



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

ANTONIO CARLOS VASCONCELOS ARRUDA FILHO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DE ÉSTERES DO
ÁCIDO CINÂMICO ISOLADOS DA CERA DA CARNAÚBA NO
TRATAMENTO DAS DISLIPIDEMIAS**

FORTALEZA

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

ANTONIO CARLOS VASCONCELOS ARRUDA FILHO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DE ÉSTERES DO
ÁCIDO CINÂMICO ISOLADOS DA CERA DA CARNAÚBA NO
TRATAMENTO DAS DISLIPIDEMIAS**

FORTALEZA

2011

ANTONIO CARLOS VASCONCELOS ARRUDA FILHO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DE ÉSTERES DO ÁCIDO
CINÂMICO ISOLADOS DA CERA DA CARNAÚBA NO TRATAMENTO DAS
DISLIPIDEMIAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz
Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Izabel Florindo Guedes

Fortaleza

2011

A817a Arruda Filho, Antônio Carlos Vasconcelos
Avaliação do potencial terapêutico de ésteres do ácido cinâmico isolados da cera da carnaúba no tratamento das dislipidemias / Antônio Carlos Vasconcelos Arruda Filho.
145 f : il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Izabel Florindo Guedes
Área de concentração: Biotecnologia em Saúde
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências. Rede Nordeste de Biotecnologia, Fortaleza, 2011.

1. Dislipidemia 2. Carnaúba – Cera I. Queiroz, Maria Goretti Rodrigues de (orient.) II. Guedes, Maria Izabel Florindo (co-orient.) III. Universidade Federal do Ceará – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia IV. Título

CDD 660.6

ANTONIO CARLOS VASCONCELOS ARRUDA FILHO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DE ÉSTERES DO ÁCIDO
CINÂMICO ISOLADOS DA CERA DA CARNAÚBA NO TRATAMENTO DAS
DISLIPIDEMIAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz
Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Izabel Florindo Guedes

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a Maria Izabel Florindo Guedes
Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. José Ferreira Nunes
Universidade Estadual do Ceará

Prof^a. Dr^a Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Icaro Gusmão Pinto Vieira
PADETEC

“Sei que em cada vitória que esta carreira me proporcionar, por trás dela vocês certamente estarão, como sempre estiveram em cada momento de minha vida”

Aos meus pais, irmãos e esposa Adriana.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz, orientadora, pelo incentivo, apoio, amizade e colaboração.

À Profa. Dra. Maria Izabel Florindo Guedes, co-orientadora, pela confiança em mim depositada durante toda a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira, pela colaboração através da extração, identificação, purificação e disponibilização da droga utilizada nos ensaios farmacológicos.

À Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno por participar da banca de defesa, contribuindo com suas sugestões para a melhoria da qualidade do nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. Dalgimar Beserra de Menezes e ao colega de doutorado Daniel Freire de Sousa pelos resultados e fotos dos exames histológicos.

Aos professores Said Gonçalves da Cruz Fonseca pela atenção e preparo da ração utilizada nos protocolos realizados neste trabalho.

Ao Prof. Célio Lima de Melo e ao colega Tiago Sousa de Melo, de forma muito especial, pela ajuda necessária, indispensável e constante em todas as fases dos protocolos utilizados, na organização das tabelas e gráficos e formatação deste trabalho.

A minha esposa Adriana Matos Rodrigues (LACT/FFOE) pelas dosagens bioquímicas, pelo companheirismo, parceria e apoio durante todos os momentos.

Ao colega Sérgio Fonteles pela disponibilização do Gama-Orizanol.

Aos colegas Jamile, Thamires, Gervásio, Paulo Arthur, Liana e Nayane pela preciosa ajuda em diversos procedimentos imprescindíveis para a efetivação desta pesquisa.

À Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) na pessoa do seu coordenador Prof. Dr. José Ferreira Nunes pela oportunidade que tive para realizar tarefa tão significativa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro com o qual foram adquiridos alguns reagentes e materiais necessários à execução deste trabalho.

Ao Banco do Nordeste do Brasil por disponibilizar recursos financeiros que resultaram na obtenção de uma patente.

À Karine Ribeiro e ao Paulo Wanderson, secretários de pós-graduação da RENORBIO, pela forma sempre especial e atenciosa a mim dispensada durante o curso.

Ao Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) onde foram realizadas todas as determinações bioquímicas.

Aos amigos de Canindé pelo apoio e incentivo para a realização deste trabalho.

**"Para conquistar coisas importantes,
devemos não apenas agir, mas também sonhar,
não apenas planejar, mas também acreditar."**

Jacques Anatole François Thibault (Anatole France), escritor francês

RESUMO

O termo dislipidemia é utilizado para caracterizar as desordens nos vários componentes lipídicos e no metabolismo das lipoproteínas associadas à incidência de doenças cardiovasculares (DCV), ateroscleróticas, obesidade, diabetes e hipertensão. As projeções da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que a morbidade e mortalidade causadas por DCV, nas próximas décadas, se constituirão como a primeira causa de morte tanto nos países desenvolvidos como nos países emergentes. Recentemente foi isolado da cera da carnaúba um composto químico constituído por ésteres do ácido cinâmico encontrados no pó cerífero de origem (PCO-C) estruturalmente semelhante ao Gama-Orizanol cujo efeitos farmacológicos incluem diminuição do colesterol plasmático, redução da biossíntese do colesterol hepático, diminuição da absorção intestinal e aumento da excreção fecal de ácidos biliares. Os objetivos deste trabalho foram avaliar o potencial terapêutico e a toxicidade do PCO-C na prevenção e tratamento das dislipidemias no sentido de contribuir para sua utilização com eficácia e segurança e avaliar seu emprego como futuro agente fitoterápico na redução dos níveis de lipídios plasmáticos. O estudo do efeito do PCO-C sobre o metabolismo lipídico foi desenvolvido em grupos de camundongos com dislipidemia induzida por dieta hipercolesterolêmica, Triton WR1339 e Poloxamer-407 e tratados com Gama-Orizanol (50mg/kg), PCO-C (10, 50 e 100 mg/kg), utilizando Sinvastatina (20mg/kg) e Gemfibrozil (100mg/kg) como drogas de referência. Ao final dos protocolos de indução e do tratamento, amostras de sangue heparinizado foram coletadas para a determinação dos testes laboratoriais (colesterol total – CT, triglicerídios – TG, glicose – GLI, uréia – URE, creatinina – CRE, aspartato aminotransferase – AST e alanina aminotransferase – ALT). Logo após, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical para remoção do fígado e rins destinados à análise histopatológica. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para analisar a significância das diferenças entre os grupos foi utilizado a ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls, sendo considerados significativos resultados que apresentavam $p < 0,05$. PCO-C, nas doses utilizadas, apresentou importantes efeitos hipolipemiantes e hipoglicemiantes observados na redução significativa de CT, TG e GLI nos protocolos estudados apresentando resultados iguais ou por vezes superiores aos grupos tratados com Gama-Orizanol ou com as drogas de referência. Estes dados resultaram na obtenção de um depósito de patente visto que a droga em questão foi avaliada pela primeira vez com os objetivos acima referidos. O fitoconstituente estudado apresentou segurança com as doses utilizadas não demonstrando aparente toxicidade avaliada pelos níveis plasmáticos de AST, ALT, URE e CRE e pelos resultados da histopatologia hepática e renal. Podemos afirmar então que os resultados obtidos em animais tratados com PCO-C são promissores, sugerindo ser este composto portador de potencialidades terapêuticas na prevenção e tratamento de doenças associadas aos distúrbios do metabolismo de lipídios e carboidratos. Entretanto, outros estudos pré-clínicos e clínicos são necessários para assegurar e validar sua real aplicabilidade terapêutica.

Palavras-chaves: Cera da carnaúba, Ésteres do ácido cinâmico, Gama-Orizanol, Dislipidemias.

ABSTRACT

Dyslipidemia is the term used to characterize the disorders in several lipids components as well as in the lipoproteins metabolism associated to cardiovascular diseases (CVD), atherosclerosis, diabetes and hypertension. Projections from the World Health Organization indicate that CVD will be the most important cause of death both in developed countries and third world. Recently it was isolated from Carnaúba's crude wax a chemical compound constituted by esters from cinnamic acid found in the wax powder (PCO-C). These compounds show structure similar to Gamma-Oryzanol which pharmacological effects include cholesterol lowering activity, reduction on cholesterol hepatic production, reduction on absorption of biliar acids and increase in its excretion. The objectives of this study were to evaluate the therapeutic potencial and toxicity of PCO-C in prevention and treatment of dyslipidemias in order to contribute to its efficiency and safety and also evaluate the possible usage of this compound as a phytomedicine. To evaluate PCO-C on lipids metabolism groups of mice with induced dyslipidemia by Triton WR1339 and Poloxamer-407 were used. Animals were treated with gamma-oryzanol (50mg/kg), PCO-C (10, 50 e 100 mg/kg) and simvastatin (20mg/kg) and gemfibrozil (100mg/kg) as reference drugs. After treatment blood samples were collected to perform biochemical analysis (total cholesterol – CT; triglycerides – TG; glucose – GLI; urea – URE; creatinine – CRE; aspartate aminotransferase – AST; alanine aminotransferase – ALT). Samples of livers and kidneys were collected to histopathological analysis. The values are expressed as mean \pm SEM. Significance, $p < 0,05$, was calculated by ANOVA and Newman-Keuls test. PCO-C has reduced both glycemie and lipid levels (CT, TG and GLI). These results were comparable to those observed after gamma-oryzanol and reference drugs treatment. The results lead to acquisition of a patent once this drug is being analysed for the first time. The phytocompound is safe in the tested doses once no toxicity was showed after AST, ALT, URE and CRE analysis as well as after histopathological evaluation. Through the results it can be assumed that PCO-C is a promising compound to the treatment of diseases associated to lipids and carbohydrates metabolism. Nevertheless, other pre-clinic and clinic studies need to be undertaken to clarify its real therapeutic applicability.

Key-words: Carnaúba crude wax, cinnamic acids esters, gamma-oryzanol, dyslipidemia.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Estrutura Química do Colesterol.....	32
FIGURA 2	Estrutura das lipoproteínas.....	35
FIGURA 3	Metabolismo das lipoproteínas plasmáticas.....	36
FIGURA 4	<i>Copernicia cerifera</i> Mart (Carnaúba).....	49
FIGURA 5	Ceras da carnaúba.....	51
FIGURA 6	Estrutura química dos ésteres de ácidos cinâmicos (A) 3 - metoxi 4 - hidroxí cinâmico, (B) 4 - metoxicinâmico e (C) 4 - hidroxicinâmico.....	52
FIGURA 7	Estrutura química dos principais constituintes do Gama-Orizanol.....	54
FIGURA 8	Estrutura química dos ésteres aromáticos (ésteres do ácido cinâmico). Principais constituintes do PCO-C.....	60
FIGURA 9	Espectro de absorção na região do infravermelho (IV) do PCO-C (ésteres do ácido cinâmico).....	62
FIGURA 10	Estrutura química do ácido cólico.....	64
FIGURA 11	Protocolo de indução de dislipidemia em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses.....	66
FIGURA 12	Protocolo de indução da dislipidemia induzida por Triton WR-1339.....	67

FIGURA 13	Protocolo de indução da dislipidemia induzida por Poloxamer-407.....	68
FIGURA 14	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na concentração plasmática de colesterol total em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.....	75
FIGURA 15	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na concentração plasmática de colesterol total em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 mês de tratamento.....	76
FIGURA 16	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas plasmáticas de triglicerídios em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.....	77
FIGURA 17	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas plasmáticas de triglicerídios em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	78
FIGURA 18	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.....	79
FIGURA 19	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	80
FIGURA 20	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na atividade catalítica da ALT de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	82

FIGURA 21	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na atividade catalítica da AST de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	83
FIGURA 22	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas plasmáticas de uréia de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	84
FIGURA 23	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de creatinina de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	85
FIGURA 24	Microfotografia representativa do rim dos animais dos grupos controles e dos animais tratados com os com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina.....	86
FIGURA 25	Microfotografia representativa do fígado dos animais dos grupos controles e dos animais tratados com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina.....	87
FIGURA 26	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	89
FIGURA 27	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	90
FIGURA 28	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	91

FIGURA 29	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	92
FIGURA 30	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	93
FIGURA 31	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	94
FIGURA 32	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	96
FIGURA 33	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	97
FIGURA 34	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de uréia de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	98
FIGURA 35	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	99
FIGURA 36	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	100

FIGURA 37	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	102
FIGURA 38	Resultado do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	103
FIGURA 39	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	104
FIGURA 40	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	105
FIGURA 41	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	106
FIGURA 42	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	107
FIGURA 43	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	108
FIGURA 44	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	109

FIGURA 45	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	111
FIGURA 46	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	112
FIGURA 47	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	113
FIGURA 48	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	114

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Classificação das dislipidemias.....	30
TABELA 2	Distribuição de lipídios e apoproteínas nas lipoproteínas.....	37
TABELA 3	Composição centesimal por quilograma do produto.....	63
TABELA 4	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídios e glicose de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.....	75
TABELA 5	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade enzimática de AST e ALT e nas concentrações plasmáticas de Uréia e Creatinina de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.....	81
TABELA 6	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídios e glicose na dislipidemia induzida por Triton WR1339.....	88
TABELA 7	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade enzimática de AST e ALT e nas concentrações plasmáticas de Uréia e Creatinina na dislipidemia induzida por Triton WR1339.....	95
TABELA 8	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídios e glicose na dislipidemia induzida por Poloxamer 407.....	101
TABELA 9	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade enzimática de AST e ALT e nas concentrações plasmáticas de Uréia e Creatinina na dislipidemia induzida Poloxamer 407.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
µL/mL	Microlitro por mililitro
ACAT	Acetil-Coa: Colesterol Acetiltransferase
ALT	Alanina Aminotransferase
APO	Apoproteínas
AST	Aspartato Aminotransferase
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
cm	Centímetro
COD	Colesterol-Oxidase
CRE	Creatinina
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronariana
DCC	Doenças cardiorrespiratórias
DCV	Doenças Cardiovasculares
DH	Dieta Hipercolesterolêmica
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DP	Dieta Padrão
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetracético
EJTF	European Joint Task Force
EPM	Erro padrão médio
EUA	Estados Unidos da América
FCC	Food Chemical Codex
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas
GAMA	Gama-Orizanol
GEMF	Gemfibrozil
GLI	Glicose
GOD	Glicose-Oxidase
GRAS	Generally Recognized as Safety

HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HDL-C	HDL-Colesterol
HE	Hematoxilina-Eosina
HMG-CoA	3-hidróxi 3-metilglutaril co-enzima A redutase
i.p	Intraperitoneal
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
JECFA	Codex Alimentarius
kg	Quilograma
LACT	Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas
LCAT	lecitina-colesterol aciltransferase
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDLR	Low density lipoprotein receptor
LPL	Lipase Lipoproteica
MDH	Malato desidrogenase
mg	Miligrama
mg/kg	Miligrama por Quilograma
mg/dL	Miligrama por Decilitro
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Oxidado
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzido
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
p.f	Ponto de fusão
PCO-C	Pó Cerífero de Origem
PCO-C10	PCO-C 10mg/kg
PCO-C50	PCO-C 50mg/kg
PCO-C100	PCO-C 100mg/kg
POD	Peroxidase
RBO	Óleo de farelo de arroz

RNA _m	Ácido Ribonucleico Mensageiro
rpm	Rotações por Minuto
SINV	Sinvastatina
SR-B1	Scavenger receptor class B, type 1
TG	Triglicerídios
UFC	Universidade Federal do Ceará
URE	Uréia
v.o	Via oral
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
WHO	World Health Organization

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	29
1.1	Dislipidemias.....	29
1.1.1	Classificação das Dislipidemias.....	29
1.2	Lipídios Plasmáticos.....	31
1.2.1	Colesterol.....	31
1.2.1.1	Fontes Endógenas de Colesterol	32
1.2.1.2	Fontes Exógenas de Colesterol.....	33
1.2.2	Triglicerídios.....	34
1.3	Lipoproteínas Plasmáticas.....	34
1.3.1	Metabolismo das Lipoproteínas Plasmáticas.....	35
1.3.2	Apolipoproteínas.....	36
1.3.3	Quilomicrons.....	37
1.3.4	VLDL (Very Low Density Lipoprotein).....	38
1.3.5	IDL (Intermediate Density Lipoprotein).....	38
1.3.6	LDL (Low Density Lipoprotein).....	38
1.3.7	HDL (High Density Lipoprotein).....	39

1.4	Doenças Cardiovasculares.....	40
1.5	Tratamento.....	43
1.6	Produtos Naturais.....	44
1.6.1	Carnaúba.....	47
1.6.2	Gama-Orizanol.....	52
2	JUSTIFICATIVA	57
3	OBJETIVOS	58
3.1	Objetivo Geral.....	58
3.2	Objetivos Específicos.....	58
4	MATERIAL E MÉTODOS	59
4.1	Animais.....	59
4.2	Drogas.....	59
4.2.1	Gama-Orizanol.....	59
4.2.2	Sinvastatina 20 mg	59
4.2.3	Gemfibrozil 100 mg.....	60
4.2.4	PCO-C.....	60
4.2.4.1	Planta.....	60

4.2.4.2	Procedimentos experimentais.....	61
4.2.4.2.1	Extração e isolamento.....	61
4.3	Reagentes.....	62
4.4	Dietas	63
4.4.1	Dieta Padrão (DP).....	63
4.4.2	Dieta Hipercolesterolêmica (DH).....	64
4.5	Protocolos Experimentais.....	64
4.5.1	Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 10, 50 e 100mg/kg, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg e Sinvastatina na dose 20mg/kg em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses.....	64
4.5.2	Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 10, 50 e 100mg/kg, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg e Gemfibrozil na dose de 100mg/kg em protocolo de indução da dislipidemia induzida por Triton WR-1339.....	66
4.5.3	Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 10, 50 e 100mg/kg, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg e Gemfibrozil na dose de 100mg/kg em protocolo de indução da dislipidemia por Poloxamer 407.....	66
4.6	Determinações Laboratoriais.....	68
4.6.1	Colesterol Total (Enzimático – Trinder).....	69
4.6.2	Triglicerídios (Enzimático – Trinder).....	69

4.6.3	Glicose (Enzimático – Trinder).....	70
4.6.4	Uréia (Enzimático - Colorimétrico).....	71
4.6.5	Creatinina (Cinético).....	71
4.6.6	ALT/TGP (Cinético).....	71
4.6.7	AST/TGO (Cinético).....	72
4.7	Análise Histológica.....	72
4.8	Análise Estatística.....	73
5	RESULTADOS	74
5.1	Estudo do efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses.....	74
5.1.1	Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.....	74
5.1.2	Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	76
5.1.3	Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas taxas de triglicerídios de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.....	77

5.1.4	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas de triglicerídios de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	78
5.1.5	Avaliação do efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.....	79
5.1.6	Avaliação do efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	80
5.1.7	Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade catalítica da ALT de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	81
5.1.8	Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade catalítica da AST de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	83
5.1.9	Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas taxas plasmáticas de uréia de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	84
5.1.10	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de creatinina em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.....	85

5.1.11	Análise histológica dos órgãos/tecidos dos animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses e ao tratamento com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina.....	86
5.2	Estudo do efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil em protocolo de indução da dislipidemia por Triton WR1339.....	88
5.2.1	Atividade do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	88
5.2.2	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	90
5.2.3	Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	91
5.2.4	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	92
5.2.5	Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	93
5.2.6	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	94

5.2.7	Avaliação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	95
5.2.8	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	97
5.2.9	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	98
5.2.10	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.....	99
5.3	Estudo do efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e gemfibrozil em protocolo de indução da dislipidemia por Poloxamer 407.....	100
5.3.1	Avaliação da ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	100
5.3.2	Avaliação da ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	102
5.3.3	Avaliação da ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	103

5.3.4	Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	104
5.3.5	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	105
5.3.6	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de triglicerídios de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	106
5.3.7	Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	107
5.3.8	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	108
5.3.9	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticas de glicose de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	109
5.3.10	Avaliação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	110
5.3.11	Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	112

5.3.12	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	113
5.3.13	Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.....	114
6	DISCUSSÃO	115
6.1	Efeito hipolipemiante do PCO-C na dislipidemia experimental induzida por dieta hipercolesterolêmica.....	115
6.2	Efeito hipolipemiante do PCO-C na dislipidemia experimental induzida por Triton WR1339 e Poloxamer 407.....	121
6.3	Efeito hipoglicemiante do PCO-C.....	125
6.4	Efeito do PCO-C sobre as análises bioquímicas (AST, ALT, URÉIA e CREATININA) e histopatológicas na investigação de possíveis efeitos nos tecidos hepático e renal.....	127
7	CONCLUSÃO	130
	REFERÊNCIAS	131
	ANEXOS	149

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dislipidemias

As principais implicações patológicas das dislipidemias são a aterosclerose, acidente vascular cerebral (AVC) e a doença arterial coronariana (DAC). Atualmente, não existem mais dúvidas de que o principal fator de risco para a DAC é a hipercolesterolemia, uma vez que aproximadamente 96% do material lipídico do ateroma corresponde a colesterol (LEVI *et al.*, 2002). Embora os triglicerídios (TG) tenham uma mínima contribuição para a composição da placa aterosclerótica (3% a 4% do material lipídico), a tendência atual é considerar a hipertrigliceridemia como um fator de risco para a DAC, principalmente se associada a uma taxa de colesterol total (CT) aumentado, à história familiar da DAC prematura e/ou reduzidas taxas de lipoproteína de alta densidade (HDL-C), sendo estas por si só consideradas um potente fator independente de risco (KANAAN *et al.*, 2008).

Os termos hiperlipidemia ou dislipidemia são utilizados para caracterizar as desordens ou defeitos nos vários componentes lipídicos e no metabolismo das lipoproteínas associados à incidência de doenças cardiovasculares, ateroscleróticas, obesidade, diabetes, hipertensão e esteatose hepática (BAYNES e DOMINICZAK, 2007).

1.1.1 Classificação das Dislipidemias

Conforme as IV Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, publicado em 2007, as dislipidemias podem ser classificadas genotipicamente ou fenotipicamente através 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 alterações, que, isoladamente, não seriam de grande repercussão clínica. A classificação fenotípica ou bioquímica considera os valores do CT, lipoproteína de

baixa densidade (LDL-C), TG e HDL-C, compreendendo quatro tipos principais bem definidos:

Tabela 1. Classificação das dislipidemias

Tipo	Característica
Hipercolesterolemia isolada	Elevação isolada do LDL-C com valores ≥ 160 mg/dL.
Hipertrigliceridemia isolada	Elevação isolada dos TG com taxas ≥ 150 mg/dL, que reflete o aumento do volume de partículas ricas em TG como a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL) e quilomicrons. Como citado, a estimativa do volume das lipoproteínas aterogênicas pelo LDL-C, torna-se menos precisa à medida que aumentam os níveis plasmáticos de lipoproteínas com altos níveis de TG. Portanto, conforme referido acima, o valor da fração Não-HDL-C pode ser usado como indicador de diagnóstico e meta terapêutica nestas situações.
Hiperlipidemia mista	Concentração aumentada de ambos: LDL-C ≥ 160 mg/dL e TG ≥ 150 mg/dL. Nestes indivíduos, pode-se também utilizar a fração Não-HDL-C como indicador e meta terapêutica. Nos casos com TG ≥ 400 mg/dL, quando o cálculo do LDL-C pela fórmula de Friedewald é inadequado, considerar-se-á hiperlipidemia mista se o CT for maior ou igual a 200 mg/dL.
Baixos níveis de HDL-C	Redução do HDL-C: homens < 40 mg/dL e mulheres < 50 mg/dL isolada ou em associação com aumento de LDL-C ou de TG.

Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007.

1.2 Lipídios Plasmáticos

O termo lipídio aplica-se a uma classe de compostos solúveis em solventes orgânicos, e pouco solúveis em água. Quimicamente, os lipídios contêm principalmente ligações carbono-hidrogênio não polares (C-H) e tipicamente produzem ácidos graxos e ou alcoóis complexos após hidrólise. Alguns lipídios também contêm grupos carregados eletricamente ou polares, como os grupos: (1) siálico, (2) fosforil, (3) amino, (4) sulfuril ou (5) hidroxil. A presença destes grupos químicos confere às moléculas lipídicas uma afinidade com a água e com os solventes orgânicos (anfipáticos). Isso os possibilita existir na interface aquosa das membranas biológicas. Comumente, os lipídios são amplamente subdivididos em seis grupos, com base na sua estrutura química: (1) colesterol, (2) ácidos graxos, (3) acilgliceróis, (4) esfingolipídios, (5) prostaglandinas e (6) terpenos (BURTIS, ASHWOOD e BRUNS, 2006).

1.2.1 Colesterol

O colesterol (Figura 1) é um álcool policíclico de cadeia longa, usualmente considerado um esteróide com 27 carbonos que apresenta certa polaridade conferida pela hidroxila do seu carbono 3. Sua estrutura se baseia, assim como todos os esteróides, no núcleo do ciclopentanoperidrofenantreno, (KANAAAN *et al.*, 2008). Dentre as numerosas funções biológicas desempenhadas pelo colesterol, pode-se destacar a presença como componente da maioria das membranas celulares, como precursor para a síntese de hormônios esteróides, vitaminas do complexo D, oxisteróis e ácidos biliares, além de ser necessário para a ativação de moléculas que atuam na sinalização neuronal (BROWN e GOLDSTEIN, 1986; REPA e MANGELSDORF, 2000). Apenas uma pequena quantidade do colesterol circulante é originada a partir da alimentação; cerca de 80% é derivada da síntese endógena que ocorre no fígado (HENRY, 2008).

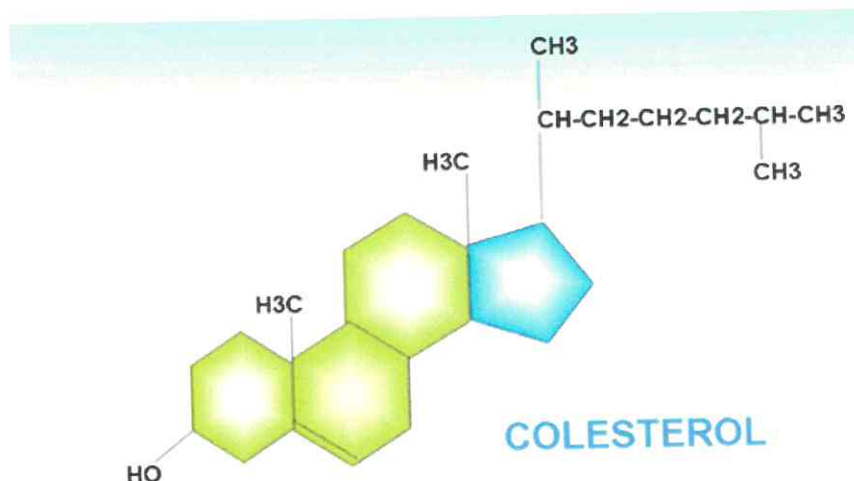


Figura 1. Estrutura Química do Colesterol. Fonte: <http://www.minhavidade.com.br/conteudo/295-Afinal44-o-que-e-colesterol.htm>, acessado em 10/10/2010.

