

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

DUÍLIO TEIXEIRA SOARES JÚNIOR

**EFEITO DO FLAVÓNOIDE NARINGINA ASSOCIADO À
SINVASTATINA NO METABOLISMO LIPÍDICO DE COELHOS
HIPERCOLESTEROLÊMICOS**

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2015

DUÍLIO TEIXEIRA SOARES JÚNIOR

**EFEITO DO FLAVÓNOIDE NARINGINA ASSOCIADO À
SINVASTATINA NO METABOLISMO LIPÍDICO DE COELHOS
HIPERCOLESTEROLÊMICOS**

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

Viçosa
Minas Gerais - Brasil
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S676e
2015 Soares Júnior, Duílio Teixeira, 1982-
Efeito do flavonoide naringina associado a sinvastatina no
metabolismo lipídico de coelhos hipercolesterolêmicos / Duílio
Teixeira Soares Júnior. – Viçosa, MG, 2015.
xiii, 116f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Tânia Toledo de Oliveira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.102-16.

1. Flavonoides. 2. Lipídios - Metabolismo. 3. Coelho.
4. Colesterol no sangue. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de
Pós-graduação em Bioquímica Agrícola. II. Título.

CDD 22. ed. 572.592

DUÍLIO TEIXEIRA SOARES JÚNIOR

EFEITO DO FLAVONÓIDE NARINGINA ASSOCIADO À FÁRMACO
SINVASTATINA NO METABOLISMO LIPÍDICO DE COELHOS
HIPERCOLESTEROLÊMICOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA:30 de julho de 2015

Sérgio Luis Pinto da Matta

Virgínia Ramos Pizziolo
(Coorientador)

Tânia Toledo de Oliveira
(Orientador)

Dedico este trabalho especialmente aos meus pais Duílio e Mônica.

“No meio da confusão, encontre a simplicidade. A partir da discórdia, encontre a harmonia. No meio da dificuldade reside a oportunidade.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus por conceder a oportunidade da vida, me dando chance de vencer desafios propostos com muita fé, força e resignação.

Aos meus pais, Duílio e Mônica que se empenharam com determinação durante todos os instantes de suas vidas, ensinando, educando e dedicando amor incondicional à nossa família.

A Universidade Federal de Viçosa e Departamento de Educação Física.

À Prof.^a Tânia Toledo de Oliveira, por toda confiança depositada em nosso trabalho. Pela amizade construída, orientação dos estudos e conselhos, abrindo as portas para a realização de um sonho.

À Prof.^a Virgínia Ramos Pizziolo pela coorientação, amizade e idéias. Estando sempre disponibilizada em ajudar.

Ao Prof.^o Sérgio da Matta por aceitar o convite para participação da composição da banca avaliadora. Fico muito honrado com sua presença.

A Juliana Lima, por ser minha amiga, confidente, namorada. Suportando com paciência, dedicação e principalmente amor os dias difíceis e os períodos que estive ausente, sendo fundamental para o cumprimento de mais uma etapa da vida. A Pietra pelo sorriso fácil e carinho recíproco, sempre aliviando meus finais de semana com sua doçura.

Aos meus sobrinhos João Vitor e Murilo por estarem em meus pensamentos, fazendo das minhas manhãs de sábado as mais leves desse período, arrancando espontaneamente meu sorriso todas as vezes que os lembro.

Aos amigos da Pós-Graduação Ítalo Soares, por ser fundamental para a realização do trabalho. Ao Leandro Gusmão pela ajuda no experimento e estar junto nessa jornada durante todo o mestrado. Ao Carlos Cardoso pelo apoio. A amiga Luana Monteiro por ser meu braço direito durante todo o experimento e pós-graduação. Sou muito grato por toda sua dedicação e amizade.

A todos os amigos e alunos do Laboratório de Performance Humana. Ao Mário Lima e especialmente a Priscila Niquini que esteve presente em todas as etapas e quase todos os dias comigo, sendo exemplo de amizade e companheirismo. Muito obrigado!

Aos funcionários do departamento de Bioquímica, Eduardo Monteiro e José Geraldo pelo apoio.

Aos estagiários, Amanda, Eduarda, Gabriela Ítalo e Katarine, sendo muito importantes para o andamento do experimento.

A todos que de alguma forma contribuíram com positividade e pensamentos construtivos para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviações	xi
Resumo	xiii
Abstract	xiv
1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	5
2.1 Lipídios	5
2.1.1 Fatores que influenciam os níveis lipídicos.....	8
2.2 Dislipidemias	8
2.2.1 Fatores de risco das dislipidemias.....	10
2.3 Aterosclerose	12
2.4 Prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares	14
2.5 Os inibidores da HMG-coa redutase: estatinas	19
2.6 Sinvastatina	23
2.6.1 Hepatotoxicidade com estatinas.....	25
2.7 Estresse oxidativo e atividade antioxidante das plantas	26
2.8 Flavonóides	28
2.8.1 Ação de flavonóides a nível cardiovascular.....	31
2.8.2 Flavonóides e sua ação em dislipidemias.....	34
2.9 Naringina	41
2.10 Modelo animal e metabolismo de coelhos	43
3. Objetivos	48
3.1 Objetivo Geral	48
3.2 Objetivo específicos	48
4. Materiais e métodos	49
4.1 Animais	49
4.2 Indução da hiperlipidemia	49

4.3 . Grupos e tratamentos.....	50
4.4 . Delineamento experimental.....	50
4.5 . Princípios da análise do soro.....	51
4.6 . Análise estatística.....	53
5. Resultados e Discussão.....	54
5.1 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de colesterol total.....	54
5.2 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de triacilglicerol.....	58
5.3 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de colesterol HDL.....	61
5.4 . Efeito dos tratamentos nas concentrações de glicose.....	64
5.5 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de AST (TGO).....	66
5.6 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de ALT (TGP).....	68
5.7 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de creatinina.....	71
5.8 . Efeitos dos tratamentos nas concentrações de ureia.....	74
6. Conclusão.....	77
7. Referências Bibliográficas.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Percentual aproximado dos componentes das lipoproteínas.....	7
Figura 2: Valores de referência dos níveis de colesterol.....	9
Figura 3: O Endotélio e a evolução da placa aterosclerótica.....	14
Figura 4: Ações das estatinas, fibratos, resinas e ezetimibe nas vias endógena e exógena de síntese do colesterol.....	18
Figura 5: Biossíntese do colesterol e inibição da Hmg-Coa redutase.....	20
Figura 6: A estrutura química de algumas estatinas mais utilizadas.....	21
Figura 7: Efeitos pleiotrópicos das estatinas.....	22
Figura 8: Estrutura Química da Sinvastatina.....	25
Figura 9: Estrutura Básica dos Flavonóides.....	28
Figura 10: Subclasses de Flavonóides.....	30
Figura 11: Substituinte importantes à atividade antioxidante.....	38
Figura 12: Estrutura química da naringina e da naringenina.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios de colesterol total e percentual de variação em relação aos grupos controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	54
Tabela 2: Valores médios de triacilglicerol e percentual de variação em relação aos grupos controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	58
Tabela 3: Valores médios de colesterol Hdl e percentual de variação em relação aos grupos controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	61
Tabela 4: Valores médios de glicose e percentual de variação em relação aos grupos controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	64
Tabela 5: Valores médios de AS e percentual de variação em relação aos grupos controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	66
Tabela 6: Valores médios de ALT e percentual de variação em relação aos grupos controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	68
Tabela 7: Valores médios de creatinina e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....	71

Tabela 8: Valores médios de colesterol total e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.....74

LISTA DE ABREVIATÓES

ADP-Adenosina 5'-difosfato

AGL- Ácido graxo livre

AST (TGO) - Transaminase oxalocinética

ALT(TGP) -Transaminase oxalacética

ACAT- Acil-CoA Acetiltransferase

AMPc-Adenosina 3',5' – Monofosfato cíclico

BHA - butil-hidroxianisol

BHT- hidroxitoluenobutilado

CETP - Proteínas de transferência de éster de colesterol

CT- Colesterol total

DAC- Doença Arterial Coronariana

DCV- Doenças Cardiovasculares

Enos-Óxido nítrico sintetase endotelial

Eros -Espécies reativas de oxigênio

FR -Fatores de risco

HDL - Lipoproteína de alta densidade

HDL-c - Colesterol HDL

HMG-Coa redutase- Hidroximetilglutaril-Coenzima-A redutase

HMG - Grupo hidroximetilglutaril

IAM - Infarto agudo do miocárdio

IDL- lipoproteína de densidade intermediária

iNOS-Óxido nítrico sintetase reduzível

Íon potássio -K⁺

LDL - lipoproteína de baixa densidade

LDL-c - Colesterol LDL

LP-lipoproteínas

LH -lipase hepática

LPL- enzima lipoproteína lipase

LCAT- Lecitina Colesterol AcilTransferase

LP-Lipase lipoprotéica

Na⁺ - Íon sódio

NO- Óxido nítrico

OMS- Organização Mundial de Saúde

PGI₂ - Prostaglandina 2

PLTP - proteína de transferência de fosfolipídios

PON-Paraoxonase

Qm- Quilomicrons

ROS- Espécies reativas de oxigênio

RSN - Espécies reativas de azoto

SOD- Superóxido dismutase

TG- Triacilgliceróis

TBAR-Substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico

VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade

β-VLDL - VLDL remanescentes

RESUMO

SOARES JÚNIOR, Duílio Teixeira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Efeito do flavonóide naringina associado à fármaco sinvastatina no metabolismo lipídico de coelhos hipercolesterolemicos.** Orientador: Tânia Toledo de Oliveira. Coorientadora: Virgínia Ramos Pizzolo.

A Hiperlipidemia é considerada uma dos mais importantes fatores no desenvolvimento da doença arterial coronariana, principal causa de morte de indivíduos adultos no mundo. A dislipidemia é um quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue, que é determinada por fatores genéticos e ambientais. A Sinvastatina é um fármaco com potencial ação hipocolesterolêmica. Estudos demonstraram que a Naringina possui ação antiinflamatória, impede a oxidação da LDL-c e previne formação de placa aterosclerótica. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do flavonóide Naringina associado ao fármaco Sinvastatina, em diferentes concentrações, no metabolismo lipídico de coelhos hipercolesterolemicos. A hiperlipidemia nos coelhos foi alcançada suplementando a dieta com 20 ml diários de gordura animal via oral. Os níveis de colesterol e triacilglicerol aumentaram consideravelmente quando comparados ao grupo que recebeu apenas ração, 86,52% e 83,96% respectivamente. Os tratamentos com naringina 25mg associada a sinvastatina 1,2 mg foi a formulação que apresentou os melhores resultados, diminuindo em 60,08% os níveis de colesterol e 65,35% os níveis de triacilglicerol com 28 dias de tratamento. Contudo, apenas no grupo dos animais tratados com 5 mg de Naringina e 0,3 mg de sinvastatina tiveram os valores de Hdl-c aumentados. Os resultados de glicose, ureia e creatinina sofreram poucas variações ao longo do experimento. Já os valores de AST e ALT tiveram uma redução de seus níveis plasmáticos em todos os grupos. De maneira geral os compostos associados de naringina e sinvastatina apresentam ação farmacológica sinérgica no metabolismo lipídico de coelhos hipercolesterolemicos, contudo não se pode afirmar que os tratamentos utilizados e resultados obtidos de ureia, creatinina, AST e ALT foram capazes de causar nefrotoxicidade e ou hepatotoxicidade nos animais. Testes para avaliação toxicológicas e avaliação de cortes histológicos seriam necessários para avaliar qualquer dano hepático e ou renal nos animais em teste.

ABSTRACT

SOARES JÚNIOR, Duílio Teixeira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2015. **Evaluation of the naringin flavonoid effect associated with the drug simvastatin in the lipidic metabolism of hypercholesteraemic habits.** Adviser: Tânia Toledo de Oliveira. Co-advisers: Viginia Ramos Pizziolo

Hyperlipidaemia is considered one of the most important factors in the development of Coronary arterial disease, the world's main cause of death in adults. Dyslipidaemia is a clinical condition characterized by the abnormal concentrations of lipids or lipoproteins in the blood, which is determined by genetic and environmental factors. Simvastatin is a pharmaceutical drug with hypocholesterolemic action. Studies have shown that the naringin has an anti-inflammatory action, which stops the oxidation of the LDL-c and prevents the formation of the atherosclerotic board. The aim of the present study was to evaluate the effect of the flavonoid Naringin associated with the drug Simvastatin in different concentrations, on the lipid metabolism of hypercholesteraemic habits. The hyperlipidaemia on habits was achieved by supplementing their diet with 20ml of daily oral doses of animal fat. The cholesterol levels and triglycerides considerably increased when compared with the group that was only fed, showing the percentages of 86,52% and 83,96% respectively. The treatments with naringin 25 mg associated with simvastatin 1.2 mg was the formula that presented the best results, decreasing in 60,08 % the levels of cholesterol and 65.35% the levels of triacylglycerol with 28 days of treatment. However, only the group of the animals treated with 5mg of Naringin and 03.mg of simvastatin had the values of Hdl-c raised. The results of glyose, urea and creatine suffered low variations along the experiment. Nonetheless, for the AST and ALT values, a reduction was observed on the plasmatic levels of all groups. In general, the associated compounds of Narigin and Simvastatin showed a synergistic pharmacological action in the lipid metabolism of hypercholesteraemic habits, yet it cannot be stated that the chosen treatments and found results of urea, creatinine, AST and ALT were capable of causing nephrotoxicity and or hepatotoxicity on the animals. Further tests for toxicological evaluations of histological cuts could be necessary to assess any possible hepatic or nephric damage on the tested animals.

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo atual, chegando a 30% do número de óbitos nos países do ocidente (SBC, 2007). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 7,3 milhões de pessoas morreram por doença isquêmica cardíaca e 6,2 milhões por acidente vascular cerebral ou outras doenças cerebrovasculares em 2008. Juntos estes óbitos representam aproximadamente 24% das causas de morte daquele ano no mundo (WHO, 2015). Estudos apontam que há uma tendência no mundo atual para uma crescente no número de mortes relacionadas às doenças cardiovasculares (MORAES *et al.*, 2013). Dados brasileiros mostram que a situação em nosso meio é semelhante ao relatado em outras pesquisas em diferentes partes do mundo (ROMALDINI *et al.*, 2004).

Dentre as DCV a aterosclerose, doença caracterizada pelo acúmulo de gordura na parede interna das artérias, se destaca no contexto epidemiológico, atuando como a principal causa nos índices de mortes nas sociedades industrializadas. O processo de formação da placa de ateroma no endotélio tem início muito antes das manifestações clínicas serem detectadas (ARAKI, *et al.*, 2013). O risco de desenvolver a aterosclerose está ligado ao efeito global de vários fatores como: o uso de tabaco, inatividade física, alimentação inadequada, uso nocivo do álcool, hipertensão, diabetes, níveis elevados de lipídios no sangue, dentre outros (MENDIS *et al.*, 2011).

A mudança do estilo de vida de grande parte da população nos últimos anos é um fator que favoreceu o processo de acúmulo de lipídio arterial (LIBERALI *et al.*, 2012). Os lipídios mais importantes presentes no sangue circulante são: os ácidos graxos, mono ou poli-insaturados; os triacilgliceróis, depositados no tecido adiposo e muscular usado como fonte de energia; os fosfolipídios, usados como estrutura de membrana celular e o colesterol usado na síntese da vitamina D, sais biliares, hormônios esteroides, corticosterona, aldosterona, surfactante alveolar, além de membranas celulares (CHIESA *et al.*, 2007).

O colesterol plasmático é proveniente de duas vias: a exógena via alimentação e a endógena, via síntese de acetil-CoA. A etapa que regula a velocidade na via de síntese é a conversão do 3-hidroxiacetilglutaril-Coenzima-A para mevalonato, catalisada pela enzima hidroxiacetilglutaril-Coenzima-A redutase (HMG-CoA redutase) sendo o fígado o órgão responsável pela maior parte da síntese do colesterol endógeno. Os níveis colesterolêmicos plasmáticos são controlados principalmente pelos receptores de LDL, captadores desta lipoproteína rica em colesterol (BAYS e STEIN, 2003). Tais lipídios não existem no estado livre no plasma e para serem transportados em meio aquoso eles necessitam de estruturas organizadas, macro agregados moleculares denominados lipoproteínas de transporte de colesterol (HDL - lipoproteína de alta densidade, LDL - lipoproteína de baixa densidade e VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2009). A lipoproteína é a forma com que os lipídios circulam no plasma e tem por função suprir os tecidos com gorduras provenientes da dieta ou sintetizados pelo próprio organismo (MARZZOCCO e TORRES, 2007).

A aterosclerose desencadeada por hiperlipidemias é uma doença inflamatória crônica progressiva, tem como processo inicial o depósito e a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) na parede das artérias (LIMA e COUTO, 2006). Segundo Abdalla e Sena (2008) o processo aterosclerótico está relacionado a uma resposta inflamatória crônica da parede arterial, iniciada por uma lesão do endotélio, cuja progressão é mantida pela interação entre as lipoproteínas modificadas, macrófagos derivados de monócitos, linfócitos T e constituintes celulares normais da parede arterial, desencadeando o acúmulo de gorduras na superfície interna da artéria, sendo o ponto principal do envolvimento da inflamação e a LDL como partícula central no processo. Os estudos de Nissem (2004) revelaram que o uso de medicamentos, principalmente as estatinas, tem grande poder sobre a diminuição dos altos níveis de colesterol no sangue.

As estatinas inibem competitivamente a enzima HMG-CoA redutase, a etapa enzimática limitante da velocidade da biossíntese do colesterol, o que resulta em redução da síntese de colesterol e maior expressão de receptores de LDL. O incremento do número destes receptores na superfície dos hepatócitos

resulta em aumento da remoção desta lipoproteína do sangue e sua redução plasmática. O colesterol é então excretado para o intestino, na sua forma livre ou como integrante dos ácidos biliares (KAJINAMI, 2005).

A Sinvastatina, fármaco associado em estudo, é um dos principais membros da classe das estatinas que possuem ação antilipêmica. Tal fármaco atua por meio da inibição da enzima HMG-CoA redutase, bloqueando a rota de síntese do colesterol endógeno, importante em várias frentes fisiológicas no bom funcionamento do organismo (GOODMAN e GILMAN, 2003). A sinvastatina também pode provocar efeitos adversos. A miopatia é apontada como uma complicação mais comum das estatinas, mais especificamente as miopatias são doenças que causam problemas na contração dos músculos esqueléticos. Estes problemas vão desde rigidez a fraqueza, com diferentes graus de gravidade (JOY e HEGELE, 2009). Segundo Rang *et al.* (2011) foram comprovados efeitos anti-inflamatório e antioxidante, demonstrando a

Capacidades da sinvastatina em reduzir os danos oxidativos por meio da diminuição da peroxidação lipídica e geração de espécies reativas de oxigênio na célula (MIYOSHIY *et al.*, 2014). Outros estudos também comprovaram que alguns flavonóides, compostos polifenólicos presentes somente em plantas, apresentaram capacidade de diminuir significativamente os índices de colesterol sanguíneo, portanto, utilizados como alternativa ao tratamento da aterosclerose (SILVA *et al.*, 2001).

A naringina, flavonóide em estudo neste trabalho, é um polifenol presente em frutas cítricas, utilizado tradicionalmente na medicina chinesa como anti-inflamatório e antioxidante (CUNHA, 2007). Alguns trabalhos anteriores demonstraram que a naringina protege a oxidação da LDL colesterol prevenindo a formação de placa aterosclerótica. São também responsáveis por inibir a biossíntese de eicosanóides, impedindo a agregação plaquetária e promovendo o relaxamento do músculo liso tendo assim efeito anti-hipertensivo (SANTOS *et al.*, 1999; LOPEZ *et al.*, 2013).

Considerando tais fatos, terapias adicionais, bem como associações de compostos, são requeridas a fim de se otimizar a prevenção e o tratamento da doença cardiovascular. Torna-se alvo então, de grande interesse, a pesquisa de

novos medicamentos capazes de interferir no metabolismo do colesterol, principalmente aqueles capazes de obter efeito terapêutico com menor incidência de efeitos colaterais (ARAÚJO *et al.*, 2005).

Diante disso, as doenças cardiovasculares são ainda patologias que apresentam grande impacto socioeconômico, sendo um problema de grande preocupação para a saúde pública, e apesar dos grandes avanços alcançados na terapêutica ainda existe a demanda de pesquisas de novas alternativas para o controle desse tipo de doença.

Neste sentido, o presente trabalho objetivou o estudo *in vivo* de uma formulação farmacêutica que consiste em unir a sinvastatina, com o flavonóide naringina, que também possui atividade na redução do colesterol plasmático, visando avaliar a ação sinérgica dos compostos em uma mesma formulação, em diferentes concentrações, avaliados por meio de análises bioquímicas do soro obtido do sangue de coelhos hipercolesterolêmicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Lipídios

Lipídios são moléculas hidrofóbicas que participam de funções importantes no organismo como a hormonal, energética, digestiva e estrutural nas membranas celulares (BURTIS, 2011).

Eles formam um grupo heterogêneo de substâncias que inclui ácidos graxos livres (AGL) e substâncias encontradas naturalmente em associação química com eles. Os principais lipídios encontrados em seres humanos são AGL, triacilgliceróis (TG), esteróides, fosfolipídios, prostaglandinas, vitaminas lipossolúveis, provitaminas e lipoproteínas. Os lipídios mais abundantes são as gorduras ou triacilgliceróis, que são os principais combustíveis metabólicos na maioria dos organismos. No entanto, são os lipídios polares os principais componentes das membranas celulares, onde ocorrem as reações metabólicas. As membranas não apenas envolvem as células, elas contêm muitas enzimas e sistemas de transporte importantes. Além disso, na superfície externa das membranas celulares estão localizados muitos sítios receptores ou de reconhecimento, que podem reconhecer outras células, ligar certos hormônios e detectar outros tipos de sinais do ambiente externo. Muitas das propriedades das membranas celulares são reflexos do seu conteúdo de lipídio polar (COSTANZO, 2014).

Os lipídios mais simples e abundantes que contêm os ácidos graxos como unidades fundamentais são os triacilgliceróis. Estes são os principais lipídios ingeridos e armazenados dentro do corpo sendo constituídos de três ácidos graxos livres combinados com o glicerol (WOLINSKY *et al.*, 1996).

Todos os lipídios são insolúveis em água e são transportados na forma de lipoproteínas no sangue, que podem ser divididas de acordo com a sua densidade. As lipoproteínas são separadas em classes, por suas densidades, pelo tamanho e pela composição lipídica e proteica (FORTI e DIAMENT, 2006).

Lipoproteínas são estruturas que desempenham papel importante no transporte de lipídios no sangue. O componente proteico da lipoproteína é denominado apo lipoproteína ou apoproteína e cada classe dessa lipoproteína possui uma composição particular relativamente constante. Estas proteínas têm a capacidade de se ligar a receptores na superfície celular agindo na ativação ou na inibição de enzimas envolvidas no metabolismo lipídico (BACHORIK *et al.*, 1999).

As principais lipoproteínas são: Qm que apresenta densidade menor que 1,006 g/mL; VLDL com valores entre 0,950 e 1,006 g/mL; LDL com valores entre 1,006 e 1,063 e HDL com valores entre 1,063 e 1,210 g/dL. A composição da lipoproteína é o fator que determina sua densidade (FIGURA 1) (MARIANI e SPERETTA , 2012).

O colesterol pode ser sintetizado pelo organismo no fígado (endógeno) e intestino (entero hepático) ou pode também ser proveniente da dieta (exógeno). Os lipídios provenientes da alimentação e ou produzidos por meio endógeno são absorvidos e incorporados aos Qm, produzidos por células intestinais que tem como uma de suas funções transportar os lipídios para o fígado onde será sintetizado o colesterol endógeno, armazenado e eliminado pela bile na forma de metabólitos de ácidos biliares, sendo grande parte destes reabsorvidos e retornados ao fígado para novo armazenamento e processo de eliminação (SBC, 2007).

Na via exógena do metabolismo lipídico, logo após a ação da lipase pancreática, moléculas de ácidos graxos livres, monoglicerol e diacilglicerol, absorvidos pelos enterócitos, são reagrupadas junto a uma molécula de apoB-48 e circundadas por uma monocamada de fosfolipídios formando os Qm. No sangue os Qm adquirem proteínas denominadas apoC-II e apoE, sofrem a ação imediata da enzima lipoproteína lipase (LPL), ativada pela apoC-II, que diminui seus conteúdos lipídicos. A hidrólise dos TG pela LPL gera ácidos graxos livres que são rapidamente utilizados como combustível nos músculos e coração ou serão armazenados novamente como TG nos tecidos adiposos. Alguns Qm remanescentes que se mantêm na circulação são captados no fígado, via

receptor de proteína relacionada com LDL, e o seu conteúdo será reutilizado ou excretado (BORÉN *et al.*, 2012).

