L.; FERRIÉRES, J.; CARANDO, S.; BOUGARD, G.; CABANIS, J.C. Catechin in the mediterranean diet: vegetable, fruit or wine? **Atherosclerosis**, vol 153(1), pp. 107-117, 2000.
- SANTOS, M.D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. De mata e de cerrado. **Rev. Bras. Bot.** V. 21. n. 2. São Paulo, 1998.
- SANTOS, K.F.R., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., OLIVEIRA, M.G.A., SOARES, J.F. Efeito das associações de morina-ácido nicotínico e quercetina-ácido nicotínico no controle de lipídeos. **RBAC.**, vol.31(1), pp.5-7, 1999.
- SAUTIER, C.; DIENG, K.; FLAMENT, C.; DOUCET, C.; SUQUET, J. P.; LEMONNIER, D. Effects of whey protein, casein, soya-bean and sunflower proteins on the serum, tissue and faecal steroids in rats. **Br. J. Nutr.**, vol. 49, pp.313-319, 1983.

-
- SCHAMM, D.D., GERMAN, J.B. Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular diseases. **J. Nutr. Biochem.**, vol.9, pp.560-566, 1998.
- SIMON-VERMONT, I.; KELLER, U. Consequences and complications of obesity. **Ther Umsch.** Vol 57(8): pp.493-7, 2000.
- STEELE, R.D.; HARPER, A.E. Proteínas y aminoácidos. In: Conocimientos actuales sobre nutrición. 6 ed. **Org. Pan. De la Salud**, cap.8, 1991.
- STEIN, J.H.; KEEVIL, J.G.; WIEBE, D.A; AESCHLIMANN,S.; FOLTS,J.D. Purple grape juice improves endothelial function and reduce the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*, vol. 100 (10), 1050-1055, 1999.
- STUDENIK, P. Lipid disorders in liver diseases. **Vnitr Lek.** Vol.46(9):pp.547-8, 2000.
- SUZUKI, O., KATSUMATA, Y., OYA, M., CARI, V.M., VERMES, B., WAGNER, H., HOSTETTMANN, K. Inhibition of type A and type B monoamino oxidases by naturally occurring xanthenes. **Planta medica.**, vol. 42, pp.17-21, 1981.
- TANAKA, K. IMAIZUMI, K.; SUGANO, M. Effects of dietary Proteins on the intestinal synthesis and transport of cholesterol and apolipoprotein A-I in rats. **American Institute of Nutrition**, 1983.
- TAVARES, L.H.C., BRITO, R.G.L., GUILHON, G.M.S.P., CONSERVA, L.M. Terpenóides e xantonas de *Tovomita brasiliensis* walp. (Guttiferae). *Rev Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*. <http://www.ufpa.Br/revistaic>, vol.1(2), pp.1-6, 2001.

- TEISSEDRE, P.L.; FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A.L.; PELEG, H.; GERMAN, J.B. Inhibition of on vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. **J. Sci. Food Agric.** Vol. 70, 55 – 61, 1996.
- TENG, C.M., LIN, C. N., KO, F. N., CHENG, K. L., HUANG, T. F. Novel inhibitory actions on platelet thromboxane and inositolphosphate formation by xanthenes and their glycosides. **Biochem Pharmacol.**, vol.38(21), pp.3791-5, 1989.
- TERPSTRA, A.H.M.; TINTELEN, G.V.; WEST, C. The effect os semipurified diets containing different proportions os either casein or soybean protein on the concentration of cholesterol in whole serum, serum lipoproteins and liver in male and female rats. **Atherosclerosis**, vol. 42, pp. 85-95, 1982.
- TIERNEY JR., L. M.; McPHEE, S. J.; PAPADAKIS, M. A. **Diagnóstico e tratamento 2001: um livro médico.** LANGE – São Paulo: Atheneu Editora, pp. 1161-1173, 2001.
- TOMOTAKE, H., SHIMAOKA, I., KAYASHITA, J., YOKOYAMA, F., MISAO, N., KATO, N. A buckwheat protein product suppresses gallstone formation and plasma cholesterol more strongly than soy protein isolate in hamsters. **J. of Nutr.**, vol.130, pp.1670-1674, 2000.
- VALENTI, P., CHIARINI, A., GASPERI, F., BUDRIESI, R. Xanthone 1,4-dihydropyridine derivatives with a potent selective bradycardic effect. **Arzneimittel forschung.**, vol.40(2), 1990.
- VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity ant total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **J. Agric. Food. Chem.** Vol.46, pp.1113 – 1117, 1998.