As concentrações plasmáticas de colesterol são reguladas através da sua absorção pela dieta, excreção via esteróides fecais ou ácidos biliares, síntese endógena de colesterol e remoção do colesterol presente na circulação sanguínea (BYINGTON *et al.*, 1995).

Em situações normais, esses mecanismos de biossíntese, absorção e excreção funcionam de maneira coordenada para manter o funcionamento adequado do metabolismo dos lipídios plasmáticos. Entretanto, problemas na regulação desses mecanismos têm sido implicados na ocorrência de dislipidemias (REPA e MANGELSDORF, 2000).

1.2.1.1 Fontes Endógenas de Colesterol

O fígado é considerado o principal órgão encarregado da biossíntese de colesterol, sendo responsável por produzir quase a sua totalidade que circula na corrente sanguínea e aquele para ser estocado no tecido hepático sob a forma de ésteres de colesterol (REPA e MANGELSDORF, 2000). A homeostase do colesterol no organismo é mantida principalmente através da regulação da atividade da enzima 3-hidróxi 3-metilglutaril co-enzima A redutase (HMG-CoA redutase) (BROWN e

GOLDSTEIN, 1986) que catalisa a fase inicial limitante na biossíntese do colesterol (NESS e CHAMBERS, 2000).

A maior parte do colesterol produzido no fígado é exportada na forma de colesterol biliar, ácidos biliares e ésteres de colesterol. Os ácidos biliares e seus sais são relativamente hidrofílicos e auxiliam no processo de digestão de lipídios. Os ésteres de colesterol são formados no próprio fígado por meio da ação da enzima acil-CoA-colesterol aciltransferase (ACAT), a qual catalisa a transferência de um ácido graxo da coenzima-A para o grupo hidroxila do colesterol, tornando-o ainda mais hidrofóbico. Os ésteres de colesterol são armazenados no fígado ou então transportados inseridos em partículas lipoproteicas para os tecidos extra-hepáticos (NELSON e COX, 2006).

Entretanto, a quantidade de colesterol sintetizada endogenamente varia de espécie para espécie. Um homem adulto que pesa em torno de 70 kg produz 600 a 900 mg de colesterol por dia (GYLLING *et al.*, 1994) enquanto que um camundongo sintetiza cerca de 3 mg/dia (SCHWARZ *et al.*, 1998).

1.2.1.2 Fontes Exógenas de Colesterol

Do ponto de vista nutricional, o colesterol não pode ser considerado um nutriente essencial, uma vez que o organismo possui meios para produzir as quantidades necessárias para a manutenção de suas necessidades diárias. Apesar disso, quantidades significativas de colesterol proveniente da dieta penetram no lúmen intestinal todos os dias. A ingesta através da alimentação varia de 0,1g em indivíduos que seguem uma dieta com quantidades mínimas de colesterol, até cerca de 1,0g naqueles com dietas sem qualquer tipo de restrição (VUORISTO e MIETTINEN, 1994).

1.2.2 Triglicerídios

Os triglicerídios são moléculas que apresentam uma função chave no fornecimento de energia aos organismos vivos. Sob o ponto de vista químico, eles são constituídos pela ligação éster de três ácidos graxos livres a uma molécula de glicerol (HEGELE, 2009).

As duas principais fontes de triglicerídios no plasma são a exógena (originada a partir dos ácidos graxos ingeridos na dieta) e a endógena (resultante da biossíntese de triglicerídios no tecido hepático) (YUAN *et al.*, 2007). O processo de síntese de triglicerídios no fígado recebe o nome de lipogênese e é resultante da conversão do excesso de carboidratos ingeridos através da alimentação (TOWLE, KAYTOR e SHIH, 1997).

Logo após as refeições, em torno de 90% dos triglicerídios circulantes no plasma são secretados sob a forma de quilomicrons sendo provenientes do intestino; entretanto, durante períodos de jejum, observa-se o predomínio dos triglicerídios de origem endógena que são secretados pelo fígado (YUAN *et al.*, 2007).

1.3 Lipoproteínas Plasmáticas

A insolubilidade do colesterol e dos ésteres de colesterol, como os triglicerídios e os fosfolipídios, no plasma sanguíneo, requer que eles sejam transportados no interior de moléculas esféricas denominadas de lipoproteínas (Figura 2). As lipoproteínas são constituídas por um núcleo hidrofóbico contendo fosfolipídios, ésteres de colesterol, antioxidantes e vitaminas lipossolúveis, e uma camada externa hidrofílica, a qual contém colesterol livre, fosfolipídios e proteínas (chamadas de apolipoproteínas ou “apo”) (HEGELE, 2009). As apolipoproteínas têm diversas funções no metabolismo das lipoproteínas, dentre elas a estruturação da partícula (apo B100 e B48), sítio ligante a receptores de membrana que captam as lipoproteínas para o interior da célula (apo B100 e E) ou co-fatores enzimáticos (apoproteínas CII, CIII e AI) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

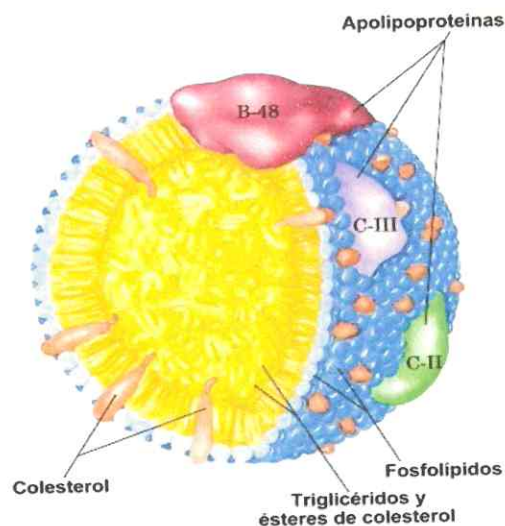


Figura 2. Estrutura das lipoproteínas. Fonte: Nelson e Cox, 2006.

Diferentes combinações de lipídios e proteínas resultam em partículas com características diferentes. Por essa razão, as lipoproteínas podem ser distinguidas entre si pelo seu tamanho, densidade, composição, função e mobilidade eletroforética (SCHIAVO, LUNARDELLI e OLIVEIRA, 2003; GOMES e CARMO, 2006).

As principais lipoproteínas carreadoras de triglicerídios são os quilomicrons e as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL, “very low-density lipoprotein”). No entanto, as principais carreadoras de colesterol são as lipoproteínas de baixa densidade (LDL, “low-density lipoprotein”) e as lipoproteínas de alta densidade (HDL, “high-density lipoprotein”) (HEGELE, 2009).

1.3.1 Metabolismo das Lipoproteínas Plasmáticas

O metabolismo das lipoproteínas plasmáticas (Figura 3) é um processo bastante complexo, que envolve diversas etapas e órgãos diferentes (MOTTA, 2003; BAYNES e DOMINICZAK, 2007).

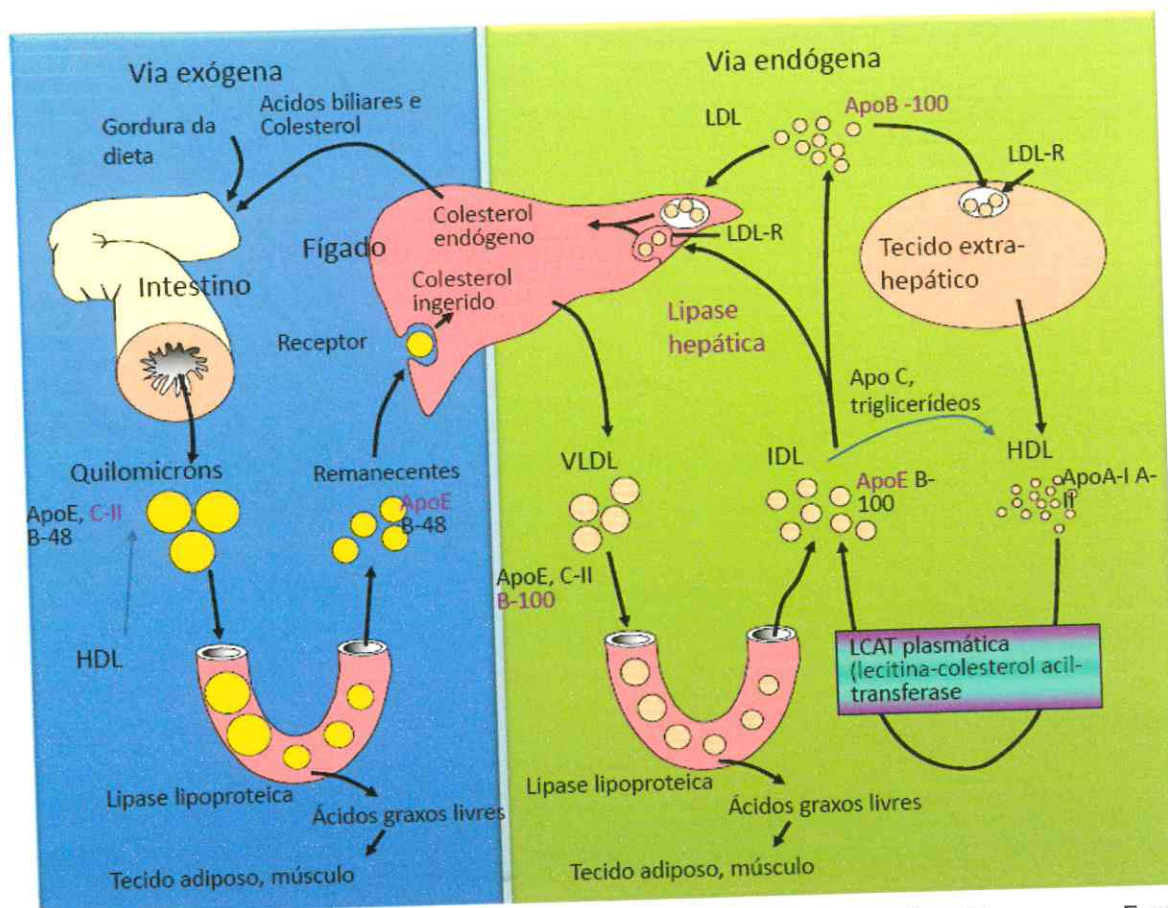


Figura 3. Metabolismo das lipoproteínas plasmáticas. Fonte: www.fao.org/docrep/v4700s/v4700s07.htm, acessado em 10/10/2010.

1.3.2 Apolipoproteínas

As apolipoproteínas são uma família complexa de polipeptídeos que têm por função principal determinar o destino metabólico dos lipídios no plasma, bem como promover sua captação pelos tecidos. Essas moléculas atuam, ainda, como ativadores e inibidores das enzimas envolvidas no metabolismo das lipoproteínas, sendo divididas em vários grupos, cujos mais importantes são (MOTA, 2003):

- Apo A (sintetizada no fígado e intestino);
- Apo B (presente no plasma de duas formas, ApoB 100 (fígado) e ApoB 48 (intestino); sendo que a primeira é parte integrante da LDL, quilomicrons e VLDL, enquanto que a segunda é encontrada somente nos quilomicrons);

- Apo C (sintetizada no fígado e incorporada à HDL);
- Apo D (também chamada de Apo AIII e peptídeo de linha fina, foi isolada a partir do HDL e parece mediar a transferência do colesterol esterificado para a IDL e LDL pela LCAT.
- Apo E (incorporada ao HDL e transferida, na circulação, para os quilomícrons e VLDL).

Tabela 2. Distribuição de lipídios e apoproteínas nas lipoproteínas.

Apoproteínas	Lipoproteínas				
	Quilomicrons	VLDL	IDL	LDL	HDL
Apo A	10%	Traços	Traços	Traços	90%
Apo B	20%	40%	50 a 70%	95%	Traços
Apo C	70%	50%	5 a 10%	Traços	5 a 10%
Apo D	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
APO E	Traços	5 a 10%	10 a 20%	Traços	Traços

Fonte: Kanaan *et al.*, 2008.

1.3.3 Quilomicrons

Os quilomicrons são as maiores lipoproteínas e as menos densas, contendo uma grande proporção de triglicerídios. Os quilomicrons são sintetizados no retículo endoplasmático das células epiteliais que recobrem a superfície interna do intestino delgado, transportados através do sistema linfático e via portal alcançando a corrente sanguínea pela veia subclávia. As apolipoproteínas (Tabela 2) presentes nos quilomicrons incluem a apoB-48, apoE e apoC-II. A apoC-II presente nos quilomicrons ativa a lipase lipoproteica (LPL) presente nos capilares dos tecidos adiposo, cardíaco, músculo-esquelético e glândula mamária em lactação, de modo a permitir a liberação dos ácidos graxos livres para tais tecidos. Os remanescentes dos quilomicrons ainda contendo colesterol, apolipoproteínas e alguns triglicerídios, movem-se via corrente sanguínea até o fígado, onde serão absorvidos por endocitose mediante a ligação da apoE a receptores presentes

nesse órgão. No fígado, os quilomicrons liberam o colesterol e posteriormente são degradados nos lisossomos (CHARLTON-MENYS e DURRINGTON, 2007).

1.3.4 VLDL (Very Low-Density Lipoprotein)

Tanto os triglicerídios provenientes da alimentação quanto aqueles que são sintetizados endogenamente a partir do excesso de carboidratos ingeridos na dieta são unidos no fígado às apolipoproteínas específicas para formar as VLDL. Essas lipoproteínas são compostas por triglicerídios, colesterol, ésteres de colesterol, bem como apoB-100, apoC-I, apoC-II, apoC-III e apoE. As VLDL são transportadas do fígado para os músculos e para o tecido adiposo, locais nos quais a ativação de lipase lipoproteica pela apoC-II promove a liberação dos ácidos graxos livres contidos no interior das VLDL (NELSON e COX, 2006).

1.3.5 IDL (Intermediate Density Lipoprotein)

A perda de triglicerídios faz com que algumas partículas VLDL sejam convertidas em VLDL remanescente (também chamadas de IDL). Não é geralmente considerada uma espécie separada das lipoproteínas, uma vez que não é identificada no plasma normal devido ao seu rápido *turnover* ou *clearance*, aparecendo na ultracentrifugação ou eletroforese somente em situações patológicas. É necessário uma centrifugação de 16 horas para separá-la (MOTTA, 2003; KANNAN *et al.*, 2008).

1.3.6 LDL (Low Density Lipoprotein)

Com a extração de mais lipídios das IDL, estas são gradualmente convertidas em LDL. Extremamente ricas em colesterol e ésteres de colesterol e contendo apoB-100 como principal apoproteína, as LDL transportam o colesterol para os tecidos extra-hepáticos, os quais possuem em suas células receptores de superfície específicos para a ligação da apoB-100 (LDLR, “receptores B/E”). Nesse

processo, denominado “endocitose mediada por receptores”, a ligação da apoB-100 aos LDLR inicia a formação de um endossomo. Esse endossomo se funde aos lisossomos contendo enzimas que hidrolisam os ésteres de colesterol, liberando o colesterol e os ácidos graxos no interior do citosol. O colesterol liberado pode ser incorporado nas membranas ou pode ser reesterificado pela enzima ACAT para ser armazenado no interior de gotículas lipídicas citosólicas (CHARLTON-MENYS e DURRINGTON, 2007).

1.3.7 HDL (High Density Lipoprotein)

As HDL são sintetizadas no fígado e no intestino delgado como partículas pequenas, ricas em proteína e contendo relativamente pouco colesterol e nenhum éster de colesterol. As HDL contêm principalmente apoA-1, apoC-I e apoC-II. A enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) existente na superfície das HDL recém-sintetizadas (HDL nascentes) catalisa a formação de ésteres de colesterol a partir da lecitina (fosfatidilcolina) e do colesterol contidos nos quilomicrons remanescentes e nas VLDL. Os ésteres de colesterol formados penetram no interior da HDL nascente, convertendo-a na forma discóide a uma configuração esférica, chamada HDL madura. Essa HDL madura retorna ao fígado e liga-se a receptores de membrana denominados SR-B1 (scavenger receptor class B, type 1). Os SR-B1 facilitam a transferência parcial e seletiva do colesterol e outros lipídios da HDL para o hepatócito, onde o colesterol liberado será, em parte, convertido em sais biliares. Após esse processo, a HDL se dissocia para recircular na corrente sanguínea e incorporar mais lipídios dos quilomicrons remanescentes e das VLDL (ROCHA, 2009).

Além do papel já mencionado, as HDL também podem captar o colesterol armazenado nos tecidos extra-hepáticos e transportá-lo para o fígado, em um processo conhecido como transporte reverso do colesterol (FIELDING e FIELDING, 1995). Esse transporte reverso pode acontecer por meio de duas vias. Em uma delas, a interação das HDL nascentes com os receptores SR-B1, presentes nas células ricas em colesterol, aciona o movimento passivo do colesterol da superfície celular para a HDL. Na outra via, a apoA-1 presente nas HDL interage com um

transportador ativo, a proteína ABC1, presente nas células ricas em colesterol, fazendo com que a HDL seja captada e em seguida secretada contendo uma carga de colesterol para ser transportado ao fígado (NELSON e COX, 2006).

No fígado, o colesterol liberado pode ser reciclado na forma de lipoproteínas para ser secretado novamente no plasma ou então ser convertido em ácidos biliares, embora parte dele apareça na bile sob a forma de colesterol livre (FIELDING e FIELDING, 1995).

1.4 Doenças Cardiovasculares

WHO (World Health Organization, 2002a), define saúde como uma situação de perfeito bem-estar físico, mental e social, e não apenas como a ausência de doença. Este conceito, bastante abrangente e complexo, dá a noção do quanto é difícil o indivíduo adquirir o status de plenamente saudável. Conforme Pereira (1995), os agravos à saúde não ocorrem ao acaso e sua distribuição desigual é produto da ação de fatores que se dividem desigualmente na população, modelada pela instabilidade econômica e pela diminuição das condições de vida das classes menos favorecidas, como renda familiar, tempo de lazer e educação, entre outros fatores.

O processo de industrialização, o crescimento das cidades, a urbanização cada vez menos planejada, a diminuição da mortalidade por doenças infecciosas e carenciais, o envelhecimento progressivo da população e a mudança no perfil de morbi-mortalidade, levaram o campo de aplicação da Saúde Pública a se ampliar, tendo como objeto qualquer dano ou agravo à saúde referente às populações assistidas, dirigindo-se para o estudo das condições presentes em fases anteriores ao aparecimento de algumas alterações clínicas e anatomopatológicas, especialmente os fatores de risco relacionados a doenças cardíacas (BRASIL, 1998; BRASIL, 2001).

As doenças cardiovasculares (DCV) são patologias que afetam o coração e os vasos sanguíneos (EJTF, 2007). As projeções da Organização Mundial da

Saúde (OMS) indicam que a morbidade e mortalidade causadas por DCV, nas próximas décadas, se constituirão como a primeira causa de morte tanto nos países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento (MAGALHÃES *et al.*, 2004). O World Health Report 2002 estimou que 8% de todas as doenças, 60% das Doenças Cardiocirculatórias (DCC) e 40% dos Acidente Vascular Cerebral (AVC) isquêmicos em países desenvolvidos estão relacionados com o aumento dos níveis de colesterol sanguíneo acima dos valores teóricos atualmente aceitos (PORTUGAL, 2002). Conforme as projeções para 2020, os óbitos por doença arterial coronariana (DAC) aumentarão em 100% entre homens e 80% entre mulheres. Estes dados epidemiológicos reforçam a necessidade da implantação de medidas imediatas voltadas à diminuição e controle dos fatores de risco (GATTI *et al.*, 2008).

Cabe ressaltar ainda, a importância das doenças cardiovasculares como causa de aposentadoria no Brasil, representando, já em 1983, mais de 30% do total, o que faz elevar o custo social dessas doenças. Entre 1991 e 2000, os custos hospitalares atribuídos às doenças cardiovasculares aumentaram 176%, tendo sido em 2000, responsáveis pela principal alocação de recursos públicos em hospitalizações no Brasil (aproximadamente 821 milhões de reais) e a terceira maior causa de permanência hospitalar prolongada (BRASIL, 2001).

Estudos epidemiológicos demonstraram que as dislipidemias, juntamente com a hipertensão e o hábito de fumar, são consideradas fatores de risco primários para o desenvolvimento de DCVs (CAMBRI *et al.*, 2006).

O papel dos lipídios como importante fator na patogênese da doença arterial coronariana está solidamente estabelecido (FREITAS, 2004). Como citado por Magalhães *et al.* (2004), as dislipidemias desempenham um importante papel neste cenário, uma vez que participam ativamente da fisiopatologia do processo aterosclerótico, sendo reconhecida, na atualidade, como um dos maiores fatores de risco modificáveis relacionados com o desenvolvimento da DAC.

As elevadas concentrações de colesterol e sua relação com a doença coronária aterosclerótica já foi demonstrada em muitos ensaios clínicos e está bem compreendida (JORGE *et al.*, 1998). Por outro lado, a relação entre os triglicerídios e

o risco de DCVs tem sido assunto de grande interesse, cuja atuação no desencadeamento fisiopatológico das doenças cardíacas ainda não está totalmente elucidada (FREITAS, 2004).

A doença coronariana é a mais comum das enfermidades cardiovasculares e os fatores de risco para seu aparecimento são numerosos, podendo-se citar os inalteráveis, como hereditariedade, sexo ou idade, e os que são suscetíveis aos tratamentos clínicos ou intervenções no estilo de vida e os já bastante conhecidos tais como hipertensão arterial, tabagismo, hipercolesterolemia, inatividade física, obesidade e diabetes, assim como os que vêm despertando a atenção de pesquisadores e sendo alvo de novas pesquisas para seu melhor conhecimento, como os níveis séricos de proteína C-reativa e homocisteína (TWISK *et al.*, 2001; WHO, 2002b; WILMORE e COSTILL, 1994).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibres (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

A formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular devido a diversos fatores de risco como elevação de lipoproteínas aterogênicas (LDL, IDL, VLDL, quilomicrons remanescentes), hipertensão arterial ou tabagismo. Como consequência, a disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da camada íntima às lipoproteínas plasmáticas favorecendo a retenção das mesmas no espaço subendotelial. Retidas, as partículas de LDL sofrem oxidação, causando a exposição de diversos neo-epítomos, tornando-as imunogênicas. O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (PETROVAN *et al.*, 2007).

Além do aumento da permeabilidade às lipoproteínas, outra manifestação da disfunção endotelial é o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial, processo estimulado pela presença de LDL oxidada. As moléculas de adesão são responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para a

parede arterial. Induzidos por proteínas quimiotáticas, os monócitos migram para o espaço subendotelial onde se diferenciam em macrófagos, que por sua vez captam as LDL oxidadas. Os macrófagos repletos de lipídios são chamados células espumosas e são o principal componente das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose (SANZ e FAYAD, 2008; SANTOS *et al.*, 2008).

Alguns mediadores da inflamação estimulam a migração e proliferação das células musculares lisas da camada média arterial. Estas, ao migrarem para a íntima, passam a produzir não só citocinas e fatores de crescimento, como também matriz extracelular que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica (SANZ e FAYAD, 2008).

A placa aterosclerótica é constituída por elementos celulares, componentes da matriz extracelular e núcleo lipídico. Estes elementos formam, na placa aterosclerótica, o núcleo lipídico rico em colesterol e a capa fibrosa rica em colágeno. As placas estáveis caracterizam-se por predomínio de colágeno, organizado em capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias e núcleo lipídico de proporções menores. As instáveis apresentam atividade inflamatória intensa, especialmente nas suas bordas laterais, com grande atividade proteolítica, núcleo lipídico proeminente e capa fibrótica tênue. A ruptura desta capa expõe material lipídico altamente trombogênico, levando à formação de um trombo sobrejacente. Este processo, também conhecido por aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose (KUSUMOTO, 2001; WOLBERG e MACKMAN, 2009).

1.5 Tratamento

Dentre os medicamentos utilizados para a redução dos níveis de lipídios, as estatinas e os fibratos têm sido prescritos freqüentemente para a terapia da hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, respectivamente. Porém, há situações relacionadas ao risco cardiovascular e à necessidade de maior efetividade no

controle das dislipidemias mistas, sendo nesses casos, a combinação de estatina com fibrato uma opção terapêutica, fato este que implica, diretamente, em uma maior preocupação com a segurança do tratamento. A situação é preocupante porque as duas classes desses fármacos, por si só, podem ocasionar miopatia e rabdomiólise e, quando associadas podem desencadear além das manifestações clínicas citadas, um quadro de hepatite (XAVIER, 2005).

Portanto, pode-se inferir que vários fatores contribuem para que as metas de redução dos níveis de lipídios não sejam alcançadas, desde aqueles relacionados à não aderência ao tratamento até às dificuldades inerentes aos próprios médicos e pacientes, como problemas quanto à intolerância, interação com outras drogas, além dos efeitos adversos dos agentes hipolipemiantes disponíveis no mercado (MAGALHÃES *et al.*, 2004).

O elevado custo dos medicamentos redutores dos níveis séricos de lipídios e a resistência por conta do uso prolongado, devido aos seus efeitos colaterais, têm levado os pacientes à escolha de terapias alternativas, como solução de seus problemas de saúde relacionados às alterações no metabolismo dos lipídios e das lipoproteínas (JORGE *et al.*, 1998).

1.6 Produtos Naturais

O Brasil é um dos países com maior diversidade, concorrendo com a Indonésia pelo título de nação biologicamente mais rica do planeta (MITTERMEIER *et al.*, 2005). Estima-se que em nosso território exista mais de 56.000 espécies vegetais catalogadas, o equivalente a 19% da flora mundial (GIULIETTI *et al.*, 2005). Entretanto, é preciso destacar, que a biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão, tal a sua complexidade (SIMÕES e SCHENKEL, 2002). Além desse acervo genético, é importante ressaltar que a riqueza cultural e étnica resultou em um acúmulo considerável de conhecimentos e tecnologias tradicionais, passados de geração a geração, entre os quais se destaca o vasto conhecimento sobre manejo e uso de plantas medicinais (BRASIL, 2006b).