Na via endógena, as VLDL são montadas nos retículos endoplasmáticos dos hepatócitos e secretadas para a circulação. Cada partícula de VLDL é composta basicamente por TG, colesterol, lipoproteínas (LP) e uma molécula de apoB-100 para cada partícula VLDL (BOULLART *et al.*, 2012). No plasma a VLDL sofre ação da LPL, da lipase hepática (LH), além das proteínas de transferência de éster de colesterol (CETP) e a proteína de transferência de fosfolipídios (PLTP), processo pelo qual as VLDL diminuem seu conteúdo de TG e PL, dando origem às VLDL remanescentes (β -VLDL), dentre estas a lipoproteína de densidade intermediária (IDL). Em continuidade as β -VLDL podem ser captadas pelo fígado e metabolizadas, ou originar as LDL, que permanecem maior tempo na circulação. A LDL é a principal partícula transportadora do colesterol proveniente do fígado para os tecidos periféricos, já o transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado é feito pela HDL (LIMA e COUTO, 2006).

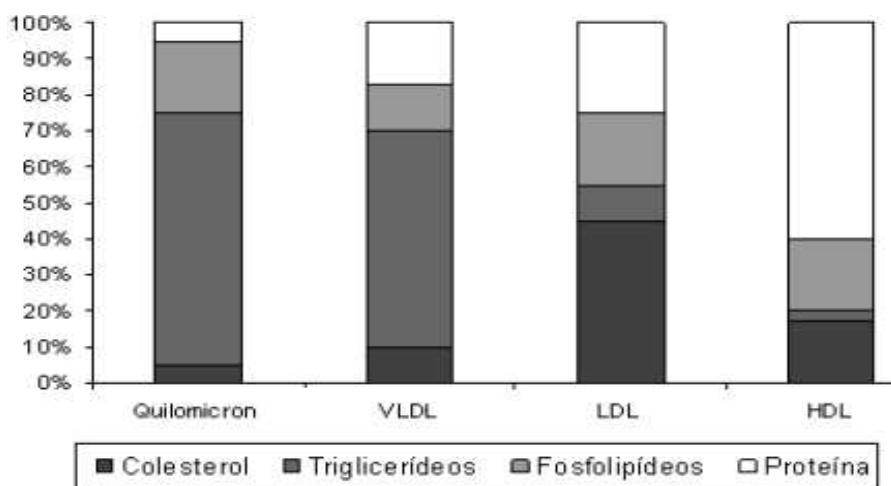


FIGURA 1-Percentual aproximado dos componentes das lipoproteínas.

FONTE: (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2002).

2.1.1 Fatores que influenciam os níveis lipídicos

As concentrações de lipídios e lipoproteínas plasmáticas podem variar dentro de uma mesma população, entre populações e um mesmo indivíduo sob diferentes condições. As concentrações de lipoproteínas e lipídios podem sofrer influência da idade, sexo, peso corporal, dieta, ingestão excessiva de álcool, prática de exercícios físicos, fatores genéticos e distúrbios crônicos como hipotireoidismo, hepatopatia obstrutiva ou nefropatia (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 1995). A obesidade abdominal ou central é um dos principais fatores de risco para esta síndrome e está diretamente associada às alterações no perfil lipídico (RIBAS e DA SILVA, 2014).

Alguns trabalhos apontaram diferenças no perfil lipídico entre homens e mulheres da mesma idade, além de mudanças nos níveis lipídicos de mulheres pós-menopausa em relação aos níveis no período reprodutivo (GUETTA e CANNON, 1996). Estudos demonstraram que a administração de estrógeno em mulheres na menopausa reverteu as alterações lipídicas, o que sugere um papel importante dos hormônios sexuais, principalmente de estrógeno, na determinação dos lipídios plasmáticos (GODSLAND, 2001).

2.2 Dislipidemias

A dislipidemia consiste num quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue, determinado por fatores genéticos e ambientais (PEREIRA *et al.*, 2010). Níveis elevados de colesterol total (CT), LDL e TG, associados à diminuição nos valores de HDL estão relacionados com uma maior ocorrência de hiperlipidemia sanguínea e consequente doença aterosclerótica (FRANCA e ALVES, 2006).

As dislipidemias primárias ou sem causa aparente podem ser classificadas genotipicamente ou fenotipicamente por meio de análises bioquímicas. Na classificação genotípica, as dislipidemias se dividem em monogênicas, causadas por mutações em um só gene, e poligênicas, causadas

por associações de múltiplas mutações que isoladamente não seriam de grande repercussão. A classificação fenotípica ou bioquímica considera os valores de CT, LDL-C, TG e HDL-C e compreende quatro tipos principais bem definidos: hipercolesterolemia isolada: elevação isolada do LDL-C (≥ 160 mg/dl), hipertrigliceridemia isolada: elevação isolada dos TGs (≥ 150 mg/dl) que reflete o aumento do número e/ou do volume de partículas ricas em TG, como VLDL, LDL e Qm. Como observado, a estimativa do volume das lipoproteínas aterogênicas pelo LDL-C torna-se menos precisa à medida que aumentam os níveis plasmáticos de lipoproteínas ricas em TG. Portanto, nestas situações, o valor do colesterol não-HDL pode ser usado como indicador de diagnóstico e meta terapêutica (Figura 2) de hiperlipidemia mista: valores aumentados de LDL-C (≥ 160 mg/dl) e TG (≥ 150 mg/dl). Nesta situação, o colesterol não-HDL também poderá ser usado como indicador e meta terapêutica. Nos casos em que TGs ≥ 400 mg/dl, o cálculo do LDL-C pela fórmula de Friedewald é inadequado, devendo-se, então, considerar a hiperlipidemia mista quando CT ≥ 200 mg/dl; HDL-C baixo: redução do HDL-C (homens < 40 mg/dl e mulheres < 50 mg/dl) isolada ou em associação a aumento de LDL-C ou de TG (XAVIER *et al.*, 2013).

Valores de referência dos lipídeos para indivíduos >20 anos de idade		
Lipídeos	Valores mg/dL	Categoria
Colesterol total	< 200	Ótimo
	200 – 239	Limítrofe
	≥ 240	Alto
LDL	< 100	Ótimo
	100 – 129	Desejável
	130 – 159	Limítrofe
	160 – 189	Alto
	≥ 190	Muito alto
HDL	< 40	Baixo
	> 60	Alto
TG	< 150	Ótimo
	150 – 200	Limítrofe
	200 – 499	Alto
	≥ 500	Muito alto

FIGURA 2: Valores de referência dos níveis de colesterol. FONTE: (MARIANI E SPERETTA 2012)

2.2.1 Fatores de risco das dislipidemias

O conceito de fatores de risco se desenvolveu a partir de estudos epidemiológicos realizados nos Estados Unidos e na Europa, onde foram demonstradas associações entre a incidência de doenças coronarianas e determinados agentes ou condições, com o baixo índice de atividade física, hipercolesterolemia, hipertensão arterial, tabagismo, obesidade e diabetes mellitus. As DCV apresentam fatores de risco em comum, entre os quais se destacam: tabagismo, consumo de bebida alcoólica, excesso de peso, inatividade física, dieta com elevado teor de gorduras saturadas, baixo consumo de frutas e hortaliças, hipertensão arterial, hipercolesterolemia e estresse psicoemocional. Estes fatores, também chamados de fatores de risco (FR) modificáveis, são considerados como os principais FR relacionados ao estilo de vida e apresentam grande impacto sobre o desencadeamento e o prognóstico destas doenças (SOUZA, 2014). A estes agentes, e outros que vieram a se somar, (hereditariedade e sexo) deu-se a definição completa aos fatores de risco, universalmente aceita e aplicada nos dias atuais. (RIBEIRO, 2012)

O perfil lipídico em conjunto a outros fatores de risco representa uma condição associada ao maior desenvolvimento da aterosclerose (FARIA *et al.*, 2012). Pelo menos dez fatores de risco podem predizer a probabilidade de depósitos lipídicos, nas camadas internas das artérias, evidenciando a influência dos fatores de risco na formação da placa ateromatosa (COELHO *et al.*, 2005). Os fatores de risco são ainda subdivididos em controláveis e não controláveis. Os fatores de risco não controláveis, dentre os quais estão inseridas a hereditariedade, sexo (homens com idade superior a 45 anos e mulheres após a menopausa) e a idade avançada; e os fatores de risco controláveis, destacando o tabagismo, hipertensão arterial sistêmica, obesidade, sedentarismo, níveis anormais de gordura e colesterol se referindo às dislipidemias (SBC, 2007). Estes fatores são responsáveis por cerca de 80% dos casos de doença arterial coronariana e cerebrovascular. Os efeitos de uma dieta não saudável e do sedentarismo podem ser identificados nos indivíduos por meio da elevação da pressão arterial, da glicose, e dos níveis lipídicos, além

do sobrepeso e obesidade decorrentes e indicam um risco aumentado de desenvolver infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca e outras complicações decorrentes da ação isolada, ou somatório das ações negativas dos fatores que tendem aumentar os riscos de desenvolvimento de DCV (JARDIM *et al.*, 2014).

A obesidade, sobretudo a obesidade central ou abdominal, está fortemente relacionada aos principais fatores de risco de doenças cardiovasculares do adulto. A distribuição da gordura corporal é um fator de risco muito importante nas DCV. A obesidade andróide, também chamada central, é caracterizada por acúmulo de gordura na região abdominal e se relaciona com alto risco para as DCV (BEZERRA *et al.*, 2012).

A dislipidemia nas crianças e adolescentes é frequentemente associada à obesidade, ocorrendo geralmente níveis elevados de CT, TG, LDL-C, níveis reduzidos de HDL-C e idade (FREEDMAN *et al.*, 2009).

O aumento da adiposidade, sobretudo a visceral, e particularmente por hipertrofia dos adipócitos, tem como consequência a desregulação metabólica destas células que resulta na infiltração de macrófagos e expressão de variados mediadores inflamatórios, que se potenciam mutuamente, e que contribuem para o processo inflamatório crônico de baixo grau, influenciando de maneira direta no processo aterosclerótico do endotélio vascular e favorecendo o agravamento das DCV, sendo, portanto, um dos principais fatores de risco (PIRES *et al.*, 2015).

Outro fator agravante é a falta de exercício físico que aumenta o estresse oxidativo, a disfunção endotelial e a aterosclerose. Os fatores de risco incluem alterações na homocisteína, fibrinogênio, lipoproteínas, tamanho da partícula de LDL e da proteína C-reativa (MARIANI e SPERETTA, 2012).

Segundo SANTOS (2001), o fumo é um fator de risco capaz de lesar o endotélio vascular causando a disfunção endotelial. A hipertensão arterial sistêmica (PA \geq 140/90 mmHg), HDL-C $<$ 40mg/dl, história familiar precoce de aterosclerose e hereditariedade são fatores considerados agravantes das DCV.

2.3 Aterosclerose

A aterosclerose, que pode ser causada pelas diferentes classificações das dislipidemias, é uma doença inflamatória crônica progressiva, que tem como processo inicial o depósito e a oxidação das LDL na parede das artérias e a oxidação dos lipídios superficiais da LDL depositada e estimula as células endoteliais a liberarem fatores químicos que atraem os monócitos (NAVAB *et al.*, 2004). Essa resposta considerada inflamatória parece ser um dos principais pontos de um processo aterosclerótico, desde o nascimento da lesão até o evento coronariano (TEIXEIRA *et al.*, 2014).

O entendimento atual da fisiopatologia da aterosclerose envolve vários fatores que interagem de forma complexa, muito diferente da antiga visão de uma doença decorrente do depósito anormal de lipídios na parede vascular. Dentre esses fatores, destacam-se de forma importante a inflamação e a disfunção endotelial (BAHIA *et al.*, 2006).

A dislipidemia aterogênica, causadora da aterosclerose, associada à Síndrome Metabólica também se associa a níveis elevados de triacilglicerol séricos combinados com baixas concentrações circulantes de HDL (PACIFICO, 2011).

A aterosclerose é o fator causal, isoladamente, mais importante e se caracteriza como uma doença multifatorial progressiva, causada por fatores genéticos e adquiridos com acúmulo de lipídios e desenvolvimento de fibrose e obstrução nas artérias (BORGES *et al.*, 2015). A oxidação dos lipídios superficiais da LDL depositada estimula as células endoteliais a liberarem fatores quimioatraentes para monócitos. Como consequência, há acúmulo de macrófagos no endotélio da parede arterial, que expressam vários receptores, alguns dos quais têm a habilidade de se ligar e internalizar a LDL oxidada levando à formação das células espumosas, as quais vão aumentando em número gradativamente e culminam com a formação da placa de ateroma (FIGURA 3), dando início a doença aterosclerótica (TOREGANI *et al.*, 2014).

Embora a aterosclerose tenha sua patogênese atribuída a causas multifatoriais, os principais marcadores de risco para esta doença estão

relacionados a alterações nas concentrações séricas de moléculas componentes das lipoproteínas. Na hipertrigliceridemia ocorre enriquecimento de triacilgliceróis nas lipoproteínas e aumento na quantidade de partículas remanescentes de LDL com menores diâmetros. Partículas de LDL menores e redução da concentração de HDL-C frequentemente coexistem em situação de hipertrigliceridemia e apresentam relação direta com o aumento do risco de eventos cardiovasculares. Com atividade antiaterosclerótica, a classe HDL é representada por uma população de partículas heterogêneas, com tamanho, densidade, conteúdo proteico e atividade antiaterogênica diferentes (FORTI e DIAMENT, 2006). No processo de formação das HDL a partícula inicial, à medida que ganha colesterol esterificado no seu núcleo e na camada externa, pela ação das LCAT e da proteína de transferência de fosfolipídios (PLTP), forma subclasses de partículas com tamanhos gradativamente maiores (TIAN *et al.*, 2011).

A principal ação antiaterogênica da HDL consiste em transportar o colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde será reutilizado ou excretado, sendo este processo conhecido por Transporte Reverso do Colesterol (TRC), (BARTER *et al.*, 2003).

As dislipidemias quando já instaladas e quando a prevenção já não é eficaz, são comumente tratadas com terapias farmacológicas que modificam o perfil lipídico do sangue. Dentre os medicamentos usados incluem-se as estatinas, ezetimibe, resinas sequestradoras de ácidos biliares, ácido nicotínico e fibratos (RIBEIRO,2011).

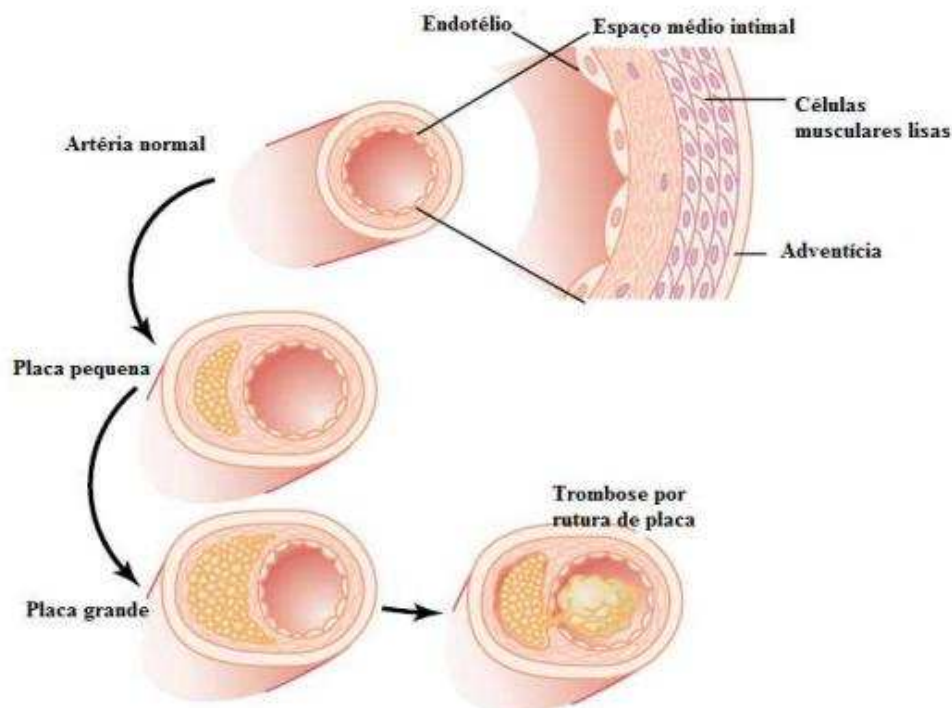


FIGURA 3: O endotélio e a evolução da placa aterosclerótica. FONTE: GUYTON e HALL, 2006

A localização mais frequente da aterosclerose no setor cerebrovascular é no nível da bifurcação carotídea (bulbo carotídeo), onde a formação de placas de ateroma tende a limitar o fluxo sanguíneo, causando estenose. Os fenômenos embólicos a partir de placa de ateroma da bifurcação carotídea constituem um dos principais mecanismos causadores de acidente vascular cerebral e consequentes sequelas comprometendo irrigação a sanguínea do local afetado (CARVALHO *et al.*, 2010).

2.4 Prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares

A prática de atividade física e hábitos alimentares adequados são considerados os principais mecanismos de proteção ao surgimento e à progressão dos fatores de risco, predisponentes às doenças cardiovasculares. Diferenças quanto à realização de esforços físicos no cotidiano, ao nível da aptidão cardiorrespiratória e à composição das dietas, têm sido frequentemente

utilizadas na tentativa de explicar variações relacionadas à prevalência de doenças cardiovasculares entre grupos populacionais, sendo dessa forma, capazes de atuar no elenco dos fatores de risco mediante uma multiplicidade de adaptações metabólicas, funcionais e morfológicas que interagem entre si (POLACOW e LANCHA JUNIOR 2007).

No ano de 2000 publicaram o primeiro estudo prospectivo relacionando o efeito protetor do exercício físico sobre a disfunção endotelial em pacientes com DAC (HAMBRECHT *et al.*, 2000). Em 2003 LEE *et al.*, delinearam um amplo estudo longitudinal envolvendo alunos da Harvard University e analisaram a associação entre frequência, modalidade e intensidade de atividade física e sua predição do risco para DAC. Neste estudo foi constatada uma associação inversa entre a intensidade e o risco coronariano, sendo observada menor mortalidade cardiovascular e por todas as causas nos indivíduos que apresentavam um gasto energético equivalente ou superior a 2.000 quilocalorias semanais, independentemente da presença de fatores de risco. Além disso, concluíram que a interrupção da prática regular do exercício implicaria na perda do efeito protetor cardiovascular obtido quando o mesmo vinha sendo realizado em bases regulares.

Sjol *et al.*, (2003) se detiveram em analisar o impacto entre diferentes níveis de atividade física no lazer, avaliando a incidência do infarto agudo do miocárdio (IAM) em moradores dos subúrbios da cidade de Copenhagen. Foi observado que ao se combater o sedentarismo, é possível gerar impacto positivo sobre a aterosclerose e, conseqüentemente, reduzir incidência de IAM. Neste estudo os autores concluíram que a prática regular de atividade física moderada proporciona benefícios, mas os benefícios aumentam quando a atividade física era realizada com mais intensidade.

Recentemente, foi realizado um estudo com o objetivo de descrever associação entre condicionamento e o cardiorrespiratório em indivíduos com e sem DAC. Ao avaliarem os resultados observados em 4.360 participantes de ambos os sexos, eles indicaram haver associação entre um maior grau de condicionamento cardiorrespiratório e redução de fatores de risco como dislipidemia e hiperglicemia, independentemente da idade, porcentagem de

gordura corporal, histórico familiar de DAC e da presença ou não da doença (CAMARGO e STEIN, 2015).

A alimentação saudável também tem importante impacto na prevenção e tratamento das DCV, assim como pequenas melhorias também trazem relevantes benefícios na diminuição do risco cardiovascular. Em muitos países tem sido relatadas alterações nos padrões de hábitos alimentares. No Brasil, tem-se observado que a dieta vigente apresenta maior participação de alimentos com excesso de calorias provenientes de açúcares livres e de gorduras saturadas e menor presença de frutas, legumes e verduras (GUIMARÃES *et al.*, 2013).

Dessa maneira, os estudos da prevenção de DCV convergem seus resultados, relatando que nutrição adequada pode alterar a incidência e a gravidade das coronariopatias, já que populações com diferentes dietas apresentam variações na mortalidade cardiovascular. A American Heart Association também enfatiza que o consumo de vegetais, frutas e grãos integrais é de extrema importância na prevenção de DCV, confirmando a importância das fibras alimentares, antioxidantes e outras substâncias na alimentação no combate às doenças coronarianas (RIQUE *et al.*, 2002).

Atualmente as pesquisas têm evoluído bastante e mostrado que além de uma alimentação calórica balanceada com menor quantidade de gorduras e carboidratos, outros tipos de alimentos estão em ascensão no consumo da população mundial, sendo chamados de funcionais, ou seja, ricos em compostos antioxidantes que por sua vez confirmam os benefícios de muitos alimentos ao sistema cardiovascular. Assim, alimentação saudável com a incorporação de alimentos funcionais deve ser encorajada. No entanto, a grande diversidade de estudos com doses e metodologias diferentes dificulta o estabelecimento de um consenso, de uma recomendação e dose apropriada a respeito da suplementação dos alimentos e compostos funcionais. Mais estudos clínicos controlados são necessários para que se possa elucidar essa questão (CARDOZO e MAFRA 2015).

Diante disso, um estilo de vida fisicamente ativo e uma alimentação saudável podem contribuir para a melhoria do bem estar, além de estarem

associados a prevenção de doenças cardiovasculares que tem como origem as hiperlipidemias, tornando dessa forma o hábito da adoção de práticas saudáveis uma grande arma de promoção da saúde (SANTOS *et al.*, 2012).

Quando as alternativas preventivas, não medicamentosas, não são utilizadas ou não surtem o efeito desejado, diferentes fármacos podem atuar no metabolismo com a finalidade de reduzir os problemas causados pelas DCV. Atualmente, existem várias classes de medicamentos para tratamento das doenças cardiovasculares relacionadas à hipercolesterolemia, tais como as estatinas, que estão sendo cada vez mais utilizadas na prática clínica para a prevenção primária e para a secundária das DCVs. Apesar do tratamento com as estatinas ser útil, o elevado custo destes medicamentos e a perspectiva do seu uso prolongado que pode trazer sérios problemas à saúde, justifica inteiramente a busca de alternativas para o controle da dislipidemia e da prevenção das doenças cardiovasculares (SENA *et al.*, 2007).

O tratamento das dislipidemias visa principalmente reduzir os níveis séricos de colesterol e/ou de triacilgliceróis por meio de fármacos que afetam o metabolismo das lipoproteínas que contêm a apolipoproteína B, tais como a VLDL e a LDL. Os fármacos atualmente disponíveis atuam de duas maneiras: inibindo a síntese do colesterol ou afetando a absorção gastrointestinal do mesmo. Embora estes medicamentos sejam considerados seguros e capazes de modificar favoravelmente o perfil lipídico, ainda há a necessidade de aperfeiçoar o atual manejo terapêutico das dislipidemias (MAGALHÃES *et al.*, 2004).

Além das estatinas que são os principais fármacos recomendados para a hipercolesterolemia isolada, existem medicamentos que podem ser administradas isoladamente ou associados às estatinas, tais como o ezetimibe que é um potente inibidor da absorção do colesterol que está sendo usado clinicamente para tratar hipercolesterolemia de resinas de troca, ocasionalmente a fibratos, ácido nicotínico e niacina que tem ação molecular sobre o tecido adiposo (FIGURA 4), porém insuficiente para explicar a sua ampla ação antilipêmica (De MARIA e MOREIRA, 2011).

Também se pode utilizar o ômega-3, isoladamente ou em associação aos fármacos. No tratamento da hiperlipidemia mista, se os TG forem superiores a

500 mg/dL, deve-se iniciar o tratamento com fibratos, adicionando ácido nicotínico e/ou ômega-3, caso necessário (ABADI e BUDEL 2014).

Contudo, sabe-se que substâncias antioxidantes ou que funcionam como cofatores para elementos antioxidantes são capazes de reduzir o estresse oxidativo e a inflamação, atenuando o processo aterogênico. Desse modo, alternativas terapêuticas que buscam combater o estresse oxidativo e a inflamação estão sendo intensamente investigadas, sobretudo aquelas que possam contribuir para o bloqueio do processo da aterosclerose com maior eficácia com uma menor incidência de efeitos colaterais (MONTERA, 2007).