- VINSON, J. A.; HAO, Y.; SU, X.; ZUBIK, L. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. **J. Agric. Food. Chem.** Vol.46, pp.3630-3634, 1998.
- YI-FA, L., JIAN, M.R. Effects of soy protein and casein on lipid metabolism in immature and suckling rats. **Nutr. Research.**, vol.17(8), pp.1341-50, 1997.
- YOKOZAWA, T., DONG, E., LIU, Z. W., SHIMIZU, M. Antioxidative activity of flavones and flavonols in vitro. **Phitoterapy Research**, v. 11, pp. 446-449, 1997.
- YUSUKE, A., WATANABE, S., KIMIRA, M., SIMIO, K., MOCHIZUKI, R., KINAE, N. Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. **J. of Nutr.**, vol.130, pp.2243-50, 2000.
- WALLE, T., OTAKE, Y., BRUBAKER, J.A., WALLE, U.K., HALUSHKA, P.V. Disposition and metabolism of the flavonoid chrysin in normal volunteers. **Brit. J. os Clin. Pharm.**, vol.51(2), pp.143, 2001.
- WANG, H.H. Analitical models of atherosclerosis. **Atherosclerosis**, vol.159 (1), 1-7, 2001.
- WILCOX, L.J., BORRADAILE, N.M., DE DREU, L.E., HUFF, M.W. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **J. Lipid Res.**, vol 42(5), pp.725-43, 2001.
- WILLIAMS CH., HOULT, J.R.S., HARBONE, J.B., GREENHAM, J., EAGLES, J. A biological active lipophilic flavonol from tanacetum parthenium. **Phytochemistry**, v.38, p.267-270. 1995.

WITZTUM, J.L.; The oxidation hypothesis of atherosclerosis. **Lancet**, vol.344, pp.793-795, 1994.

WOODWARD, C. J. H.; CARROL, K. K. Digestibilities of casein and soya-bean protein in relation to their effects on serum cholesterol in rabbits. **Brit. J. of Nutr.** 54, pp.355 – 366, 1985.

ZANOLI, P., AVALLONE, R., BARALDI, M. Behavioral characterization of the flavonoids apigenin and chrysin. **Fitoterapia.**, Vol.71 (1), pp.117-123, 2000.

ZWIAUER, K.F.M.; PAKOSTA, R.; MUELLER, T.; WIDHALM, K. Cardiovascular risk factors in obese children in relation to weight and body fat distribution. **J. of the Am. Col. Of Nutr.** vol. 11 (5), pp.40-50, 1992.

APÊNDICE

Tabela 1a – Estimativa da correlação de Pearson, das características avaliadas em coelhos submetidos a diferentes dietas durante 31 dias (relativo ao 1º experimento)

Dieta		Peso	Colesterol	HDL	LDL	Triacil	Glicose
Ração	Peso	1					
	Colesterol	-0,7744 **	1				
	HDL	-0,1834	-0,3567	1			
	LDL	0,2216	0,5827 **	-0,5074 *	1		
	Triacil	-0,2849	-0,0231	0,4645 *	0,1778	1	
	Glicose	-0,7556 **	-0,6802	-0,0042	-0,0702	0,0661	1
RCAC	Peso	1					
	Colesterol	0,5790 **	1				
	HDL	-0,2985	-0,1059	1			
	LDL	0,6160 **	0,4364 *	-0,3694	1		
	Triacil	0,7229 *	0,5875 **	-0,3405	0,8490 **	1	
	Glicose	0,0555	0,0157	0,1225	0,1501	0,2233	1
RCAC + crisina	Peso	1					
	Colesterol	0,4583 *	1				
	HDL	0,3834 *	0,5036 **	1			
	LDL	0,5108 **	0,6223 **	0,2106	1		
	Triacil	0,2444	0,4184 *	0,2322	0,3802 *	1	
	Glicose	0,4887 *	0,1862	-0,1961	0,4775 *	0,2644	1
RCAC + colestiramina	Peso	1					
	Colesterol	0,5293 **	1				
	HDL	0,1983	0,6252 **	1			
	LDL	0,4249 *	0,7986 **	0,6193 **	1		
	Triacil	0,4753 *	0,3932 *	0,0984	0,1885	1	
	Glicose	0,4976 *	0,4108 *	0,4890 *	0,3290	0,2643	1