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, o uso terapêutico de plantas medicinais e seus manufaturados ajudam a reduzir a importação de drogas e ainda incrementa o desenvolvimento econômico (FERREIRA, 1998). No Brasil, apesar da rica flora, que representa mais de 20% das plantas conhecidas no mundo (TOMLINSON e AKERELE, 1993), muito pouco tem sido feito para estudar o seu potencial como fonte de novas bases medicamentosas ou mesmo como fitoterápicos (FERREIRA, 1998).

As plantas contêm inúmeros constituintes e seus extratos, quando testados, podem apresentar efeitos sinérgicos entre os princípios ativos devido a presença de compostos de classes ou estruturas diferentes contribuindo para a mesma atividade (MACIEL *et al.*, 2002). Assim, merece ser revista a abordagem de algumas indústrias farmacêuticas ou grupos de pesquisas, que selecionam um ou mais dos compostos ativos, geralmente os mais abundantes, e desprezam a mistura, que na maioria das vezes parece ser mais efetiva que uma substância ou molécula isolada. Acredita-se que o sinergismo e a associação de mecanismos permitirão, no futuro, o desenvolvimento de recursos terapêuticos alternativos mais seguros e menos agressivos ao organismo (YUNES, PEDROSA e FILHO, 2001).

Temas como biodiversidade, plantas medicinais e desenvolvimento de novos medicamentos são amplamente discutidos nos meios científicos e de comunicação, em virtude de sua relevância e do seu caráter estratégico, especialmente em países considerados emergentes como o Brasil. A potencialidade das plantas nativas para o desenvolvimento de fármacos e matérias-primas farmacêuticas, fundamenta-se na biodiversidade, aceitabilidade e mercado econômico (HEINZMANN e BARROS, 2007).

O interesse em plantas medicinais cresceu bastante nas duas últimas décadas, fazendo com que indústrias farmacêuticas e institutos de pesquisa tenham como alvo as plantas, na busca de novas drogas e compostos fitoterápicos (EVANS, 1996). Assim, o empenho e conseqüentemente os investimentos da indústria farmacêutica têm crescido de maneira expressiva nesta área (BORRIS, 1996; TURNER, 1996). Isto é devido em parte ao reconhecimento do valor das

farmacopéias tradicionais e indígenas e à incorporação de alguns derivados de plantas nos procedimentos terapêuticos (ELVIN-LEWIS, 2001).

É fato que muitas plantas ainda não possuem sua eficácia terapêutica comprovada, mas o conhecimento tradicional sobre as mesmas já as tornou parte integrante da prática médica popular, sendo utilizadas por até 90% da população economicamente carente do Nordeste para a solução de problemas de saúde (MATOS, 2002; SILVA *et al.*, 2006). Segundo Matos (2002), a planta medicinal, quando usada corretamente só difere do medicamento industrializado pela embalagem e pelas substâncias secundárias que acompanham o princípio ativo.

As plantas medicinais são um dos poucos recursos terapêuticos disponíveis para a maioria da população latino-americana, que as utiliza para tratar as mais diferentes patologias. No Brasil, a abundância de plantas medicinais oferece acesso a diversos produtos utilizados, através da automedicação, na prevenção e tratamento de doenças (COSTA *et al.*, 1997; MATOS, VIANA e BANDEIRA 2001; LORENZI e MATOS, 2002).

A utilização de terapias não convencionais parece não estar confinada a uma única classe social, contudo indivíduos doentes com patologias crônicas representam claramente um grupo de pessoas que podem obter benefícios relevantes com o uso desse tipo de tratamento farmacológico. No Brasil, especialmente na região Nordeste, o uso de plantas medicinais e preparações caseiras assumem importância fundamental no tratamento das doenças que afetam as populações de baixa renda, tendo em vista a deficiência da assistência médica, a influência da transmissão oral dos hábitos culturais e a disponibilidade da flora (MATOS, 1989; SCHEFFER, MING e ARAÚJO, 1999).

Segundo dados da OMS, 80% da população mundial dependem da medicina tradicional para atender às suas necessidades de cuidados primários de saúde e grande parte desta medicina tradicional envolve o uso de plantas medicinais, seus extratos vegetais ou seus princípios ativos (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES - IUCN, 1993). Essa situação é mais evidente nos países em desenvolvimento, onde a

maioria da população não tem acesso aos medicamentos e faz uso secular de plantas para a prevenção e cura dos seus males. Mesmo em países industrializados como os Estados Unidos, cerca de 25% de todos os medicamentos prescritos, dispensados por farmácias comunitárias, entre 1959 e 1980, continham substâncias ativas naturais de plantas superiores (FARNSWORTH e SOEJARTO, 1985). Estima-se ainda que o consumo de produtos fitoterápicos em todo o mundo irá triplicar nos próximos dez anos (GRÜNWARD, 1997).

A descoberta de novos fármacos, ou de fármacos acessíveis, pode determinar a melhoria da qualidade de vida em doenças crônicas ou a própria sobrevivência do paciente em estado de saúde comprometida. Socialmente, a descoberta de fontes naturais de compostos químicos usualmente importados e/ou o desenvolvimento de fitoterápicos de fabricação nacional, podem ter consequências econômicas significativas, além de possibilitar a autonomia de cada país no gerenciamento de suas políticas de saúde (ELIZABETSKY, 2001).

Diante do exposto, paralelo a estudos de identificação de novos compostos detentores de efeito terapêutico é importante lembrar o valor da investigação toxicológica dos mesmos, para que possam vir a ser utilizados com eficácia, segurança e baixo custo.

1.6.1 Carnaúba

Embora as palmeiras possuam uma aparência característica que permita que muitas pessoas as reconheçam com certa facilidade, vários grupos de plantas não relacionadas compartilham algumas semelhanças e são, muitas vezes, erroneamente chamadas de palmeiras (JONES, 1995).

A palmeira possui cerca de 2500 a 3500 espécies, distribuídas em 210 a 236 gêneros. A família *Palmae* Juss. também é conhecida pelo nome alternativo de *Arecaceae* Schultz-Schultzenst. e geralmente inclui as famílias *Borassaceae*, *Chamaedoreaceae*, *Geonomaceae*, *Iriarteaceae*, *Malortieaceae*, *Manicariaceae*,

Nypaceae, *Phoenicaceae*, *Phytelephantaceae*, *Phytelephasiaceae*, *Salabaceae*, *Sagoaceae* e *Synechantaceae* (WATSON e DALLWITZ, 1994; DALLWITZ, 1980).

No que se refere ao seu habitat, elas se desenvolvem melhor nos trópicos e estão amplamente distribuídas nas zonas temperadas de todo o mundo, principalmente em regiões onde é alto o índice pluviométrico. Nos locais onde ocorrem, podem ser componentes dominantes da vegetação. Apesar da ampla distribuição da família *Palmae* e da freqüência das palmeiras nos trópicos, poucos gêneros possuem muitas espécies e/ou são espalhadas. De fato, muitos gêneros de palmeiras contêm cinco ou menos espécies e gêneros monotípicos são comuns (ZOFEMLER, 1994).

Muitas das 2800 espécies conhecidas de palmeiras são importantes economicamente. As palmeiras fornecem alimento, fibras, matéria-prima para a confecção de roupas, madeira, combustíveis, material de construção, amido, óleos, graxas, vinhos e um grupo de produtos de menor importância utilizados pelas populações indígenas nos trópicos (PRANCE *et al.*, 1995).

A *Copernicia cerifera* Mart., conhecida popularmente como Carnaúba (Figura 4), Carnaubeira ou Carandá, conhecida também como “árvore da vida”, porque dela tudo é aproveitado, é uma das palmeiras com maior importância econômica para os estados do Nordeste. É abundante nas regiões semi-áridas do Nordeste do Brasil, presente nos Estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e, principalmente nos Estados do Ceará e Piauí, onde existem cerca de 90 milhões de palmeiras em uma área de um milhão de km² (RODRIGUES, 2004).



Figura 4. *Copernicia cerifera* Mart (Carnaúba). Fonte: <http://redecarnauba.blogspot.com/2008/08/instituto-carnauba-participa-da-cmara.html>.

No Nordeste brasileiro, habitações inteiras são construídas com materiais retirados da carnaúba, da mesma forma como se retiram materiais do babaçu e do buriti. Também com suas folhas constroem-se telhados e coberturas de casas e abrigos; com suas fibras confeccionam-se cordas, sacos, esteiras, chapéus, balaios, cestos, redes e mantas. Imponente, esbelta como a maioria das palmeiras brasileiras, a carnaúba é mais alta do que o babaçu e economicamente mais rentável do que o buriti. Utilidades variadas são obtidas com os frutos, amêndoas, estipe, fibras e das folhas da carnaúba obtém-se uma cera de grande importância industrial (RODRIGUES, 2004).

Na região de seu habitat, as carnaubeiras se multiplicam de forma fácil e espontânea. Preferem solos arenosos e alagadiços, várzeas e margens dos rios de regiões de clima quente (SILVA, 2001). Essa planta tem como características estipe reto e cilíndrico, com cerca de 10 a 15 metros de altura atingindo no máximo 40 metros, formando saliências espiraladas em superfície, decorrentes dos restos das folhas que caíram (PIO CORREA, 1931).

A palmeira frutifica de novembro a março. Os frutos da carnaúba, inteiros, são principalmente aproveitados pelos animais de criação: de sua polpa extrai-se uma espécie de farinha e um leite que, à semelhança do leite extraído do babaçu, pode substituir o leite do côco-da-baía. Em condições de subsistência, a amêndoa da carnaúba, quando torrada e moída, costuma até mesmo ser aproveitada localmente em substituição ao pó do café (PIO CORREA, 1931).

As folhas são pecioladas, verde-esbranquiçadas e em forma de leque, com até 1 metro de comprimento (PIO CORREA, 1931). As flores são amarelas com cachos pendentes que surgem de julho a outubro. As espigas com centenas de frutos ovóides a globosos, brilhantes, esverdeados quando jovens e roxos quando maduros. As células epidérmicas das folhas da carnaúba são recobertas por uma camada cerífera. A presença de cera nas folhas de algumas plantas, como ocorre com a carnaúba, é possivelmente consequência de sua adaptação às regiões secas, uma vez que essa camada cerífera dificulta a perda de água por transpiração e protege a planta contra o ataque de fungos. As folhas, de cor verde-azulada, são amplas e dispostas no alto da palmeira compondo um elegante cocar (SILVA, 2001).

No Norte/Nordeste do Brasil, o povo distingue três variedades, que parecem corresponder à idade das plantas: branca, vermelha e preta. A primeira, dentre outras coisas, é usada, na forma de decocto de suas raízes, como depurativo específico para sífilis. Introduzidas na Inglaterra em cerca de 1870, porém com absoluto insucesso científico, o que não impediu que os nossos ervanários continuassem vendendo-a como o melhor dos medicamentos notadamente contra a sífilis. Além disso, apresenta propriedades diuréticas, anti-reumáticas e úteis para quaisquer afecções cutâneas (PIO CORREA, 1931).

A cera da carnaúba (Figura 5) é uma das ceras naturais de maior dureza e maior ponto de fusão (PF. 80-86 °C), sendo esta compatível com quase todas as ceras e resinas naturais ou sintéticas. Devido a estas características, ela é preferentemente utilizada para aumentar a consistência de outros excipientes, utilizando-a na preparação de medicamentos para ser usada na pele ou mucosas. É utilizada também nas indústrias de cosméticos, farmacêutica, alimentícia, e na fabricação de produtos para limpeza e conservação (pisos, móveis, carros, sapatos,

etc.). Cerca de 15.000 toneladas/ano estão disponíveis no mercado internacional, tendo o Brasil como único produtor (RODRIGUES, 2004).



Figura 5. Ceras da carnaúba. Fonte: http://www.pvp.com.br/pvpport/carnauba_wax.htm, acessado em 25/07/2010).

Quimicamente, a parte da carnaúba mais estudada é a cera que recobre as folhas. Pouco é descrito na literatura sobre a composição química das outras partes desta planta, uma vez que é grande a importância econômica e comercial da cera. Sob o ponto de vista químico, a cera de carnaúba é composta de uma mistura de muitas substâncias, predominantemente ésteres: 84 a 85% de ésteres, 2 a 3% de álcoois, 3 a 3,5% de ácidos livres, 2 a 3% de lactonas, 1 a 3% de hidrocarbonetos e 4 a 6% de resinas (ELVERS e HAWKIN, 1996).

Os ésteres são os principais constituintes da cera de carnaúba e entre eles temos uma fração contendo os ésteres do ácido 4-hidróxido e 4-metoxicinâmico que estão presentes principalmente na forma de ésteres (Figura 6). As unidades monoméricas destes são diésteres do ácido cinâmico com alcoóis mono e polihidroxilados e ácidos ω -hidroxicarboxílicos (Figura 8). Além dos ésteres do ácido cinâmico, triterpenos do tipo damarano tem sido isolado da cera de carnaúba. Pela literatura levantada não se sabe se estes triterpenos podem estar esterificados com o ácido cinâmico ou se eles se apresentam na forma livre (VANDERBURG e WILDER, 1970; ASPERGER, ENGEWALD e WAGNER, 1998).

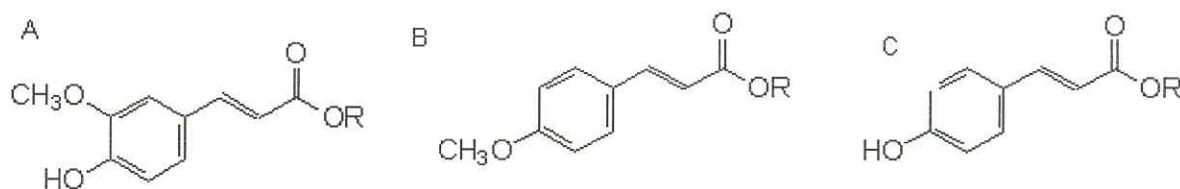


Figura 6. Estrutura química dos ésteres de ácidos cinâmicos (A) 3 - metoxi 4 - hidroxí cinâmico, (B) 4 - metoxicinâmico e (C) 4 - hidroxicinâmico.

Além das vantagens inerentes à cera de carnaúba, ela é um produto GRAS (“*Generally Recognized as Safety*”) aprovado pelo FDA (“*Food Drug Administration*”), estando presente no FCC (“*Food Chemical Codex*”) e no “*Codex Alimentarius*” (JECFA).

Os testes toxicológicos e ecotoxicológicos mostraram que a cera de carnaúba é um produto atóxico e que não agride o meio ambiente. Estudos de toxicidade de curta duração, carcinogenicidade, teratogenicidade, reprodução, mutagenicidade foram realizados com a cera de carnaúba indicando não existir efeitos dependentes da dose utilizada (RODRIGUES, 2004).

1.6.2 Gama-Orizanol

O arroz (*Oryza sativa* L.) surgiu no sudoeste Asiático em 5.000 a.C., tendo posteriormente se expandido para a Índia e para a Europa. Em meados do século III, essa cultura foi introduzida pelos espanhóis nos países das Américas do Sul e Central e em 1685 chegou aos Estados Unidos da América (EUA). No Brasil, essa cultura foi introduzida pelos portugueses nos primeiros anos após o descobrimento (LEMOS e SOARES, 1999). Segundo esses pesquisadores, o arroz ocupa posição de destaque no celeiro mundial como o cereal mais consumido por todos os povos, sendo superado em produção apenas pelo trigo.

O Brasil, grande produtor de arroz, ocupa a sexta posição no mercado mundial com produção estimada de 8.100 milhões de toneladas de grãos beneficiados na safra 2005/2006, frente à produção mundial de 405.620 milhões de toneladas (KAISER *et al.*, 2005). O farelo, um dos subprodutos resultantes do

beneficiamento do arroz, representa de 8% a 11% do peso total do grão, sendo obtido a partir do seu polimento (PARRADO *et al.*, 2006).

O farelo de arroz apresenta aspecto farináceo, fibroso e suave ao tato. O pericarpo, o tegumento, a camada de aleurona e o gérmen (embrião) são eliminados durante a operação de polimento na forma de farelo de arroz, restando o endosperma (grão de arroz polido) (HOSENEY, 1991; LAKKAKULA, LIMA e WALKER, 2004).

O farelo de arroz representa excelente fonte de minerais, proteínas e óleo, destacando-se pelo expressivo teor de vitaminas (CARVALHO e VIEIRA, 1999; PARRADO *et al.*, 2006). O elevado conteúdo de lipídios do farelo de arroz (entre 12,8-22,6%), aliado ao seu baixo valor comercial, justificam seu emprego majoritário como matéria-prima para indústria de extração de óleo comestível (SILVA, SANCHES e AMANTE, 2001).

Tanto o farelo quanto o óleo extraído do farelo contêm ainda inúmeros componentes minoritários, enquadrados na categoria de biofenóis. Essas substâncias estão relacionadas com diversos benefícios à saúde humana como, por exemplo, a redução da hiperlipidemia (RODRIGUES, PESSÔA FILHO e MEIRELLES, 2004), câncer, hipercalcúria, cálculos renais em crianças e doenças cardíacas (JARIWALLA, 2001).

Investigações recentes têm demonstrado que a ingestão de óleo de farelo de arroz causa uma redução do colesterol plasmático e diminuição excessiva de gordura nas artérias (NICOLSI, AUSMAN e HEGSTED, 1991; SCARAVIELLO e ARELLANO, 1998). Tem sido provado que esta redução se deve não somente à composição de ácidos graxos do óleo, mas também a presença de outros componentes. Dois grupos de compostos, tocotrienos e Gama-Orizanol encontrados na fração não saponificável tem sido investigados como possíveis responsáveis por estes efeitos (ROGERS, RICE e NICOLSI, 1993).

O Gama-Orizanol (Figura 7), importante fitoquímico do farelo de arroz, consiste numa complexa mistura de ésteres do ácido ferúlico com alcóois triterpenos

e esteróis. Mais de 23 ésteres dos ácidos ferúlico e caféico já foram identificados no Gama-Orizanol, sendo os principais componentes (mais de 80% da fração do Gama-Orizanol) o ferulato de 24-metileno cicloartenila, ferulato de cicloartenila ou cicloartenol, ferulato de β -sistoterila e ferulato de campesterila ou campesterol (KIM *et al.*, 2001; FANG, YU e BADGER, 2003).

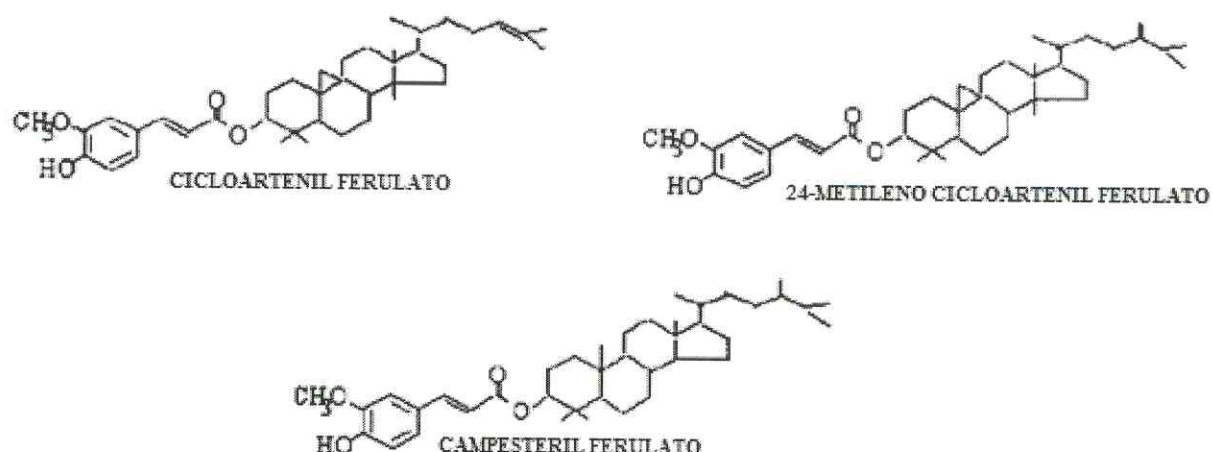


Figura 7. Estrutura química dos principais constituintes do Gama-Orizanol.

Em relação às propriedades físico-químicas o Gama-Orizanol se apresenta na forma de um pó branco ou ligeiramente amarelado, cristalino, insípido, com pouco ou nenhum odor. Apresenta um ponto de fusão em torno de 135° a 137° C (SCARAVIELLO e ARELLANO, 1998).

Entre as múltiplas ações terapêuticas desse composto mencionam-se os efeitos no crescimento, combate a doenças cefálicas e cervicais, minimização dos sintomas da menopausa, combate à anemia, tratamento de úlceras do estresse e como coadjuvante no tratamento de doenças circulatórias. As propriedades do Gama-Orizanol justificam seu amplo uso, seja como medicamento, na composição de cosméticos, como agente antienvhecimento da pele e até como filtro solar. Esse fitosterol apresenta efeito semelhante ao dos hormônios esteróides quando usado na alimentação de cavalos de corrida em que seu emprego é seguro e legalmente permitido (XU, HUA e GODBER, 2001; AMATO, 2006; WILSON *et al.*, 2007).

Diversos estudos têm atestado a alta atividade antioxidante do Gama-Orizanol, que atua como agente cardioprotetor e na prevenção da aterosclerose (SILVA, SANCHES e AMANTE, 2001; WILSON *et al.*, 2000).

Os efeitos fisiológicos que se consideram associados ao Gama-Orizanol são a diminuição do colesterol plasmático, a redução da biossíntese do colesterol hepático, diminuição da absorção intestinal e um aumento da excreção fecal de ácidos biliares (SEETHARAMAIAH e CHANDRASEKHARA, 1990; NAKAIAMA *et al.*, 1987).

A semelhança entre as estruturas químicas do colesterol e do Gama-Orizanol sugere que este, por competição dos sítios de ligação do colesterol pode ser o responsável pelo mecanismo de diminuição da absorção e síntese do colesterol (ROGERS, RICE e NICOLOSI, 1993), dos níveis do colesterol hepático e aumento da secreção fecal de ácidos biliares (ROGERS, RICE e NICOLOSI, 1993; ORTHOEFER, 1996).

A síntese do Gama-Orizanol, em plantas, tem etapas iniciais semelhantes à do colesterol no corpo humano e deve funcionar reduzindo esse composto por inibição da enzima HMG-CoA redutase. Este processo é conhecido como inibição do produto final, ou seja, o organismo reconhece a estrutura do Gama-Orizanol como se fosse a do colesterol, inibindo a enzima e conseqüentemente reduzindo a síntese do colesterol (HEGSTED e KOUSIK, 1994).

Os níveis de lipídios de ratos alimentados com dietas ricas em colesterol foram reduzidos quando se empregou concentrado de substâncias bioativas do óleo do farelo de arroz como suplemento (HA *et al.*, 2005). Considera-se que a presença abundante de ferulato de cicloartenila, um dos principais constituintes do Gama-Orizanol, inibe a atividade da enzima colesterol esterase hepática, a qual reduz as taxas de colesterol circulante (JARIWALLA, 2001).

Um estudo com humanos mostrou que o Gama-Orizanol ofereceu segurança e promoveu significativos efeitos hipolipemiantes a longo prazo. Os grupos de indivíduos foram tratados com 300 mg de Gama-Orizanol durante três meses e tiveram diminuição significativa dos níveis de triglicéridios e LDL-C até o terceiro mês, cuja explicação mais provável poderia estar relacionada com a inibição da absorção intestinal do colesterol ($p < 0,05$). Ocorreu também expressivo aumento do HDL-C no mesmo período embora o mecanismo não estivesse completamente

esclarecido. Os pesquisadores sugeriram que o Gama-Orizanol poderia oferecer segurança e eficácia terapêutica no controle da concentração plasmática do colesterol em pacientes portadores de hipercolesterolemia (YOSHINO *et al.*, 1989).

Rong *et al.*, (1997), relataram que o Gama-Orizanol é uma substância ativa na ação hipocolesterolêmica do óleo do farelo de arroz. Eles relataram uma diminuição de 57% dos não-HDL-C em hamster quando adicionado 0,5% de Gama-Orizanol em uma dieta contendo óleo de côco tratados durante 10 semanas. Com o aumento da concentração de Gama-Orizanol para 1% por um período de 7 semanas resultou em uma diminuição de 34% dos não-HDL-C. Além desses resultados, houve redução de 67% na formação das placas ateromatosas na aorta nos dois protocolos acima descritos. Entretanto, em ambos os tratamentos não houve alteração na síntese do colesterol pela determinação da atividade da HMG-CoA redutase. Os mesmos autores também sugerem que a ação do Gama-Orizanol no metabolismo do colesterol ocorre pela diminuição da absorção do colesterol dietético.

Estudos em ratos mostraram que a adição de Gama-Orizanol à dieta hiperlipidêmica promoveu um aumento da excreção de esteróides e ácidos biliares totais, embora o mecanismo de ação não tenha sido ainda elucidado (SHARMA e RUKMINI, 1987).

2. JUSTIFICATIVA

Devido ao caráter multifatorial e aos mecanismos implicados na patogênese da aterosclerose ainda não terem sido completamente esclarecidos, a caracterização de fármacos que possam atuar na prevenção da gênese do processo aterosclerótico tornou-se alvo de inúmeras pesquisas, tanto no meio acadêmico, como também pelas maiores indústrias farmacêuticas.

Recentemente foi isolada do pó cerífero da carnaúba um composto químico estruturalmente semelhante ao Gama-Orizanol. Por esse motivo, levando-se em consideração os efeitos farmacológicos do fitocomposto acima referido, sobre o qual algumas de suas propriedades farmacológicas foram descritas em diversos trabalhos publicados em periódicos especializados, realizou-se protocolos experimentais com Ésteres do Ácido Cinâmico presentes no Pó Cerífero de Origem (PCO-C), com o objetivo de obter dados, evidências e informações que permitam melhorar o conhecimento do potencial terapêutico e descrever novas perspectivas para a produção de drogas mais eficazes no tratamento das dislipidemias com possibilidades de impedir a instalação do processo aterosclerótico.

Diante do que foi exposto, verifica-se a importância de se realizar uma investigação científica das propriedades hipolipemiantes, bem como o potencial tóxico do PCO-C, uma vez que a estrutura química desses compostos possui similaridade com a do Gama-Orizanol.