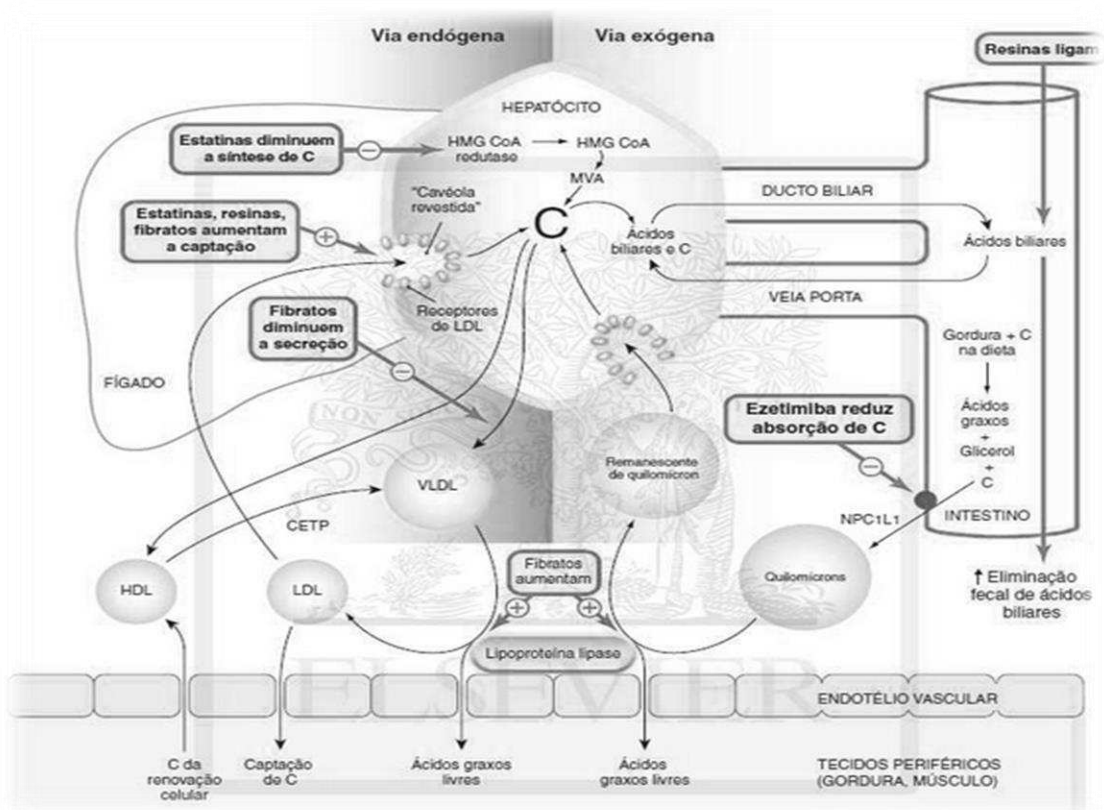


FIGURA 4 - Ações das estatinas, fibratos, resinas e ezetimibe nas vias endógena e exógena de síntese do colesterol. FONTE: RANG *et al.*, 2011

2.5 Os inibidores da HMG-coa redutase: estatinas.

O primeiro inibidor da HMG-CoA redutase, a compactina (mevastatina), foi descoberto em 1976 por Akita Endo e originalmente isolado como produto metabólico da cultura do fungo *Penicillium citrinum*, mas essa substância devido à sua alta toxicidade não foi empregada para o uso clínico (ENDO, 2010).

As estatinas são a classe de medicamentos mais vendida nos Estados Unidos e tem a atorvastatina como a subclasse mais prescrita em todo o mundo (GOLOMB e EVANS, 2008). São também conhecidas como inibidores da enzima 3-Hidroxi-3-Metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase e possuem eficiência para o tratamento das dislipidemias, uma vez que reduzem de 15 a 55% os níveis de LDL-C, de 7 a 28% os de TG, e ainda elevam entre 2 e 10% os níveis HDL-C (PASTERNAK *et al.*, 2002). As estatinas possuem também efeitos adicionais como promover crescimento de novos vasos sanguíneos mediado pelo óxido nítrico, estimular a formação da medula óssea, proteger as LDL contra oxidação, efeitos anti-inflamatórios e reduzir os níveis de proteína C reativa. Tais fármacos são administrados por via oral geralmente à noite, quando são bem absorvidos e metabolizados pelo fígado, seu local de ação (WOLFRUM *et al.*, 2003).

As estatinas inibem a enzima HMG-CoA, em uma fase inicial da via do mevalonato, e assim a biossíntese hepática de colesterol é reduzida, resultando em *up regulation* dos receptores da LDL que levam à diminuição dos níveis de LDL. Recentes ensaios revelaram que as estatinas reduzem o risco de eventos cardiovasculares (PORTELA *et al.*, 2014).

A inibição da HMG-CoA redutase também interfere na redução da produção dos intermediários isoprenóides tais como o farnesilpirofosfato e geranylpirofosfato, ao impedir a conversão da HMG-CoA (FIGURA 5) em ácido L-mevalônico (De LOECKER e PREISER, 2012). Estruturalmente, as estatinas contêm grupos rígidos hidrofóbicos ligados ao HMG. Lovastatina, pravastatina e sinvastatina derivam da compactina (mevastatina), sendo este grupo chamado de estatinas do tipo 1. Fluvastatina, cerivastatina, atorvastatina e rosuvastatina são totalmente sintéticas com grupos volumosos ligados ao HMG, contêm grupo

fluorfenil e são as estatinas do tipo 2. (FIGURA 6) É importante destacar que apesar de possuírem estruturas semelhantes, as estatinas têm ações diferentes e seu uso deve ser controlado por recomendação médicas. Essas moléculas diferem entre si na absorção, biodisponibilidade, ligação às proteínas plasmáticas, excreção e solubilidade (ESLAMI *et al.*, 2013).

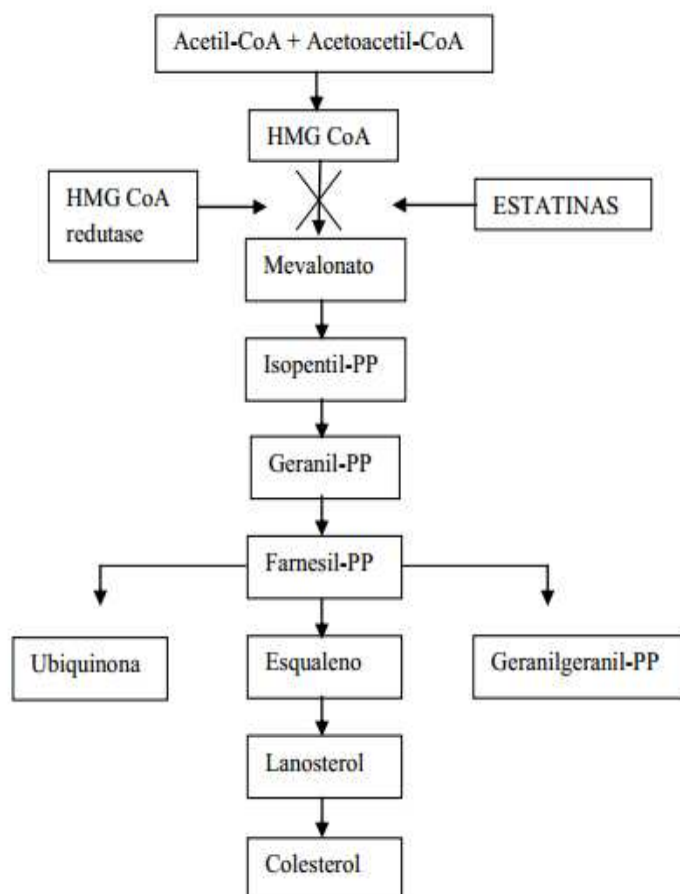


FIGURA 5: Biossíntese do colesterol e inibição da Hmg Coa redutase., enzima limitante da velocidade na via mevalonato Por meio de fosforilação subsequente, mevalonato é convertido em IPP e DMAPP, que são usados para produzir FPP. FPP serve como molécula precursora para uma variedade de compostos bioativos, como heme, dolichol, ubiquinona, e esqualeno, (precursor do colesterol) hepático em células. HMG CoA redutase, 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A; DMAPP, pirofosfato dimetilalilo; FPP farnesilpirofosfato; GGPP, geranyl-geranyl-pirofosfato; IPP, pirofosfato isopentenil. FONTE: (MARGARITIS *et al.*, 2014)

A consequente redução na síntese hepática de colesterol resulta em aumento da síntese de receptores de LDL e, portanto, aumento da depuração das LDL e redução da concentração plasmáticas de colesterol LDL. Além disso,

causam pequena redução dos triacilgliceróis plasmáticos e pequena elevação do colesterol HDL. Todas as estatinas possuem na sua estrutura um grupo hidroximetilglutaril (HMG), o qual pode estar presente na forma de lactona inativa. *In vivo* estas pró-drogas são enzimaticamente hidrolisadas às suas formas hidroxí-ácidas ativando o mecanismo de ação inibitório da HMG-Coa redutase (RIBEIRO *et al.* 2015).

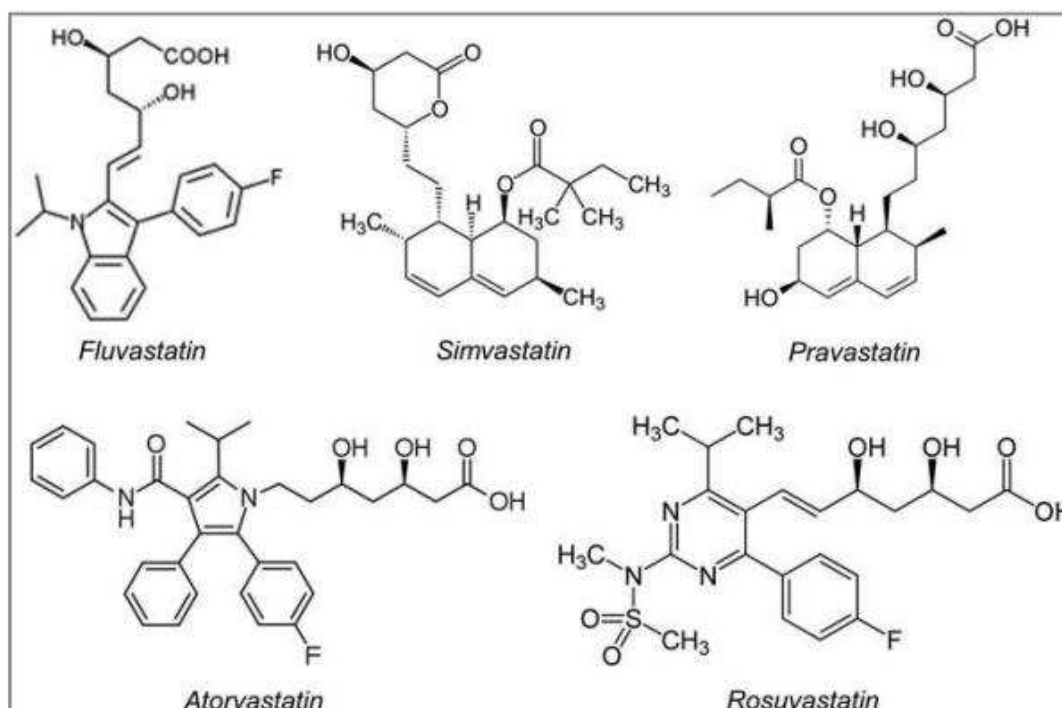


FIGURA - 6: Estrutura química de algumas estatinas mais utilizadas. A rosuvastatina é significativamente mais hidrófilo do que a atorvastatina e simvastatina, que são mais lipofílicas. FONTE:(BARREIRO e FRAGA, 2014).

Além da redução dos níveis de colesterol já estabelecidos, a inibição das proteínas intracelulares dependentes dos isoprenóides promove efeitos biológicos, que são conhecidos como efeitos pleiotrópicos (FIGURA 7). Esses efeitos caracterizam as atividades secundárias das estatinas, com prováveis benefícios cardiovasculares, tais como propriedades antiinflamatórias, ações imunomoduladoras, anti-trombogênicas, proteção da função endotelial, propriedades antioxidantes, sendo que esta última modula o stress oxidativo (YAO *et al.*, 2015).

Estes efeitos pleiotrópicos são independentes do colesterol e são responsáveis pela melhora da função endotelial, aumento da estabilidade de placa aterosclerótica, diminuição do estresse oxidativo e da inflamação, e ainda inibição da resposta trombogênica. Muitos destes efeitos parecem ser mediados pela inibição dos isoprenóides, que servem como ligantes lipídicos de moléculas sinalizadoras intracelulares (LIAO, 2005).

Outros modelos estão sendo propostos para elucidar os demais efeitos exercidos pelas estatinas. Estudos demonstraram que a sinvastatina é capaz de exercer efeitos antiproliferativos e pró-apoptóticos em células tumorais (OSMAK, 2012).

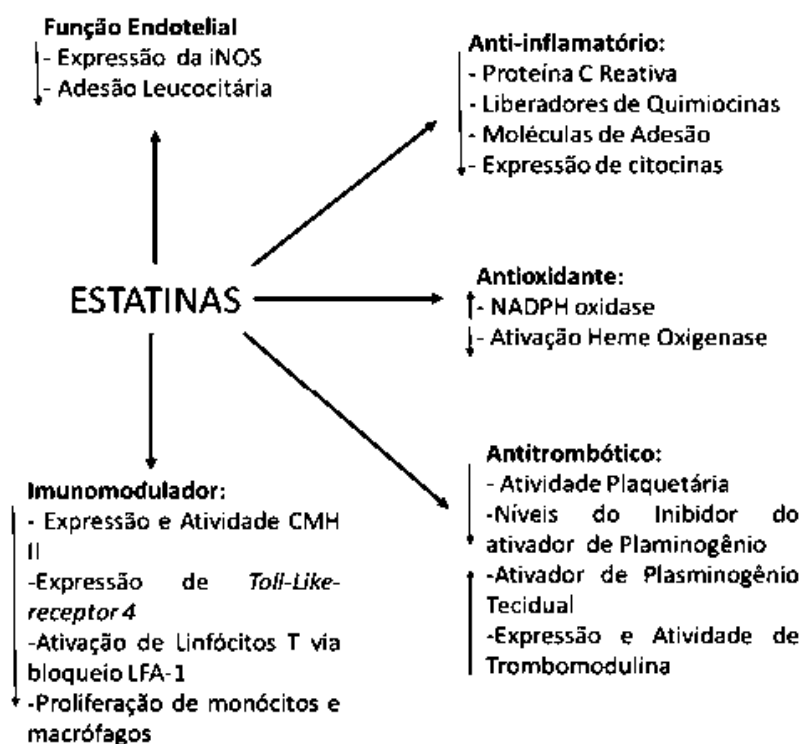


FIGURA: 7 – Efeitos pleiotrópicos das estatinas. Fonte: RODRIGUES , 2014.

Recentemente, Nielsen *et al.* (2012) demonstraram a diminuição de 15% da mortalidade de pacientes com câncer usuários de estatinas. Para este estudo, realizaram análises em um grande grupo de indivíduos, recolhendo

informações de 1995 a 2009, comparando os dados de pacientes usuários de estatinas com não usuários, e assim reforçando a ação dos efeitos pleiotrópicos

A atuação desses fármacos se dá pela competição deles com o HMG-CoA pela mesma enzima, responsável por catalisar a reação da síntese de colesterol (GUTERRES, 2014).

Os inibidores da HMG-CoA redutase (estatinas) são bem tolerados e os efeitos indesejáveis incluem distúrbios gastrintestinais, insônia e erupções cutâneas (KATZUNG, 2003). Já o efeito adverso mais severo é a miosite grave (rabdomiólise), que atinge o sistema muscular relacionados a miopatias com estatinas em cerca de 5 a 10% dos pacientes e podem ser manifestadas por dores, câimbras, rigidez muscular, redução da força aumento de creatino quinase total e creatinina. Alguns pacientes mostraram aumento dos níveis de uréia plasmática. Mais raramente podem ocorrer hepatite, hipertrofia miocárdica e angioedema em tratamentos com estatinas (KRISHNAN e THOMPSON, 2010).

Apesar dos efeitos adversos, a eficiência e a relativa segurança demonstradas por estes medicamentos os tornaram mundialmente utilizados, posicionando-os entre os mais comercializados, e recordistas de vendas da indústria farmacêutica (BONFIM, HANSEN et al. 2014)

2.6 Sinvastatina

A sinvastatina, fármaco escolhido para nosso estudo, é uma pró-droga de lactona inativa, inibidora competitiva específica e reversível, que é metabolizada no fígado para sua forma ativa. É uma modificação química da lovastatina e foi aprovada para comercialização na Suécia no ano de 1988, e hoje é um dos antilipêmicos mais consumidos no Brasil e no mundo. Ela está incluída na Relação Nacional de Medicamentos essenciais para o tratamento de cardiopatia isquêmica e de hipercolesterolemia, atuando como inibidor competitivo da HMG-CoA, limitando a taxa enzimática, responsável pela síntese do colesterol (produto final da via do mevalonato). Portanto, é uma droga

relacionada ao tratamento da hipercolesterolemia e hiperlipidemia, na prevenção de do risco de doenças cardiovasculares e doenças que têm o nível sorológico de lipídios aumentados, bem como doenças hematológicas, e acidentes vasculares isquêmicos (HASSAN *et al*, 2011).

Apresenta fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_5$, (FIGURA 8). Sua apresentação é na forma de um pó cristalino branco com coeficiente de partição (log P (octanol/água)) igual a 4,68 que se funde entre 135 e 138 °C e apresenta absorção na região do ultravioleta em $\lambda = 231, 238$ e 247 nm em acetonitrila. O fármaco é facilmente solúvel em clorofórmio (610 mg/mL), dimetilsulfóxido (540 mg/mL), metanol (200 mg/mL), e etanol (160 mg/mL); muito pouco solúvel em hexano (0,15 mg/mL), é insolúvel em água (0,03 mg/mL) e em ácido clorídrico 0,1 M (0,06 mg/mL). A sinvastatina apresenta baixa solubilidade em meio aquoso e alta permeabilidade em lipídios. No sistema de classificação biofarmacêutica é uma droga de classe II (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

A sinvastatina tem outros efeitos além da redução das taxas de colesterol atuando também na melhora da função endotelial, no decréscimo da função vascular inflamatória, na inibição da proliferação dos músculos lisos, e tem efeito de imunomodulação (HASSAN *et al.*, 2011).

Na última década foi dado ênfase no efeito da droga no tecido ósseo (via inibição da via do mevalonato), sendo observado: expressão das proteínas morfogênicas do osso (BMP-2), quando da sua administração local no tecido ósseo (MUNDY *et al.*, 2001); efeito ósseo indutivo *in vitro* estímulo à mineralização e diferenciação de células mesenquimais em novas células responsáveis pela neoformação óssea; além da droga atuar em outras vias, como a do óxido nítrico, um mensageiro químico liberado por células inflamatórias (NASSAR *et al.*, 2009).

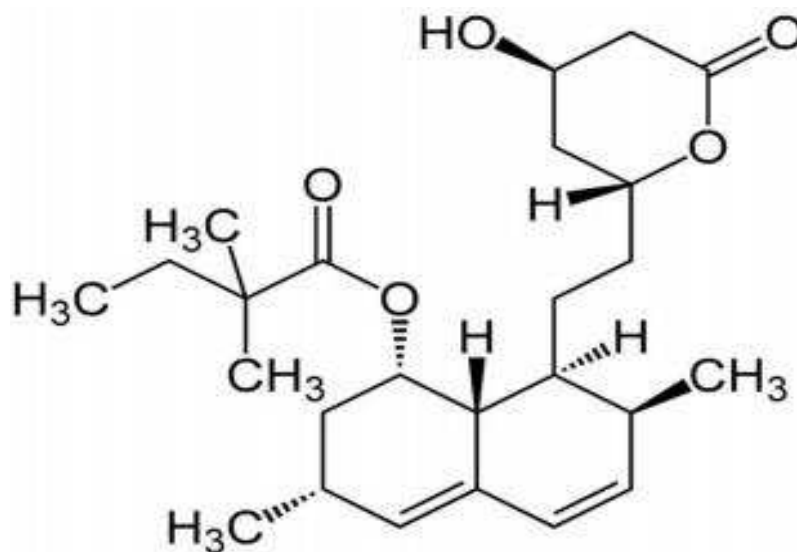


FIGURA 8: Estrutura Química da Sinvastatina. FONTE: ADAM e LAUFS, 2014

2.6.1 Hepatotoxicidade com estatinas

Mesmo sendo considerados fármacos seguros as estatinas não estão isentas de efeitos adversos. Apesar de raras, a hepatotoxicidade e as miopatias são as complicações mais comuns desses fármacos (CUETO *et al.*, 2007). Os dados dos diversos estudos em que as estatinas foram empregadas são muito consistentes em mostrar que a hepatotoxicidade é rara (< 2%), mas quando ocorre manifesta-se com aumento de AST (TGO) e/ou ALT (TGP). Além disso, os eventuais aumentos dessas enzimas são assintomáticos. As icterícias e a hiperbilirrubinemia raramente estão associadas às estatinas. Sabe-se que a hepatotoxicidade é dose-relacionada com doses mais altas associadas a maiores taxas de anormalidades enzimáticas. A AST tem-se mostrado mais sensível no acompanhamento do tratamento com estatinas. São recomendados, como critérios para interrupção do tratamento AST e/ou ALT acima de três vezes o limite superior da normalidade para o método empregado para dosagem dessas enzimas (BERTOLAMI, 2005).

Pacientes com enzimas hepáticas aumentadas no nível basal antes de iniciar o tratamento com as estatinas, quando tomam esses medicamentos, têm maior risco de desenvolver hepatotoxicidade leve a moderada do que aqueles que têm enzimas normais no início. Entretanto, o risco de desenvolver hepatotoxicidade grave é igual em quem começa a terapia com enzimas hepáticas aumentadas versus quem tem testes hepáticos normais. Além disso, esses autores mostraram que se tiver que aparecer, a toxicidade hepática muito provavelmente ocorrerá nos primeiros seis meses do tratamento (CHALASANI *et al.*, 2004).

2.7 Estresse oxidativo e atividade antioxidante das plantas

O estresse oxidativo está ligado a doenças como câncer, aterosclerose, injúria isquêmica, inflamação, desordens neuro-degenerativas entre outras (MATES *et al.*, 1999). Existe uma variedade de substâncias extraídas de vegetais com atividades biológicas, motivo pelo qual as plantas e seus componentes têm merecido atenção especial (HALVORSEN *et al.*, 2002).

Estudo referidos na literatura indicam que alguns componentes das plantas atuam como potentes antioxidantes naturais (PROENÇA DA CUNHA *et al.*, 2003).

Muitas plantas produzem antioxidantes naturais em resposta à presença de espécies oxidantes. Reações com espécies oxidantes podem conduzir à formação de radicais livres e, por sua vez, o seu acúmulo leva à ocorrência de estresse oxidativo devido ao desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), ou de azoto (RSN) e as enzimas antioxidantes (SOUZA *et al.*, 2007).

Quando os antioxidantes naturais são produzidos em excesso podem oxidar lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, perturbando as suas estruturas e as suas funções, interferindo assim com o metabolismo celular normal (estresse oxidativo) e em último caso, pode levar a morte celular. Os antioxidantes são

capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem alvos biológicos nas células (MATA *et al.*, 2007). A produção inevitável de radicais livres pelo organismo, com a consequente exposição celular aos mesmos, fez com que, adaptativamente, os organismos tenham desenvolvido mecanismos de defesa (intra e extracelulares), que lhes permitam salvaguardar o equilíbrio de que necessitam para o funcionamento celular normal, minimizando os efeitos deletérios causados pelos agentes oxidantes. A grande concentração de antioxidantes encontrados em plantas deve-se à necessidade de proteção das células vegetais contra os radicais livres gerados pelo estresse oxidativo, provocado pela exposição aos raios solares e ao oxigênio (FERREIRA e ABREU, 2007).

Determinadas plantas têm uma elevada concentração de compostos com capacidade antioxidante que, ao longo do tempo, vem sendo utilizadas na medicina tradicional para prevenção ou tratamento de múltiplas patologias. Nos dias de hoje estas plantas continuam a ter um crescente interesse na fitoterapia preventiva e curativa (SERRANO *et al.*, 2007).

Esses compostos são encontrados na maioria dos alimentos ingeridos diariamente numa dieta equilibrada (sementes, cereais, legumes, frutos, folhas, raízes, especiarias e ervas), que possui na sua constituição diversas moléculas naturais bioativas como os flavonóides, que se designam, genericamente, por compostos fitoquímicos, evidenciado o seu potencial na modificação favorável do metabolismo humano, no que se refere à prevenção de doenças crónicas e degenerativas (ANJO *et al.*, 2004). Atribui-se o efeito antioxidante das plantas, à presença de grupos hidroxilos nos seus compostos fenólicos que desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais, que permitem a sua atuação como agentes redutores, doadores de hidrogênio (VALENTÃO *et al.*, 2002).

Com isso, a constante busca e estudos desses antioxidantes têm sido intensificados nos últimos anos no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir compostos sintéticos ou fazer associação entre eles no com bate ao mecanismo de estresse oxidativo no tratamento de dislipidemias.

2.8 Flavonóides

Os flavonóides são polifenóis de baixa massa molecular, sendo que o termo polifenóis pode ser definido como sendo uma substância que tem um ou mais núcleos aromáticos, contendo substituintes hidroxilados e/ou derivados funcionais, como ésteres, glicosídeos e outros (SOUZA et al., 2009). A palavra flavonóides deriva do latim “flavus” amarelo e “oide” forma. Esses flavonóides apresentam diversas propriedades farmacológicas importantes, são eficazes na prevenção de diversas enfermidades hepáticas como a cirrose e a hepatite alcohólica e no tratamento doenças crônico-degenerativas, além de diferentes mecanismos de prevenção de doenças cardiovasculares. Os flavonóides estão presentes em plantas comestíveis e não comestíveis, têm sido demonstrados como possuindo efeitos farmacológicos como antioxidantes, hipolipidêmicos, anti-inflamatórios e anti-hipertensivos. Estes efeitos ocorrem devido à presença de diversas hidroxilas fenólicas nas estruturas dos flavonóides (CALABRESE et al., 2003).