** e * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t de Student.

Tabela 1b – Estimativa da correlação de Pearson, das características avaliadas em coelhos submetidos a diferentes dietas durante 31 dias (relativo ao 2º experimento)

Dieta		Peso	Colesterol	HDL	LDL	Triacil	Glicose
Ração0	Peso	1					
	Colesterol	-0,7744 **	1				
	HDL	-0,1834	-0,3567	1			
	LDL	0,2216	0,5827 **	-0,5074 *	1		
	Triacil	-0,2849	-0,0231	0,4645 *	0,1778	1	
	Glicose	-0,7556 **	-0,6802	-0,0042	-0,0702	0,0661	1
RCAC	Peso	1					
	Colesterol	0,5790 **	1				
	HDL	-0,2985	-0,1059	1			
	LDL	0,6160 **	0,4364 *	-0,3694	1		
	Triacil	0,7229 *	0,5875 **	-0,3405	0,8490 **	1	
	Glicose	0,0555	0,0157	0,1225	0,1501	0,2233	1
RCAC + caseína	Peso	1					
	Colesterol	0,8125 **	1				
	HDL	-0,0739	0,0100	1			
	LDL	0,7105 **	0,9353 **	0,1151	1		
	Triacil	0,1134	0,3105	-0,1569	0,3425	1	
	Glicose	0,1479	-0,0091	-0,0965	0,1017	-0,0496	1
RCAC + proteína	Peso	1					
	Colesterol	0,2109	1				
	HDL	0,4400 *	0,2359	1			
	LDL	0,4256	0,9967 **	0,2367	1		
	Triacil	0,3070	0,1403	0,3721	0,1186	1	
	Glicose	-0,0139	0,4856	-0,1834	0,5086 *	-0,3069	1
RCAC + colestiramina	Peso	1					
	Colesterol	0,6190 **	1				
	HDL	0,1983	0,2573	1			
	LDL	0,4249 *	0,2933	0,6193 **	1		
	Triacil	0,4753 *	0,4378	0,0984	0,1885	1	
	Glicose	0,4976 *	0,4734 *	0,4890 *	0,3289	0,2643	1

** e * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t de Student.

Tabela 1c– Estimativa da correlação de Pearson, das características avaliadas em coelhos submetidos a diferentes dietas durante 31 dias (relativo ao 3º experimento)

Dieta		Peso	Colesterol	HDL	LDL	Triacil	Glicose
Ração	Peso	1					
	Colesterol	0,3012	1				
	HDL	0,2979	0,1201	1			
	LDL	0,1854	0,9515 **	-0,1552	1		
	Triacil	0,2332	0,5007 **	0,1647	0,3298	1	
	Glicose	0,7133 **	0,1995	0,0724	0,1420	0,1293	1
RCAC	Peso	1					
	Colesterol	0,3595	1				
	HDL	-0,3215	-0,0235	1			
	LDL	0,3476	0,9779 **	-0,0489	1		
	Triacil	0,5139 **	0,3037	-0,1829	0,2524	1	
	Glicose	0,2080	0,3096	-0,0451	0,2071	0,5174 **	1
RCAC + xantona	Peso	1					
	Colesterol	0,5734 **	1				
	HDL	0,3295	0,3840	1			
	LDL	0,5546 **	0,9867 **	0,3174	1		
	Triacil	0,6684 **	0,3817 *	0,1702	0,3472	1	
	Glicose	0,5433 **	0,6414 **	-0,0136	0,6701 **	0,1531	1

** e * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t de Student.