A realização do projeto no que se refere à redução do níveis plasmáticos de lipídios trará novas perspectivas para que a molécula em estudo possa ser utilizada com segurança e os estudos da atividade hipolipidêmica possam proporcionar conhecimentos para a possível elaboração de formas farmacêuticas adequadas e eficazes, contribuindo para o desenvolvimento biotecnológico do Nordeste brasileiro na área da saúde.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial terapêutico e a toxicidade do PCO-C na prevenção e tratamento das dislipidemias .

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar o efeito do PCO-C no metabolismo lipoproteico através de três diferentes modelos experimentais de dislipidemias.
- Avaliar a toxicidade do PCO-C através de análises bioquímicas e histopatológicas com o objetivo de investigar os possíveis efeitos nos tecidos hepático e renal.
- Determinar a eficácia do PCO-C como alternativa terapêutica no tratamento das dislipidemias para possível emprego como uma opção mercadológica e uma melhor relação custo/benefício.

4 Material e Métodos

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss, adultos, machos, pesando entre 20-25g, provenientes do Biotério Central Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos em caixas de prolipropileno, à temperatura ambiente de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, em ciclos de claro-escuro de 12/12 horas.

Os protocolos utilizados neste trabalho foram submetidos e aceitos pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da UFC sob o número 90/10.

4.2 Drogas

4.2.1 Gama-Orizanol

Droga adquirida comercialmente através da empresa Sigma-Aldrich®.

4.2.2 Sinvastatina 20 mg

As estatinas são inibidores da HMG-CoA redutase, uma das enzimas chave na síntese intracelular do colesterol. Sua inibição reduz o conteúdo intracelular de colesterol e, como consequência, há aumento do número de receptores de LDL nos hepatócitos que então removem mais VLDL, IDL e LDL da circulação para repor o colesterol intracelular. Este fármaco foi utilizado como droga de referência para o tratamento da hipercolesterolemia (IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose), nos protocolos estudados de dislipidemia onde houvesse o predomínio de hipercolesterolemia e foi adquirido comercialmente através do laboratório EMS®.

4.2.3 Gemfibrozil 100 mg

Este medicamento, pertencente à classe dos fibratos, utilizado como droga de referência nos protocolos onde houve o predomínio de hipertrigliceridemia, adquirida comercialmente através do laboratório EMS[®], age estimulando os receptores nucleares denominados “receptores alfa ativados de proliferação dos peroxissomos” (PPAR- α). Essa ação leva ao aumento da produção e atividade da lipase lipoprotéica (LPL), responsável pela hidrólise intravascular dos TG, e redução da Apo CIII, responsável pela inibição da LPL. Os fibratos são indicados clinicamente no tratamento da hipertrigliceridemia endógena.

4.2.4 PCO-C (Pó Cerífero de Origem)

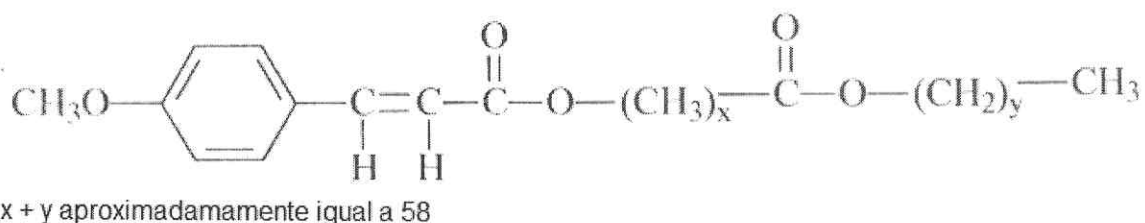


Figura 8. Estrutura química dos ésteres aromáticos (ésteres do ácido cinâmico). Principais constituintes do PCO-C.

4.2.4.1 Planta

Amostra comercial do pó cerífero da carnaúba foi fornecido pela empresa Pontes Indústria de Ceras Ltda, extraída de *Copernicia cerifera* Mart.

4.2.4.2 Procedimentos experimentais

4.2.4.2.1 Extração e isolamento

Foram utilizados 40g de pó de cera de carnaúba (pó de olho), extraídos a quente com 500mL de uma mistura de heptano e dicloreto de etileno (90:10). Após filtração, a mistura foi adicionada a uma coluna de Florisil (46cmx3,8cm; primeira coluna), sendo esta eluída com 2,5 L de uma mistura de heptano e dicloreto de etileno (90:10). Todo material eluído da primeira coluna foi reunido e adicionado a uma segunda coluna de Sílica Gel do mesmo tamanho que a anterior (46 cm x 3,8 cm; segunda coluna), após percolação do eluato uma quantidade adicional de 500 mL de uma mistura de heptano e dicloreto de etileno (90:10) foi adicionado à coluna de sílica gel. O solvente eluído foi concentrado produzindo os ésteres alifáticos da cera de carnaúba. Para a segunda coluna (Sílica Gel) foram então adicionados 2,0 L de uma mistura de heptano e isopropanol (9:1), o solvente eluído da coluna foi concentrado, produzindo 2,8 g (7,0%) de um produto sólido amarelado (PCO-C). Através da análise por espectroscopia de absorção na região do infravermelho, hidrólise, ponto de fusão do material hidrolisado, cromatografia em camada delgada do produto da hidrólise e por comparação com padrões e com a literatura, chegamos à conclusão que o produto obtido PCO-C era uma mistura metoxilada na posição *para* de ésteres aromáticos (ésteres do ácido cinâmico). As metodologias acima descritas foram realizadas no Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará, sob a responsabilidade e supervisão do Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira.

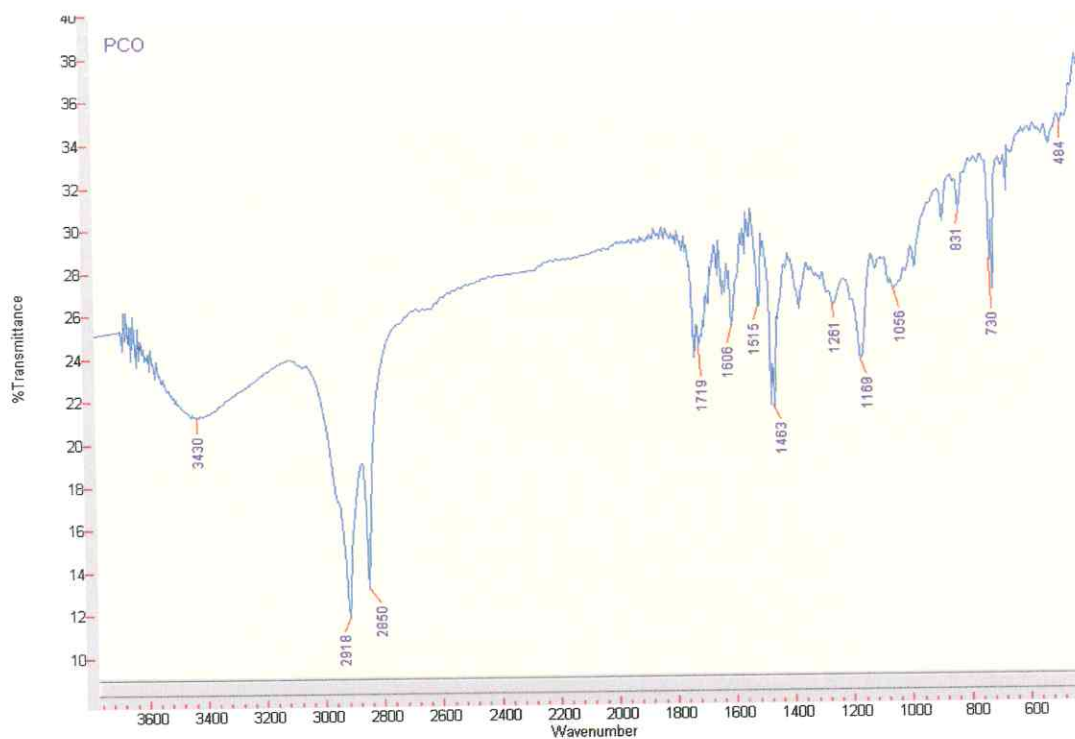


Figura 9. Espectro de absorção na região do infravermelho do PCO-C (ésteres do ácido cinâmico).

4.3 Reagentes

As drogas e reagentes utilizados ao longo da execução do presente trabalho encontram-se listadas logo abaixo com seu respectivo fabricante/ marca.

- Ácido Cólico - Inlab[®]
- Colesterol - Vetec[®]
- Dicloreto de etileno p.a - Vetec[®]
- EDTA (Ácido Etileno Diamino Tetracético Sódico) - Labtest[®]
- Etanol p.a. - Vetec[®]
- Formol - Vetec[®]
- Gemfibrozil - EMS[®]
- Heparina Sódica - Cristália[®]
- Heptano p.a - Vetec[®]
- Isopropanol p.a - Vetec[®]
- Kits de diagnóstico - Labtest[®], Bioclin[®]

- Polissorbato 80 (Tween 80) - Sigma-Aldrich®
- Poloxamer 407 (Pluronic® -127) - BASF®
- Sílica gel para a coluna - Vetec®
- Sinvastatina - EMS®
- Triton WR-1339 (tyloxapol®) - Sigma Aldrich®

4.4 Dietas

4.4.1 Dieta Padrão (DP)

A dieta normal Nuvilab® (padrão) consistiu de ração comercial para ratos e camundongos, composta por milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, suplemento vitamínico-mineral e aminoácidos.

Tabela 3. Composição Centesimal por Quilograma do Produto

Composição	Porcentagem
Umidade (máx)	12,50%
Proteína Bruta (min)	22,00%
Extrato Etéreo (min)	4,50%
Matéria Mineral (máx)	10,00%
Matéria Fibrosa (máx)	8,00%
Cálcio (máx)	1,40%
Fósforo (min)	0,80%

Fonte: <http://www.nuvital.com.br/index.php?opt=produto&m=s&id=38>, acessado em 30/11/2010.

- Enriquecimento por Quilograma do Produto:

Vitaminas: Vitamina A 12.000,00 UI; vitamina D3 1.800,00 UI; vitamina E 30,00 mg; vitamina K3 3,00 mg; vitamina B1 5,00 mg; vitamina B2 6,00 mg; vitamina B6 7,00 mg; vitamina B12 20,00 mcg; niacina 60,00 mg; ácido pantotênico 20,00 mg; ácido fólico 1,00 mg, biotina 0,05 mg; colina 600,00 mg.

- Microelementos Minerais: Ferro 50,00 mg; zinco 60,00 mg; cobre 10,00 mg; iodo 2,00 mg; manganês 60,00 mg; selênio 0,05 mg; cobalto 1,50 mg.
- Aminoácidos: Lisina 100,00 mg; metionina 300,00 mg.
- Aditivos: Antioxidante 100,00 mg.

4.4.2 Dieta Hipercolesterolêmica (DH)

A dieta hipercolesterolêmica previamente padronizada por Wilson *et al* (2007), foi preparada contendo uma mistura de alimentos na seguinte proporção: 10% de óleo de *Cocus nucifera*, 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico (Figura 10) e ração padrão. Estes ingredientes foram triturados, misturados e oferecidos aos animais em forma de “pellets” (pequenos cilindros de 3-5cm cada). A dieta hipercolesterolêmica foi preparada no Laboratório de Farmacotécnica do Curso de Farmácia/UFC, sob a responsabilidade e supervisão do Prof. Ms. Said Gonçalves da Cruz Fonseca.

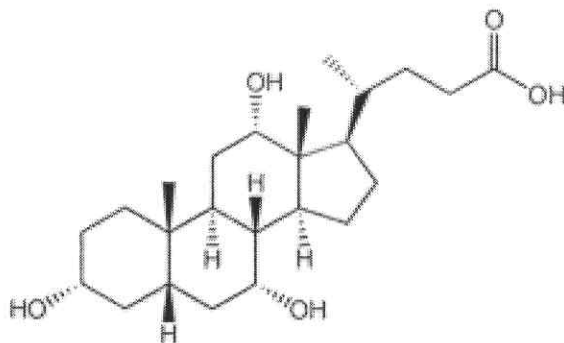


Figura 10. Estrutura Química Ácido Cólico.

4.5 Protocolos Experimentais

4.5.1 Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 10, 50 e 100mg/kg, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg e Sinvastatina na dose 20mg/kg em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses

Os animais receberam dieta padrão e água “*ad libitum*” durante duas semanas para aclimatização. A verificação da indução da hipercolesterolemia foi

realizada mediante coleta de sangue após jejum alimentar prévio de 6 horas para a determinação dos níveis de colesterol total. Após a identificação da indução da dislipidemia (duas semanas), iniciou-se o tratamento dos animais. Os animais continuaram a receber às dietas padrão e hipercolesterolêmica e simultaneamente tratados por gavagem com as drogas em estudo nas concentrações citadas acima por um período de 8 semanas conforme o protocolo estabelecido para cada grupo. Os animais foram distribuídos em 7 grupos (conforme a média de peso), compostos por 8 camundongos cada, conforme descrito abaixo e receberam a denominação e o seguinte tratamento:

- **Dieta Padrão (DP)** – animais submetidos à dieta padrão + salina.
- **Dieta Hipercolesterolêmica (DH)** – animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica + salina.
- **DH + Gama** - animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica + Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg.
- **DH + PCO-C10** – animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica + PCO-C na dose de 10mg/kg.
- **DH + PCO-C50** – animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica + PCO-C na dose de 50mg/kg.
- **DH + PCO-C100** – animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica + PCO-C na dose de 100mg/kg.
- **DH + SINV** – animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica + Sinvastatina na dose de 20mg/kg.

Uma vez por semana os animais foram pesados e o consumo de ração e água verificado. Ao final de cada mês, amostras de sangue heparinizado foram coletadas para a determinação das provas laboratoriais (GLI, CT, TG, uréia, creatinina, AST, e ALT) e os animais sacrificados por deslocamento cervical para a retirada do coração, fígado e rins destinados ao exame histopatológico (Figura 1).

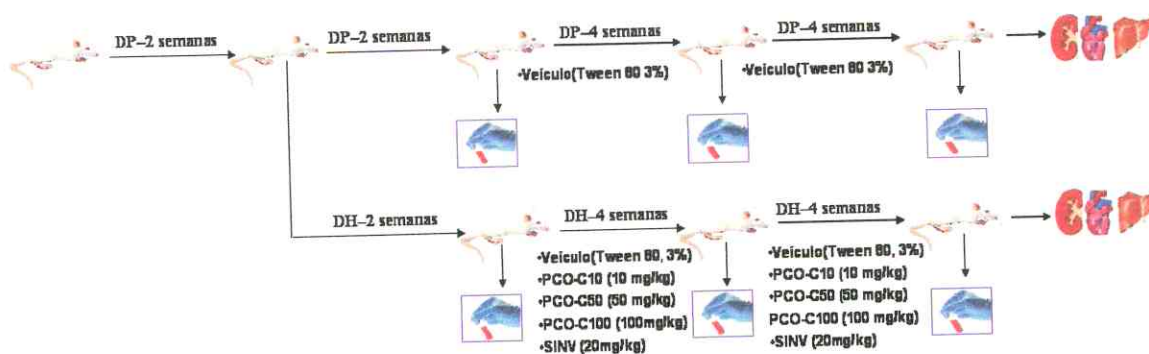


Figura 11. Protocolo de indução de dislipidemia em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses.

4.5.2 Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 10, 50 e 100mg/kg, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg e Gemfibrozil na dose de 100mg/kg em protocolo de indução da dislipidemia induzida por Triton WR-1339.

Inicialmente os animais receberam dieta padrão e água “*ad libitum*” durante duas semanas para aclimatização. A dislipidemia foi induzida nos grupos por uma única administração intraperitoneal (i.p.) de Triton WR1339 na dose de 400mg/kg. Os grupos Normal (salina via oral - v.o.), Triton (salina via oral- v.o), Gama- Orizanol (50mg/kg), PCO-C (10, 50 e 100mg/kg) e Gemfibrozil (droga referência) na dose de 100mg/kg. Os animais foram tratados três vezes, sendo 1h antes, 21h e 45h depois da administração intraperitoneal de Triton. Nas 24 e 48h após o primeiro tratamento os animais foram anestesiados com éter etílico e uma coleta foi realizada pelo plexo infra orbital para determinação de parâmetros bioquímicos.

- **Normal (Controle Normal)** – animais tratados com salina.
- **Triton (Controle Positivo)** – Triton + salina.
- **Triton + Gama** – Triton + Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg.
- **Triton + PCO-C10** – Triton + PCO-C na dose de 10mg/kg.
- **Triton + PCO-C50** – Triton + PCO-C na dose de 50mg/kg.
- **Triton + PCO-C100** – Triton + PCO-C na dose de 100mg/kg.
- **Triton + Gemfibrozil** – Triton + Gemfibrozil na dose de 100mg/kg.

Ao final desse período, amostras de sangue heparinizado foram coletadas para a determinação das provas laboratoriais (GLI, CT, TG, uréia, creatinina, AST, e ALT).

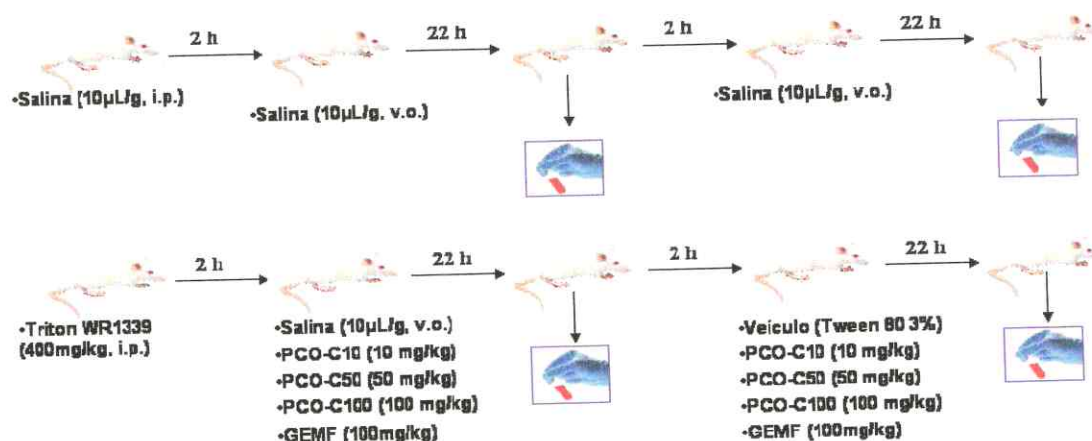


Figura 12. Protocolo de indução da dislipidemia induzida por Triton WR-1339.

4.5.3 Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 10, 50 e 100mg/kg, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg e Gemfibrozil na dose de 100mg/kg em protocolo de indução da dislipidemia por Poloxamer 407.

Inicialmente os animais receberam dieta padrão e água “*ad libitum*” durante duas semanas para aclimatização e foram distribuídos igualmente segundo a mesma média de peso em seis grupos. A hiperlipidemia foi induzida em todos os grupos por uma única injeção intraperitoneal (i.p) de Poloxamer 407 (KIM *et al.*, 2008) na dose de 1000 mg/kg, exceto no grupo controle. Os grupos Poloxamer (salina), Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg, PCO-C nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg e Gemfibrozil (fármaco referência) na dose de 100mg/kg foram tratados (v.o) quatro vezes, sendo 2h, 26h, 50h e 70h depois da administração i.p de poloxamer-407 (Figura 7). Após 24h, 48h e 72h da administração i.p de P-407, realizou-se coleta de sangue pelo plexo orbital de todos os animais com jejum alimentar prévio de 6 horas. O sangue (1,0 – 1,5mL) foi coletado em microtubos do tipo Eppendorf® contendo anticoagulante (heparina sódica diluída 1:10 sendo utilizado 25µL/mL). O

sangue foi centrifugado a 3500rpm por 15min, obtendo ao final o plasma a ser utilizado para as análises dos parâmetros laboratoriais bioquímicos (GLI, CT, TG, uréia, creatinina, AST, e ALT).

- **Controle normal (CN)** – animais tratados com salina.
- **Poloxamer** – Poloxamer + salina
- **Poloxamer + Gama** – Poloxamer + Gama orizanol na dose de 50mg/kg.
- **Poloxamer + PCO-C10** – Poloxamer + PCO-C na dose de 10mg/kg.
- **Poloxamer + PCO-C50** – Poloxamer + PCO-C na dose de 50mg/kg.
- **Poloxamer + PCO-C100** – Poloxamer + PCO-C na dose de 100mg/kg.
- **Poloxamer + Gemfibrozil** – Poloxamer + Gemfibrozil na dose de 100mg/kg.

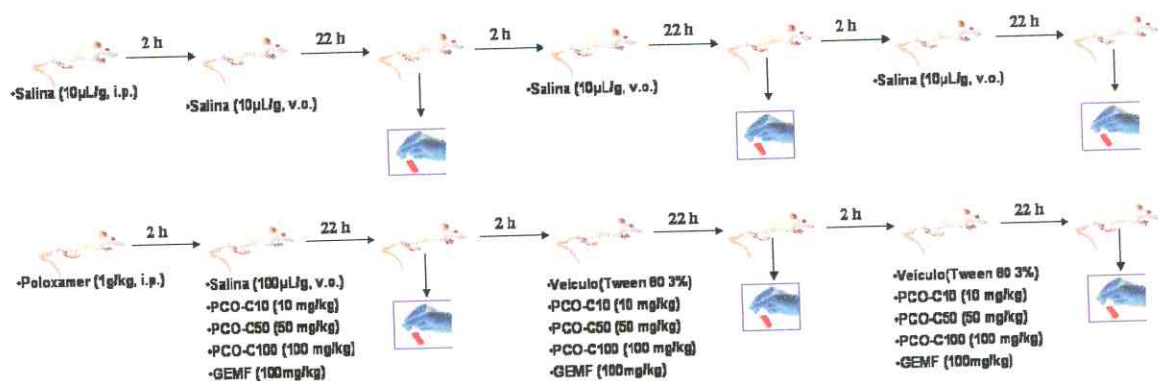


Figura 13. Protocolo de indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

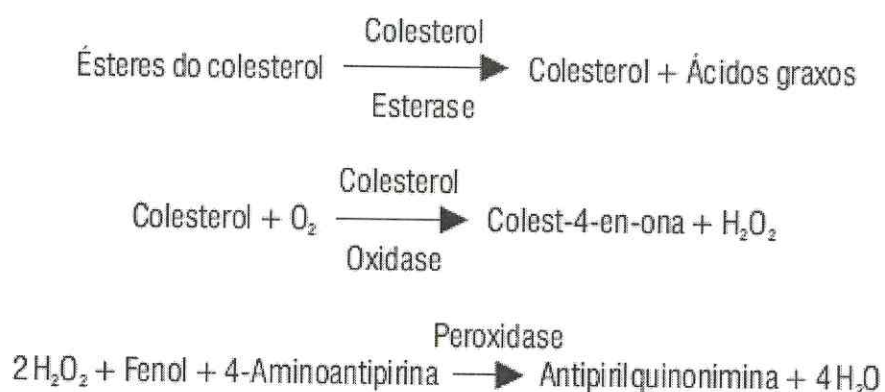
4.6 Determinações Laboratoriais

Todos os testes laboratoriais foram realizados em amostras de sangue colhido com heparina diluída 1:10 (25 µL/mL de sangue) do sinus ocular de camundongos mantidos em jejum de 6 horas. As amostras foram centrifugadas imediatamente após a coleta a 3.500 rpm durante 15 minutos e o plasma separado para análise no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da UFC. Os resultados das

provas laboratoriais foram obtidos obedecendo às recomendações técnicas contidas nos kit's dos fabricantes.

4.6.1 Colesterol Total (Enzimático – Trinder)

O colesterol total é determinado de acordo com as seguintes reações:

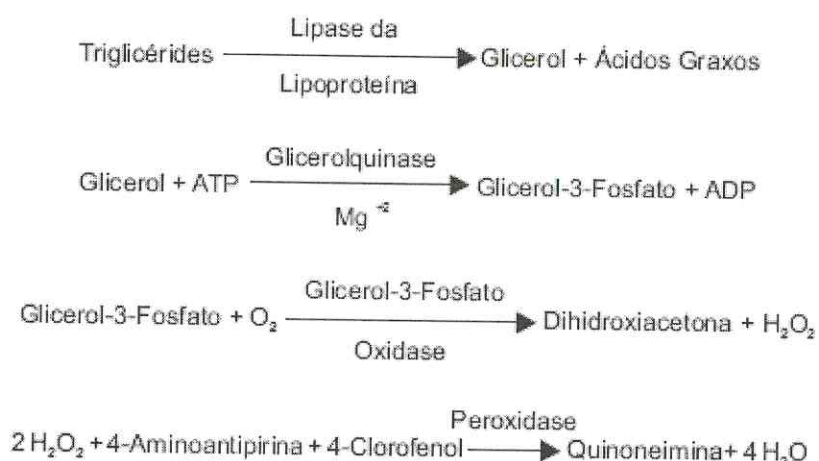


Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela colesterol oxidase (COD) formando o composto colest-4-en-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peróxido de hidrogênio e peroxidase (POD) o fenol e a 4-aminoantipirina são oxidados formando o complexo antipirilquinonimina de cor vermelha na reação final cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de colesterol na amostra analisada.

4.6.2 Triglicerídios (Enzimático – Trinder)

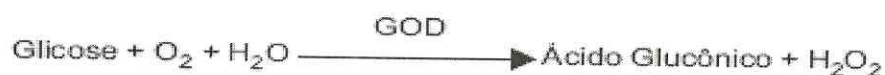
A lipase da lipoproteína promove a hidrólise dos triglicerídios liberando glicerol, que é convertido, pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela peroxidase, produzindo

uma quinoneimina que tem máximo de absorvância em 505 nm. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração dos triglicérides na amostra.



4.6.3 Glicose (Enzimático – Trinder)

A enzima glicose-oxidase (GOD) catalisa a oxidação da glicose de acordo com a seguinte reação:



O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) reage com os compostos 4-aminoantipirina e fenol sob a ação catalisadora da peroxidase (POD) através de uma reação oxidativa de acoplamento formando um complexo denominado antipirilquinonimina de tonalidade vermelha cuja intensidade é proporcional à concentração de glicose na amostra como visto na reação abaixo:



4.6.4 Uréia (Enzimático - Colorimétrico)

A uréia é hidrolisada pela urease a íons amônia e CO₂. Os íons amônia reagiram em pH alcalino com salicilato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio, para formar azul de indofenol. A formação de cor é proporcional à quantidade de uréia na amostra.