Constituem um grupo químico natural complexo, derivado do metabolismo secundário de plantas, e são caracterizados por apresentarem três anéis fundidos como unidade estrutural básica. Estes anéis estão nomeados com as letras A, B e C. Além disso, os flavonóides podem ser divididos em seis importantes classes (FIGURA10): flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas (MATSUBARA et al., 2006).

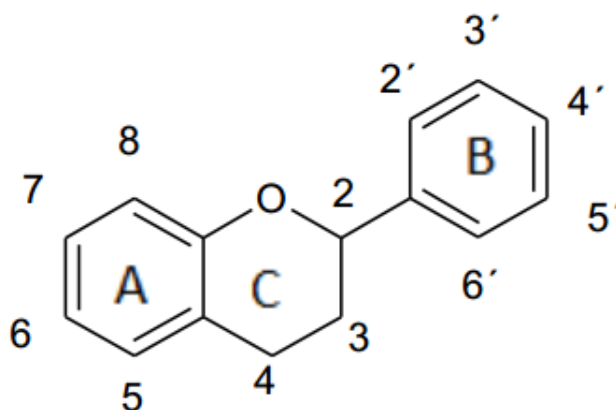


FIGURA 9: Estrutura Básica dos Flavonóides. FONTE: AHERNE e O'BRIEN, 2002

Diversos ensaios têm mostrado a ampla variedade das atividades biológicas dos constituintes dos flavonóides. Foram relatados sobre os diversos sistemas biológicos: capacidade antioxidativa, antiinflamatória, vasodilatadora, antialérgica, antihepatotóxica, antiulcerogênica, hipoglicemiante, antimicrobianas, antivirais, atividade contra o desenvolvimento de tumores, hiperlipidemia, bem como nos processos ateroscleróticos, (MARTINEZ-FLOREZ *et al.*, 2002).

Já o isoflavonóide daidzeína, em concentrações diferentes e em tratamento crônico, demonstra atuar como protetor e regenerador dos antioxidantes primários do organismo, como o ácido ascórbico (vitamina C), o tocoferol (vitamina E) e o β -caroteno (vitamina A). Estes mesmos autores relatam que este polifenol pode, efetivamente, inibir as reações oxidativas deletérias a tecidos e retardar os fenômenos fisiopatológicos da aterosclerose e da trombogênese. Este composto, em concentrações de 1 a 10 μ M, também mostrou ter a propriedade de inibir várias enzimas envolvidas na carcinogênese promovendo efeitos anti-iniciais e antipromocionais na carcinogênese de pele, mama e próstata (PERICLEOUS *et al.*, 2014).

Com isso, as estratégias que se baseiam na ação de constituintes fitoquímicos com propriedades antioxidantes como formas de intervenção, tornam-se imprescindíveis a qualquer programa que vise, a partir do princípio da integralidade das ações bioquímicas e farmacológicas, elevarem a efetividade das ações.

Classes de flavonóides	Anel C insaturado	Grupo funcional no anel C	Exemplos de flavonóides	Estrutura química
Flavanas/Flavanóis ou catequinas	Nenhum	3-hidroxi 3-O-galato	Catequina Epicatequina Luteoforol Procianidina Theaflavina	<p>3-flavanóis</p>
Flavanonas	Nenhum	4-oxo	Hesperidina Naringenina	<p>flavanonas</p>
Flavonas	2-3 ligação dupla	4-oxo	Apigenina Luteolina Diosmetina Tangeretina Nobiletina	<p>flavonas</p>
Isoflavonas	2-3 ligação dupla	4-oxo	Daidzeína Genisteína	<p>isoflavonas</p>
Flavonóis	1-2, 3-4 ligação dupla	3-hidroxi 4-oxo	Isoamnetina Caemferol Quercetol Quercetina Rutina Miracetina	<p>flavonóis</p>
Antocianidinas	2-3 ligação dupla	3-hidroxi	Cianidina Delinidina Peonidina	<p>antocianidinas</p>

FIGURA10 :Subclasses de Flavonóides, as suas características químicas, nome de flavonóides e exemplos da estrutura base. FONTE: Silva (2012).

2.8.1 Ação de flavonóides (nível cardiovascular)

No início dos anos 1990, estudos epidemiológicos mostraram que uma associação parecia existir entre a ingestão de flavonóides e a redução de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral em algumas populações (HERTOG *et al.*, 1993; KELI *et al.*, 1996). Desde então, surgiram evidências que flavonóides poderiam ter um valor terapêutico potencial na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares (HABAUZIT e MORAND, 2012).

Vários ensaios clínicos têm sido realizados para explorar possíveis efeitos benéficos da ingestão de flavonóides. A maioria dos resultados sugere uma redução do risco cardiovascular em indivíduos com dietas ricas em flavonóides. Os efeitos terapêuticos foram associados ao seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, antiproliferativos e ações antitrombóticas (WRIGHT *et al.*, 2013). Além disso, as ações fisiológicas e farmacológicas de flavonóides podem ser afetadas por sexo, estilo de vida, doenças e interações com drogas, limitando assim a seu impacto na saúde humana (CHANET *et al.*, 2012).

No entanto, os flavonóides são extremamente interessantes como modelos moleculares para conceber compostos com melhores perfis farmacológicos para o tratamento de doenças cardiovasculares humanas. Uma análise de estudos efetuados sobre os flavonóides em relação à doença cardíaca coronária mostrou que a ingestão de flavonóides estava associada à redução de 20% no risco de doença cardíaca coronária fatal (HODGOSO, 2008).

Os flavonóides podem atuar relaxando os músculos do sistema vascular, contribuindo assim para reduzir a pressão arterial e melhorar a circulação em geral. O desenvolvimento de disfunção endotelial pode contribuir para a patogênese da doença cardiovascular. Uma das moléculas mais importantes libertadas pelo endotélio é o óxido nítrico (NO). Esta molécula é um importante regulador do tônus da parede arterial. A disfunção endotelial é caracterizada pela perda da vasodilatação normal dependente do endotélio e mediada pelo NO na artéria (OLIVEIRA *et al.*, 2010). O mecanismo que pode explicar o efeito hipotensivo observado com os flavonóides estaria relacionado à capacidade destes de promover a liberação de NO pelo endotélio vascular, um composto

que tem efeitos vaso relaxante e antiagregante, e que ao longo do tempo induz a expressão de genes protetores para o sistema cardiovascular (GRASSI *et al.*, 2005)

Estudos recentes também concluíram que alguns flavonóides são potentes inibidores da indução da iNOS e, ao mesmo tempo, eles podem aumentar a atividade da eNOS. Os flavonóides já foram descritos como inibidores da peroxidação lipídica (também chamada de lipoperoxidação), *in vitro*, por atuarem como antioxidantes eliminando os ânions superóxido. As LDL podem ser modificadas por radicais livres que oxidam os ácidos graxos polinsaturados na molécula. Partículas de LDL modificadas são facilmente absorvidas por macrófagos e tornam-se tóxicas para o endotélio dos vasos sanguíneos. Isso possibilita a formação de placas ateroscleróticas. Estudos *in vitro* demonstraram que os flavonóides inibem essa modificação oxidativa das LDL pelos macrófagos através de um desses 2 mecanismos: Inibição da hidroxilação das LDL ou oxidação preventiva do tocoferol, que está presente em lipoproteínas. As propriedades antioxidantes dos flavonóides podem ser benéficas à saúde, já que previnem a oxidação das LDL, uma vez oxidadas, acredita-se que elas sejam são aterogênicas. Portanto, o bloqueio da oxidação das LDL, pode diminuir a formação de placas ateroscleróticas que reduzem a rigidez arterial, deixando as artérias mais susceptíveis aos estímulos endógenos de vasodilatação. (ACHKAR *et al.*, 2013).

Muitos estudos demonstraram proteção significativa dos flavonóides aos danos vasculares e de melhora no perfil lipídico de animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica. A ação protetora dos flavonóides também pode estar relacionada à sua capacidade de inibir a síntese dos eicosanóides (resposta antiinflamatória), de prevenir a agregação plaquetária (efeitos antitrombóticos) e de proteger LDL da oxidação (prevenção de lesões no endotélio) como visto anteriormente (NIJVELT *et al.*, 2001).

O flavonóide morina reduziu as concentrações dos triacilgliceróis plasmáticos em 65%, reduzindo também a gordura do fígado, mas aumentando as concentrações de HDL em 47%. Também reduziu o colesterol total em 30,9%

e o LDL em 29,3%. Já a quercetina provocou a elevação plasmática de HDL em 28,6% (HERTOG *et al.*, 1992).

Flavonóides presentes no vinho tinto, sobretudo o resveratrol, que é o composto fenólico presente principalmente na casca de uvas, ao qual tem sido atribuída importante função no sistema cardiovascular, especialmente por sua ação na redução do estresse oxidativo, inibição da agregação plaquetária e proliferação de células espumosas, além de redução da inflamação vascular e melhora da função endotelial, estão relacionados na proteção contra doenças cardiovasculares devido à diminuição da concentração sérica de LDL e inibição da agregação plaquetária (BARBOSA e FERNANDES, 2014). Essa suplementação de flavonóides (oriundos da uva) adicionado ao etanol quando administrados em ratos reduziu a oxidação das LDL, sendo que o etanol sozinho tinha um efeito contrário (PÉREZ-JIMÉNEZ e SAURA-CALIXTO 2008).

Além de estudos *in vitro* e em modelos animais citados anteriormente os estudos epidemiológicos são de extrema relevância para a melhor avaliação de compostos derivados de plantas. Um estudo epidemiológico realizado na Holanda contou como amostra 805 homens com faixa etária entre 65 e 84 anos nos quais examinaram a relação entre consumo de flavonóides e risco de desenvolver doenças cardiovasculares. Observou-se uma relação inversa significativa entre o consumo de flavonóides e a morte por doenças cardiovasculares e também uma relação inversa, porém mais fraca, com a incidência de infarto do miocárdio (HERTOG *et al.*, 1992).

Com isso, estudos em modelo animal e, sobretudo estudos epidemiológicos são relevantes, uma vez que, muitos estudos *in vitro* não levaram em conta a biodisponibilidade ou o metabolismo dos flavonóides, os efeitos observados podem não refletir situações *in vivo*.

Estudos clínicos mostram que a hipercolesterolemia está associada com o aumento da geração de ERO no sistema vascular. Assim, sugere-se que o estresse oxidativo esteja relacionado com a fisiopatologia das doenças cardiovasculares. As ERO podem oxidar as lipoproteínas de baixa densidade, que quando fagocitadas pelos macrófagos transformam-se em células

espumosas, dando início a formação da placa aterosclerótica (BENAVENTE-GARCIA e CASTILLO 2008).

Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar a ação antiinflamatória dos flavonóides, incluindo atividade antioxidante através do sequestro de radicais livres, regulação da atividade de células antiinflamatórias, modulação do metabolismo do ácido araquidônico, modulação da produção e expressão gênica de moléculas pro - inflamatórias, mas esses mecanismos ainda não estão bem elucidados (GARCÍA-LAFUENTE *et al.*, 2009).

Com isso, a atuação dos flavonóides com seus possíveis mecanismos de ação podem ser utilizados na prevenção das doenças cardiovasculares, podendo ajudar no processo de combate a hiperlipidemia.

2.8.2 Flavonóides e sua ação em dislipidemias

Experimentos realizados em ratos evidenciaram que flavonóides extraídos de beringela (*Solanum melongena*) apresentaram efeito na redução nos níveis sanguíneos de colesterol total e triacilgliceróis. Esse efeito pode ser explicado, em parte, pelo aumento da atividade da enzima LCAT, enzima presente na superfície das HDL, que converte o colesterol presente em Qm, VLDL, LDL em ésteres de colesterol. Observou-se também nesse experimento um aumento nos níveis de ácidos biliares hepáticos e fecais, bem como esteróis neutros fecais, indicando uma alta taxa de degradação de colesterol e redução na reabsorção intestinal de ácidos biliares (GONÇALVES *et al.*, 2006)

A redução do colesterol plasmático resulta no aumento da absorção de colesterol dietético, o que contribui para a simultânea diminuição da excreção fecal de colesterol em ratos alimentados com esses flavonóides. A atividade de HMG-CoA redutase está normalmente diminuída em ratos alimentados com dieta alta em colesterol enquanto que a atividade da enzima ACAT e colesterol-7- α -hidroxilase estão aumentadas. Entretanto, a presença desses flavonóides em uma dieta rica em colesterol diminuiu significativamente a atividade de HMG-

CoA redutase e ACAT. A redução da atividade da enzima ACAT pode levar a uma redução dos ésteres de colesterol disponíveis para formar VLDL resultando, assim, na redução da secreção dessa lipoproteína pelo fígado. Dessa forma, nem a naringina, nem a hesperidina inibiram HMG-CoA redutase ou ACAT *in vitro*, sugerindo que ambas podem sofrer algumas mudanças estruturais ou ficarem ativas no intestino ou em outro órgão. Outra hipótese seria que a expressão de genes dessas enzimas pode ser inibida pelas naringina e hesperidina em ratos alimentados com dieta rica em colesterol. O efeito de flavonóides sobre os níveis de colesterol sanguíneos em humanos também foram estudados por Hodgson *et al.*(1998) que avaliaram o efeito dos isoflavonóides genisteína e daidzeína sobre os níveis de lipídios sanguíneos em indivíduos saudáveis. Os isoflavonóides apresentam atividade estrogênica e os estrógenos podem reduzir colesterol LDL do soro e aumentar os níveis de colesterol-HDL. Durante oito semanas, treze mulheres no período pós-menopausa, não submetidas à terapia de reposição hormonal, e quarenta e seis homens receberam, diariamente, um tablete contendo 55 mg de isoflavonóides (predominantemente na forma de genisteína) ou um tablete de placebo. Os indivíduos mantiveram sua dieta habitual e atividade física durante todo o período de tratamento. Os níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL e subclasses de colesterol-HDL, triacilgliceróis foram avaliados na última semana de tratamento, sendo que nenhuma diferença significativa foi identificada verificando o efeito hipolipidêmico dos flavonóides morina e quercetina isoladamente e associados ao ácido nicotínico em ratos.

Iaya e Igarashi (1992) relataram atividade hiperlipidêmica dos flavonóides taxifolina, rutina e catequina por meio do efeito dos flavonóides naringenina, rutina e ácidos nicotínicos isoladamente e associados na redução dos lipídios sanguíneos. No mesmo estudo foram registradas as ações hipolipidêmicas dos flavonóides naringenina, rutina e dos corantes naturais monascus e antocianina isoladamente e associados. No entanto, para que no futuro essas substâncias possam ser utilizadas como medicamento torna-se necessário o seu estudo farmacológico e toxicológico em diferentes espécies de animais. Outros estudos observaram a influência de polifenóis presentes no chá preto sobre os níveis de lipídios do soro em ratos alimentados com dieta contendo 15% de banha e 1%

de colesterol. A dieta foi suplementada com 1% de polifenóis extraídos de chá preto. Os animais alimentados com dieta contendo banha e colesterol apresentou um aumento nos níveis de colesterol do fígado e plasma, quando comparados com os animais do grupo controle. A suplementação com polifenóis extraídos do chá preto na dieta contendo colesterol e banha diminui os níveis de lipídios no plasma e aumentam a excreção fecal de lipídios totais e colesterol. Nos adipócitos, hormônios lipolíticos como catecolaminas, glucagon e corticotropina atuam na mobilização de ácidos graxos estocados na forma de triacilgliceróis. Muitos agentes terapêuticos têm apresentado efeito lipolítico através da inibição da enzima fosfodiesterase (MATSUMOTO *et al.*, 1998).

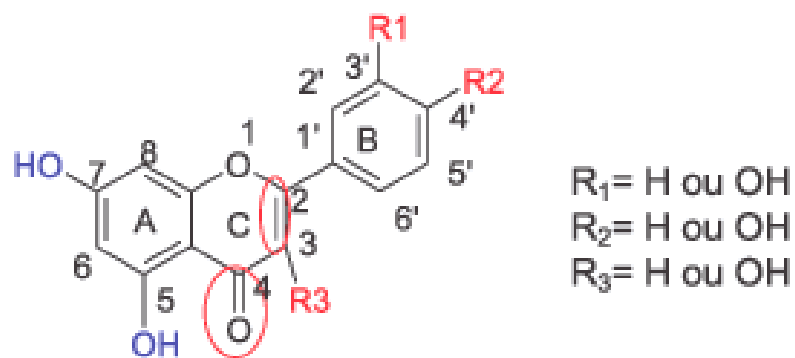
Kuppusamy e Das (1992), avaliaram o efeito de vários flavonóides sobre a enzima fosfodiesterase do AMPc e mobilização de lipídios nos adipócitos de ratos. Os flavonóides quercetina, luteonina, escutelareína, fletetina e genisteína apresentaram significativa inibição sobre a enzima fosfodiesterase quando comparado com o 3-isobutil-2-metilxantina, um potente inibidor dessa enzima. Os flavonóides fisetina, quercetina, fletetina e buteína, potentes inibidores competitivos de fosfodiesterase, apresentaram um intenso efeito lipolítico, embora nem todos os inibidores da fosfodiesterase demonstraram a mesma resposta.

Kirk *et al.* (1998) avaliaram o efeito dos flavonóides genisteína e daidzeína em camundongos, com e sem receptores de colesterol-LDL. Nesse estudo, observou-se que nos animais com receptores de colesterol-LDL, os flavonóides testados aumentaram a atividade dos receptores. O colesterol-LDL transporta o colesterol para os tecidos periféricos, e os flavonóides ao ativarem os receptores de colesterol LDL no hepatócito, aumentam a endocitose, o que leva à redução dos níveis sanguíneos de colesterol.

Juzwiak *et al.* (2005) em estudo com coelhos, evidenciaram que quercetina possui propriedades hipolipidêmicas e antiaterogênicas ao demonstrar redução de níveis plasmáticos de triacilgliceróis e colesterol elevados por dieta rica em lipídios após doze semanas de experimento e reduzida formação de placas ateroscleróticas na aorta bem como injúria na artéria carótida com quatro semanas de estudo. Os efeitos hipolipidêmicos de

quercetina podem depender da ativação de algumas enzimas microsossomais, observados pela elevação do conteúdo de citocromo P450 e os mecanismos anti-aterosclerótica que denotam propriedades antioxidantes sugeridos pela redução da formação de MDA (importante marcador de peroxidação lipídica) Inibição da oxidação de LDL.

Os ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas das células podem ser oxidados por peroxidação enzimática ou anti-oxidativa, mediante reações que envolvam radicais livres. O excesso desses radicais pode levar à reação em cadeia incontrolada de peroxidação lipídica, que ocorre em três estágios: iniciação, propagação e terminação. No estágio de iniciação ocorre interação do ácido graxo insaturado com o oxigênio, formando um radical lipídico. No estágio de propagação, o radical lipídico reage com oxigênio molecular, formando radical peroxila, que pode atacar outra molécula de lipídeo, formando mais radicais livres. No estágio de terminação, os radicais livres reagem com antioxidantes formando produtos inertes. A peroxidação lipídica pode ser suspensa por inativação enzimática dos radicais livres pelos antioxidantes que inibem o estágio de iniciação e/ou aceleram o estágio de terminação. Os flavonóides, representados com sua estrutura básuca na FIGURA 12, inibem a peroxidação lipídica, in vitro, no estágio de iniciação, por atuarem como antioxidantes eliminando ânion superóxido e radicais hidroxilas. Propõe-se que flavonóides interrompam a reação em cadeia dos radicais livres, doando átomos de hidrogênio ao radical peroxila, formando um radical de flavonóide. O radical flavonóide, então, reage com o radical livre terminando, assim, a propagação da reação em cadeia (SCOTTI *et al.*, 2007).



flavonol e flavona

FIGURA 11: Em azul substituinte menos importantes à atividade antioxidante; em vermelho, substituintes importantes à atividade antioxidante. FONTE: (SCOTTI *et al.*, 2007)

Galvez *et al.* (1995) avaliaram a atividade antiperoxidativa de vários flavonóides sobre a peroxidação de membrana de células de fígado de rato induzidas pelo sistema não enzimático (sistema ácido ascórbico- Fe^{2+}) e pelo sistema enzimático (ácido araquidônico). Todos os flavonóides testados foram capazes de inibir a peroxidação lipídica induzida pelos dois sistemas. Produtos de oxidação do colesterol-LDL podem ser detectados como dienos conjugados, TBARS, fluorescência de apolipoproteína B e mudanças na mobilidade eletroforética. Os efeitos dos flavonóides sobre a susceptibilidade a oxidação de colesterol LDL foram também avaliados pela inibição de indução de oxidação por ao incubar em plasma com flavonóides, estimando pela medição de dieno conjugado, peroxidação lipídica. Lim *et al.* (1998) avaliaram o efeito dos flavonóides quercetina e ganhuangenina na inibição da oxidação de colesterol-LDL induzida por Cu^{2+} . Tanto a quercetina quanto a ganhuangenina inibiram a modificação oxidativa de colesterol-LDL. A atividade antioxidante desses flavonóides foi evidenciada através da redução de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico, produção de hidroperóxidos de fosfatidilcolina e intensidade de fluorescência de colesterol LDL oxidado. Outros estudos demonstraram que catequina e quercetina protegem o colesterol-LDL de oxidação quando incubadas com várias culturas de células, como por exemplo, macrófagos

derivados de monócitos humanos, células endoteliais de veia umbilical humana ou células linfoides.

Quine e Raghu (2005), avaliando epicatequina (flavonóide constituinte da raiz de *Pterocarpus marsupium* e folhas e raiz da *Harunga madagascariensis*) em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina, obtiveram efeitos favoráveis ao diminuir TBAR e hidroperóxido, aumentarem a concentração da SOD e catalase, enzimas antioxidantes envolvidas na redução de peróxido de hidrogênio. Logo, os efeitos antioxidantes e antiperoxidativos de epicatequina devem ser devidos à reatividade do radical hidroxila.

Cirico e Omay (2006), em estudo *in vitro* com compostos fenólicos sobre a capacidade de oxidação de LDL, observaram que efeitos sinérgicos de ácido ferúlico, quercetina, catequina e hesperidina exercem efeitos antioxidantes interdependentes ou mutuamente protegem contra peroxidação lipídica. Devido à grande diversidade de propriedades farmacológicas dos flavonóides, ao lado dos seus efeitos antioxidantes (direta ou indiretamente estimulando mecanismo de defesa endógena) pode-se diminuir circulação de colesterol LDL e oxidação lipídica de membrana com suas deletérias consequências nas células endoteliais, ocasionando melhoria da função endotelial e inibição da angiogênese e migração, além da proliferação de células vasculares, efeitos antitrombóticos, antiaterogênicas e de outras atividades que demonstram que o emprego terapêutico de plantas contendo flavonóides é vasto e de grande valor para novos alvos para o futuro de drogas e adjuvantes nutricionais.

Com isso, esses compostos mostram importantes efeitos sobre os processos regulatórios intrínsecos e, assim, podem marcadamente melhorar as condições de pacientes em vários estágios da progressiva doença cardiovascular. Além de verificarem atividade antiproliferativas da apigenina, observaram que altas concentrações desse flavonóide relaxam as artérias. NO e cGMP estão envolvidos no relaxamento endotélio dependente, visto que o efeito estimulatório de apigenina sobre o aumento do Ca^{2+} intracelular contribui em parte para o relaxamento endotélio independente. NO é produzido pela L-arginina por pelo menos três isoformas de NOS. O aumento da produção de NO pela atividade constitutiva de NOS no endotélio vascular (NOS-3) dilata os vasos

sanguíneos e inibe adesão de leucócitos e plaquetas na superfície endotelial. Já isoformas de (NOS-2) são expressas para ação de estímulo inflamatório incluindo citocinas, endotoxinas ou espécies reativas de oxigênio, gerando grandes quantidades de NO, tóxico para bactéria e células tumorais (ZHANG *et al.*,2000).

Os flavonóides interferem na ação da atividade das enzimas lipoxigenase e cicloxigenase também pela inibição da peroxidação não enzimática de ácidos graxos polinsaturados que atuam na ativação dessas oxigenases (SÉFORA-SOUSA e ANGELIS-PEREIRA, 2013)

A ação antitrombótica e vasoprotetora de quercetina, rutina e outros flavonóides tem sido atribuída à sua habilidade de ligarem-se à membrana de plaquetas e eliminarem radicais livres. Através de sua ação antioxidante, os flavonóides restabelecem a biossíntese e a ação de prostaciclina endotelial e o fator de relaxamento derivado do endotélio, os quais são inibidos pelos radicais livres. A atividade plaquetária está aumentada em pacientes com fatores de riscos coronarianos, como elevado nível de colesterol-LDL, hipertensão, diabetes e tabagismo. Os flavonóis quercetina e miricetina apresentaram forte efeito inibidor da agregação de plaquetas humanas induzidas por ácido araquidônico e ADP, mas não foram efetivas, quando a agregação plaquetária foi induzida por colágeno. Em um modelo de agregação *in vitro*, quercetina e rutina foram capazes de dispersar trombos plaquetários pré-formados, que foram aderidos ao endotélio da aorta de coelho. Um dos mais potentes mecanismos pelo qual os flavonóides inibem a agregação plaquetária é a mediação do aumento dos níveis de AMPc plaquetário através da estimulação da atividade da enzima adenilato ciclase ou por inibição da fosfodiesterase do AMPc. Estudos relatam vários efeitos dos flavonóides sobre agregação plaquetária bem como sobre AMPc e metabolismo do ácido araquidônico. As flavonas crisina, apigenina e floreitina inibiram a agregação plaquetária por inibirem a via da cicloxigenase. Crisina e apigenina reduziram o AMPc plaquetário em resposta a PGI 2. Esse efeito foi provavelmente mediado pela inibição da adenilato ciclase (LANDOLFI *et al.* 1984).

Portanto, esses compostos mostram importantes efeitos sobre os processos regulatórios intrínsecos e, assim, podem marcadamente melhorar as condições de pacientes em vários estágios da progressiva doença cardiovascular.

2.9 Naringina

A Naringina 4,5,7-tri-hidroxi-7-flavanona (FIGURA 13) é um flavonóide da classe flavononas “associado” a açúcares, sendo utilizado tradicionalmente na medicina chinesa como anti-inflamatório e antioxidante. Possui sabor amargo e está relacionada com muitos benefícios para saúde devido às suas propriedades antioxidantes, atuando como um bom redutor do colesterol (HERTOG *et al.*, 1992) . É chamado de conjugado, heterosídeo ou glicosilado encontrado em frutas cítricas, principalmente a toranja, também é conhecido pelos nomes de jamboa, grapefruit, laranja-melancia, pamplemussa, laranja vermelha, laranja-romã, Dentre outras denominações, sendo uma importante fonte de flavonóides (PETERSON *et al.*,2006). Quando ingerida, a naringina é hidrolisada por bactérias intestinais, dessa hidrólise faz com que a molécula glicosídica se desprenda formando a naringenina (aglicona na forma livre) que tem demonstrado capacidade antioxidante e inibição da proliferação de células cancerosas (ROSA *et al.*, 2012).

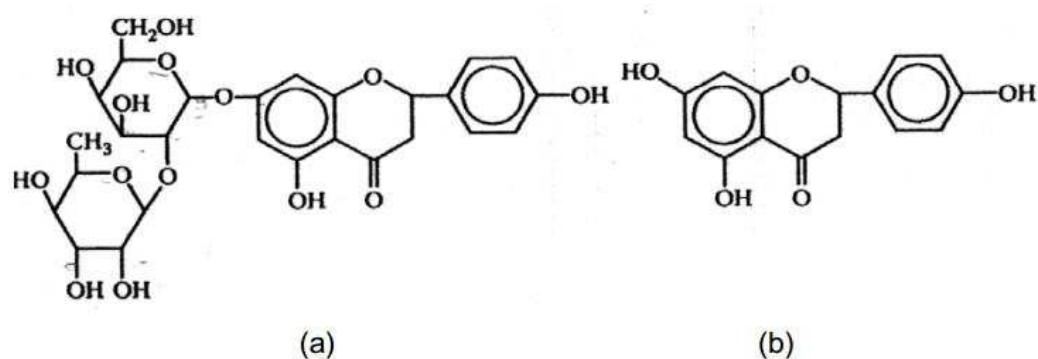


FIGURA 12. Estrutura química da naringina em (a) e da naringenina em (b). FONTE: (AHMED *et al.* 2012).

Em estudos anteriores realizados por SAPONARA *et al.*, (2006) foi mostrado que naringina poderia aumentar a condutância de canais de Na⁺/K⁺ em músculo liso vascular de artérias (SAPONARA *et al.*, 2006). Também tem sido relatado que naringina possui ação de reduzir os danos induzidos pela radiação em DNA de ratos, um efeito que parece estar relacionada com a inibição da atividade de oxidases (JAGETIA *et al.*, 2003).

Gordon *et al.*, (1995) estudaram a proteção do endotélio gástrico devido a ingestão de naringina quando suas células eram lesionadas por consequência do excesso de ingestão de álcool. Outros estudos demonstraram a ação da naringina, relatando suas atividades anti- apoptóticas.

Estudos demonstraram que a naringina também apresenta seus efeitos ligados no processo de redução dos níveis de colesterol total. Além disso, a naringina diminui o fator angiogênico do endotélio vascular (SCHINDLER E MENTLEIN, 2006).

Embora não elucidados, os mecanismos antioxidantes cardioprotetores parecem envolver vias complexas e pouco se sabe sobre a possível ação fisiológica cardiovascular da naringina. Entretanto, a maioria dos efeitos se deve às ações de naringenina, a aglicona formada durante a clivagem *in vivo*, da porção de açúcar naringina após a sua ingestão no processo de oxidação do colesterol (ALVAREZ COLLAZO *et al.*, 2014).

Nagem *et al.*(1999), também observaram efeito hipolipidêmicos bastante acentuados do flavonóide naringina isoladamente e associado aos corantes naturais antocianina e carmim em ratos, além de uma diminuição estatisticamente significativa dos níveis de colesterol e triacilgliceróis em ratos adultos da raça Wistar com o tratamento com naringina e antocianina associadas. Verificaram ainda que, embora não estatisticamente significativo, os resultados evidenciaram uma tendência de aumento de colesterol – HDL.

Da mesma forma Boket *et al.* (1999), com o objetivo de avaliar o efeito de extrato de casca de tangerina e mistura dos flavonóides naringina e hesperedina em ratos alimentados com dieta contendo 1% de colesterol, mostraram redução significativa dos níveis de colesterol hepático e plasmático, triacilglicerol hepático

e esteróis neutros fecais. Em outro estudo realizado por Rodrigues, *et al.* (2015) foram administradas 0,03% de quitosana e 0,006% de naringenina misturados na ração para avaliar o efeito da naringenina e quitosana sobre o metabolismo lipídico de coelhos. Verificou que o flavonóide naringenina reduziu as concentrações de colesterol total em 5,27% no 7º dia e em 52,68% no 15º dia do experimento. Em associação com quitosana, houve redução de 15,24% no 7º dia e em 61,69% no 15º dia. Oliveira *et al.* (1997) verificaram que, a uma concentração de 10^{-5} M, os flavonóides naringenina, rutina e quercetina apresentaram grande ação na inibição da enzima aldose redutase de *E. Coli* que é a enzima que catalisa a redução de glicose e galactose, produzindo sorbitol e dulcitol, respectivamente, usando como cofator o NADH. Essa enzima tem sido encontrada em tecidos de animal como córnea, retina, sangue.

RIBEIRO (2001) verificou que doses de 10mg de antocianina de uva roxa e 10mg de naringenina de laranja proporcionou ganho de peso considerável assim como redução dos níveis sanguíneos de glicose e triacilgliceróis em coelhos, machos albinos da raça Nova Zelândia, com diabetes induzida por aloxano. Verificou ainda esse ganho de peso e reduções dos níveis de glicose e triacilgliceróis com dose de 20mg de antocianina no mesmo modelo animal.

Contudo, ainda há a necessidade de investigações sobre as possíveis ações fisiológicas cardiovasculares diretas da naringina, já que o flavonóide em estudo tem aplicação antioxidante e antiinflamatória. Com isso a naringina poderia representar um protótipo para o desenvolvimento de drogas e associações farmacológicas que atuam, por meio de ações no metabolismo bioquímico, no combate de doenças relacionadas à hiperlipidemia e DCV.

2.10 Modelo animal e metabolismo de coelhos

Os herbívoros apresentam o intestino proporcionalmente maior porque as plantas contêm glicídios complexos, como a celulose característica de vegetais e que são de difícil digestão, e nenhum vertebrado produz enzimas capazes de hidrolisar este polissacarídeo. Muitos herbívoros alojam bactérias em

compartimentos, no ceco ou no próprio estômago, que neste caso é subcompartimentado. A ingestão permanente torna-se necessária para a manutenção de um trânsito eficiente da digestão. (FEKETE e GIPPERT, 1985).

O processo de digestão inicia-se com a apreensão e mastigação dos alimentos (20-25 movimentos mastigatórios por minuto), com consequente trituração dos mesmos, a exceção dos cecotrofos, que são deglutidos íntegros. Concomitantemente à trituração, os alimentos são embebidos em saliva com enzimas como a amilase salivar, que possui alta atividade, com subsequente deglutição. Os falsos ruminantes como os coelhos e lebres, também contêm própria flora fermentativa, o ceco (GIDENNE, 1994).

A absorção de nutrientes digeridos pelos microrganismos é pouco eficaz e incompleta. Para compensar esta deficiência, os coelhos ingerem as suas fezes (cecoprofagia). Existem dois tipos de fezes nestes casos: um composto, exclusivamente, por detritos; outro, que é ingerido diretamente do ânus, composto por material cecal, este passará pelo estômago e intestino delgado, absorvendo os nutrientes. As secreções estomacais incluem ácido clorídrico, pepsinogênio e muco. Apesar do baixo pH, alguma fermentação ocorre neste local, indicada pela presença do ácido láctico, decorrente da ação das bactérias nos cecotrofos. Assume-se que o estômago dos coelhos possui uma túnica muscular pouco desenvolvida, pouco contrátil, sendo que estes animais não vomitam e o estômago normalmente nunca é encontrado vazio o que supõe que a ação mecânica da ingesta é que pressiona o conteúdo estomacal para o duodeno (DE ARAÚJO *et al.*, 2006)

O intestino delgado é o maior sítio de absorção de nutrientes, encontrando-se dividido em três áreas funcionais: duodeno, jejuno e íleo, sendo que este órgão é bem vascularizado nas áreas secretoras do duodeno e íleo proximal. O conteúdo de matéria seca da ingesta que chega a este órgão é baixo e, seu pH, alto, no entanto, na medida em que se dirige ao íleo distal, onde se dá a absorção, o teor de matéria seca tende a aumentar. No duodeno ocorre a neutralização do material ácido oriundo do estômago. O pâncreas tem a função de secretar enzimas digestivas como amilase, proteases e lipases, bem como secreções alcalinas (bicarbonatos). A bile é inoculada no duodeno próximo ao

esfíncter pilórico, e é sintetizada no fígado (tetra lobado, com vesícula biliar) e secretada no intestino via ducto biliar (RODRIGUES, 2012).

A bile é constituída por ácidos biliares e pigmentos, com importante papel na absorção de gorduras e vitaminas. Devido a sua propriedade detergente e emulsificante, solubilizam os lipídios no meio aquoso do intestino. A bile é secretada conjugada com aminoácidos, aumentando sua solubilidade em água. Enquanto os ruminantes secretam os ácidos biliares conjugados com a taurina, os coelhos os fazem exclusivamente com a glicina. Outra peculiaridade é que os pigmentos biliares do coelho são principalmente constituídos de biliverdina (como aves e anfíbios) enquanto que a maioria dos mamíferos excreta bilirrubina. Após a neutralização e mistura dos alimentos no duodeno, o bolo alimentar segue ao jejuno, considerado o maior sítio de digestão e absorção. Até este ponto, a digestão dos coelhos é muito similar à digestão da maioria das espécies monogástricas. No entanto, a partir da passagem do material oriundo da digestão ao intestino grosso, o coelho apresenta uma fisiologia digestiva bastante particular, inclusive diferenciada de outras espécies de herbívoros com fermentação após o intestino delgado (GIDENNE, 1996).

O intestino grosso tem um importante papel na digestão do coelho, devido à fermentação cecal, excreção seletiva da fibra e a reingestão do conteúdo cecal (cecotrofia), podendo ser dividido em ceco, colo e reto. O ceco dos coelhos é bastante volumoso, medindo cerca de 40 cm, com capacidade aproximada de 600 ml. A mucosa do ceco é bem vascularizada e rica em células mucosecretoras e absorptivas, sendo que sua porção distal apresenta um apêndice vermiforme (medindo cerca de 13 cm, aos 4 meses) contendo numerosas células linfoides, estando relacionada com a pressão arterial e secreção de íons bicarbonato (HCO_3), tamponantes dos ácidos graxos voláteis produzidos durante a fermentação cecal (LEBAS e LAPLACE, 1977).

De particular importância na fisiologia digestiva dos coelhos é a separação de partículas no colo. Após a digestão dos nutrientes no intestino delgado, os resíduos passam pela válvula ileal e seguem parte ao colo proximal e parte ao ceco. Os cecotrofos são produzidos depois que o conteúdo cecal foi submetido por algumas horas à ação bacteriana. Sua produção inicia-se em

resposta à passagem completa de ingesta pela válvula ileal. O *fusus coli* é responsável pela separação das fezes duras e moles. Esta estratégia facilita a utilização de dietas altas em forragens e de baixa energia, ou seja, enquanto a digestibilidade da parede celular é baixa, os demais constituintes das forragens são utilizados eficientemente (McNAB *et al.*, 1994).

As fezes duras são partículas maiores e modeladas por contrações do colo, e sua eliminação sempre precede contrações simples e amplas do ceco e colo, com rápida movimentação das fezes através do colo e reto. O coelho é capaz de excretar rápida e seletivamente a fibra dietética, retendo por tempo prolongado as frações solúveis e as partículas pequenas, no ceco. Os cecotrofos são produzidos depois que o conteúdo cecal sofreu ação bacteriana (BIANCHI *et al.*, 2014)

A fisiologia digestiva dos coelhos é estreitamente relacionada com a cecotrofia, sendo esta última importante para melhorar a utilização de proteína e matéria seca da dieta. O coelho é capaz de utilizar a ureia circulante para a síntese de proteínas, através dos microrganismos cecais e da cecotrofia. A ureia cecal é oriunda do material ileal e sangue. A ureia vinda da dieta tem importância menor, visto que grande parte da mesma é degradada antes de atingir o ceco. A mucosa cecal apresenta a enzima urease, que hidrolisa a ureia em amônia. Parte desta amônia é utilizada no ceco, para a síntese de proteína microbiana, e parte é difundida através da mucosa cecal, indo ao sangue e depois ao fígado, onde é reconvertida à ureia. Existem referências de que o nitrogênio não proteico pode substituir até 21,5 % do nitrogênio total utilizado para a manutenção. São várias as fontes de gordura animal, e elas constituem uma parte substancial da gordura adicionada à dieta dos coelhos. Outras fontes são os óleos vegetais comestíveis, utilizados em menor proporção, obtida da extração de frutos, cereais e sementes, refinada ou não e ainda os subprodutos provenientes do processamento do óleo (YUITOEK *et al.*, 1997).

As gorduras e os óleos são uma mistura de triglicérides e ácidos graxos livres. Com relação aos coelhos, o emprego de oleínas parece causar a depressão da ingestão em até 10%. Este aumento na digestibilidade aparente da gordura pode estar relacionado com o decréscimo no consumo de matéria

seca, observado nos coelhos, resultante do aumento da eficiência digestiva, quando se aumenta os níveis de gordura na dieta. Os resultados da adição de gordura são satisfatórios quando se trata de dietas com baixo conteúdo energético e alto conteúdo de fibra. A resposta à adição de gordura na dieta recai na relação entre ingestão e retenção da energia ingerida. Vários autores reportaram aumento na gordura peri-renal em coelhos alimentados com dietas suplementadas por gordura. Observou-se também aumento da circunferência lombar, em função do aumento do volume de gordura contida na cavidade abdominal. Este fato ocorre em consequência da redução da lipólise, do aumento da resistência à insulina e da síntese de novo de ácidos graxos, relacionados também à presença de ácidos graxos saturados (HEIN, 2002). Além disso, o aumento da gordura corporal ocasionava a redução no seu conteúdo proteico e de água. Este efeito pode ser atribuído à diminuição na proporção proteína/energia, normalmente relacionada à adição de gordura na dieta. A utilização de lipídios, até certo nível, melhora a digestibilidade de toda a dieta diminuindo o índice de conversão alimentar (valor extra calórico), aumenta a palatabilidade, aumenta o fornecimento de ácidos graxos essenciais. Já em níveis altos pode inibir o consumo (estimula o centro da saciedade - teoria lipostática) (DE BLAS e WISEMAN, 1998).

Diante disso, podemos inferir que o coelho é um bom modelo animal para pesquisas relacionadas a atividades que visam verificar a ação de compostos que pretendem diminuir o nível de gorduras no sangue bem como suas ações benéficas ao sistema cardiovascular em animais previamente tratados com dieta rica em gorduras.

3. Hipóteses experimentais:

I - A associação de sinvastatina e naringina possui a capacidade de melhorar o perfil lipídico dos coelhos tratados com dieta hiperlipidêmica.

Para a hipótese acima perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Avaliar o efeito da associação do flavonóide naringina ao fármaco sinvastatina em diferentes dosagens em coelhos tratados com dieta hiperlipidêmica.

- Determinar os níveis sanguíneos de colesterol total e frações dos coelhos tratados com diferentes dosagens de naringina e sinvastatina

II - Diferentes doses de naringina e sinvastatina não alteram o perfil glicêmico dos coelhos.

Para a hipótese acima perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Determinação dos níveis de glicose no sangue dos coelhos tratados com diferentes dosagens de naringina e sinvastatina.

III - Diferentes doses de naringina e sinvastatina são capazes de causar efeitos adversos no organismo.

Para a hipótese acima perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Determinação dos níveis sanguíneos de AST e ALT dos coelhos tratados com diferentes dosagens de naringina e sinvastatina.

- Determinação dos níveis sanguíneos de uréia e creatinina dos coelhos em diferentes dosagens de naringina e sinvastatina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Para o ensaio biológico foram utilizados 36 coelhos da raça Nova Zelândia, com idade de 55 dias, pesando em média 2500 g, provenientes do setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os coelhos foram acondicionados em gaiolas individuais, com temperatura controlada na faixa de 22 a 24°C, fotoperíodo de 12 horas. A administração de 120 g diária de ração comercial da marca Pesence® e água *ad libitum*. Após o período 5 dias de adaptação os animais foram divididos aleatoriamente em seis grupos de seis animais na composição do ensaio biológico. Esses animais permaneceram 28 dias em fase experimental.

Os animais foram mantidos em área experimental no Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV. Todo o experimento foi realizado no laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa.

4.2. Indução da hiperlipidemia

A indução da hiperlipidemia consistiu na administração de gordura animal (Liquefeita utilizando um aparelho de micro-ondas Panasonic Piccolo®) em duas tomadas diárias por via oral durante os 28 dias do experimento para todos os animais, com exceção do grupo controle que recebeu somente ração. O grupo controle (G1) recebeu apenas ração; os grupos de 2 a 6 (G2 a G6) receberam 120g de ração pela manhã + gordura animal (Seara®) em duas tomadas de 10 ml, totalizando 20 ml por dia durante todo o experimento. Além disso, os grupos de animais de 3 ao 5 receberam diferentes dosagens do flavonóide naringina associado ao fármaco sinvastatina enquanto que os animais do grupo 6

receberam o tratamento de sinvastatina sem estar associada com o flavonóide em estudo conforme os grupos e tratamentos.

4.3 Grupos e tratamentos

As dosagens de sinvastatina administradas aos animais foram projetadas a partir das concentrações farmacológicas utilizadas em dosagens para o tratamento de dislipidemias em humanos.

- G1: Coelhos normais sem tratamento (Controle)
- G2: Coelhos hipercolesterolêmicos não tratados (Controle positivo)
- G3: Hipercolesterolêmicos tratados com cápsulas 5 mg de naringina + 0,3 mg de Sinvastatina.
- G4: Hipercolesterolêmicos tratados com cápsulas 15 mg de naringina +0,6 de Sinvastatina.
- G5: Hipercolesterolêmicos tratados com cápsulas 25 mg de naringina +1,2 mg de Sinvastatina.
- G6: Hipercolesterolêmicos tratados com cápsulas de 2,4 mg de sinvastatina

4.4 Delineamento experimental

O experimento consistiu em se verificar os efeitos da administração do medicamento sinvastatina associados a naringina (Sigma®) quando administrados por via oral em coelhos previamente tratados com gordura animal.

A análise dos constituintes sanguíneos foi realizada no tempo zero, no 14º e no 28º dias e todos os animais foram pesados nestes três períodos. Antes da coleta de sangue os animais ficaram em jejum por um período de 12 horas. O

sangue foi coletado na veia marginal da orelha de cada coelho, em tubos de ensaio sem qualquer anticoagulante. As amostras de sangue foram centrifugadas a 7100 x g, durante 15 minutos, para obtenção do soro. Foram dosados os níveis de colesterol total, colesterol HDL, triacilgliceróis, AST, ALT glicose, ureia e creatinina. As dosagens foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé), sendo utilizados “kits” da marca Bioclin®. Os resultados foram expressos em mg/dL. No final do experimento os animais foram anestesiados e eutanasiados, seguindo as recomendações da Diretriz Brasileira de Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI e corroborada pela aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA – UFV) protocolado com número 14/2015 (ANEXO 1). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com 6 repetições.

4.5 Princípios da análise do soro

As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas e com o soro obtido foram realizadas análise do colesterol total por meio de técnicas colorimétricas. Esse método tem como princípio a transformação do colesterol esterificado em ácido graxo a partir da ação da enzima colesterol estearase. O colesterol- HDL também foi doseado por métodos colorimétricos, no entanto, o HDL solubiliza pela ação de um detergente, permitindo a ação enzimática sobre o colesterol ligado a ele. Desta forma, a intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de colesterol HDL na amostra.

A dosagem dos triacilgliceróis no soro foi determinada por via enzimática colorimétrica. O método se baseia pela atuação da enzima lipase que hidrolisa os ésteres de glicerol de ácidos graxos de cadeias longas (Triacilgliceróis) em diglicerídeos, monoglicerídeos e ácidos Graxos livres. Durante a reação o substrato, em meio tamponado e estabilizado, adquire uma forma emulsificada (micelas) formando interfaces (lípidos - água) necessárias a ação da lipase que

em presença do ácido ditionitrobenzóico (DTNB) forma um cromógeno de cor amarela sendo proporcional à atividade da lipase no soro.

Para a determinação dos valores de AST e ALT foram utilizadas técnicas de cinética de dosagem. A AST catalisa a transferência de grupos amina do aspartato para o α -cetogluturato, levando à formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato em presença do MDH (Malato desidrogenase) reage com o NADH, reduzindo-se a malato e o NADH oxida-se a NAD^+ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da AST na amostra. A ALT catalisa a transferência do grupamento Amina da Alanina para o α -cetogluturato, levando à formação de piruvato e glutamato. O piruvato em presença do LDH (enzima lactato desidrogenase) reage com o NADH, reduzindo-se a lactato e o NADH oxida-se a NAD^+ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT na amostra

Para determinação de ureia utilizou-se a técnica de cinética de tempo fixo. O método se baseia na hidrólise da uréia em NH_3 e CO_2 pela enzima urease. A enzima glutamato desidrogenase (GLDH) na presença de NH_3 e α -Cetogluturato oxida o NADH para NAD^+ , essa oxidação de NADH a NAD^+ , medida pela diminuição de absorvância é proporcional à concentração de uréia na amostra, determinando os valores de uréia na amostra analisada.

Por fim a dosagem de creatinina foi obtida por calorimetria de ponto final. A creatinina reage com o picrato alcalino em meio tamponado, obtendo-se um cromógeno cuja absorvância é proporcional à concentração de creatinina na amostra. Os cromógenos inespecíficos são eliminados por uma pré-leitura, pois estes tem formação imediata. Todos os parâmetros bioquímicos das amostras analisadas foram determinados de acordo com metodologia descrita nos kits Bioclin utilizados no trabalho.

4.6 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e ao teste de homogeneidade de variâncias (Teste de Bartlett).

Os parâmetros bioquímicos foram avaliados por análise de variância (ANOVA). A comparação entre os controles (G1 e G2) foi realizada pelo teste F; a comparação entre as médias dos tratamentos (G3, G4, G5 e G6) com os controles (G1 e G2) foi realizada pelo teste de Dunnett; e a comparação das médias entre os tratamentos (G3, G4, G5 e G6) foi realizada pelo teste de Tukey. Os parâmetros bioquímicos entre os períodos experimentais (dias 0, 14 e 28) dentro de cada tratamento foram avaliados por ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeitos dos tratamentos nas concentrações plasmáticas de colesterol total.