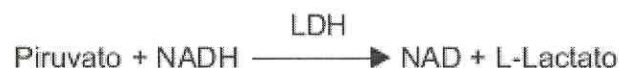
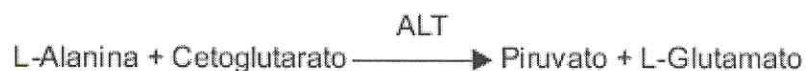
4.6.5 Creatinina (Cinético)

A creatinina e outros componentes do soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino, formando um complexo de cor vermelha que foi medido fotometricamente. A adição de um acidificante reduz o pH para 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromógenos, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras forneceu o valor da creatinina verdadeira.

4.6.6 ALT/TGP (Cinético)

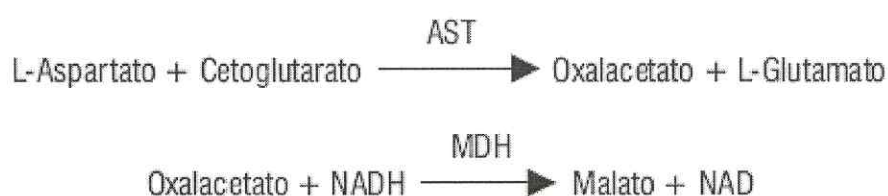
A ALT catalisa a transferência do grupamento amina da Alanina para α - Cetoglutarato, formando piruvato e glutamato. O piruvato em presença de LDH, reage com o NADH reduzindo-se a lactato e o NADH é oxidado a NAD⁺. A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT na amostra.

A redução da absorbância em 340nm, consequente à oxidação da NADH, é monitorada fotometricamente sendo diretamente proporcional à atividade da ALT na amostra.



4.6.7 AST/TGO (Cinético)

A AST (aspartato aminotransferase) catalisa a transferência de grupos amina do aspartato para o α -cetoglutarato, levando à formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato em presença do MDH reage com o NADH, reduzindo-se a malato e o NADH é oxidado a NAD⁺. A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da AST na amostra. A redução da absorbância em 340 nm, consequente à oxidação da NADH, é monitorada fotometricamente sendo diretamente proporcional à atividade da AST na amostra.



4.7 Análise histológica

Após os protocolos experimentais nos quais foram propostas as análises histológicas, os animais dos grupos em estudo foram sacrificados de acordo com as normas estabelecidas pelas comunidades científicas nacional e internacional, bem como por técnicas (deslocamento cervical) aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará.

Depois de sacrificados, foram retirados, para análise histológica os seguintes órgãos/tecidos:

- a) Fígado
- b) Rim

Após a retirada das amostras por técnicas cirúrgicas, o material foi fixado em formol 10% por 24h e transferido para uma preparação de álcool 70% para o devido acondicionamento até a confecção das lâminas.

Para preparação do material que foi analisado (lâminas), realizou-se a desidratação e a diafanização das amostras. Posteriormente procedeu-se com um corte de 5µm dos tecidos a serem analisados, após coloração com Hematoxilina-Eosina (HE).

Terminado todo o processo descrito anteriormente, realizou-se a leitura das lâminas para a constatação de possíveis alterações histológicas por microscopia ótica (NIKON YS2) e as microfotografias foram feitas através de câmera fotográfica digital (NIKON COOLPIX L14 7.1 *megapixels*).

4.8 Análise Estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para analisar a significância das diferenças entre os animais dos grupos foi utilizado a ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls, sendo considerado significativo um $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Estes dados resultaram na obtenção de um depósito de pedido de patente, cujo protocolo recebeu o Nº 0000221006627299 com o título: **“Processo de produção, uso e composição farmacêutica compreendendo compostos obtidos a partir da cera de carnaúba”**.

5.1 Estudo do efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses.

5.1.1 Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.

A ração hipercolesterolêmica foi efetiva em aumentar os níveis de CT ($p < 0,001$) em relação ao DP em todos os grupos. Os animais tratados com PCO-C100 mostraram taxas semelhantes de CT aos que receberam SINV apresentando uma redução eficaz deste analito em relação ao DH ($p < 0,01$). O grupo GAMA apresentou redução mais expressiva ($p < 0,001$) quando comparado ao DH (Tabela 4, Figura 13).

Tabela 4. Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídios e glicose de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica

	DP	DH	GAMA	PCO-C10	PCO-C50	PCO-C100	SINV	
1º Mês	CT	127,9±7,3	240,3±6,8 ^a	193,0±4,5 ^{a,b}	220,0±10,7 ^{a,b}	221,6±4,8 ^{a,b}	203,9±5,5 ^{a,b}	200,4±7,4 ^{a,b}
	TG	188,6±15	134,6±10 ^a	119,5±10 ^a	138,9±19 ^a	134,1±20 ^a	105,3±10 ^a	105,4±7 ^a
	GLI	134,3±6,2	181,4±9,2 ^a	127,0±2,5 ^b	145,9±3,6 ^b	147,8±9,7 ^b	137,4±4,9 ^b	162,1±7,4 ^b
2º Mês	CT	143,7±6,6	252,6±9,5 ^a	177,0±6,5 ^{a,b}	203,1±11 ^{a,b}	194,5±7,2 ^{a,b}	158,0±11 ^{a,b}	190,3±5,3 ^{a,b}
	TG	149,9±17	93,0±7 ^a	100,3±10 ^a	95,3±9 ^a	101,3±5 ^a	70,6±6 ^a	90,9±7 ^a
	GLI	127,4±6,4	196,7±10 ^a	138,9±4,0 ^b	168,1±4,9 ^{a,b}	156,9±4,8 ^{a,b}	135,4±6,5 ^b	164,9±9,5 ^{a,b}

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; CT, colesterol total (mg/dL); TG, triglicerídios (mg/dL); GLI, glicose (mg/dL), onde a = p<0,05 vs DP; b = p<0,05 vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

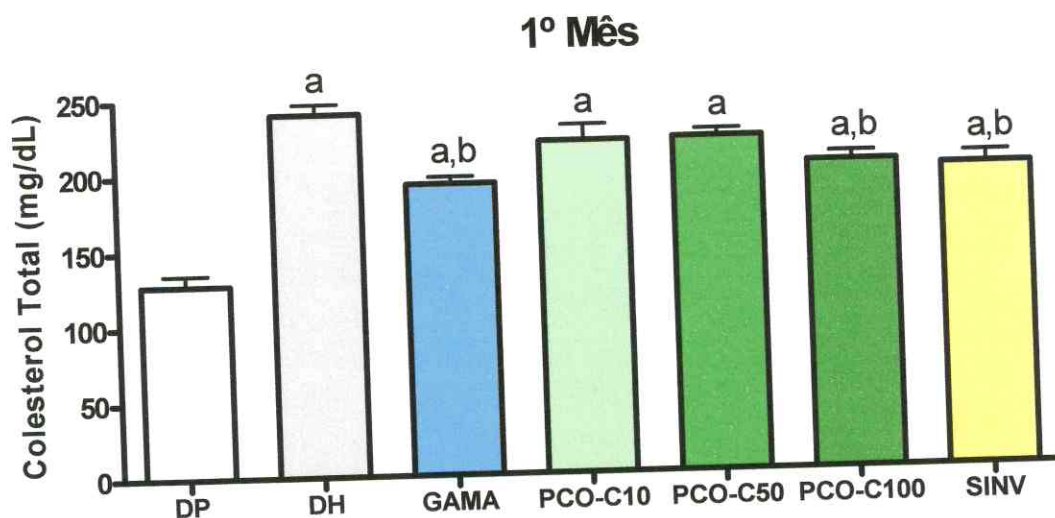


Figura 14. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na concentração plasmática de colesterol total em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento. Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a = p<0,05 vs DP; b = p<0,05 vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.2 Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

Semelhante ao ocorrido no primeiro mês, os valores de CT do grupo DH permaneceram expressivamente alterados ($p < 0,001$) em relação ao DP. Os grupos tratados com GAMA, PCO-C10, PCO-C50, PCO-C100 e SINV apresentaram o mesmo nível de significância ($p < 0,001$) na redução deste parâmetro quando comparados ao DH. Houve diferença significativa entre a dose de 100mg/kg em relação aos grupos PCO-C10 ($p < 0,01$), PCO-C50 ($p < 0,05$) e SINV ($p < 0,05$) (Tabela 4, Figura 14).

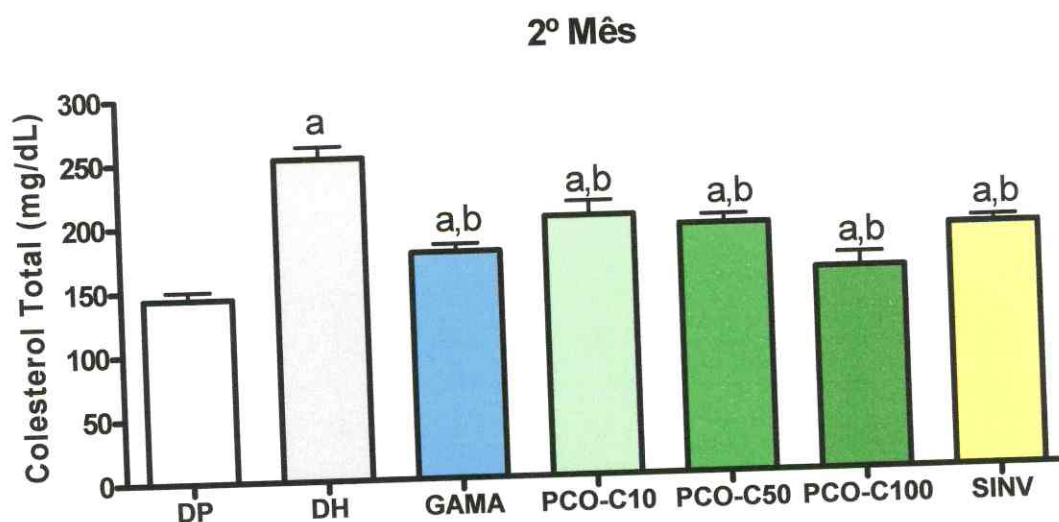


Figura 15. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na concentração plasmática de colesterol total em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.3 Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas taxas de triglicerídios de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.

O grupo DH apresentou redução significativa ($p < 0,01$) frente aos níveis de TG dos animais do grupo DP. Os demais grupos que receberam a ração hipercolesterolêmica também apresentaram redução significativa dos níveis de TG em relação ao grupo que recebeu ração padrão. Embora sem significância em relação aos demais, os grupos PCO-C100 e SINV apresentaram as menores taxas de TG (Tabela 4, Figura 15).

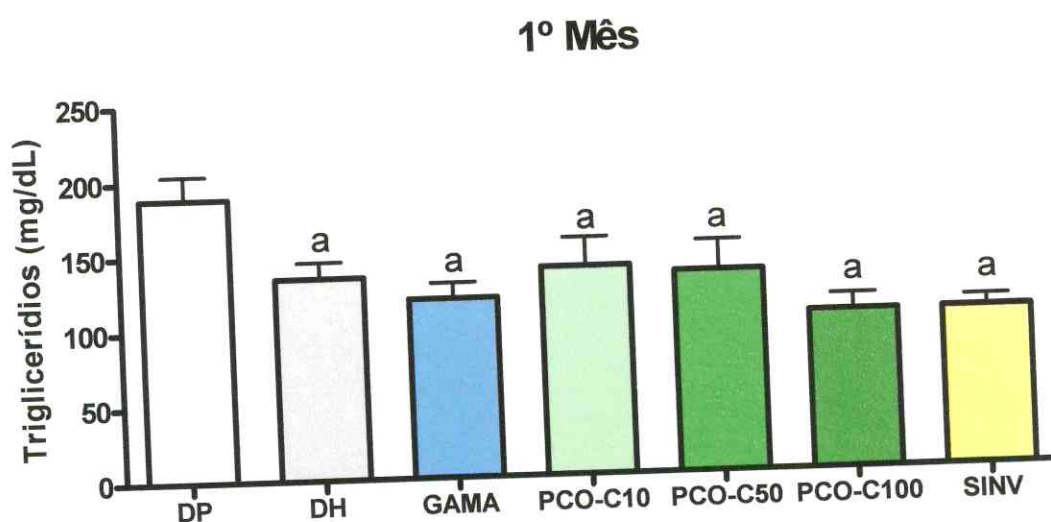


Figura 16. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas plasmáticas de triglicerídios em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.4 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas de triglicerídios de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

Todos os grupos que receberam ração hipercolesterolêmica apresentaram valores de TG menores do que os demonstrados pelo DP, do mesmo modo aos resultados encontrados no primeiro mês ($p < 0,05$). Os animais que receberam a dose de 100mg/kg apresentaram os menores níveis de TG (Tabela 4, Figura 16).

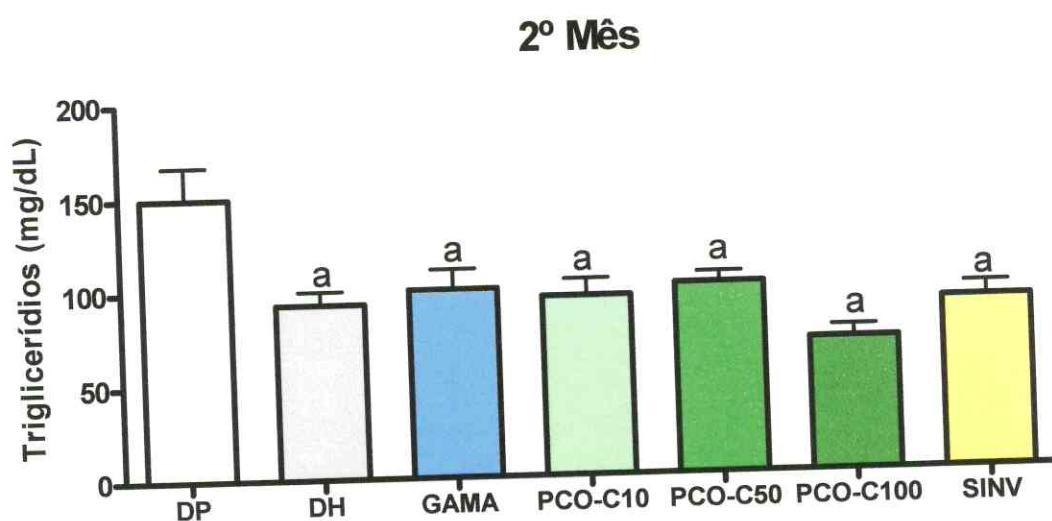


Figura 17. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas plasmáticas de triglicerídios em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde $a = p < 0,05$ vs DP (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.5 Avaliação do efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento.

No primeiro mês de tratamento após a indução com a ração hipercolesterolêmica, o grupo DH apresentou taxas de glicose (GLI) acima dos valores ($p < 0,001$) dos animais que receberam dieta padrão. Não houve diferença significativa entre as doses do PCO-C testadas, embora todas elas tenham apresentado redução significativa da glicemia, PCO-C10 ($p < 0,01$), PCO-C50 ($p < 0,01$) e PCO-C100 ($p < 0,001$) em relação ao grupo DH. O grupo tratado com GAMA também exibiu diminuição expressiva ($p < 0,001$) em relação aos animais que receberam somente ração hipercolesterolêmica. Os camundongos que receberam SINV como alternativa de tratamento apresentaram redução significativa da glicose plasmática ($p < 0,05$) quando comparada aos animais do grupo DH (Tabela 4, Figura 17).

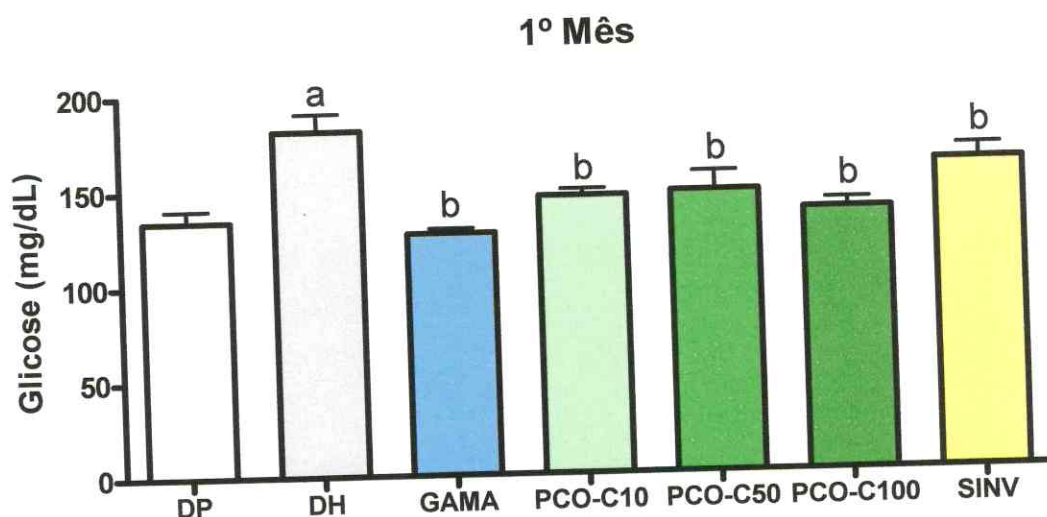


Figura 18. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 1 mês de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.6 Avaliação do efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

A concentração plasmática de glicose do grupo DH manteve-se significativamente diferente ($p < 0,001$) em relação ao DP. De maneira similar ao primeiro mês, os grupos tratados com GAMA, PCO-C e SINV apresentaram redução dos níveis glicêmicos da seguinte forma: GAMA ($p < 0,001$), PCO-C10 ($p < 0,05$), PCO-C50 ($p < 0,01$), PCO-C100 ($p < 0,001$) e SINV ($p < 0,01$) apresentaram redução significativa das taxas de glicose em relação ao DH (Tabela 4, Figura 18).

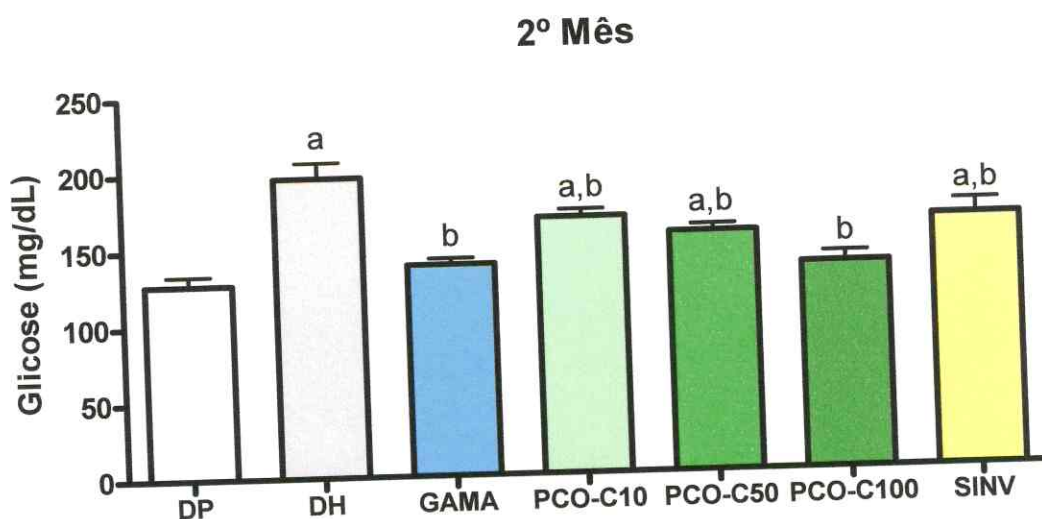


Figura 19. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nos níveis plasmáticos de glicose em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.7 Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade catalítica da ALT de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

Não houve diferença significativa dos níveis de ALT entre as drogas testadas e os grupos controle. Do mesmo modo que a AST (Tabela 5, Figura 20), as doses utilizadas do PCO-C para a avaliação da ALT (Tabela 5, Figura 19) exibiram as menores atividades enquanto o grupo SINV apresentou uma maior ação enzimática.

Tabela 5. Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade enzimática de AST e ALT e nas concentrações plasmáticas de Uréia e Creatinina de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica

	DP	DH	GAMA	PCO-C10	PCO-C50	PCO-C100	SINV
ALT	36,4±0,7	39,8±2,1	36,8±3,6	28,3±3,1	30,0±2,1	34,2±3,7	51,0±9,5
AST	85,2±4,3	88,5±4,2	83,2±7,1	83,0±4,9	77,7±6,8	85,7±1,6	94,2±6,9
UR	45,2±1,6	58,0±5,6 ^a	42,0±2,8 ^b	51,0±3,5	42,2±2,8 ^b	40,2±1,3 ^b	45,3±3,0 ^b
CRE	0,34±0,03	0,35±0,02	0,37±0,03	0,35±0,02	0,37±0,03	0,35±0,02	0,40±0,02

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; ALT, alanina aminotransferase (U/L); AST, aspartato aminotransferase (U/L); UR, uréia (mg/dL); CRE, creatinina (mg/dL), onde a= p<0,05 vs DP; b = p<0,05 vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

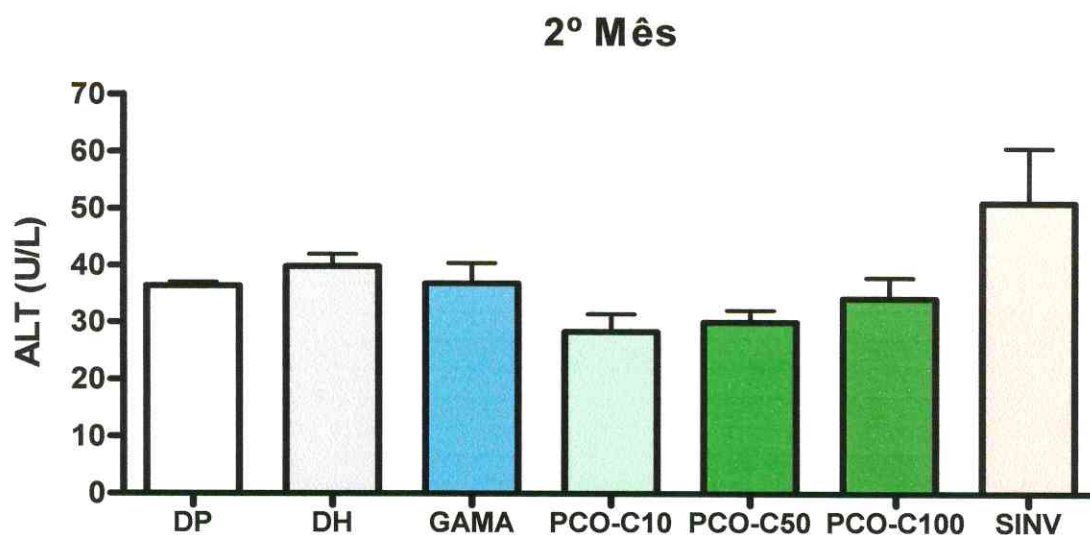


Figura 20. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na atividade catalítica da ALT de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.8 Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade catalítica da AST de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

Não houve diferença expressiva na avaliação da atividade catalítica da AST entre todos os grupos avaliados. As doses utilizadas do PCO-C exibiram as menores atividades, enquanto o grupo SINV apresentou uma maior ação enzimática (Tabela 5, Figura 20).

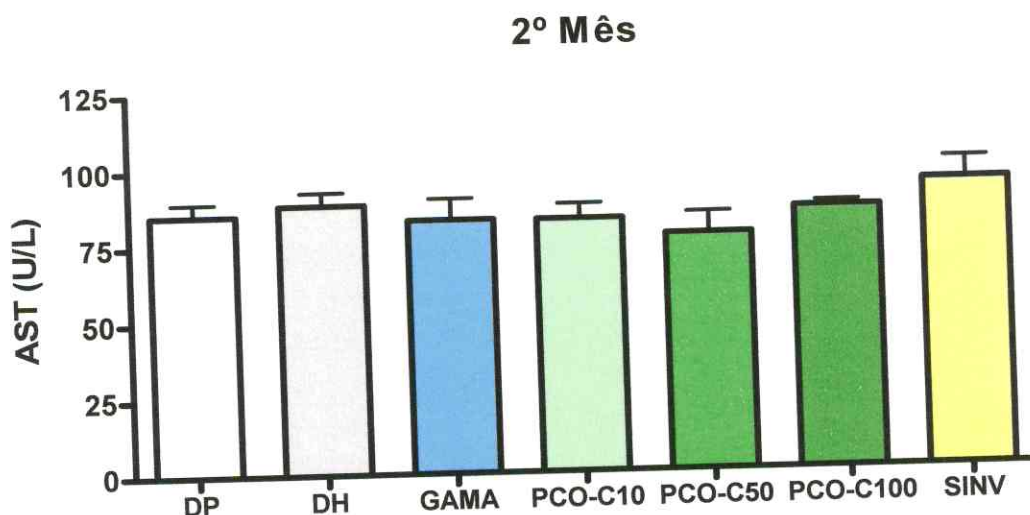


Figura 21. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina na atividade catalítica da AST de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.9 Ação do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas taxas plasmáticas de uréia de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

O grupo DH apresentou níveis de uréia significativamente ($p < 0,05$) superiores aos apresentados pelo DP. Os grupos SINV, GAMA e PCO-C50 apresentaram o mesmo grau de significância ($p < 0,05$) quando comparados ao controle positivo, enquanto a dose de 100mg/kg apresentou as menores ($p < 0,01$) taxas de uréia plasmática (Tabela 5, Figura 21).

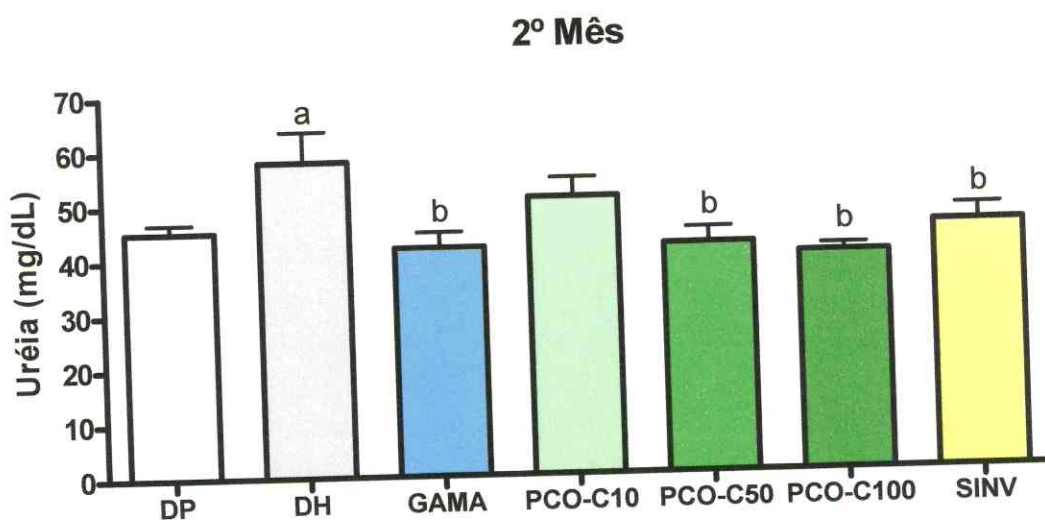


Figura 22. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas taxas plasmáticas de uréia de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.10 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de creatinina em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento.