Tabela 1. Valores médios de colesterol total e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	Colesterol total	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	107,67 ± 12,52		
	G2 (R+G)	109,82 ± 22,57	1,99	
	G3 (R+G+5 mg NA +0,3 mg SI)	104,22 ± 19,07	-3,21	-5,10
	G4 (R+G+15 mg NA +0,6 mg SI)	67,85 ± 11,76	-36,98	-38,22
	G5 (R+G+25 mg NA +1,2 mg SI)	71,55 ± 5,70	-33,55	-34,85
	G6 (R + G + 2,4 mg SI)	61,23 ± 5,12	-43,13*	-44,24
14	G1 (R)	64,28 ± 6,87		
	G2 (R+G)	125,63 ± 14,48	95,46 #	
	G3 (R+G+5 mg NA +0,3 mg SI)	109,81 ± 7,85	70,84*	-12,59
	G4 (R+G+15 mg NA + 0,6 mg SI)	82,93 ± 9,73	29,02	-33,99*
	G5 (R+G+25 mg NA +1,2 mg SI)	68,19 ± 11,58	6,09	-45,72*
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	87,42 ± 5,67	36,01	-30,41*
28	G1 (R)	75,97 ± 11,01		
	G2 (R+G)	141,70 ± 31,01	86,52 #	
	G3 (R+G+5mg NA +0,3mg SI)	110,05 ± 12,29 ^a	44,87	-22,34
	G4 (R+G+15mg NA+0,6 mg SI)	84,98 ± 18,61 ^{ab}	11,87	-40,03
	G5 (R+G+25 mg NA +1,2 mg SI)	73,23 ± 9,32 ^b	-3,60	-48,32
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	101,90 ± 13,89 ^{ab}	34,14	-28,09

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

No tempo zero, os grupos, G1 e G6 apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre eles, contudo neste período (tempo zero) se iniciou a indução da hipercolesterolemia, não apresentando valor clínico no experimento.

Aos 14 dias houve aumento de +95,46% nos níveis de colesterol total do grupo G2, portanto a metodologia utilizada para induzir o aumento do colesterol plasmático foi eficaz para o aumento da taxa de colesterol com 14 dias de tratamento. A diminuição do colesterol apresentada em G1 pode ser explicada pelo controle da ração fornecida aos animais durante o experimento (120 gramas diária).

Os grupos G3 e G4, tratados tiveram redução na concentração de colesterol total de -12,59% e -33,99% em relação a G2, respectivamente, O mesmo aconteceu para o grupo tratado com os grupos G5, cuja redução foi de -45,72% e de -30,41% no G6 tratado com 2,4 mg de sinvastatina diária. Todos os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle (G2) para o teste de Dunnett.

Aos 28 dias o aumento do colesterol no plasma dos animais do grupo G2 foi ainda mais evidente, sendo de 141,51% em relação ao grupo controle G1. Confirmando os resultados encontrados aos 14 dias de tratamento com gordura animal.

Os tratamentos com naringina e sinvastatina em todos os grupos apresentaram valores mais baixos de colesterol plasmático em relação ao grupo sem tratamento. Em G3 a redução foi de -22,34%, no grupo 4 essa redução foi de -40,03% e em G6, grupo tratado apenas com sinvastatina a diminuição foi de -28,09%. O melhor resultado foi apresentado pelo grupo G5 (25 mg de naringina + 1,2 mg de sinvastatina), com uma redução de -48,32%. Resultados comparados com grupo G2.

Telöken *et al.* (2000), administrando 0,5% de colesterol mais 4% de gordura de porco em coelhos obtiveram em 70 dias valor de colesterol plasmático de 314 mg/dL. Com uso de 20 g de banha de porco, também em coelhos, sem uso de colesterol puro os mesmos pesquisadores obtiveram concentrações de colesterol no sangue de 183 mg/dL em 100 dias de tratamento.

Os valores descritos no estudo acima estão bem próximos aos encontrados em nosso estudo que mesmo em um curto período de tempo conseguimos elevar os índices de colesterol plasmático, em média de 183, 47 mg/dL.

De acordo com os resultados obtidos aos 14 dias a associação entre sinvastatina 1,2 mg e 25 mg de naringina foi a que mais reduziu o teor de colesterol. Aos 28 dias este efeito tornou-se ainda mais pronunciado ocorrendo uma diminuição de -60,08%. Estes resultados indicam que houve um sinergismo de adição permitindo concluir que o flavonóide potencializou a ação do medicamento no estudo realizado.

Alguns estudos compararam os efeitos de naringina e da lovastatina em camundongos knock-out para receptores de LDL e observaram expressiva redução de colesterol total no plasma e no tecido hepático destes animais. Eles encontraram também que a lovastatina foi mais efetiva do que a naringina em reduzir o colesterol do plasma (KIM *et al.* 2004).

Estudos realizados demonstram que o flavonóide naringina compete com o colesterol no momento da absorção intestinal. Outro efeito pode ser atribuído ao aumento de receptores de colesterol LDL no fígado, isso se deve ao aumento do turnover da apolipoproteína B do LDL (WESTER, 2000). Tais efeitos hipolipidêmicos estão associados à interação de flavonóides com biomembranas, permitindo que essa classe de compostos possa interagir nas bicamadas lipídicas membranas celulares alterando suas barreiras. Dessa maneira a ingestão de flavonóides favorece a diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo dos animais (VERMA *et al.*, 2013).

Bok *et al* (2009), relata o efeito inibitório de flavonóides, inclusive a naringina, sobre a atividade da HMG-CoA redutase, enzima presente na rota de síntese do colesterol. Este mesmo autor relata o efeito do flavonóide aumentando a atividade da enzima ACAT e colesterol 7-alfa-hidroxiase. A ACAT pode levar à redução dos ésteres de colesterol presentes no colesterol VLDL e colesterol LDL. Alguns outros autores relatam também a atividade estrogênica de alguns flavonóides, já que, que os estrogênios podem reduzir o colesterol LDL e aumentar colesterol HDL.

Cirico e Omay (2006), em estudo *in vitro* com compostos fenólicos sobre a capacidade de oxidação de LDL, observaram efeitos sinérgicos de ácido

ferúlico, quercetina, catequina e hesperidina, protegendo contra a peroxidação lipídica. A combinação de compostos fenólicos obtida na dieta humana, por meio de uma variedade de fontes alimentares contendo flavonóides, sugere efeitos antioxidantes agindo aditivamente também *in vivo*.

Kirk *et al.* (1998) avaliaram o efeito dos flavonóides genisteína e daidzeína em camundongos, com e sem receptores de colesterol-LDL. Nesse estudo, observou-se que nos animais com receptores de colesterol-LDL, os flavonóides testados aumentaram a atividade dos receptores. O colesterol-LDL transporta o colesterol para os tecidos periféricos e os flavonóides, ao ativarem os receptores de colesterol-LDL no hepatócito, aumentam a endocitose, o que leva à redução dos níveis sanguíneos de colesterol.

Bok *et al.* (1999) testaram os efeitos do extrato da casca de mexerica e uma mistura de dois flavonóides (hesperidina + naringina), extraídos de frutas cítricas, sobre o colesterol sanguíneo em ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol. Foi observado que a mistura dos dois flavonóides e o extrato da casca baixaram significativamente os níveis de colesterol no plasma.

Outros estudos também demonstraram que as isoflavonas agem sobre a espessura do endométrio, o acúmulo de gordura tecidual e aumento nos níveis do colesterol HDL. Dessa forma pode se afirmar que estes flavonóides promovem a redução da adiposidade, reduzindo a lipogênese e aumentando a lipólise (TORREZAN *et al.* 2008).

Apesar das várias ações dos flavonóides em diversos estudos, um dos únicos mecanismos de ação bem estabelecidos e descritos na literatura é a ação antioxidante destes compostos. A estrutura básica dos mesmos reage com muitos radicais livres formando complexos estáveis pela conjugação das ligações duplas de suas cadeias carbônicas. Contudo, certos aspectos biofísicos de seu funcionamento ainda não estejam claros. (BABU *et al.* 2013).

5.2 Efeitos dos tratamentos nas concentrações plasmáticas de triacilgliceróis

Tabela 2. Valores médios de triacilglicerol e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	TGL	Porcentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	90,48 ± 21,11		
	G2 (R+G)	72,92 ± 19,97	-19,41	
	G3 (R+G+5 mg NA +0,3 mg SI)	72,00 ± 5,78	-20,42	-1,26
	G4(R+G+15mg NA +0,6 mg SI)	66,65 ± 19,17	-26,34	-8,59
	G5 (R+G +25 mg NA +1,2 mg SI)	75,50 ± 13,15	-16,56	3,54
	G6 (R+G+ 2,4 mg SI)	53,72 ± 6,54	-40,63	-26,33
14	G1 (R)	103,17 ± 6,52		
	G2 (R+G)	138,58 ± 17,44	34,33	
	G3 (R+G+ 5 mg NA + 0,3 mg SI)	131,07 ± 13,47	27,04	-5,42
	G4(R+G+15 mg NA +0,6 mg SI)	157,36 ± 19,80	52,52	13,55
	G5 G5(R+G+25 mg NA +1,2 mg SI)	135,57 ± 26,07	31,41	-2,18
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	157,10 ± 20,12	52,28	13,36
28	G1 (R)	88,77 ± 12,63		
	G2 (R+G)	162,85 ± 29,25	83,46	
	G3(R+G+ 5mg NA +0,3 mg SI)	159,87 ± 26,12	80,10	-1,83
	G4(R+G+15mg NA +0,6 mg SI)	142,16 ± 12,33	60,15	-12,71
	G5 (R+G+ 25 mg NA +1,2 mg SI)	145,75 ± 19,12	64,19	-10,50
	G6 (R+G+ 2,4 mg SI)	167,10 ± 34,31	88,25	-2,61

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

No tempo zero os animais do grupo controle não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos grupos controles G1 e G2 (Tabela 2).

Aos 14 dias os grupos controle G1 e G2 apresentaram diferenças significativas pelo Teste de Dunnett ($p < 0,05$) nas concentrações plasmáticas de triacilglicerol. O valor encontrado foi maior em +34,33%, mostrando a indução da hipertrigliceridemia. No trabalho de Asai *et al.* (1998) foi evidenciado aumento do triglicerídeo com dieta 1% de colesterol passando de $104 \pm 18,1$ mg/dL para $718,3 \pm 356,3$ mg/dL durante 180 dias. No outro grupo de seu experimento, colesterol 0,5%, o valor médio de triglicerídeo foi de 122 mg/dL em 70 dias. Aparentemente, o trabalho de Asai *et al.* (1998) apresentou valores muito elevados de triacilglicerol pelo longo tempo de tratamento com a dieta hiperlipêmica.

Os diversos tratamentos com naringina e sinvastatina com 14 dias de tratamento não mostraram resultados estatisticamente significativas pelo teste de Dunnett. Em G3 o valor encontrado foi de -5,42% e em G5 os níveis de triacilglicerol foram de -2,18% quando comparados aos animais tratados apenas com gordura animal. Em contrapartida ocorreu aumento nos níveis plasmáticos de colesterol em G4 +13,55% e em G6 tratado apenas com sinvastatina o aumento foi de 13,36% quando comparados a G2.

Aos 28 dias evidenciamos maior elevação dos níveis de triacilgliceróis. Esse aumento foi de 83,46% maior em relação aos animais de G1 tratados apenas com ração, determinando uma grande elevação dos níveis de triacilglicerol no tratamento com administração de gordura animal no estudo. Henry *et al.* (1981) com colesterol 2% em 60 dias, obtiveram taxas de triacilglicerol de 129 ± 30 mg/dL em relação ao dia zero que foi de 90 ± 23 mg/dL.

Com 70 dias de tratamento, Teloken *et al.* (2000), usou ração acrescida com 0,5% de colesterol mais 4% de banha animal no tratamento de coelhos. Os resultados obtidos apresentaram aumento significativo de triacilglicerol em relação ao grupo controle. Para Ribeiro *et al.* (2005) os valores de triacilglicerol dos coelhos chegaram a ter um aumento em 174% em relação ao grupo controle. A dieta estava baseada em 0,5% de colesterol juntamente com a gordura de babaçu a 10%, administrada durante 35 dias. Os resultados são reforçados pelos

autores citados identificando que a dieta com banha de animal aumenta de forma significativa o nível de triacilglicerol em coelhos.

Os diversos tratamentos utilizados neste experimento reduziram a concentração plasmática de triacilglicerol em todos os grupos. O tratamento do grupo três reduziu em -61,99% os níveis de triacilgliceróis, em G4 a redução foi de 48,27%, em G5, verificamos uma diminuição mais acentuada nos níveis de triacilglicerol (-65,35%) e em G6 a redução foi de -35,69%. O significado clínico desses resultados é bastante relevante, já que em um curto período todos os tratamentos usando flavonóides com sinvastatina sofreram reduções.

De acordo com Cha *et al.* (2001) a administração de flavonóides parece não influenciar a atividade das enzimas hepáticas envolvidas na síntese de triacilglicerol como fosfo-hidrolase fosfatídeo (PAP), todavia parece influenciar o conteúdo de triacilglicerol no fígado. Tem sido sugerido que o PAP microsomal é uma enzima que, na forma ativa, participa da síntese de triacilglicerol. Outro possível mecanismo para reduzir TG seria a inibição da síntese de ácidos graxos e enzimas que geram NADPH, glicose 6-fosfato desidrogenase e málicas.

Tem sido sugerido que as pesquisas com mecanismo de ação da naringina sobre a atividade da lipase, enzima que hidrolisa os triacilgliceróis, mostram que o flavonóide foi capaz de aumentar a atividade dessa enzima em 124,24% (LIMA, *et al.* 2008).

Em estudos utilizando um fármaco inibidores da enzima HMG-CoA (atorvastatina) e um flavonóide (hesperidina) apresentaram em seus resultados uma diminuição de 50% de triacilglicerol em uma formulação de 40 mg do flavonóide. Quando o flavonóide foi administrado em 20 mg ocorreu uma diminuição menos acentuada (-43%). Demonstrando que neste estudo o aumento da dose promoveu uma redução considerável dos níveis de triacilglicerol.

Com isso, podemos concluir que em nosso estudo a associação de flavonóides com estatinas são eficientes na redução dos níveis de triacilgliceróis nas diferentes dosagens de tratamentos utilizados nos 28 dias de experimento, sendo os resultados do ponto de vista clínico positivos, sugerindo resultados ainda melhores em períodos maiores de tratamento.

5.3 - Efeito dos tratamentos nas concentrações de colesterol HDL

Tabela 3. Valores médios de colesterol Hdl e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	HDL	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	32,18 ± 4,33		
	G2 (R+G)	36,43 ± 4,29	13,21	
	G3 (R + G + 5mg NA + 0,3 mg SI)	43,48 ± 5,33	35,11	19,35
	G4 (R + G + 15mg NA + 0,6 mg SI)	29,67 ± 5,52	-7,82	-18,57
	G5 (R + G + 25 mg NA + 1,2 mg SI)	29,77 ± 5,47	-7,51	-18,30
	G6 (R+G+2,4mgSI)	28,98 ± 4,31	-9,94	-20,45
14	G1 (R)	39,22 ± 2,34		
	G2 (R+G)	73,07 ± 6,16	86,30 #	
	G3(R+G+5mgNA+0,3mg SI);	95,57 ± 11,16 a	143,65*	30,78
	G4(R+G+15mgNA+0,6mgSI)	59,68 ± 8,89 ab	52,17	-18,32
	G5(R+G+25mgNA+1,2mgSI)	47,77 ± 5,92 b	21,79	-34,63
	G6 (R+G+2,4mgSI)	69,48 ± 10,94 ab	77,13	-4,92
28	G1 (R)	32,40 ± 4,95		
	G2 (R+G)	54,53 ± 9,40	68,31	
	G3(R+G+5mgNA+0,3mg SI);	62,42 ± 9,09 a	92,64*	14,46
	G4(R+G+15mgNA+0,6mgSI)	30,03 ± 4,33 b	-7,30	-44,93
	G5(R+G+25mgNA+1,2mgSI)	32,83 ± 8,91 b	1,34	-39,79
	G6 (R+G+2,4mgSI)	35,75 ± 4,42 ab	10,34	-34,44

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

Aos 14 dias os tratamentos com apresentaram um efeito moderado no aumento do colesterol HDL. Apenas no grupo 3 tratado com naringina 5 mg e sinvastatina 0,3 mg ocorreu um aumento nos níveis de colesterol HDL (30,78%), porém este aumento não ocorreu.

Podemos observar na tabela 3 um aumento significativo de G2 em relação a G1, esses valores acompanham o aumento dos índices de colesterol total no experimento. Ao contrário de G3, O grupo G4 apresentou uma redução de 18,32%. Essa redução se manteve no G5 com 34,62% de redução. Por fim G6 tratado com 2,4 mg de sinvastatina apresentou uma redução de 4,92% quando comparados a G2.

Aos 28 dias observou-se que os tratamentos do grupo 3 mantiveram ligeiro efeito, elevando os níveis do colesterol HDL em relação ao G2 e em menor porcentagem em relação ao resultado do 14 dias. A redução dos níveis de colesterol aconteceu novamente com os grupos G4 (-44,93), G5 (-34,79) e G6 (-34,44) quando comparados a G2. Tais resultados não apresentaram significância estatística.

Os resultados obtidos na tabela 3 nos sugerem que os valores tanto da associação naringina com sinvastatina em G4, G5 e sinvastatina isolada (G6) acompanharam os resultados apresentados na redução valores de colesterol total encontrados na tabela 3.

A fração HDL é responsável pelo transporte do colesterol das células periféricas para o fígado, onde ele é transformado em ácidos biliares e assim excretado através das vias biliares para o intestino. Existe uma correlação inversa entre as concentrações séricas de HDL colesterol e o risco de doença aterosclerótica. Concentrações elevadas de HDL protegem contra as cardiopatias coronárias, enquanto que as concentrações diminuídas, sobretudo as associadas a concentrações aumentadas de triglicérides, aumentam o risco de doença cardiovascular. Por isso, o HDL é chamado de “bom colesterol”, sendo desejável que seu nível sanguíneo seja aumentado (BOBAN *et al.*, 2006).

Estudos clínicos e experimentais demonstram que teores altos de colesterol HDL estão relacionados com baixa incidência de doenças cardiovasculares. Estas lipoproteínas fazem o transporte reverso do colesterol, retirando-o dos tecidos e trazendo ao fígado para ser eliminado. Baixas

concentrações plasmáticas de colesterol HDL não são capazes de eliminar o excesso de colesterol das paredes vasculares, contribuindo, dentre outros fatores, para o fenômeno inflamatório que caracteriza a patogênese da aterosclerose (LIMA e COUTO, 2006).

As estatinas além de diminuir a taxa de colesterol aumentam de maneira moderada os níveis de HDL. Entretanto os tratamentos utilizados no presente trabalho não foram capazes de aumentar os níveis desta lipoproteína no sangue dos animais em experimento.

Ao longo de 28 dias de tratamento somente o G3 tratado com 5mg de naringina e 0,3 de sinvastatina demonstrou uma taxa maior 14,43% quando comparada ao G2.

5.4- Efeito dos tratamentos nas concentrações de glicose

Tabela 4. Valores médios de glicose e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	Glicose	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	158,90 ± 7,69	-	-
	G2 (R+G)	160,50 ± 8,00	1,01	-
	G3 (R + G + 5mg NA + 0,3 mg SI)	144,98 ± 4,02	-8,76	-9,67
	G4 (R + G + 15mg NA + 0,6 mg SI)	160,95 ± 10,93	1,29	0,28
	G5 (R+G+25 mg NA +1,2mg SI)	165,60 ± 8,29	4,22	3,18
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	154,18 ± 5,40	-2,97	-3,94
14	G1 (R)	148,45 ± 9,99	-	-
	G2 (R+G)	129,53 ± 3,59	-12,74	-
	G3(R+G+ 5mg NA + 0,3 mg SI)	142,03 ± 2,57	-4,32	9,65
	G4(R+G+15 mg NA+0,6mgSI)	148,90 ± 5,81	0,30	14,95
	G5 (R+G+25 mg NA +1,2 mg SI)	146,52 ± 6,96	-1,30	13,11
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	147,97 ± 4,44	-0,33	14,23
28	G1 (R)	139,91 ± 8,19	-	-
	G2 (R+G)	122,20 ± 13,55	-12,66	-
	G3 (R + G + 5 mg NA +0,3 mg SI)	121,88 ± 2,35 ^b	-12,89	-0,26
	G4 (R + G + 15mg NA + 0,6 mg SI)	135,60 ± 4,67 ^{ab}	-3,08	10,96
	G5 (R+G + 25mg NA + 1,2mg SI)	139,88 ± 4,58 ^a	-0,02	14,47
	G6 (R +G +2,4 mg SI)	141,45 ± 3,41 ^a	1,10	15,75

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

De acordo com a tabela 4 os diferentes tratamentos com as associações e com a estatina isolada interferiram muito pouco nas concentrações plasmáticas de glicose dos animais em fase experimental.

Com 14 dias de tratamento a glicose sanguínea em G3 foi maior em 9,65%, em G4 de 14,95%. Os animais do grupo G5 a taxa foi de 13,11% e em G6 foi de 14,23%. Os valores de glicose quando comparados a G2.

Aos 28 dias de tratamento os resultados obtidos praticamente se mantiveram. Em G4, G5 e G6 AS taxas de glicose foram maiores 10,96%, 14,47% e 15,75% respectivamente. Uma pequena diminuição de -0,26 % foi encontrada no grupo 3. Essa foi a única redução relatada nas análises bioquímicas de sangue de glicose nos diversos grupos em tratamento. Porém esse valor não é estatisticamente significativo, e revela que os diversos tratamentos em que os animais foram submetidos neste período de tempo não são efetivos para redução da glicose. Todos os resultados obtidos foram comparados com o G2.

Os flavonóides exercem efeito benéfico no tratamento da diabetes por aumentar a secreção de insulina, diminuindo a apoptose e promovendo a proliferação de células β -pancreáticas. Também regulam o metabolismo da glicose em hepatócitos além de reduzirem a resistência à insulina (RODRIGUES *et al.*, 2015). Contudo os resultados obtidos sugerem uma ação isolada na rota metabólica na inibição do colesterol e pouca interferência no metabolismo da glicose em coelhos

5.5 - Efeito dos tratamentos nas concentrações de AST (TGO)

Tabela 5. Valores médios de AST e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	AST	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	67,00 ± 17,06		
	G2 (R+G)	70,33 ± 25,99	4,98	
	G3 (R+G+ 5mg NA +0,3 mg SI);	61,17 ± 15,44	-8,71	-13,03
	G4(R+G+15 mg NA + 0,6 mg SI)	70,60 ± 35,90	5,37	0,38
	G5 (R+G+ 25 mg NA +1,2 mg SI)	89,17 ± 27,37	33,08	26,78
	G6 R+G+ 2,4 mg SI)	71,33 ± 21,39	6,47	1,42
14	G1 (R)	39,00 ± 8,58		
	G2 (R+G)	38,40 ± 13,88	-1,54	
	G3(R+G+5mgNA+0,3mg SI);	36,00 ± 5,37	-7,69	-6,25
	G4(R+G+15mgNA+0,6mgSI)	25,50 ± 3,43	-34,62	-3,59
	G5 G5(R+G+25mgNA+1,2mgSI)	43,00 ± 7,62	10,26	-11,98
	G6 (R+G+2,4mgSI)	32,17 ± 3,98	-17,52	-16,23
28	G1 (R)	102,18 ± 14,25		
	G2 (R+G)	86,65 ± 4,26	-15,20	
	G3(R+G+5mgNA+0,3mg SI);	67,48 ± 4,82	-33,96	-22,12
	G4(R+G+15mgNA+0,6mgSI)	71,02 ± 4,71	-30,50	-18,04
	G5 G5(R+G+25mgNA+1,2mgSI)	79,63 ± 13,51	-22,07	-8,10
	G6 (R+G+2,4mgSI)	54,83 ± 6,45	-46,34	-36,72

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

De acordo com a tabela 5, no tempo zero, os diversos grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre eles, já que, a partir deste período (tempo zero) é que se iniciou a administração de gordura animal aos animais.

Aos 14 dias os grupos controles e em teste não apresentaram diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Dunnett. Em G4 o resultado encontrado foi menor em -33,59% em relação ao grupo controle G2. Os grupos G3 e G5 e G6, tiveram como resultados concentrações de AST de -6,25% e -11,98% e -16,23% respectivamente, em relação a G2, porém estes valores não foram estatisticamente significativas.

Aos 28 dias de tratamento os valores dos níveis de AST continuaram sem apresentar diferenças estatisticamente significativas, corroborando os resultados apresentados nos 14 primeiros dias de tratamento. G3 teve uma queda de -22,12%, G4 a taxa foi de -18,04% em G5 o valor foi de -8,10% e em G6 a redução dos valores de AST foi de -36,72%, todos comparados com o G2. Os resultados obtidos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas para o teste de Dunnett.

Os resultados deste estudo revelaram que não houve um aumento significativo nos níveis de AST, indicando que as ingestões das cápsulas contendo naringina e sinvastatina em diferentes doses não causaram danos hepáticos. Estas enzimas são consideradas indicadores altamente sensíveis de dano hepatocelular e, dentro de certos limites, podem fornecer uma taxa quantitativa do grau de danificação sofrido pelo fígado (AL-HABORI *et al.* 2002).