A ração hipercolesterolêmica e as drogas testadas não modificaram os níveis de creatinina em relação ao DP. Não houve diferença significativa entre os grupos avaliados (Tabela 5, Figura 22).

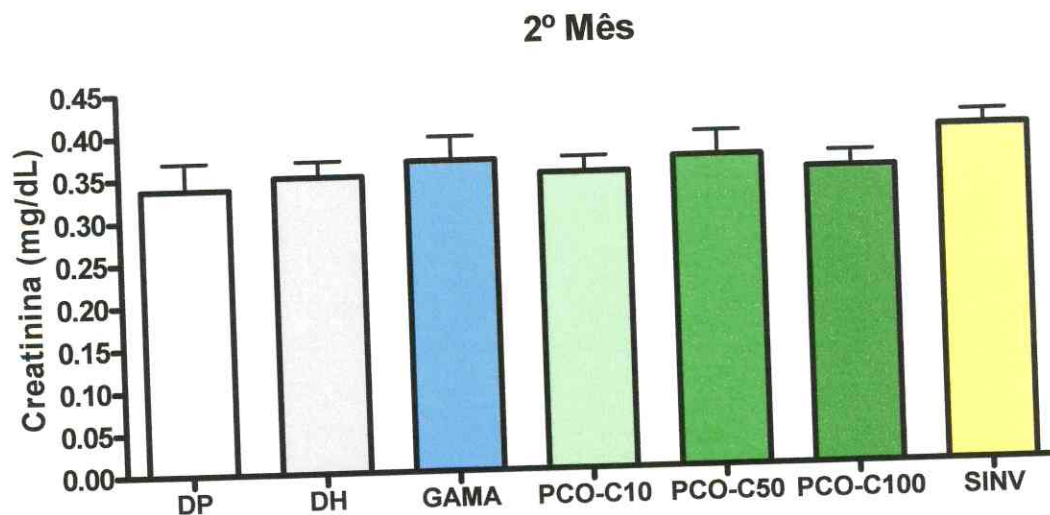


Figura 23. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de creatinina de camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica após 2 meses de tratamento. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; SINV, sinvastatina na dose de 20mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.1.11 Análise histológica dos órgãos/tecidos dos animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses e ao tratamento com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina.

De acordo com a análise dos órgãos/tecidos, verificou-se que nem DH nem o tratamento com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina foram capazes de induzir alterações nas estruturas histológicas do rim dos animais nas quais as lâminas foram submetidas à análise através de microscopia ótica. Tal fato pode ser demonstrado através das microfotografias representativas apresentadas na figura 23 (rim).

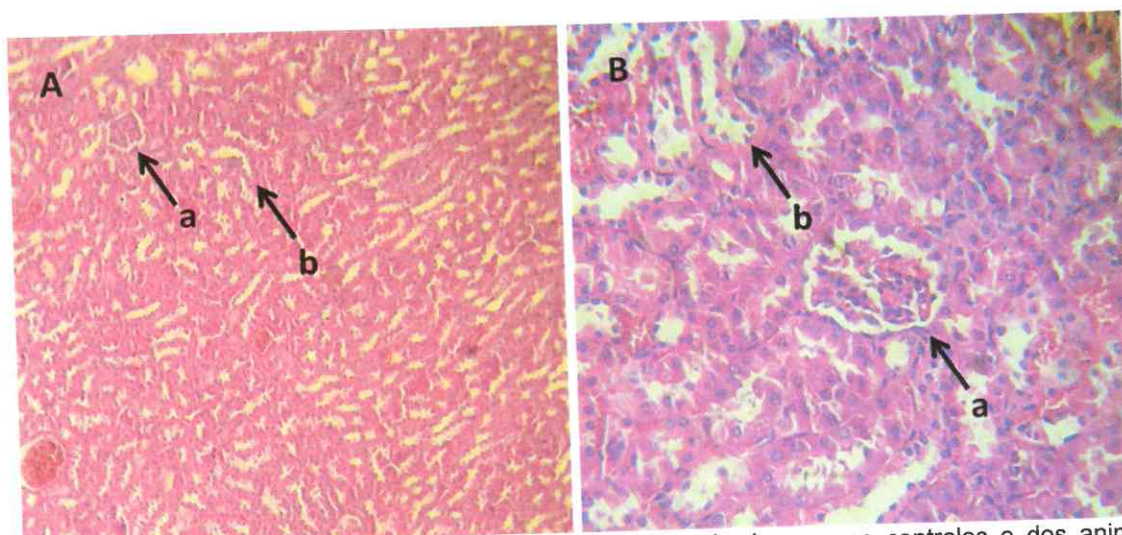


Figura 24. Microfotografia representativa do rim dos animais dos grupos controles e dos animais tratados com os com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina. DP, dieta padrão; DH, dieta hipercolesterolêmica; GAMA, Gama-Orizanol 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C 100mg/kg; SINV, Sinvastatina 20mg/kg. As estruturas analisadas através de microscopia ótica demonstram padrões de normalidade. Em A, verifica-se um aumento de 100x e em B, um aumento de 400x, onde a seta identificada por "a" demonstra um glomérulo normal e "b" estrutura tubular íntegra.

Ao se realizar a análise histológica do fígado dos animais submetidos ao protocolo com dieta hipercolesterolêmica e ao tratamento com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina, verificou-se que a dieta hipercolesterolêmica foi capaz de promover uma deposição acentuada de gordura hepática (Figura 24 B), compatível com um quadro de esteatose ao se comparar com o padrão histológico apresentado pelo grupo que recebeu dieta padrão (Figura 24 A).

Os tratamentos com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina foram efetivos em diminuir essa deposição de gordura em relação ao grupo que recebeu somente DH, como visualizado ao se comparar a figura 24 B (grupo tratado com dieta hipercolesterolêmica) e as figuras 24 C, D, E, F e G (microfotografia representativa dos grupos que receberam dieta hipercolesterolêmica e foram tratados com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina).

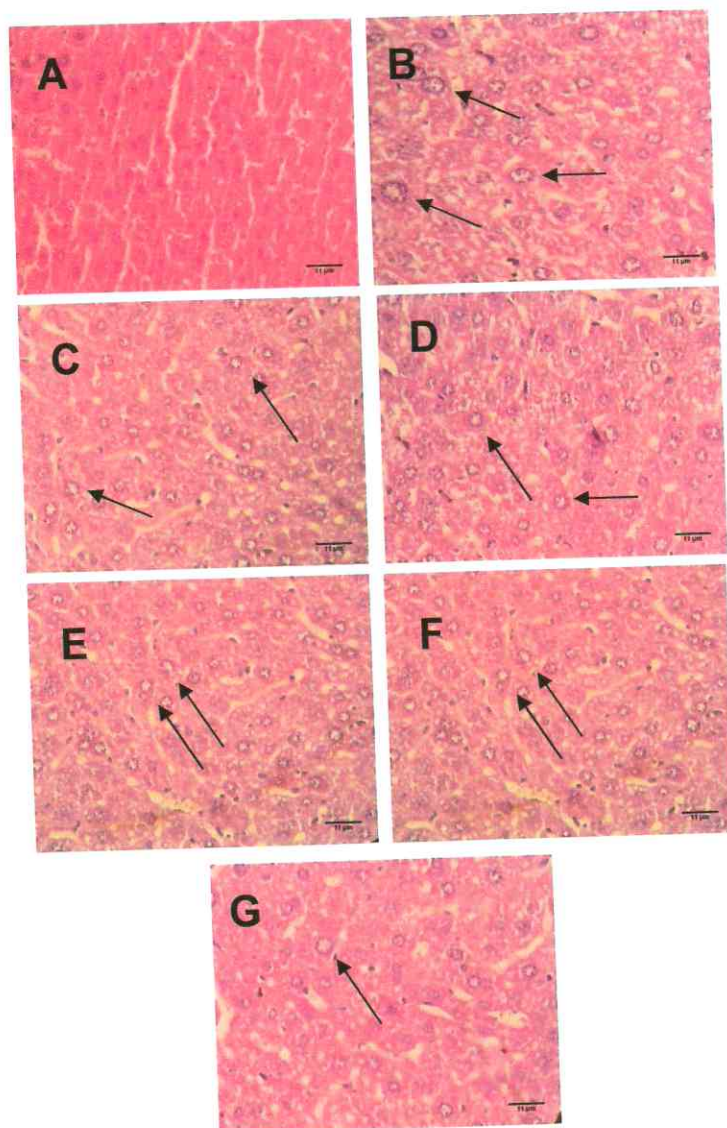


Figura 25. Microfotografia representativa do fígado dos animais dos grupos controles e dos animais tratados com PCO-C, Gama-Orizanol e Sinvastatina. DP, dieta padrão (A); DH, dieta hipercolesterolêmica (B); GAMA, Gama-Orizanol 50mg/kg (C); PCO-C10, PCO-C 10mg/kg (D); PCO-C50, PCO-C 50mg/kg (E); PCO-C100, PCO-C 100mg/kg (F); SINV, Sinvastatina 20mg/kg (G). As estruturas analisadas através de microscopia ótica demonstram padrões de normalidade para figura 24 A, depósito de gordura de tamanho acentuado, compatível com esteatose para as figuras 24 B e diminuição nesse padrão de deposição para as figuras 24 C, D, E, F e G no aumento de 400x. As setas indicam vacuolizações compatíveis com depósito de material lipídico visíveis em microscopia ótica.

5.2 Estudo do efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil em protocolo de indução da dislipidemia por Triton WR1339.

5.2.1 Atividade do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

O Triton induziu uma expressiva hipercolesterolemia ($p < 0,001$) quando comparado com o grupo Normal. Os grupos GAMA ($p < 0,05$), PCO-C50 ($p < 0,05$), PCO-C100 ($p < 0,01$) e GEMF ($p < 0,05$) apresentaram diminuição significativa dos valores plasmáticos de CT quando comparados com o grupo Triton. As doses de 50 e 100mg/kg do PCO-C apresentaram-se estatisticamente diferentes quando comparadas com a de 10mg/kg (Tabela 6, Figura 25).

Tabela 6. Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídios e glicose na dislipidemia induzida por Triton WR1339.

	Normal	Triton	GAMA	PCO-C10	PCO-C50	PCO-C100	GEMF	
24h	CT	130,8±6,4	545,3±30 ^a	369,4±36 ^{a,b}	513,1±62 ^a	346,8±41 ^{a,b}	317,8±41 ^{a,b}	395,5±35 ^{a,b}
	TG	95,88±3,6	4818±199 ^a	2805±410 ^{a,b}	4521±225 ^a	4027±428 ^a	3303±437 ^{a,b}	2834±204 ^{a,b}
	GLI	139,9±7,0	238,7±5,9 ^a	172,6±18,7 ^b	241,1±12,7 ^a	219,5±8,2 ^a	182,4±12,6 ^b	205,5±15,7 ^a
48h	CT	143,7±6,6	252,6±9,5 ^a	177,0±18 ^b	271,9±30 ^a	232,9±38 ^{a,b}	189,3±18 ^b	232,5±22 ^{a,b}
	TG	153,0±18	1618±150 ^a	559,0±173 ^b	1546±186 ^a	1094±155 ^{a,b}	672,5±170 ^{a,b}	829,6±116 ^{a,b}
	GLI	129,3±9	196,6±9 ^a	149,9±11	195,6±12 ^a	176,9±17	154,3±12	171,9±18

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; CT, colesterol total (mg/dL); TG, triglicerídios (mg/dL); GLI, glicose (mg/dL), onde a= $p < 0,05$ vs DP; b = $p < 0,05$ vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

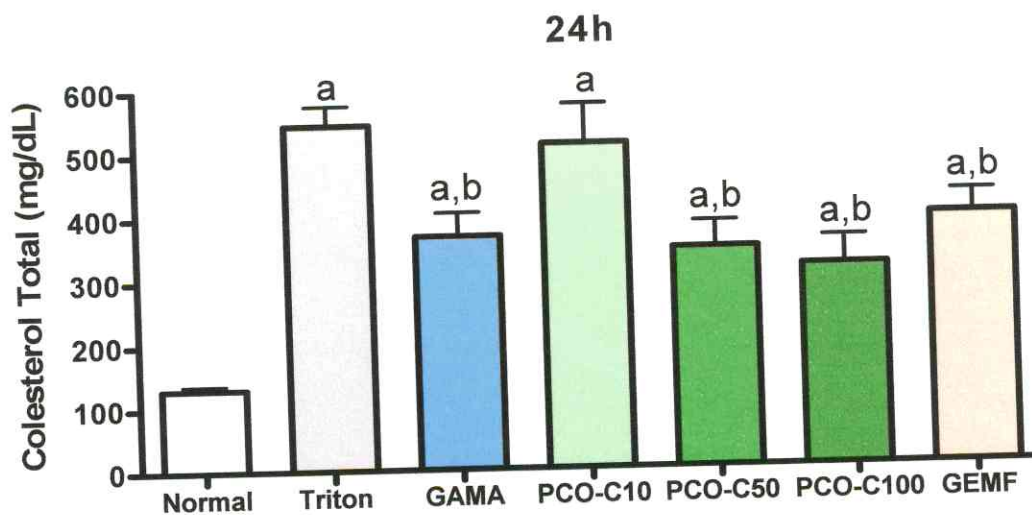


Figura 26. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.2 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

A concentração plasmática de CT do grupo Triton manteve-se significativamente diferente ($p < 0,001$) em relação ao grupo Normal. Os grupos tratados com as drogas testes, com exceção de PCO-C10, apresentaram redução dos níveis plasmáticos de CT em relação ao Triton da seguinte forma: GAMA ($p < 0,001$), PCO-C50 ($p < 0,05$), PCO-C100 ($p < 0,01$) e GEMF ($p < 0,05$). Não existiu diferença significativa entre os grupos (Tabela 6, Figura 26).

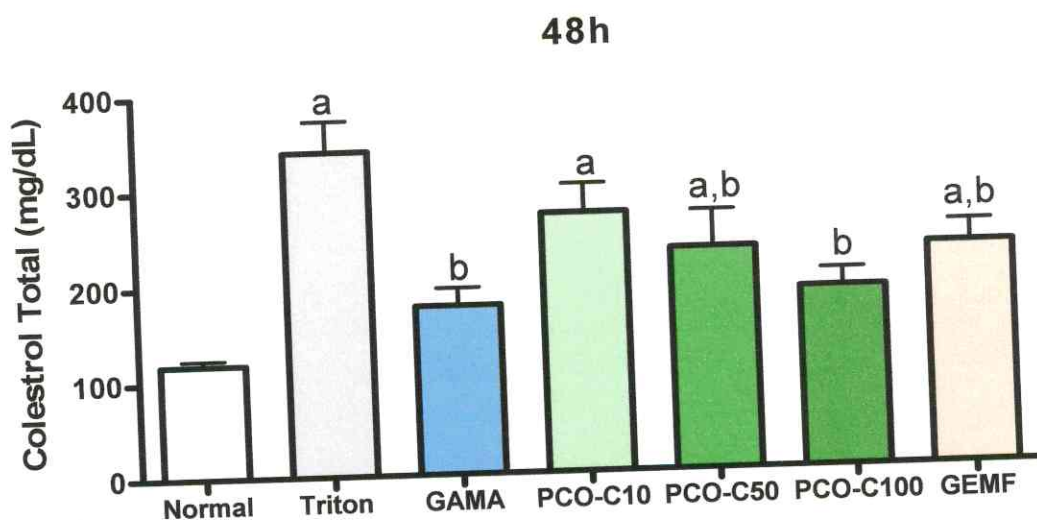


Figura 27. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.3 Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

Nas 24 horas após a administração do Triton, observou-se um aumento expressivo ($p < 0,001$) dos triglicerídios em todos os grupos quando comparado ao grupo Normal. A dose de 100mg/kg ($p < 0,05$) e os grupos GAMA ($p < 0,01$) e GEMF ($p < 0,01$) foram efetivos em diminuir significativamente os valores plasmáticos de TG (Tabela 6, Figura 27).

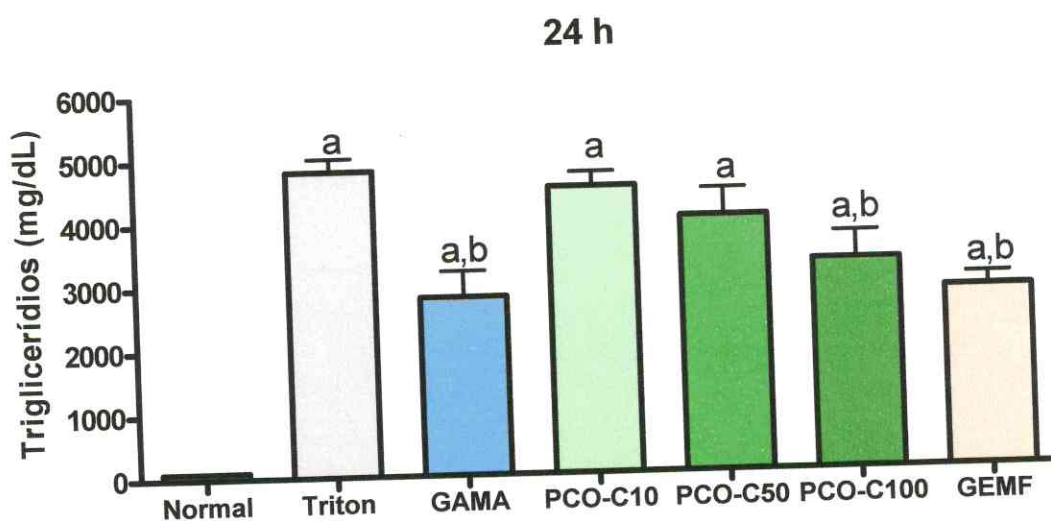


Figura 28. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.4 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

Como ocorreu após 24 horas de indução, o grupo Triton apresentou diferença estatística relevante ($p < 0,001$) dos níveis de TRI plasmático quando relacionada ao grupo Normal. Os grupos GAMA ($p < 0,001$), PCO-C50 ($p < 0,05$), PCO-C100 ($p < 0,001$) e GEMF ($p < 0,01$) demonstraram eficácia em reduzir os níveis plasmáticos de TRI quando comparados com o grupo Triton (Tabela 6, Figura 28).

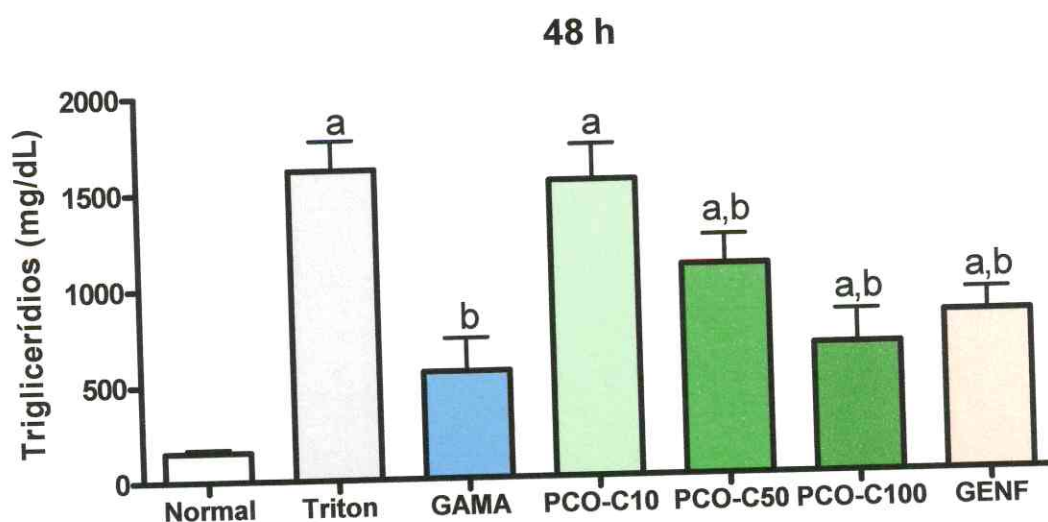


Figura 29. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.5 Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

Os animais que receberam Triton para indução de dislipidemia apresentaram uma diferença significativa ($p < 0,001$) nas taxas plasmáticas de glicose em relação aos animais do grupo normal. Apenas os grupos GAMA ($p < 0,05$) e PCO-C100 ($p < 0,05$) diminuíram estatisticamente os níveis plasmáticos de glicose quando comparados com o Triton (Tabela 6, Figura 29).

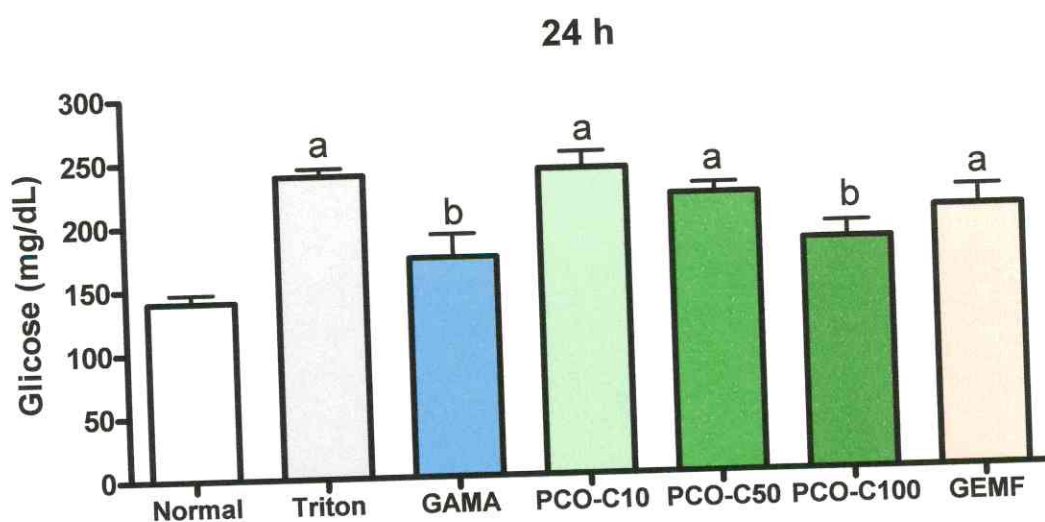


Figura 30. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.6 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

Os valores de glicose do grupo Triton permaneceram alterados ($p < 0,01$) em relação ao grupo normal. Após 48 horas, apenas a dose de 10mg/kg diferiu estatisticamente do grupo normal (Tabela 6, Figura 30).

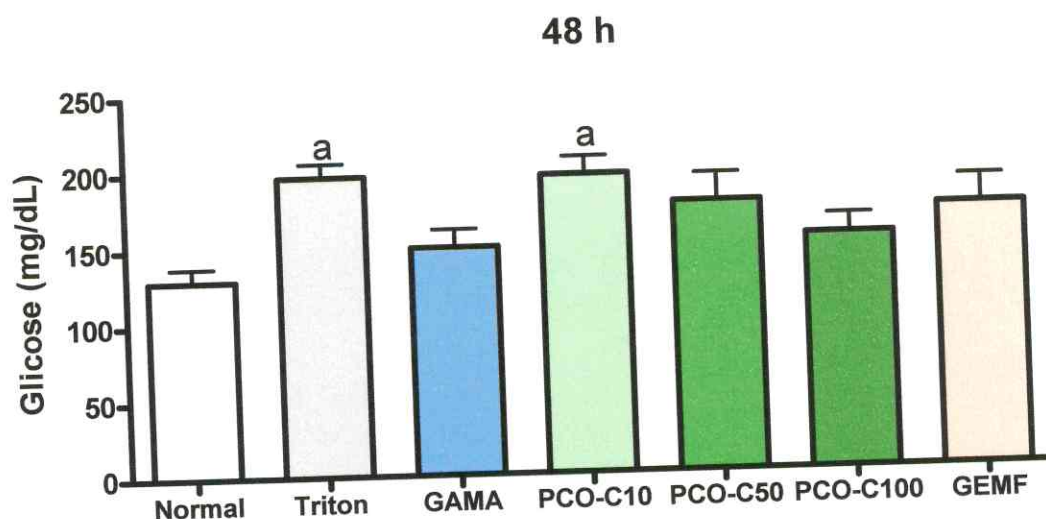


Figura 31. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.7 Avaliação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

Não houve diferença expressiva na avaliação da atividade catalítica da ALT entre todos os grupos avaliados (Tabela 7, Figura 31).

Tabela 7. Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade enzimática de AST e ALT e nas concentrações plasmáticas de Uréia e Creatinina na dislipidemia induzida por Triton WR1339.

	Normal	Triton	GAMA	PCO-C10	PCO-C50	PCO-C100	GEMF
ALT	45,0±8,7	68,8±8,9	50,5±10,7	46,3±7,2	50,4± 6,4	43,0±6,2	68,6±13,9
AST	59,5±1,3	83,8±12,4	66,5±4,8	61,8±6,8	80,5±12,1	56,60±3,6	68,5±8,7
URE	38,1±3,5	48,8±4,2	35,3±2,8	43,7±3,7	46,6±4,8	45,9±2,6	40,3±3,2
CRE	0,42±0,05	0,48±0,06	0,45±0,05	0,44±0,05	0,45±0,05	0,48±0,07	0,52±0,06

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; ALT, alanina aminotransferase (U/L); AST, aspartato aminotransferase (U/L); URE, uréia (mg/dL); CRE, creatinina (mg/dL), onde a= p<0,05 vs DP; b = p<0,05 vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

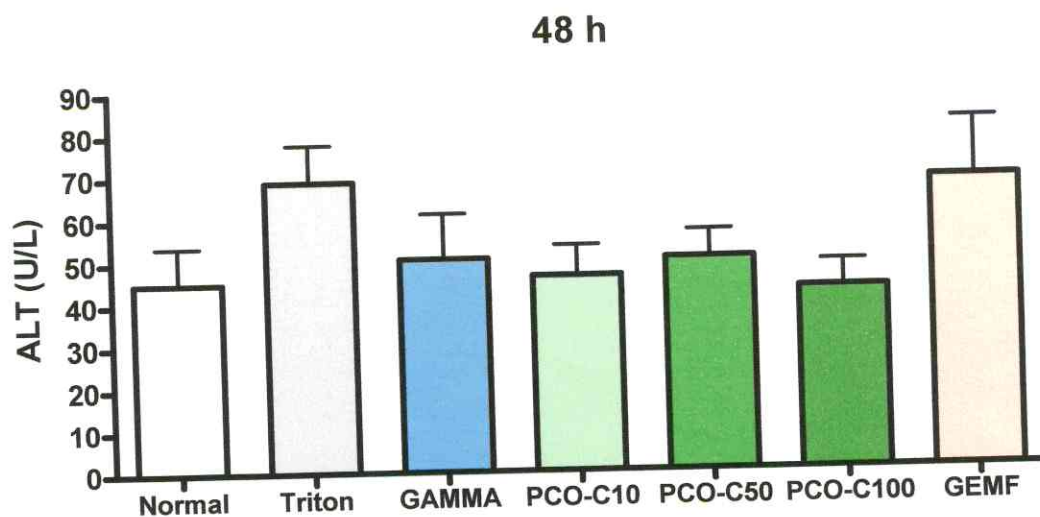


Figura 32. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.8 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

Não houve diferença expressiva na avaliação da atividade catalítica da AST entre todos os grupos avaliados (Tabela 7, Figura 32).