5.6- Efeitos dos tratamentos nas concentrações de ALT (TGP)

Tabela 6. Valores médios de ALT e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	AST	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	76,17 ± 8,60		
	G2 (R+G)	85,67 ± 17,26	12,47	
	G3 (R+G+ 5 mg NA + 0,3 mg SI)	80,83 ± 11,79	6,13	-5,64
	G4 (R+G+15 mg NA +0,6 mg SI)	96,67 ± 22,26	26,91	12,84
	G5 (R+G + 25mg NA +1,2mg SI)	71,33 ± 11,22	-6,35	-16,73
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	79,00 ± 16,54	3,72	-7,78
14	G1 (R)	74,17 ± 9,88		
	G2 (R+G)	48,00 ± 3,97	-35,28 #	
	G3 (R+G+ 5 mg NA + 0,3 mg SI)	45,83 ± 4,25	-38,20	-4,51
	G4 (R+G+15mgNA+0,6mgSI)	53,00 ± 4,79	-28,54	10,42
	G5 (R+G+25 mg NA+1,2 mg SI)	47,17 ± 9,28	-36,40	-1,74
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	54,83 ± 9,01	-26,07	14,24
28	G1 (R)	75,00 ± 11,41		
	G2 (R+G)	58,17 ± 5,44	-22,44	
	G3 (R+G+5mgNA+0,3mg SI);	47,17 ± 3,20	-37,11*	-18,91
	G4 (R+G+15mgNA+0,6mgSI)	63,33 ± 5,12	-15,56	8,88
	G5 G5 (R+G+25mgNA+1,2mgSI)	55,67 ± 6,28	-25,78	-4,30
	G6 (R+G+2,4mgSI)	53,33 ± 4,31	-28,89*	-8,31

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

De acordo com a tabela 6, no tempo zero, os diversos grupos, G1 a G6, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre eles. Neste período (tempo zero) é que se iniciou administração de gordura aos animais.

As diferenças dos valores obtidos entre os grupos controles 1 e 2 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas demonstrando que tais valores não causaram danos hepáticos durante o tratamento com gordura animal aos animais.

Aos 14 dias de tratamento experimental os resultados demonstram que em G3 o valor de ALT foi menor em -4,51% em relação ao grupo controle. O mesmo aconteceu com o grupo 5 que apresentou como resultado -1,74% em relação ao grupo controle G2. Em contrapartida resultados apresentados em G4 e G6 foram respectivamente maiores em 10,42 e 14,24% nos níveis de ALT em comparação com o grupo 2. Nenhum desses resultados apresentou diferença estatística significativa para o teste de Dunnett.

Aos 28 dias os animais do grupo G4 apresentaram valor sorológico de ALT 8,88% maiores em relação ao controle G2. Os grupos em tratamento G3, G5 e G6 tiveram valores menores em -18,91%, -4,30 e -8,31%, respectivamente, nos níveis de ALT. Os valores dos grupos tratados foram comparados ao G2 e não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas para o teste de Dunnett.

A ALT ou TGP é uma enzima que catalisa a transferência do grupamento amina de um grupo ácido para um cetoácido A AST ou TGO é a enzima que catalisa a transaminação reversível de L-aspartato e 2-cetoglutarato a oxalacetato e glutamato. (MEYER *et al.*, 1995)

A ALT, assim como a AST, também é uma enzima que interfere sobre o funcionamento hepático, porém ela tem um caráter mais específico, pois está presente apenas no citoplasma dos hepatócitos, enquanto a AST se encontra no interior das mitocôndrias. Assim, a ALT reflete uma lesão aguda já que, diante de um dano primário na membrana do hepatócito ocorrerá primeiramente a sua liberação na corrente sanguínea (BOBAN *et al.* 2006).

Com isso, os resultados apresentados com valores de análises bioquímicas das tabelas 5 e 6 a princípio não causaram danos hepáticos aos animais dos diferentes grupos. Contudo, estudos posteriores complementares de toxicidade e histopatológicos evidenciarão os resultados descritos acima.

5.7- Efeitos dos tratamentos nas concentrações de creatinina

Tabela 7. Valores médios de creatinina e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	CREATININA	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	1,03 ± 0.04		
	G2 (R+G)	1,07 ± 0.04	3,88	
	G3 (R+G+ 5mg NA +0,3 mg SI);	1,29 ± 0.07 a	24,76*	20,09*
	G4(R+G+15 mg NA + 0,6 mg SI)	1,06 ± 0.04 b	2,43	-1,40
	G5 (R+G+ 25 mg NA +1,2 mg SI)	1,00 ± 0.03 b	-3,40	-7,01
	G6 R+G+ 2,4 mg SI)	1,18 ± 0,07ab	14,08	9,81
14	G1 (R)	1,32 ± 0,09		
	G2 (R+G)	1,16 ± 0,07	-11,91	
	G3(R+G+5mgNA+0,3mg SI);	1,57 ± 0,15	19,65	35,83
	G4(R+G+15mgNA+0,6mgSI)	1,25 ± 0,08	-5,07	7,77
	G5 G5(R+G+25mgNA+1,2mgSI)	1,66 ± 0,18	26,11	43,17
	G6 (R+G+2,4mgSI)	1,79 ± 0,21	36,25	54,68*
28	G1 (R)	1,33 ± 0,11		
	G2 (R+G)	1,32 ± 0,06	-0,75	
	G3(R+G+5mgNA+0,3mg SI);	1,36 ± 0,07	2,51	3,28
	G4(R+G+15mgNA+0,6mgSI)	1,35 ± 0,04	1,50	2,27
	G5 G5(R+G+25mgNA+1,2mgSI)	1,38 ± 0,06	4,06	4,85
	G6 (R+G+2,4mgSI)	1,71 ± 0,10	27,44	28,41

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

Aos 14 dias de tratamento o G3 apresentou valores 35,83% maiores nos valores de creatinina plasmática em relação ao grupo controle (G2). No G4 o valor foi maior em 7,77% e em G5 o valor foi de 43,17%. Apenas os animais do G6 receberam o tratamento com sinvastatina isolada na concentração de 2,4 mg, tal grupo apresentou diferenças estatisticamente significativas nos resultados (54,68%).

Com 28 dias de tratamento, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos grupos em tratamento quando comparados com os animais do grupo controle. Entretanto, G3 (3,28%), G4 (2,27%), G5 (4,85%) e G6 (28,41%) revelaram valores maiores de creatinina em relação a G2.

A creatinina é o anidrido da creatina que se forma do ciclo fosfórico da fosfocreatina muscular, sintetizada a partir de reações dos aminoácidos arginina e glicina, sendo, portanto, um produto endógeno do catabolismo da creatina. É eliminada pelos rins em quantidade constantes, através da filtração glomerular. Seus valores independem da ingestão de proteínas da alimentação e não é afetada pelo volume urinário (LIMA *et al.*, 1985). As suas concentrações podem aumentar também em insuficiências renais ou severas injúrias musculares (RAGAN *et al.*, 1989).

A lesão renal aguda (LRA) é a complicação mais importante no curso da rabdomiólise. A rabdomiólise decorre primeiramente de necrose muscular caracterizando a causa traumática. Entre os mecanismos propostos para explicar a associação entre a rabdomiólise e a LRA destacam-se: obstrução tubular pela presença de cilindros formados pelo pigmento heme, a vasoconstrição renal e a toxicidade direta da proteína heme sobre a célula tubular e mecanismos inter-relacionados (ZAGER, 1996). A necrose muscular desencadeia o distúrbio oxidativo pela alteração na homeostase do cálcio, depleção de ATP e ativação de sistemas enzimáticos como proteases e fosfolipases que irão participar da formação e liberação de radicais livres, resultando em lesão celular. A lesão oxidativa altera a estrutura e função glomerular por efeito das espécies reativas de oxigênio (EROs) em células mesangias e endoteliais, desencadeando lesão inflamatória causada pela

liberação de mediadores como citocinas e a ativação leucocitária, além da redução de óxido nítrico (NO) implicando no relaxamento vascular, por fim a ativação da peroxidação lipídica (TAK e FIRESTEIN, 2001). Os antioxidantes naturais podem auxiliar na resposta endógena além de contribuir para depuração das EROs, atenuando seu efeito oxidativo no rim (STEFANOVIC *et al.*, 2000).

Dessa forma, o presente trabalho sugere uma tendência para a não evolução da nefrotoxicidade a partir da “proteção muscular” promovida pelos flavonóides. Lesões musculares provocados pela rabdomiólise desencadeadas pelo uso contínuo de sinvastatina determinam evolução de lesões celulares a nível muscular. Os tratamentos utilizando o flavonóide naringina associado à sinvastatina demonstraram por meio dos resultados da tabela 7 uma “proteção” a nível muscular dos tratamentos que utilizaram naringina associada à sinvastatina em comparação à sinvastatina administrada isoladamente aos animais.

No presente estudo o efeito renoprotetor se confirmou. O pré-tratamento com o fitoterápico naringina em diferentes doses mostrou melhora significativa da depuração de creatinina. Os dados referentes à peroxidação lipídica ressaltaram o efeito antioxidante do flavonóide. Contudo, futuros testes de toxicidade, bem como, análises histológicas poderiam melhor esclarecer a evolução ou não de danos renais dos animais em tratamento.

5.8- Efeitos dos tratamentos nas concentrações de ureia

Tabela 8. Valores médios de colesterol total e percentual de variação em relação aos grupos-controle de coelhos submetidos a diferentes tratamentos por 28 dias.

Dias	Tratamentos	Ureia	Percentagem (%) em relação a:	
			G1	G2
0	G1 (R)	47,33±2,16		
	G2 (R+G)	43,30±2,96	-8,52	
	G3 (R + G + 5mg NA + 0,3 mg SI)	56,23±5,23	18,80	29,87
	G4 (R+G+15mg NA+0,6 mg SI)	46,43±2,80	-1,90	7,24
	G5 (R+G+25mg NA+1,2 mg SI)	50,07±4,38	5,77	15,63
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	50,28±6,05	6,23	16,13
14	G1 (R)	30,02±3,68		
	G2 (R+G)	28,23±2,05	-5,94	
	G3 (R+G+ 5mg NA+0,3 mg SI);	28,33±1,33	-5,61	0,35
	G4 (R+G+15 mg NA+0,6 mg SI)	29,33±1,99	-2,28	3,90
	G5 (R+G+25mg NA+1,2 mg SI)	31,33±2,43	4,39	10,98
	G6 (R+G+2,4 mg SI)	32,98±1,50	9,88	16,82
28	G1 (R)	41,78±4,27		
	G2 (R+G)	42,65±3,21	2,07	
	G3(R+G+5mg NA+0,3mg SI);	44,42±1,12	6,30	4,14
	G4(R+G+15mg NA+0,6 mgSI)	45,45±2,42	8,78	6,57
	G5 G5(R+G+25mg NA+1,2 mg SI)	43,08±3,82	3,11	1,02
	G6 (R+G+2,4mg SI)	47,47±4,65	13,62	11,31

R=Ração, G=Gordura animal 20 ml, N=Naringina, SI=sinvastatina.

Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0.05);* Diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett (P<0.05);# Diferença significativa entre os controles pelo teste F (P<0.05).

De acordo com a tabela 8 aos 14 dias de tratamento os grupos não apresentarem diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Dunnett. Em G3 o valor foi maior em 0,35%, em G4 os índices foram de 3,90% maiores nos valores de uréia. No grupo 5 o resultado foi de 10,98% maior e por fim G6 apresentou o valor foi 16,82% maior. Todos os grupos foram comparados com G2.

Aos 28 dias de experimento os valores dos resultados apresentados de G3,G4,G5 e G6 foram respectivamente de 4,14%, 6,57%,1,02% e 11,31%, não apresentando diferença significativa para o controle pelo teste de Dunnett .

Tais resultados evidenciam que tanto na ureia quanto na creatinina apresentaram proteção relativa a partir da associação de naringina e sinvastatina aos órgãos

Coelhos eliminam amônia como principal forma de excreção nitrogenada. Entretanto, nos mamíferos em geral a uréia é o principal produto final do metabolismo das proteínas, sendo responsável pela excreção de 80% do nitrogênio não proteico pela urina (LIMA, 1985). A dosagem sérica de uréia é comumente utilizada para se avaliar a função renal. No entanto os coelhos utilizam a uréia para a síntese de proteínas.

A produção da uréia ocorre no fígado a partir de aminoácidos e do Íon NH_4^{++} , derivado da ação bacteriana no intestino grosso. O grupo NH_2 dos aminoácidos que é empregado pelo organismo é transformado em uréia. O aumento no teor de uréia no sangue pode ser devido a redução da eliminação renal, aumento do catabolismo de proteínas ou combinação desses dois processos. Valores elevados de uréia ocorrem a partir de choques traumáticos, choques hemorrágicos, desidrata-o aguda ou perda de eletrólitos, descompensado cardíaca, infecção aguda e catabolismo protéico aumentado (LIMA, 1985).

Neste contexto, o uso de agentes oxidantes naturais tem merecido destaque por possuir propriedades relacionadas ao seqüestro radicais livres, quelação de metais e modulação de atividades enzimáticas em prol da inibição

da peroxidação lipídica, presentes em vários processos patológicos, como a doença renal.

6. CONCLUSÃO

O flavonóide naringina e o fármaco sinvastatina, quando associados, apresentaram efeitos sinérgicos em reduzir as concentrações de colesterol total e triacilgliceróis no soro de coelhos hiperlipidêmicos, sendo que o tratamento utilizando 25 mg de naringina com 1,2 mg de sinvastatina foi o mais eficaz quando comparado ao fármaco isolado em uma maior concentração (2,4 mg).

As diferentes dosagens em teste da associação não tiveram efeito em aumentar o colesterol – HDL dos animais. A combinação de naringina e sinvastatina não apresentaram efeito significativo sobre a glicose sanguínea dos animais em teste durante os 28 dias de tratamento.

Os valores de ureia, creatinina, AST e ALT não representaram indicativos bioquímicos de nefrotoxicidade e hepatotoxicidade nos modelos animais em teste.

A associação de medicamentos com os flavonóides poderiam ser utilizados em doenças crônicas e metabólicas onde a hiperlipidemia deve ser controlada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, L. B.; BUDEL, J. M. Aspectos Clínicos laboratoriais das dislipidemias. **Saúde**, v. 1, n. 5, p.1984-1998, 2014.

ACHKAR, M. T.; NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D. et al. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos Doi. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398-406, 2013.

ADAM, O.; LAUFS, U. Rac1-mediated effects of HMG-CoA reductase inhibitors (statins) in cardiovascular disease. **Antioxidants & redox signaling**, v. 20, n. 8, p. 1238-1250, 2014.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonóis: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

AHMED, O. M.; MAHMOUD, A. M.; ABDEL-MONEIM, A. et al. Antidiabetic effects of hesperidin and naringin in type 2 diabetic rats. **Diabetologia Croatica**, v. 41, n. 2, p. 53-67, 2012.

AL-HABORI M, AL-AGHBARI AM, AL-MAMARY M, BAKE M. Toxicological evaluation of Catha edulis leaves: a long term feeding experiment in animals. **Journal Ethnopharmacol.** v.83 n.3, p. 209-17 2002.

ALVAREZ COLLAZO, J.; LOPEZ, A.; RODRIGUEZ, A. . Mechanism of the negative inotropic effect of naringin in mouse heart. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 5, p. 148-157, 2014.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular – Artigo de Revisão. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.3, n.2, p. 145-154.2004.

ARAKI, M., I. C. R. MARTINS, E. G. SANTOS AND C. D. BARROS. Não-HDL-colesterol em escolares e adolescentes. **Scientia Plena** v.9, n.2, 2013.

ARAÚJO, R.G., CASELLA FILHO, A.; CHAGAS, A.C.P. Ezetimiba-farmacocinética e terapêutica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85,n. 1, p. 20-24, 2005.

ASAI, K.; KUZUYA, M.; NAITO, M.; FUNAKI, C.; KUZUYA, F. Effects of splenectomy on serum lipids and experimental atherosclerosis. **AngiologyJournal of vascular diseases**, 39:497-504, 1998.

BABU P.V., LIU D., GILBERT E.R. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. **Journal Nutrition Biochemistry**, v.24, n. 11, p. 1777-1789, 2013.

BACHORIK, P.S., RIFKIND, B.M., KWITEROVICH, P.O., **Lipídiase dislipoproteínas Diagnósticos Clínicos e por métodos Laboratoriais** .2.ed. São Paulo. p.208-236, 1999.

BAHIA, L.; DE AGUIAR, L. G.; VILLELA, N. R. et al. The endothelium in the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 291-303, 2006.

BARBOSA, T. N. R. M.; FERNANDES, D. C. Compostos Bioativos e Doenças Cardiovasculares: revisando as evidências científicas. **Estudos**, v. 41, n. 2, p. 181-192, 2014.

BARREIRO, E. J. e C. A. M. FRAGA -: As bases moleculares da ação dos fármacos, **Química Medicinal**, Artmed Editora, 2014.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A. et al. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis**, v. 168, n. 2, p. 195-211, 2003.

BAYS, H., STEIN, E.A. Pharmacotherapy for dyslipidaemia- current therapies and future agents. **Expert Opinion Pharmacotherapy**, v.4, n.11, p.1901-1938, 2003.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6185-6205, 2008. ISSN 0021-8561.

BERTOLAMI, M. C. Mechanisms of hepatotoxicity. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 85, p. 25-27, 2005.

BEZERRA, A. C.; SAMPAIO, H. A. D. C.; MELO, M. L. P. D. et al. Associação entre dislipidemia e excesso de peso de crianças e adolescentes atendidos em uma unidade de saúde. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 348, 2012.

BIANCHI, P. K. F. D. C.; JUNIOR, J. R. K.; ORLANDINI, P. análise da segmentação anatomo-cirúrgica arterial do cólon de coelhos. 2014.

BOBAN P. T; NAMBIAN B.; SUDHAKARAN P. R; Hypolipidaemic effect of chemically different mucilages in rats: a comparative study. **Brazilian Journal of Nutrition** , v.96 n.6, p. 1021-9. 2006.

BOK, S.H.; LEE, S.-H.; PARK, Y.B. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **The Journal of nutrition**, v. 129, n. 6, p. 1182-1185, 1999.

BONFIM, M. R.; HANSEN, A.; TURI, B. C. et al. Aderência ao tratamento por estatinas e fatores associados em usuárias do Sistema Único de Saúde. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 48, n. 3, p. 477-483, 2014.

BORÉN, J.; TASKINEN, M.-R.; ADIELS, M. Kinetic studies to investigate lipoprotein metabolism. **Journal of Internal Medicine**, v. 271, p. 166-173, 2012.

BORGES, W. R.; JUNIOR, R. A.; LIMA, J. Aterosclerose Subclínica em Pacientes Renais Crônicos Não Dialíticos. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 104, n. 3, p. 253-254, 2015.

BOULLART, A.C.I.; GRAAF, J.; STALENHOEF, A.F. Serum triglycerides and risk of cardiovascular disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1281, p. 867-875, 2012.

BURTIS, C. A., ASHWOOD E. R. E., BRUNS D E, TIETZ: fundamentos de química Clínica, **Elsevier**; 6ª ed; Rio de Janeiro, 2011.

CALABRESI L., GOMARASCHI M., FRANCESCHINIG F. Endothelial protection by high- density lipoproteins: from bench to bedside. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 23, p.1724-1731, 2003.

CAMARGO, M. D.; STEIN, R., A efetividade da atividade física sobre o espessamento médio-intimal da carótida, a função endotelial e marcadores inflamatórios na doença cardiovascular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio Grande do Sul Número**. v. 28, p. 1, 2015.

CARDOZO, L.; MAFRA, D. Alimentação Pode Levar a Benefícios para o Sistema Cardiovascular: Fato ou Ficção? **Internatinal Journal Cardiovascular Sci**, v. 28, n. 2, p. 87-88, 2015.

CARVALHO, M. V. H. D.; REBEIS, E. B.; MARCHI, E. Chest wall reconstruction in acquired defects. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. 1, p. 064-069, 2010.

CHA, J.-Y.; CHO, Y.-S.; KIM, I. et al. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 56, n. 4, p. 349-358, 2001

CHALASANE N., ALJADHEY H., KESTERSON J., MURRAY M.D., HALL S. D. patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. **Gastroenterology**, n.126, p. 1287-1292, 2004.

CHANET A, MILENKOVIC D, MANACH C, MAZUR A, MORAND C. Citrus flavanones: what is their role in cardiovascular protection. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry** , v. 60, p.8809 – 8822, 2012.

CHIESA, H., R. N. MORESCO AND A. F. DE BEM . "Avaliação Do Risco Cardíaco, Conforme Escores De Risco De Framingham, Em Pacientes Ambulatoriais De Salvador Do Sul, São Pedro Da Serra E Barão-RS." **Saúde (Santa Maria)**, v.33, n.1, p. 04-10; 2007.

CIRICO, T.L.; OMAE, S.T. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. **Food and Chemical Toxicology**. v.44, p.510-516, 2006.

COELHO, V. G.; CAETANO, L. F.; LIBERATORE JÚNIOR, R. D. R. et al. Perfil lipídico e fatores de risco para doenças cardiovasculares em estudantes de medicina. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 85, n. 1, p. 57-62, 2005.

CUETO, R.; LUCENA, M. I.; VALDIVIESO, P. Estatinas, riesgo de hepatotoxicidad y enfermedad hepática. **Revista andaluza de patología digestiva**, v. 30, n. 3, p. 31-38, 2007.

CUNHA, C. R. M., Bioconversão: Uma Alternativa Sintética Para a Produção De Derivados Funcionalizados da Naringina e Naringenina. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.4, n.2, 2007.

DAVIGNON, J. Advances in drug treatment of dyslipidemia: focus on atorvastatin. **Canadian Journal of Cardiology**, v.14, p.28–38, 1998.

DE ARAÚJO FERREIRA, V. P.; FERREIRA, W. M.; DE OLIVEIRA SIMÕES, E. et al. Digestibilidade, cecotrofia, desempenho e rendimento de carcaça de coelhos em crescimento alimentados com rações contendo óleo vegetal ou gordura animal¹. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, 2006.

De BLAS, J.C.; WISEMAN, J. The nutrition of the rabbit. Cabi publishing, Wallingford, 1998.

DE LOECKER, I.; PREISER, J.-C. Statins in the critically ill. **Ann Intensive Care**, v. 2, n. 1, p. 19, 2012.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. A intrigante bioquímica da niacina—uma revisão crítica. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1739-1752, 2011.

DE OLIVEIRA G., MENDES R.T., BOCCALETTO E.M.A. Alimentação, atividade física e qualidade de vida dos escolares do município de Vinhedo/SP. **Dislipidemia Infantil**. p. 39-46; 2009.

ENDO A. A historical perspective on the discovery of statins. **Proceedings of the Japan Academy, Series B - J-Stage**.v.86, p. 484-486, 2010

ESLAMI, L.; MERAT, S.; MALEKZADEH, R. et al. Statins for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. **The Cochrane Library**, 2013.

FARIA, K.R.M.; SILVA, P.I.; FILHO, R.M.; MALAFAIA, G.; Perfil Lipídico e os Fatores de Risco Para a Doença Aterosclerose em Metalúrgicos de Quirinópolis-GO, **Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.8, N.14; p. 1615 – 2012.

FEKETE, S., GIPPERT, T. Effect of crude fibre on protein utilization by rabbits. *Journal Applied of Rabbit Research*,v.8, n.1, p.31-38, 1985.

FERREIRA, I. C. F. R., ABREU, R. M. V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Bioanálise**,v. 4,n.2,p.32, 2007.

FORTI, N., DIAMENT, J. Lipoproteínas de Alta Densidade: Aspectos Metabólicos, Clínicos, Epidemiológicos e de Intervenção Terapêutica. **Atualização para os Clínicos. Arquivo Brasileiro de cardiologia.**, v. 87, n.1, p. 671-679, 2006.

FRANCA, E., ALVES, J.G.B. Dislipidemia entre Crianças e Adolescentes de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 87, n. 6, p. 722-727, 2006.

FREEDMAN D.S; KATZMARZYK P.T; DIETZ W.H; SRINIVASAN S.R; BERENSON G.S;Relation of body mass index and skinfold thicknesses to cardiovascular disease risk factors in children: in Bogalusa Heart Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**2009;v.90, n.1,p.210-216,2009.

GALVEZ, J. DE LA CRUZ, J.P.; ZARZUELO, A.; DE LA CUESTA, F.S. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differs from its influence on the glutathione-related enzymes. **Pharmacology** v.51, p.127-133, 1995.

GARCÍA-LAFUENTE, A.; GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A. et al. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. **Inflammation Research**, v. 58, n. 9, p. 537-552, 2009.

GIDENNE, T. Aportes de fibra y almidón para los gazapos de engorde. **Cunicultura**, v.21, n.120, p.88-93, 1996.

GIDENNE, T. Effects d'une réduction de la teneur en fibres alimentaires sur le transit digestif du lapin. Comparaison et validation de modèles d'ajustement des cinétiques d'excrétion fécale des maqueurs. **Reproduction Nutrition and Development**. v.34, n.4, p.295-306, 1994.