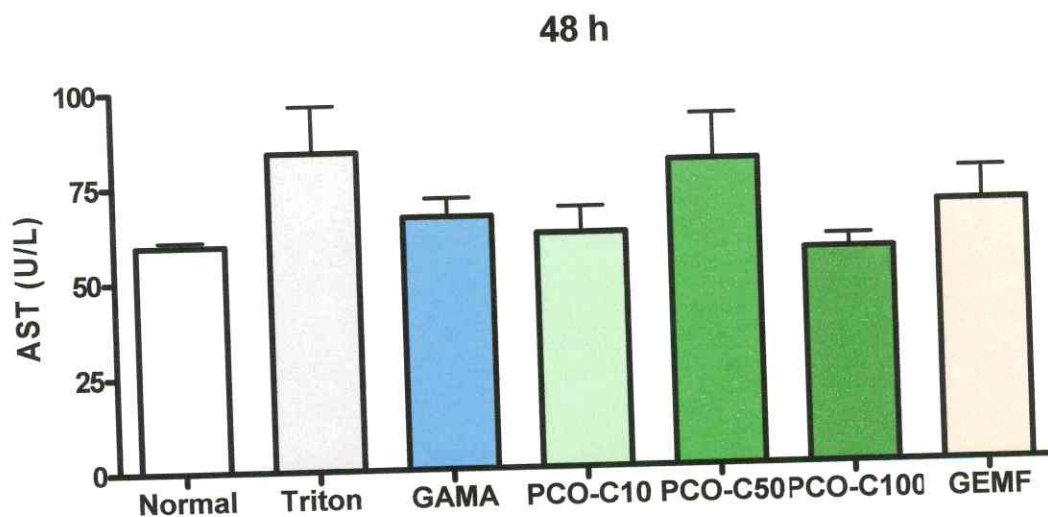


Figura 33. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.9 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

O controle positivo e as drogas testadas não modificaram a concentração plasmática de uréia em relação ao grupo Normal. Não houve diferença efetiva entre os grupos avaliados (Tabela 7, Figura 33).

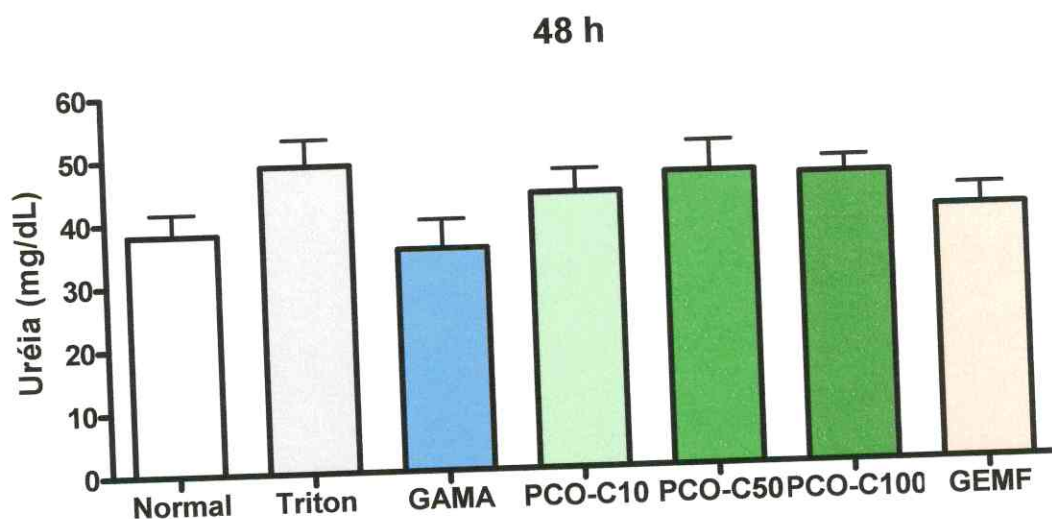


Figura 34. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.2.10 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339.

O controle positivo e as drogas testadas não modificaram as taxas plasmáticas de creatinina em relação ao grupo Normal. Não houve diferença efetiva entre os grupos avaliados (Tabela 7, Figura 34).

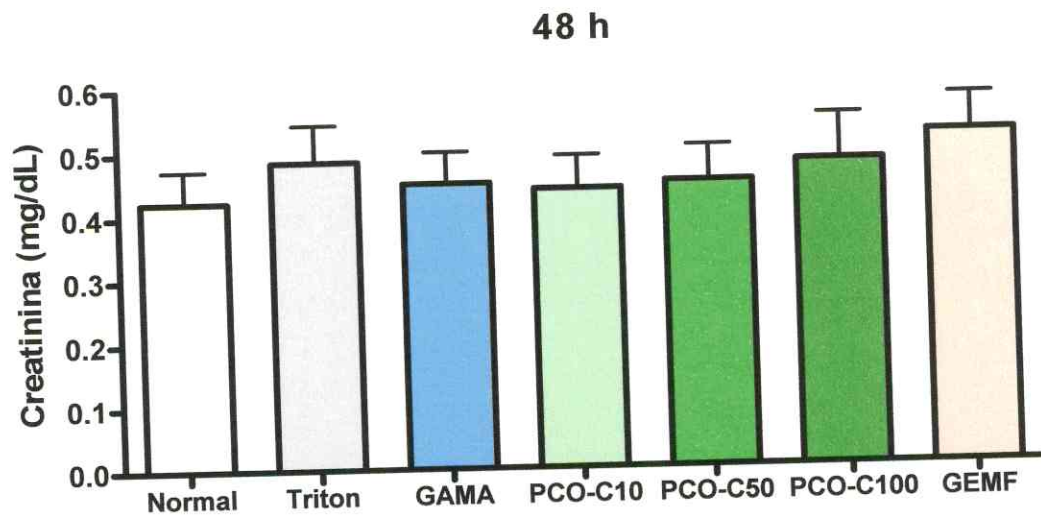


Figura 35. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Triton WR1339. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Triton (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3 Estudo do efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e gemfibrozil em protocolo de indução da dislipidemia por Poloxamer 407.

5.3.1 Avaliação da ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

O Poloxamer mostrou efetividade em produzir uma diferença significativa nas concentrações de colesterol total plasmático ($p < 0,001$) em relação ao grupo normal. Houve redução de CT nos grupos tratados com GAMA ($p < 0,001$), GEMF ($p < 0,01$) e PCO-C, porém somente na maior dose houve diferença significativa ($p < 0,01$) em relação ao controle positivo (Tabela 8, Figura 35).

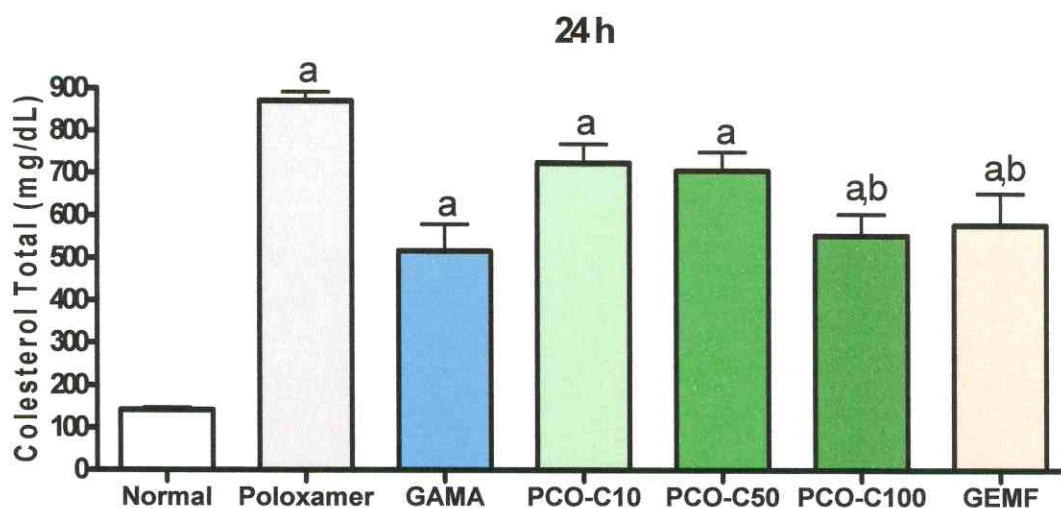


Figura 36. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

Tabela 8. Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídios e glicose na dislipidemia induzida por Poloxamer 407.

	Normal	Poloxamer	GAMA	PCO-C10	PCO-C50	PCO-C100	GEMF	
24h	CT	141,3±5	871,8±21 ^a	517,1±64 ^a	725,3±45 ^a	707,4±45 ^a	555,3±50 ^{a,b}	580,6±75 ^{a,b}
	TG	125,2±13	8512±203 ^a	6939±452 ^{a,b}	7973±296 ^a	7161± 245 ^{a,b}	6952±478 ^{a,b}	6716±451 ^{a,b}
	GLI	145,3±10	374,9±28 ^a	275,2±25 ^{a,b}	345,2±19 ^a	288,8±21 ^{a,b}	253,5±21 ^b	309,2±22 ^a
48h	CT	141,9±8	691,8±21 ^a	454,5±63 ^{a,b}	595,0±48 ^a	499,0±28 ^{a,b}	434,6±69 ^{a,b}	469,5±69 ^{a,b}
	TG	268,3±22	5621±350 ^a	3578±308 ^{a,b}	4482±430 ^{a,b}	3630±493 ^{a,b}	2638±445 ^{a,b}	4140 ±226 ^{a,b}
	GLI	155,3±11	230,1±7 ^a	191,0±6 ^{a,b}	214,7±13 ^a	208,6±10 ^a	187,9±6 ^{a,b}	201,4±6 ^a
72h	CT	128,7±9	385,6±34 ^a	272,2±35 ^{a,b}	348,0±23 ^a	282,3±25 ^{a,b}	233,1±28 ^{a,b}	272,7±37 ^{a,b}
	TG	297,6±41	2904±438 ^a	1354±180 ^{a,b}	1940±195 ^{a,b}	1572±174 ^{a,b}	1225±222 ^{a,b}	1331±204 ^{a,b}
	GLI	145,0±10	216,9±7	172,9±10	210,5±3	194,3±5	164,2±11	205,7±5

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; CT, colesterol total (mg/dL); TG, triglicerídios (mg/dL); GLI, glicose (mg/dL), onde a= p<0,05 vs DP; b = p<0,05 vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.2 Avaliação da ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Semelhante ao ocorrido nos resultados obtidos em 24 horas, os valores de CT do grupo Poloxamer permaneceram significativamente alterados ($p < 0,001$) em relação ao controle Normal. A PCO-C nas doses de 50mg/kg ($p < 0,05$) e 100mg/kg ($p < 0,01$) foi capaz de diminuir expressivamente os níveis de CT depois de 48h em relação ao grupo Poloxamer. Redução estatisticamente significativa de CT foi observada também nos grupos de animais tratados com GAMA ($p < 0,05$) e GEMF ($p < 0,05$) (Tabela 8, Figura 36).

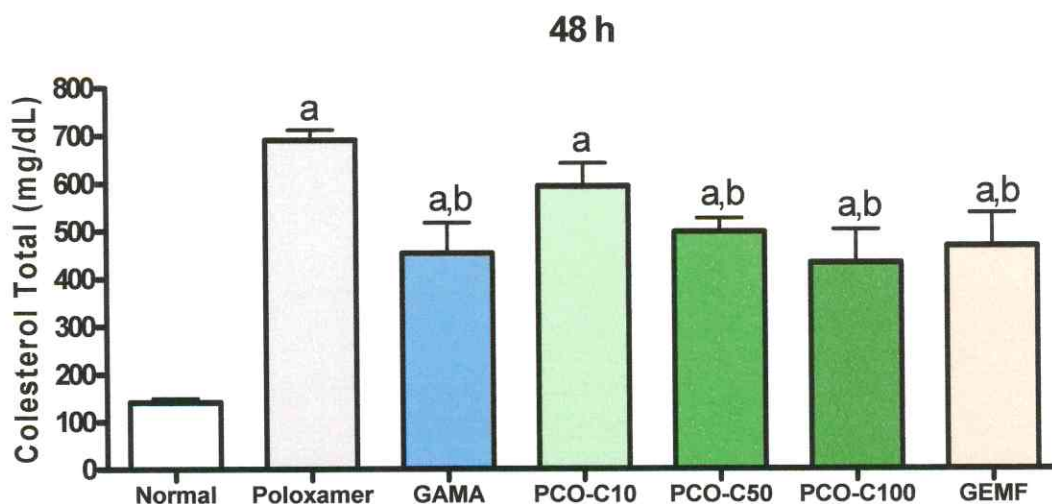


Figura 37. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.3 Avaliação da ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Mesmo após 72 horas, os valores de CT continuaram sendo significativamente maiores que os do grupo Normal. As doses de 50mg/kg ($p < 0,05$) e 100mg/kg ($p < 0,01$) do PCO-C apresentaram diferença significativa ao diminuir os resultados de CT em relação ao grupo Poloxamer. Da mesma forma que em 48 horas, redução estatisticamente significativa de CT foi observada também nos grupos de animais tratados com GAMA ($p < 0,05$) e GEMF ($p < 0,05$) (Tabela 8, Figura 37).

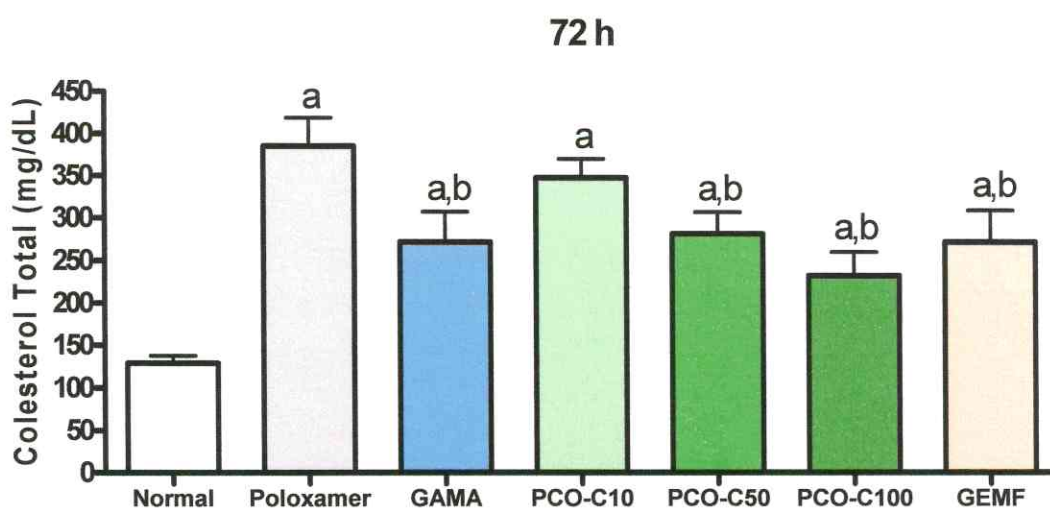


Figura 38. Resultado do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de colesterol total em camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.4 Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

O Poloxamer apresentou eficácia em induzir hipertrigliceridemia produzindo uma acentuada diferença ($p < 0,001$) em relação ao grupo Normal. Os grupos PCO-C50 ($p < 0,05$), PCO-C100 ($p < 0,05$), GAMA ($p < 0,05$) e GEMF ($p < 0,01$) foram eficazes em diminuir significativamente os níveis de TG plasmático em relação ao grupo Poloxamer. Não houve diferença entre os grupos tratados com a PCO-C, GAMA e GEMF (Tabela 8, Figura 38).

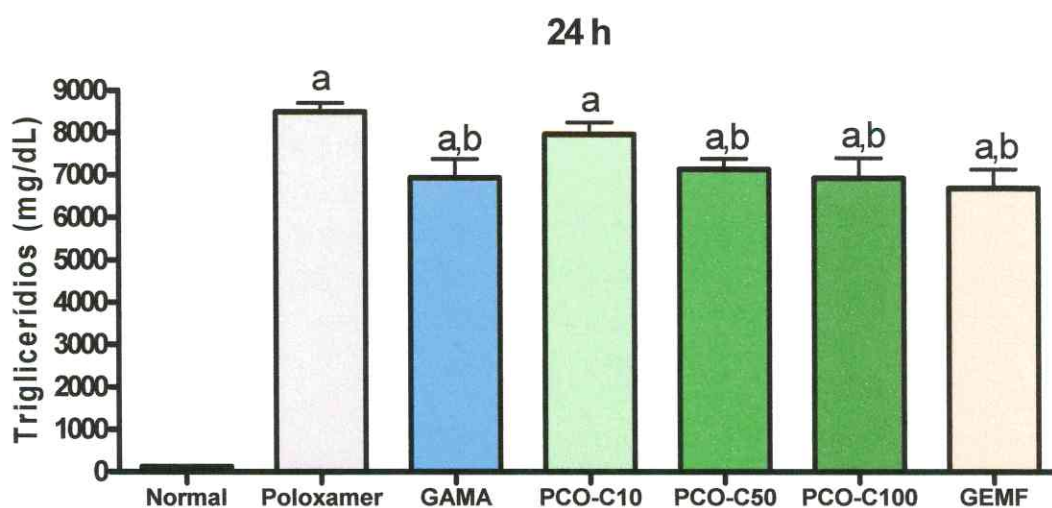


Figura 39. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.5 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

O Poloxamer continuou apresentando eficácia em induzir hipertrigliceridemia produzindo uma considerável diferença ($p < 0,001$) em relação ao grupo Normal. As doses de 10mg/kg ($p < 0,05$), 50mg/kg ($p < 0,001$) e 100 mg/kg ($p < 0,001$) do PCO-C, GAMA ($p < 0,001$) e SINV ($p < 0,05$) diminuíram significativamente os valores de TG no período de 48 horas. Evidenciou-se uma diferença estatística entre PCO-C100 em relação ao grupo PCO-C10 ($p < 0,05$) e o GEMF ($p < 0,05$) (Tabela 8, Figura 39).

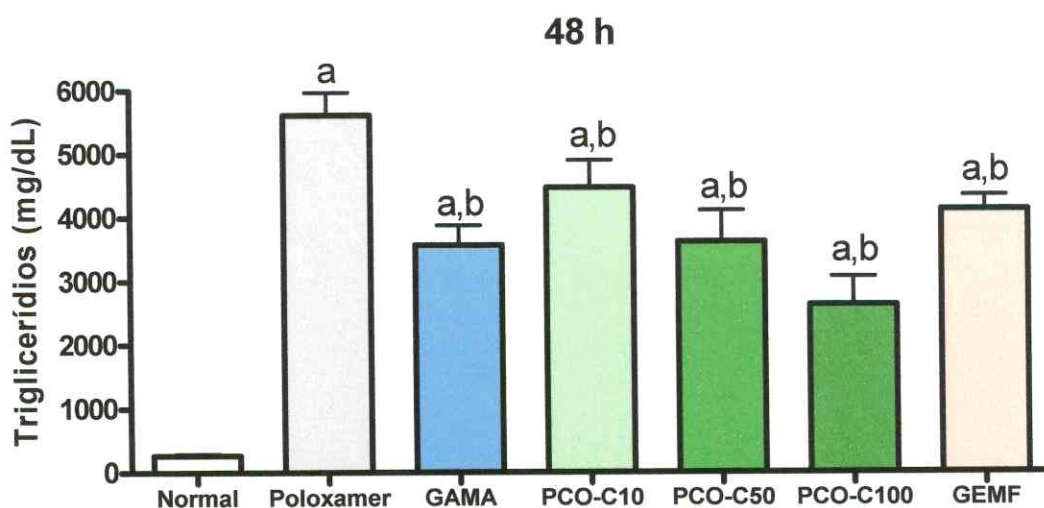


Figura 40. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.6 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Mesmo após 72 horas da indução o grupo Poloxamer permaneceu com os níveis de triglicerídios significativamente altos ($p < 0,001$) em relação ao grupo Normal. Os grupos GAMA ($p < 0,001$), PCO-C10 ($p < 0,01$), PCO-C50 ($p < 0,001$), PCO-C100 ($p < 0,001$) e GEMF ($p < 0,001$) foram eficazes em reduzir significativamente os valores plasmáticos de TG relacionando-os com o grupo Poloxamer. Não houve diferença estatística entre as doses do PCO-C, GAMA e GEMF (Tabela 8, Figura 40).

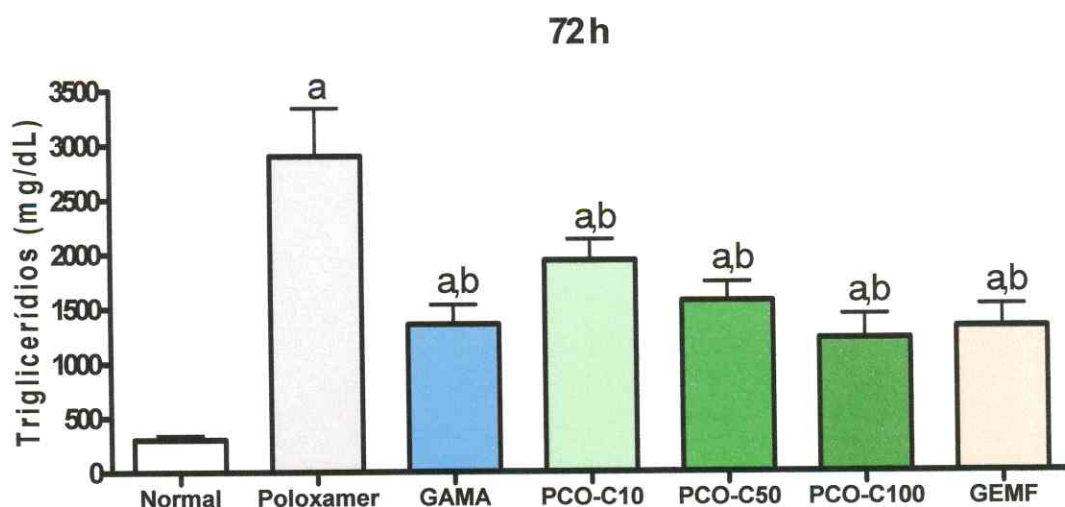


Figura 41. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de triglicerídios de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.7 Resultado da administração de PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Os animais que receberam Poloxamer para indução de dislipidemia apresentaram uma diferença significativa ($p < 0,001$) nas taxas plasmáticas de glicose em relação aos animais do grupo controle normal. Houve uma redução dos níveis de glicose com as doses testadas do PCO-C em relação ao grupo Poloxamer 24 horas após a indução de dislipidemia, sendo essa diferença significativa somente nas duas maiores doses 50mg/kg e 100mg/kg, mostrando $p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente. O grupo GEMF não produziu resposta significativa neste parâmetro quando relacionado ao grupo Poloxamer, diferentemente do GAMA ($p < 0,05$) (Tabela 8, Figura 41).

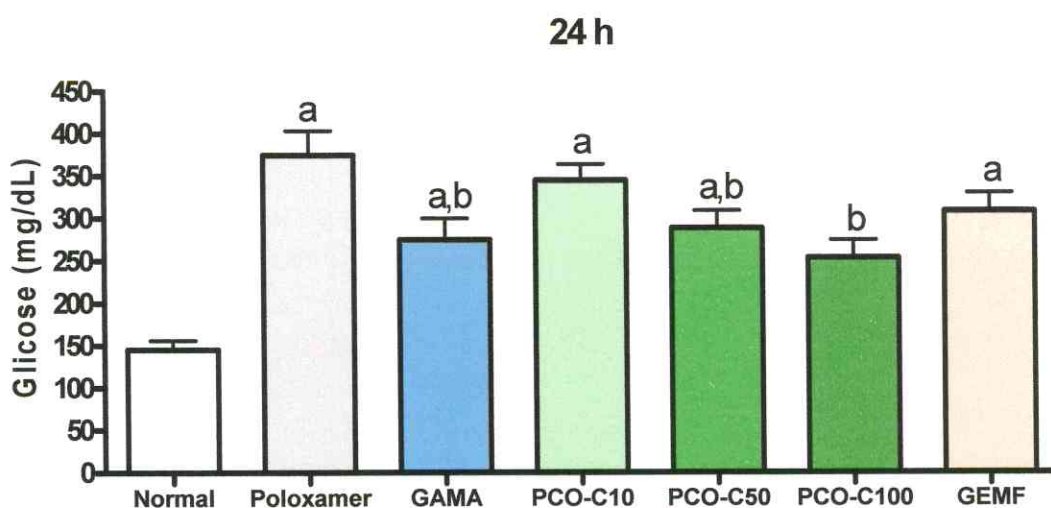


Figura 42. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 24 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.8 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

O grupo Poloxamer continuou apresentando um aumento significativo ($p < 0,001$) das taxas plasmáticas de glicose em relação ao controle negativo. Os grupos tratados com GAMA ($p < 0,05$) e PCO-C100 ($p < 0,05$) apresentaram diminuição expressiva em relação ao controle positivo. Não houve diferença relevante entre os grupos tratados com as diferentes concentrações do PCO-C, GAMA e GEMF (Tabela 8, Figura 42).