GODSLAND, I.F. Effectes of Postmenopausal Hormone Replacent Therapy on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein (a) Concebrtrations: Analysis of Studies Published from 1974- 2000. **Fertility and Sterility**, v.75, n.5, p.898-915,2001.

GOLOMB, B.A.; EVANS M.A.; Statin Adverse Effects a Review of the Literature and Evidence for a Mitochondrial Mechanism. **Am Journal Cardiovascular Drugs**.v.8,n.6, p.373-418,2008.

GONÇALVES, M.C.R.; DINIZ, M.F.F.M.; BORBA, J.D.C.; NUNES, X.P.; FILHO J.N.B; Berinjela (*Solanum melongena L.*).**Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.16, n.2, p. 252-257, 2006

GOODMAN & GILMAN. **As Bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mac Graw Hill, p. 422- 424,2003.

GORDON, P. B.; HOLEN, I.; SEGLEN, P. O. Protection by naringin and some other flavonoids of hepatocytic autophagy and endocytosis against inhibition by okadaic acid. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 11, p. 5830-5838, 1995. ISSN 0021-9258.

GRASSI, D.; LIPPI, C.; NECOZIONE, S. et al. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 3, p. 611-614, 2005.

GUANG-MING, Y.; RU, Y.; ZHAO-XIAN, W. et al. Antitumor effects of two extracts from *Oxytropis falcata* on hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. **Chinese journal of natural medicines**, v. 11, n. 5, p. 519-524, 2013

GUETTA, V., CANNON, R.O. Cardiovascular Effects of Estrogen and Lipid-Lowering Therapies in postmenopausal Women. **Circulation**, 93: 1928-1937, 1996.

GUIMARÃES, A. A.; BORTOLOZO, E. A. F. Q.; LIMA, D. F. R. D. Prevenção de fatores de risco para doenças cardiovasculares: programa de nutrição e prática de atividade física para servidores de uma universidade pública do estado do Paraná. **Revista Eletrônica Fafit/Facic**, v. 4, n. 1, 2013.

GUPTA, N.; GILL, K.; SINGH, S. Paraoxonases: structure, gene polymorphism e role in coronary artery disease. 2009

GUTERRES, F. A. D. L. B. Senescência induzida por sinvastatina em modelo de melanoma humano. 2014.

GUYTON, A. C; HALL, J.E. Textbook of medical Physiology. 11 th ed. p. 847-851. 2006.

HABAUZIT V, MORAND C. Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. **Therapeutic Advances in Chronic Disease**.v.3, p.87 – 106, 2012.

HALVORSEN, B.L., HOLTE, K., MYHRSTAD, M.C.W. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*. n.132, p.461–471,2002.

HAMBRECHT, R.; WOLF, A.; GIELEN, S. et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. **New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 7, p. 454-460, 2000.

HASSAN, S.; ROMERO, R.; VIDYADHARI, D. et al. Vaginal progesterone reduces the rate of preterm birth in women with a sonographic short cervix: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v. 38, n. 1, p. 18-31, 2011.

HEIN, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 13, p. 572-584, 2002.

HENRY, P. D.; BENTLEY, K. Suppression of atherogenesis in cholesterol-fed rabbit treated with nifedipine. **Journal of Clinical Investigation**, v. 68, n. 5, p. 1366, 1981.

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, p.1007 – 1011,1993.

HERTOG, M. G.; HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2379-2383, 1992.

HODGSO, J.M., Tea flavonoids and cardiovascular disease. **Asia Pacific Journal Of Clinical Nutrition**, vol.17, p.288-290,2008

HODGSON, J.; THOMPSON, K.; WILSON, P. et al. **Does biodiversity determine ecosystem function? The Ecotron experiment reconsidered:** 1998.

JAGETIA, G. C.; VENKATESHA, V.; REDDY, T. K. Naringin, a citrus flavonone, protects against radiation-induced chromosome damage in mouse bone marrow. **Mutagenesis**, v. 18, n. 4, p. 337-343, 2003. ISSN 0267-8357.

JARDIM, T. V.; SOUSA, A. L. L.; POVOA, T. R. et al. Comparação entre Fatores de Risco Cardiovascular em Diferentes Áreas da Saúde num Intervalo de Vinte Anos. **Arq Bras Cardiol**, v. 103, n. 6, p. 493-501, 2014.

JOY, T. R.; HEGELE, R.A. Narrative review: statin-related myopathy. **Annals of Internal Medicine**, v. 150, n. 12, p. 858-868, 2009.

JUZWIAK, S.; WOZCICKI, J.; MOKRZYCKI, K.; MARCHLEWICZ, M. BIALECKA, M. WENDA-ROZEWICKA, L. GAWRONSKA-SZKLARZ, B. DROZDZIK, M. Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits. **Pharmacol Rep**. v.57, p.604-9, 2005.

KAJINAMI, K., AKAO, H., POLISECKI, E., SCHAEFER, E.J. Pharmacogenomics of statins. **American Journal of Cardiology**, v. 96, p.65-70, 2005.

KASHYAP, M. L.; MCGOVERN, M. E.; BERRA, K. et al. Long-term safety and efficacy of a once-daily niacin/lovastatin formulation for patients with dyslipidemia. **The American journal of cardiology**, v. 89, n. 6, p. 672-678, 2002.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2003.

KELI S.O; HERTOOG M.G.L; FESKENS E.J.M; KROMHOUT D.. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and the incidence of stroke.**Archives of Internal Medicine**,v. 156, p. 637 – 642, 1996.

KIM, H.-J.; OH, G. T.; PARK, Y. B. et al. Naringin alters the cholesterol biosynthesis and antioxidant enzyme activities in LDL receptor-knockout mice under cholesterol fed condition. **Life sciences**, v. 74, n. 13, p. 1621-1634, 2004.

KIRK, E.A.; SUTHERLAND, P.; WANG, S.A.; CHAIT, A.; LEBOEUF, R.C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor deficient mice. **Journal of Nutrition** v.128, p.954-64, 1998.

KRISHNAN G.M; THOMPSON P.D; The effects of statins on skeletal muscle strength and exercise performance. **Current Opinion in Lipidology**. v. 21, n. 4, p. 324-8, 2010.

KUPPUSAMY, U.; DAS, N. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes. **Biochemical pharmacology**, v. 44, n. 7, p. 1307-1315, 1992. ISSN 0006-2952.

LANDOLFI, R.; MOWER, R.L.; STEINER, M. Modification of platelet function

LEBAS e LAPLACE, J.P. Le transit digestif chez le lapin. VII.- Influence de la finesse du broyage des constituants d'un aliment granulé. **Annales Zootechnie**, v.26, n.3, p.413-420, 1977.

LIAU, J.K. Clinical implications for statin pleiotropy. **Curr Opinion Lipidol**. v. 16, p. 624-9, 2005.

LIBERALI R.; M. R. RIBEIRO; R. M. AGUIAR; R. L. CAVALCANTI; V. B. BATISTA R. Perfil nutricional de adultos e idosos atendidos na rede municipal de saúde de Manaus e sua associação a doenças crônico-degenerativas. **Revista Brasileira de Ciências do Envelhecimento Humano**. v.8, n.1, 2012.

LIM, B.O.; YU, B.P.; CHO, S.H.; HER, E.; PARK, D.K. The inhibition by quercetin and ganhuangenin on oxidatively modified low density lipoprotein. *Phytotherapy Research* v.12, p.340-45, 1998.

LIMA, A.; SOARES, J.; GRECO, J. et al. Métodos de Laboratório aplicados à Técnicas e Interpretação. **Métodos de Laboratório aplicados à Técnicas e Interpretação**, 1985.

LIMA, E. S.; COUTO, R.D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 3, p.160-177, 2006.

LIMA, L. R. P.; OLIVEIRA, T. T. D.; NAGEM, T. J. et al. Ação terapêutica e inocuidade no metabolismo de quercetina, bixina e norbixina em coelhos hiperlipidêmicos. 2008

LOPEZ, A. I.; COLLAZO J. A.; RODRIGUEZ, A.; MORON F.; CABRERA H.; ALVAREZ, J. L. Alvarez. Direct actions of naringin on rat cardiac and vascular smooth muscle. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**. v.13,n.3, p. 238-248, 2013.

MAGALHÃES, M. E. C.; BRANDÃO, A. A.; FREITAS, E. D. et al. Novas perspectivas no tratamento das dislipidemias. **Rev Socerj**, v. 17, p. 1-7, 2004.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10ª edição. São Paulo. Roca. 2002.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10ª edição. São Paulo. Roca. 2002.

MARGARITIS, M.; CHANNON, K. M.; ANTONIADES, C. Statins as regulators of redox state in the vascular endothelium: beyond lipid lowering. **Antioxidants & redox signaling**, v. 20, n. 8, p. 1198-1215, 2014.

MARIANI, T. A.; SPERETTA, G. F. F. Nutrição e exercício físico na prevenção dos fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 5, n. 27, 2012.

MARTINEZ-FLÓREZ, J. S.; GONZALEZ-GALEZ, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutricion Hospitalare**, v. 6, p. 271-278,2002.

MARZZOCO A., TORRES B.B. **Bioquímica Básica**. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan., v.3, p. 87-98 , 2007.

MATA A.T., PROENÇA C., FERREIRA A.R., SERRALHEIRO M.L.M., NOGUEIRA J.M.F., ARAÚJO M.E.M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. **Elsevier Food Chemistry**, n.103, p.778–786, 2007.

MATÉS, J. M.; PEREZ-GOMEZ, C.; NUNEZ DE CASTRO, I. Antioxidant enzymes and human diseases. **Clinical Biochemistry**,v. 32, p. 595-603, 1999

MATSUBARA, S.; AMAYA, D.B.R. Teores de catequinas e teafloavinas em chás comercializados no Brasil. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v.26, p.401-407, 2006.

MATSUMOTO, N.; OKUSHIO, K.; HARA, Y. Effect of black tea polyphenols on plasma lipids in cholesterol-fed rats. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 44, n. 2, p. 337-342, 1998.

McNAB. J.M. Amino acid digestibility and availability studies with poultry. In: AMINO acid in animal farm nutrition. Wallingford: **CAB International**. p 185-203,1994.

MENDIS, S.; PUSKA, P.; NORRVING, B. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control. World Health Organization, Geneva; 2011.

MEYER, D.; COLES, E.; RICH, L. Testes e distúrbios dos eritrócitos. **Medicina de Laboratório Veterinária: Interpretação e Diagnóstico. 1ª ed., Ed. Roca, São Paulo-SP**, p. 11-15, 1995.

MIYOSHI, E., M. G. SCHAMNE, M. V. K. MINARDI AND M. M. FERRO. "Efeito Da Simvastatina No Teste Do Comportamento Rotatório Após Desafio Com Apomorfina Em Um Modelo Animal Da Doença De Parkinson. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia v.9, n. 3, p., 62-68; 2014.**

MONTERA, V. D. S. P. Benefícios dos nutrientes antioxidantes e seus cofatores no controle do estresse oxidativo e inflamação na insuficiência cardíaca. **Revista da SOCERJ**, v. 20, n. 1, p. 20-27, 2007.

MONTERA, V.S.P. Benefícios dos nutrientes antioxidantes e seus cofatores no controle do estresse oxidativo e inflamação na insuficiência cardíaca. **Revista Socerj**,v. 20, n. 1, p .20-27, 2007.

MORAES, S. A. D.; CHECCIO, M. V.; FREITAS, I."Dislipidemia e fatores associados em adultos residentes em Ribeirão Preto, SP. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo. v. 57,n.9, p. 691-701, 2013.

MUNDY, G.R. Statins and their potential for osteoporosis. **Bone**, v. 29, n. 6, p. 495-497, 2001.

NASSAR, P.; NASSAR, C.; GUIMARAES, M. et al. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. **Journal of periodontal research**, v. 44, n. 4, p. 479-488, 2009.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM. Working Group on Lipoprotein Measurement: Recommendations for measurement of Ldl-cholesterol, Hdl-cholesterol and Triglycerides. NIH Publication (in press).

NAVAB, M.; ANANTHARAMAIAH, G.M.; REDDY, S.T.;Van LENTEN, B. J.; ANSELL, B.J.; FONAROW, G. C.; VAHABZADEH, K.; HANNA, S.; HOUGH, G.; KAMRANPOUR, N.;BERLINER, J. A.; LUSIS, A. J.; FOGELMAN, A. M. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. **Journal of Lipid Research**, v. 45, p. 993-1007, 2004.

NIELSEN, S. F.; NORDESTGAARD, B. G.; BOJESSEN, S. E. Statin use and reduced cancer-related mortality. *N Engl J Med*, v. 367, p. 1792-1802, 2012

NIJVELDT, R.J.; VAM NOOD, E.; VAN HOORN, E.C.; BOELENS, P.G.; VAN NORREN, K.; VAN LEEUWEN, P.A.M. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418-25, 2001.

NISSEN, S. E.; TUZCO, E. M.; SCHOENHAGEN, P.; BROW, B. G.;GANZ, P.; VOEGEL, R. A.; CROWE, T.; HOWARD, G.; COOPER, C.J.; BRODIE, B.; GRINES, C.L.; DeMARIA A. N; **Effect of intensity compared with moderate lipid – lowering therapy of progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial**. JAMA.v.291, n.9, p. 1071 - 1080; 2004.

OLIVEIRA, M. A.; GOMES, E.; MUSSEL, W. et al. Análise térmica aplicada à caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Quimica Nova**, v. 33, n. 8, p. 1653-1657, 2010.

OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; MIRANDA, L.C.G.; PAULA, V.F.; TEIXEIRA, M.A. Inhibitory action on aldose reductase by soybean flavonoids. J. Braz. Chem.Soc., v.8, n.3, p.211-213, 1997.

OSMAK, M. Statins and cancer: current and future prospects. *Cancer Lett*, v. 324, p. 1-12, 2012.

PACIFICO, L; Management of metabolic syndrome in children and adolescents. ***Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*** , v. 21, p. 455-466, 2011.

PASTERNAK RC, SMITH SC JR, BAIREY-MERZ CN, GRUNDY SM, CLEEMAN JI, LEFANT C. American College of Cardiology; American Heart Association; National Heart, Lung and Blood Institute. Clinical advisory on the use and safety of statins **Journal of the American College of Cardiology**. v.40, n. 3, p.567-572, 2002.

PEREIRA, P.B. et al. Perfil Lipídico em Escolares de Recife – PE. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 95, n. 5, p. 606-613, 2010.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Grape products and cardiovascular disease risk factors. **Nutrition research reviews**, v. 21, n. 02, p. 158-173, 2008.

PETERSON, J. J.; BEECHER, G. R.; BHAGWAT, S. A. et al. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. **Journal of food composition and analysis**, v. 19, p. S74-S80, 2006.

PIRES, A.; CASTELA, E.; SENA, C. et al. Obesity: Paradigm of Endothelial Dysfunction in Paediatric Age Groups. **Acta Médica Portuguesa**, v. 28, n. 2, p. 233-239, 2015.

POLACOW, V. O.; LANCHA JUNIOR, A. H. Dietas hiperglicídicas: efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 51, n. 3, p. 389-400, 2007.

PORTELA, A. S.; MONTENEGRO, N., A.N.; SILVA, P. C. D. et al. Estatinas x ácido lipóico na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 09-15, 2014.

PROENÇA DA CUNHA A, SILVA AP, ROQUE O.R. Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia. Ed. 1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. p. 86-87.2003.

QUINE, S.D.; RAGHU, P.S. Effects of (-)-epicatechin, a flavonoid on lipid peroxidation and antioxidants in streptozotocin-induced diabetic liver, kidney and heart. *Pharmacol Rep.* v.57, p.610-5, 2005.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**, Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2011.

RIBAS, S. A.; DA SILVA, L. C. S. Fatores de risco cardiovascular e fatores associados em escolares do Município de Belém, Pará, Brasil Cardiovascular risk and associated factors in schoolchildren in Belém, Pará State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 30, n. 3, p. 577-586, 2014.

RIBEIRO A.G., COTTA R.M.M., RIBEIRO S.M.R. A Promoção da Saúde e a Prevenção Integrada dos Fatores de Risco para Doenças Cardiovasculares. **Ciência & Saúde Coletiva**. v.17, n.1,p. 7-17, 2012

RIBEIRO J., P.; ALMEIDA, E.; OZAKI, M. et al. Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica ea aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arq Bras Cardiol**, v. 84, n. 4, p. 314-9, 2005.

RIBEIRO, R. A.; DUNCAN, B. B.; ZIEGELMANN, P. K. et al. Efetividade de Estatinas em Dose Alta, Moderada e Baixa na Prevenção de Eventos Vasculares no SUS. **Arq Bras Cardiol**, v. 104, n. 1, p. 32-44, 2015

RIQUE, A. B. R.; SOARES, E. D. A.; MEIRELLES, C. D. M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev Bras Med Esporte**, v. 8, n. 6, p. 244-54, 2002.

RODRIGUES S. L.; MARTINS, L. D. V.; BANTIM FELICIO CALOU, I. et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 23, n. 1, 2015

RODRIGUES, A. M. Particularidades na alimentação de animais de companhia (Lagomorfos e Roedores). 2012.

RODRIGUES, G. R. Ação da sinvastatina no modelo experimental de esteato-hepatite não alcoólica. 2014.

ROMALDINI, C. C. H.; ISSLER, A.; CARDOSO, J.; DIAMENT, N. "Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura." **Journal Pediatric** 80(2): 40-135;2004.

ROSA, J.; OIANO-NETO, J.; FURTADO, A. et al. **Utilização de cromatografia líquida de ultra performance acoplada a detetor de massas de alta resolução (Q-TOF) para qualificação de flavonóides citrus responsáveis por amargor no suco de tangerina murcote (Citrus reticulata Blanco L).** Embrapa Agroindústria de Alimentos. **Artigo em anais de congresso (ALICE):** In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 4., 2012, Gramado. Retorno às origens?: anais. Gramado: SBCTA-RS, 2012. 1 CD-ROM., 2012. p.

SANTOS, R. D. (Coord.). **III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia.** in Arquivos Brasileiros de Cardiologia. Vol. 77. Suplemento n.3, p.1-48, 2001.

SANTOS, C. M.; BARBOSA, J. M. V.; CHENG, L. A. et al. Atividade física no contexto dos deslocamentos: revisão sistemática dos estudos epidemiológicos realizados no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 14, n. 1, p. 15-22, 2012.

SANTOS, K.F.R.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T..J.; PINTO, A.S.; OLIVEIRA, M.G.A. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacological Research**. V.40, n.6,p. 41-46, 1999.

SAPONARA, S.; TESTAI, L.; IOZZI, D. et al. (+/-)-Naringenin as large conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BKCa) channel opener in vascular smooth muscle cells. **British journal of pharmacology**, v. 149, n. 8, p. 1013-1021, 2006.

SBC - Sociedade Brasileira De Cardiologica. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** - Volume 88, Suplemento I, 2007.

SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, suppl.1, São Paulo 2007.

SCHINDLER, R.; MENTLEIN, R. Flavonoids and vitamin E reduce the release of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor from human tumor cells. **The Journal of nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1477-1482, 2006.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C. et al. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 2, p. 3-12, 2007.

SÉFORA-SOUSA, M.; ANGELIS-PEREIRA, D. Molecular mechanisms of action of grape and red wine polyphenols against oxidative and inflammatory processes in atherosclerosis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 617-626, 2013.

SENA, C.M; NUNES, E.; LOURO T.; PROENÇA T.; SEIÇA R.M; Disfunção Endotelial na Diabetes Tipo 2: Efeito de Antioxidantes. **Revista Portuguesa de Cardiologia** . v.26, n.6, p.609-619, 2007.

SERRANO, J., GOÑI, I., CALIXTO, F. S. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, n.40, p.15-21, 2007.

SILVA, R. R. D.; OLIVERA T. T.; NANGEM T. J.; PINTO A. D. S. , ALBINO L. F. T.; ALMEIDA M. R. D.; MORAES G. H. D.; PINTO, J. G. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. **Arquivo latinoamericano de nutrição**. v.51, n.3, p. 258-264, 2001.

SJOL A, THOMSEN K.K, SCHROLL M, ANDERSEN L.B. Secular trends in acute myocardial infarction in relation to physical activity in general Danish population. **Scand J Med Sci Sports**. n. 13, p. 224–230, 2003.

SJOL A; THOMSEN K.K; SCHROLL M; ANDERSEN L.B; Secular trends in acute myocardial infarction in relation to physical activity in general Danish population. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**; v.13 n. 1, p. 224–230, 2003.

SOUSA, C.M.M., SILVA H.R., VIEIRA-JR. G.M., AYRES M.C.C., COSTA C.L.S., ARAÚJO D.S.,CAVALCANTE L.C.D, BARROS E.D.S., ARAÚJO P.B.M., BRANDÃO M.S., CHAVES M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30 n.2,p. 351-355, 2007.

SOUZA, I. D. S. **Associação entre história familiar de fatores de risco cardiovascular e perfil antropométrico e lipídico em crianças e adolescentes: estudo transversal em unidade ambulatorial do Rio de Janeiro**. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, 2014.

SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; SANT'ANA, C. F.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A.J.; SASSAKI, G. L. Heart-cutting two-dimensional (size exclusion×reversed phase) liquid chromatography–mass spectrometry analysis of flavonol glycosides from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 99-105, 2009.

STEFANOVIC, V.; SAVIC V.; VLAHOVIC V.; et al. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape. **Renal failure**, v. 22, n. 3, p. 255-266, 2000.

TAK, P. P.; FIRESTEIN, G.S. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. **Journal of clinical investigation**, v. 107, n. 1, p. 7, 2001.

TEIXEIRA, B. C.; LOPES, A. L.; MACEDO, R. C. O. et al. Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 13, n. 2, p. 108-115, 2014. ISSN 1677-5449.

TELÖKEN, C.; DAMBROS, M.; BONHENBERGER, D. et al. Hypercholesterolemia in Rabbit Induces Increase in Thickness of the Penile Tunica Albuginea. **Official Journal of the Brazilian Society of Urology**, v. 26, n. 5, p. 535-540, 2000.

TEPE B, DAFERERA D, SOKMEN A, SOKMEN M, POLISSIOU M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). **Food Chem.** n.90, p.333-340, 2005.

TIAN, L.; LONG, S.; FU, M.; LIU, Y.; XU, Y.; JIA, L. Characteristics of High-density Lipoprotein Subclasses Distribution for Subjects with Desirable Total Cholesterol Levels. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 64, p. 1-9, 2011.

TOREGEANI, J. F.; NASSAR, C. A.; TOREGANI, K. A. M. et al. Doença periodontal e aterosclerose. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 13, n. 3, p. 208-216, 2014. ISSN 1677-5449.

TORREZAN R., GOMES R.M., FERRARESE M.L., DE MELO F.B., RAMOS A.M, MATHIAS P.C., SCOMPARIN D.X. Treatment with isoflavones replaces esestradiol effect on the tissue fat accumulation

Toxicology v.44, p.510-516, 2006.

VALENTÃO P, FERNANDES E, CARVALHO F, ANDRADE P.B, SEABRA R.M, BASTOS ML (2002). Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. **J. Agric. Food Chem.** N.14, p.4989-4993, 2002.

VERMA, N.; AMRESH, G.; SAHU, P. et al. Pharmacological evaluation of hyperin for antihyperglycemic activity and effect on lipid profile in diabetic rats. 2013.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION DIET IN 2011, The 10 leading causes of death by broadincome group (2008). No endereço eletrônico: [www.who.int/mediacentre / factsheets /fs310 /en/ index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html) . acesso em fevereiro de 2015.

WOLFRUM, S.; JENSEN, K. S.; LIAO, J. K. Endothelium-dependent effects of statins. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 23, n. 5, p. 729-736, 2003. ISSN 1079-5642.

WOLINSKY, I.R.A., HICKSON, J.R., JAMES, F. **Nutrição no Exercício e no Esporte**.2ª ed. São Paulo , 1996.

WRIGHT B, SPENCER JP, LOVEGROVE JA, GIBBINS JM.. Insights into dietary flavonoids as molecular templates for the design of antiplatelet drugs. **Cardiovascular Research** v.97, p.13 – 22, 2013.

XAVIER, H.; IZAR, M.; FARIA NETO, J. et al. V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

YAO, H. C.; YANG, L. J.; HAN, Q. F. et al. Postconditioning with simvastatin decreases myocardial injury in rats following acute myocardial ischemia. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 9, n. 4, p. 1166-1170, 2015.

YUITOEK, J.K; YONG, L.G; LANGE, C.F.M. Composition and protein and fat accretion in various body components in growing gilts fed diets with different protein levels but estimated to contain similar levels of ideal protein. **J. Anim. Sci.**,v 75,n 6, p 1584-1590, 1997.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CHECINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v.24, p.147-152, 2001.

ZAGER, R.A. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. **Kidney international**, v. 49, n. 2, p. 314-326, 1996.

ZHANG, Y.-H.; PARK, Y.-S.; KIM, T.-J. et al. Endothelium-dependent vasorelaxant and antiproliferative effects of apigenin. **General Pharmacology: The Vascular System**, v. 35, n. 6, p. 341-347, 2000