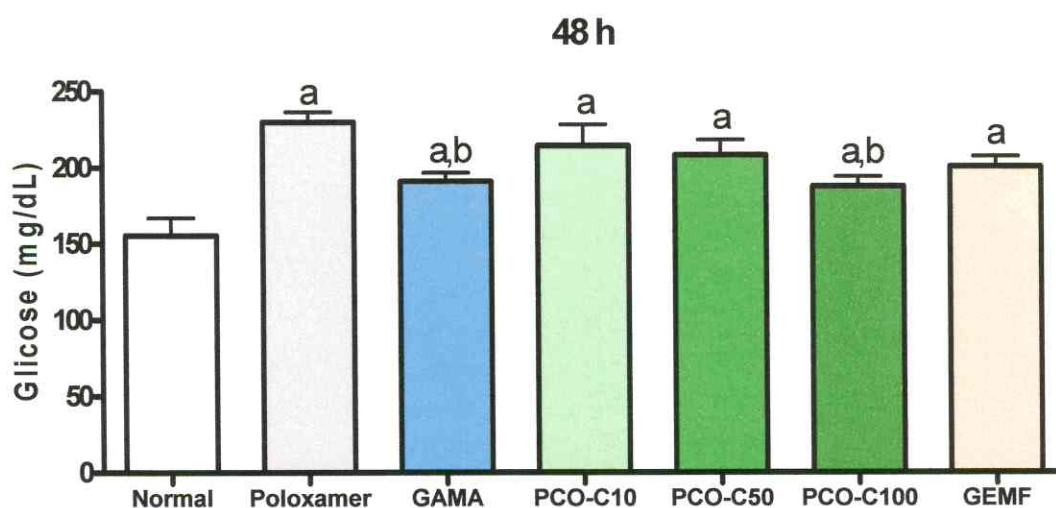


Figura 43. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a = $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.9 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Como ocorreu após 48 horas de indução, o grupo Poloxamer apresentou diferença estatística relevante ($p < 0,001$) dos níveis de glicose plasmática quando relacionada ao grupo Normal. Dentre todos os grupos, somente GAMA ($p < 0,01$) e PCO-C100 ($p < 0,001$) demonstraram eficácia em reduzir os valores glicêmicos quando comparados com o grupo Poloxamer. O grupo PCO-C100 mostrou diferença efetiva quando comparado com as outras doses 10 e 50mg/kg do PCO-C e o grupo GEMF (Tabela 8, Figura 43).

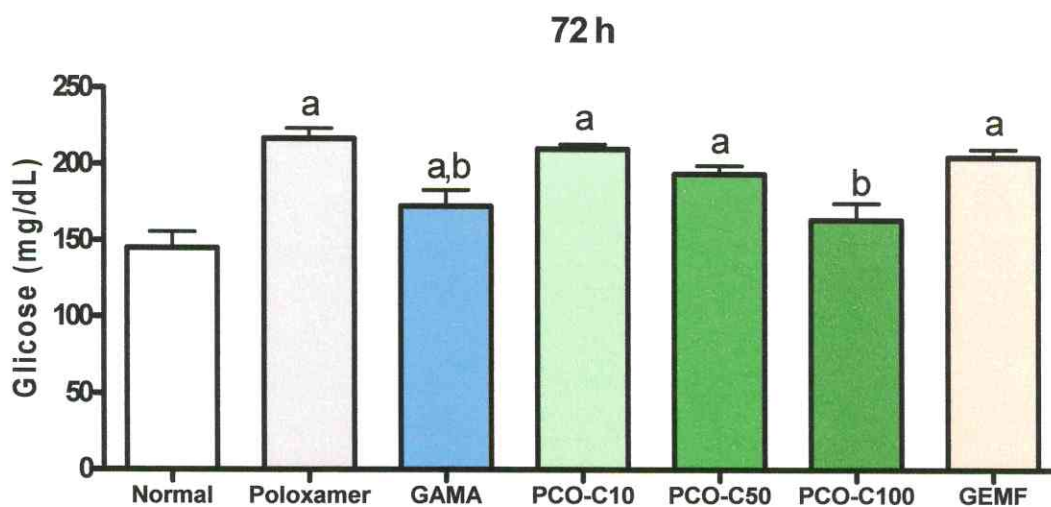


Figura 44. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nos níveis plasmáticos de glicose de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.10 Avaliação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Nenhum dos grupos estudados apresentou alterações na atividade catalítica da ALT após 72 horas da indução da dislipidemia em camundongos (Tabela 9, Figura 44).

Tabela 9. Efeito do PCO-C, do Gama-Orizanol e da Sinvastatina na atividade enzimática de AST e ALT e nas concentrações plasmáticas de Uréia e Creatinina na dislipidemia induzida Poloxamer 407.

	Normal	Poloxamer	GAMA	PCO-C10	PCO-C50	PCO-C100	GEMF
ALT	34,2±2	55,33±7	45,95±8	40,16±5	43,68±5	37,79±3	54,12±4
AST	86,1±7	89,5±15	69,2±6	70,4±8	68,75±13	68,4±9	70,0±9
URE	29,2±3	37,9±4	35,9±4	32,7±4	32,8±3	38,9±5	31,2±3
CRE	0,43±0,05	0,49±0,05	0,47±0,05	0,45±0,04	0,48±0,05	0,49±0,06	0,53±0,05

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; ALT, alanina aminotransferase (U/L); AST, aspartato aminotransferase (U/L); URE, uréia (mg/dL); CRE, creatinina (mg/dL), onde a= p<0,05 vs DP; b = p<0,05 vs DH (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

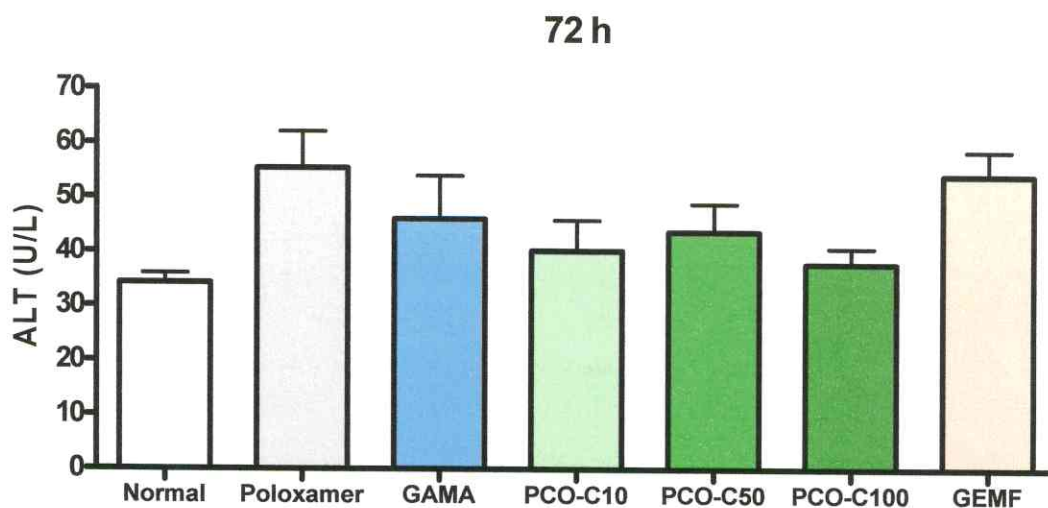


Figura 45. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da ALT de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.11 Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

Não houve diferença expressiva na avaliação da atividade catalítica da AST entre todos os grupos avaliados (Tabela 9, Figura 45).

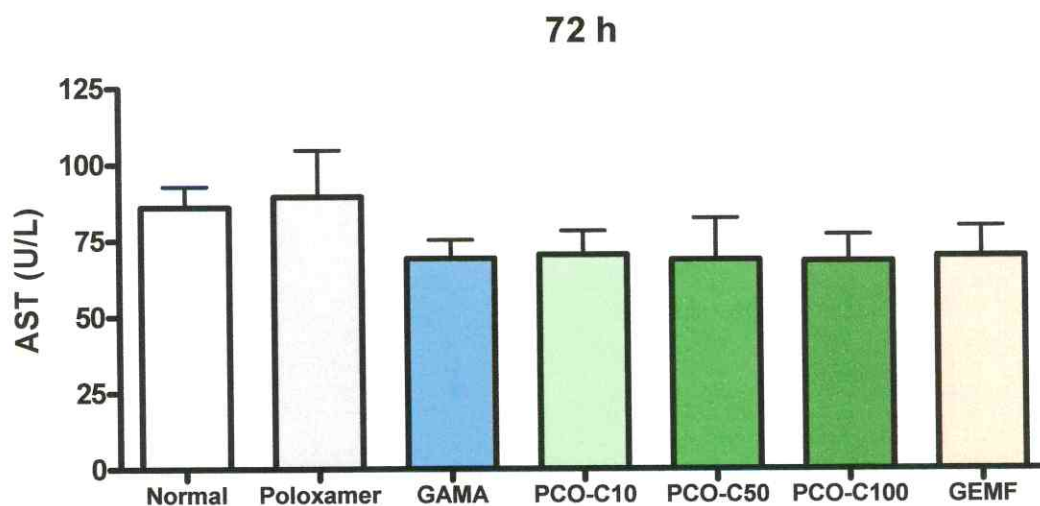


Figura 46. Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil na atividade catalítica da AST de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.12 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

O controle positivo e os grupos tratados com as drogas não provocaram alterações nos níveis plasmáticos de uréia em relação ao grupo Normal. Não houve diferença efetiva entre os grupos avaliados (Tabela 9, Figura 46).

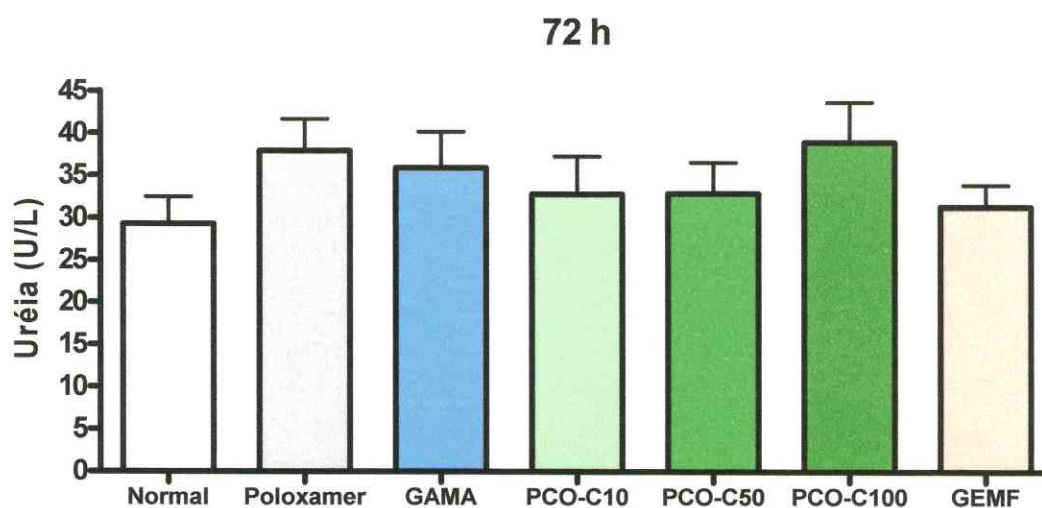


Figura 47. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de Uréia de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

5.3.13 Ação do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407.

O controle positivo e os grupos tratados com as drogas não provocaram alterações nos níveis plasmáticos de creatinina em relação ao grupo Normal (Tabela 9, Figura 47). Não houve diferença efetiva entre os grupos avaliados.

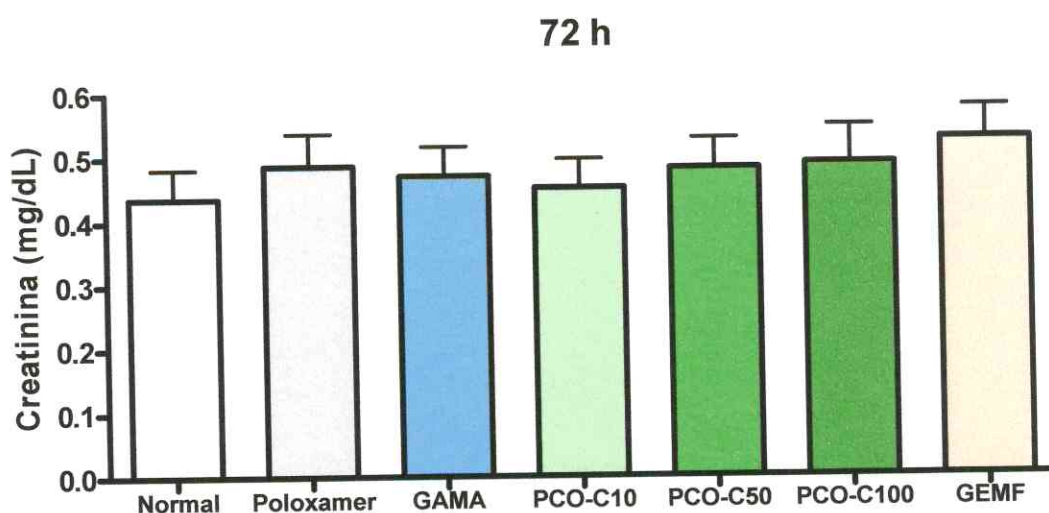


Figura 48. Efeito do PCO-C, Gama-Orizanol e Gemfibrozil nas taxas plasmáticas de creatinina de camundongos 72 horas após a indução de dislipidemia por Poloxamer 407. GAMA, Gama-Orizanol na dose de 50mg/kg; PCO-C10, PCO-C na dose de 10mg/kg; PCO-C50, PCO-C na dose de 50mg/kg; PCO-C100, PCO-C na dose de 100mg/kg; GEMF, gemfibrozil na dose de 100mg/kg; onde a= $p < 0,05$ vs Normal; b = $p < 0,05$ vs Poloxamer (ANOVA e teste de Newman-Keuls).

6 DISCUSSÃO

6.1 Efeito hipolipemiante do PCO-C na dislipidemia experimental induzida por dieta hipercolesterolêmica

As doenças cardiovasculares (DCVs) são atualmente consideradas a maior causa de morte nos países industrializados. A mais importante intercorrência verificada na presença dessas patologias é a aterosclerose cujo processo silencioso de etiologia multifatorial exerce um papel relevante no que se refere às doenças cardíacas. Há descritos na literatura numerosos fatores de risco que aumentam a susceptibilidade a este processo. Um deles, para DCV, é o aumento da concentração plasmática de CT, sobretudo relacionado aos níveis elevados das lipoproteínas de baixa densidade. Sabe-se também, que a redução desses lípidos na corrente sanguínea pode atenuar o risco cardiovascular, e numerosos esforços têm sido tentados nesse sentido, sendo as estatinas os fármacos de eleição destinados ao tratamento farmacológico, já que inibem a atividade da HMG-CoA redutase, enzima essencial à síntese endógena de colesterol. Apesar da relação risco/benefício ser favorável para o doente, a realidade é que cerca de 5% dos usuários não toleram estes agentes hipocolesterolêmicos devido aos seus efeitos adversos, principalmente relacionados com miotoxicidade e hepatotoxicidade, fatores que dificultam a adesão ao tratamento (VANDENBERG e ROBINSON, 2010).

Frutas silvestres pertencentes a três espécies de *Crateagus* (Rosaceae), popularmente conhecidas como “Espinheira Santa”, estão bem documentadas como alimento ingerido pelos chineses e utilizadas também como fitoterápicos há pelo menos 7 mil anos antes de Cristo (McGOVERN *et al.*, 2004). Durante a última década, esses frutos têm recebido maior atenção por parte dos pesquisadores pelo fato de exibirem efeitos redutores nas taxas de colesterol e triglicerídios plasmáticos (ZHANG *et al.*, 2002; CHEN *et al.*, 2002; CHEN, JIAO e MA, 2008) e serem úteis no tratamento das arritmias cardíacas (CHANG *et al.*, 2002; HORNER, 2002; RIGELSKY e SWEET, 2002). No entanto, é necessária ainda a descoberta de um maior número de evidências cientificamente comprovadas no sentido de identificar os seus componentes bioativos e o mecanismo de ação.

Considerando tais fatos, terapias adicionais são requeridas a fim de 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 com habilidade de alcançarem boas ações terapêuticas com menor incidência de efeitos colaterais (ARAÚJO, CASELLA FILHO e CHAGAS, 2005).

Como descrito anteriormente, alterações na concentração dos principais lipídios séricos como CT, HDL-C, LDL-C e TG podem fornecer informações valiosas no que diz respeito ao metabolismo lipídico, predisposição a aterosclerose e a associação desta com doenças arteriais coronarianas (YAKUBU *et al.*, 2007; ASHAFA *et al.*, 2009).

Os estudos destinados à triagem de compostos que apresentam função hipolipidêmica, frequentemente requerem a utilização de modelos animais, geralmente coelhos, ratos ou camundongos. Dentre os métodos empregados para provocar o aumento nos níveis de lipídios plasmáticos, podem ser destacados o uso de dietas suplementadas com colesterol (KUMAR *et al.*, 2006) e o emprego de substâncias surfactantes, a exemplo do Triton WR-1339 e Poloxamer-407 (JUNG *et al.*, 2007). Porém, é importante salientar que o desenvolvimento da dislipidemia depende da concentração do surfactante utilizado, uma vez que alguns deles são empregados como matérias-primas em preparações farmacêuticas e cosméticas (COGGER *et al.*, 2006).

Alguns estudos têm sugerido também que o ácido cólico, além de potencializar o efeito do colesterol dietético, aumentando a sua absorção, pode, por outro lado, inibir a conversão de colesterol a ácidos biliares, favorecendo o acúmulo de lipídios no fígado e promovendo o chamado "fígado gorduroso" nos animais (MACHADO *et al.*, 2003; BEHER *et al.*, 1962).

Apesar de estar relacionado com o processo aterogênico, o colesterol é uma molécula biologicamente fundamental à arquitetura das membranas celulares e à produção de hormônios esteróides e ácidos biliares (KINGSBURY e BONDY, 2010). A síntese e uso de colesterol pelo organismo é regulada de forma a evitar a

formação de depósitos anômalos (placas ateroscleróticas), quer do colesterol, quer das lipoproteínas que o transportam.

Existem diversas teorias descrevendo alguns mecanismos de agentes farmacológicos capazes de reduzir o colesterol, a saber: 1) bloqueando um dos passos da cascata de reações da síntese bioquímica do colesterol (as estatinas, consideradas como os produtos farmacêuticos mais eficazes no tratamento da hipercolesterolemia disponíveis no mercado, exercem seu efeito inibindo a enzima HMG-CoA redutase (MAYES, 2000); 2) inibindo a circulação êntero-hepática dos ácidos biliares pela limitação da reabsorção no íleo (ácidos biliares excretados nas fezes exige a produção de bile no fígado, que tem o colesterol como substrato) (GRUNDY, 1986); 3) atenuando a absorção do colesterol oriundo da dieta (alguns fitoesteróis tais como Gama-Orizanol e sitostanol, atuam como inibidores da absorção de forma competitiva devido as suas estruturas serem semelhantes à do colesterol) (JONES e KUBOW, 1999).

Sendo verdade que uma dieta enriquecida com colesterol é necessária para detectar a ação hipolipemiante do Gama-Orizanol, então pode-se concluir que este composto contribui para reduzir os níveis plasmáticos de colesterol mais pela diminuição da absorção entérica, do que pelo controle da síntese. Esta teoria está de acordo com Nagao *et al.* (2001) cuja investigação demonstrou que nem óleo de farelo de arroz, nem de sua fração insaponificável, Gama-Orizanol, alterou significativamente o RNA mensageiro para a HMG-CoA redutase, receptor de LDL, ou 7-colesterol-hidroxilase. Eles concluíram que a fração insaponificável do óleo de farelo de arroz inibiu a absorção intestinal de colesterol. A mesma conclusão foi obtida por Rong *et al.* (1997) que estudaram os efeitos do Gama-Orizanol sobre os níveis de colesterol em hamsters. Kahlon *et al.* (1996) inferiram que o conteúdo insaponificável do óleo de farelo de arroz exerce a sua ação hipolipemiante, aumentando tanto a excreção de gorduras neutras quanto a de esteróis fecais. A hipótese de Sharma e Rukmini (1986) de que a excreção de ácido biliar aumentada em ratos consumindo a fração insaponificável do óleo de farelo de arroz provocou uma situação imprópria para a formação de micelas ou inibição da reabsorção dos ácidos biliares.

Mesmo assim, pouco se sabe ainda a respeito do mecanismo de ação do Gama-Orizanol, entretanto o efeito hipocolesterolêmico de plantas que contêm esteróis é principalmente devido à capacidade de inibir a absorção do colesterol intestinal (SUBBIAH, 1973).

Estudos anteriores atribuíram a diminuição nos níveis de colesterol sérico e hepático à ingestão de farelo de arroz e sua fração insaponificável, principalmente Gama-Orizanol. Em modelos utilizando camundongos alimentados com dieta rica em lipídios foi observado o aumento dos níveis de CT, LDL-C e VLDL-C, responsáveis pelos processos ateroscleróticos, e as concentrações plasmáticas desses parâmetros diminuíram com a administração de Gama-Orizanol (SHINOMIYA *et al.*, 1983).

Wilson *et al* (2007), em recente estudo com hamsters, demonstraram que tanto Gama-Orizanol quanto ácido ferúlico, ambos na concentração de 0,5%, reduziram a concentração plasmática de CT, LDL-C, VLDL-C em relação ao grupo controle. No entanto, os animais alimentados com a dieta contendo Gama-Orizanol mostraram diminuição plasmática dos mesmos parâmetros significativamente maior do que os animais submetidos à dieta na qual foi incorporado o ácido ferúlico. A atividade redutora do Gama-Orizanol nos valores de CT foi demonstrada por outros pesquisadores (YOSHINO *et al.*, 1989; SHINOMIYA, 1983; BERGER, *et al.*, 2005; SEETHARAMAIAH e CHANDRASEKHARA, 1988; NAKAMURA, 1966). Shinomiya *et al* (1983), mostraram que ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol com adição de 0,5% de Gama-Orizanol apresentaram redução significativa de CT plasmático após oito semanas de tratamento dietético. Em um estudo realizado por Seetharamaiah e Chandrasekhara (1988), houve redução expressiva dos valores plasmáticos de LDL-C e VLDL-C em ratos alimentados com 0,2% de Gama-Orizanol após 7 semanas de tratamento com a dieta hipercolesterolêmica. Os mesmos autores mostraram ainda que Gama-Orizanol adicionado a uma dieta livre de colesterol, não promoveu diferenças nos níveis de lípidos, sugerindo que esse fitocomposto pode alterar o metabolismo do colesterol, por inibição da absorção pelos enterócitos.

Os lipídios provenientes da dieta têm despertado interesse científico uma vez que podem ser potenciais modificadores dos fatores de risco para doenças cardiovasculares. Alguns autores descrevem que os ácidos graxos de cadeia média são rapidamente absorvidos no intestino na ausência da lipase pancreática, sendo transportados para o fígado onde são rapidamente oxidados. Além disso, eles parecem não depositar-se no tecido adiposo apresentando, portanto, uma correlação inversa com a obesidade. Em contrapartida, os ácidos graxos de cadeia longa saturados estimulam a biossíntese de colesterol ou são metabolizados e convertidos em triglicerídios (DAYRIT, 2003).

O óleo de côco (*Cocos nucifera*) possui na sua composição aproximadamente 92% de ácidos graxos saturados, dentre os quais os triglicerídios de cadeia média contribuem com 70% do total do seu percentual de ácidos graxos. O restante da composição é conferido a 6% de ácidos graxos monoinsaturados e 2% aos poliinsaturados (CHANDRASHEKAR *et al.*, 2010). Como o óleo de côco possui uma grande quantidade de ácidos graxos de cadeia média, eles parecem ter ações benéficas no metabolismo dos lipídios, embora essa ação ainda não esteja bem documentada na literatura (THOLSTRUP *et al.*, 2004).

Diante do que foi exposto, pode-se observar claramente que o acréscimo de ácido cólico na ração utilizada no presente estudo foi realizado no intuito de facilitar a absorção dos lipídios nela contida.

Todos os grupos que receberam a ração hipercolesterolêmica apresentaram redução significativa dos níveis de TG em relação ao grupo que recebeu ração padrão. O efeito acima mencionado pode possivelmente ser devido à presença do óleo de côco por se tratar de um ácido graxo de cadeia média que poderia estar promovendo uma ação redutora nos níveis de TG. O mecanismo ainda não elucidado envolvido nessa diminuição deve estar provavelmente associado à ação de algum dos componentes utilizados no preparo da ração hipercolesterolêmica. Portanto, se faz necessária a realização de estudos e protocolos mais detalhados e específicos com o objetivo de explicar a ocorrência deste fato.

Neste mesmo protocolo em que os camundongos foram submetidos à dieta hipercolesterolêmica por 2 meses, ao final do primeiro mês de tratamento os valores de CT dos grupos PCO-C, GAMA e SINV apresentaram uma redução eficaz deste analito. Ao término do segundo mês de tratamento, os valores de CT continuaram a apresentar diminuição significativa conforme resultados descritos por Shinomiya *et al.*, (1983) e Seetharamaiah e Chandrasekhara (1988).

Conforme mostrado na figura 14, o PCO-C na dose de 100mg/kg, ao final do tratamento (2º mês), apresentou maior eficácia do que a droga de referência na redução dos níveis de CT. Esses resultados sugerem que esta substância extraída da cera da carnaúba é um composto eficaz na redução de lipídios e possivelmente um agente protetor do risco para o aparecimento de doenças cardiovasculares resultantes do quadro de hiperlipidemia induzida por substâncias hiperlipemiantes mesmo não sendo possível afirmar ainda com exatidão o mecanismo de ação para a atividade de tal molécula.

Diante do exposto, os resultados aqui demonstrados são bastante promissores uma vez que a PCO-C foi capaz de diminuir os valores dos parâmetros lipídicos avaliados em proporções maiores que aquelas verificadas com o medicamento de referência encontrado no mercado farmacêutico.

Compostos que possuem estrutura química semelhante podem ser capazes de demonstrar os mesmos efeitos farmacológicos (HU *et al.*, 2008). Baseado nesses resultados, podemos afirmar que devido à semelhança estrutural, os possíveis mecanismos de ação do PCO-C podem ser os mesmos apresentados pelo GAMA de acordo com as informações citadas anteriormente e publicadas por diversos pesquisadores (GRUNDY, 1986; JONES e KUBOW, 1999; MAYES, 2000; NAGAO *et al.*, 2001). Os mecanismos já comprovados pelos quais alguns compostos farmacológicos reduzem as taxas plasmáticas de CT incluem: bloqueio enzimático durante a síntese, diminuição da absorção intestinal e um aumento da excreção fecal de ácidos biliares.

Outro fato importante que deve ser considerado nesse estudo é que o colesterol, por ter uma produção endógena significativa pode demandar um maior

tempo de tratamento com agentes hipolipidêmicos para que sua redução seja alcançada. No caso do PCO-C, esse evento não ocorreu dado que foram obtidos resultados expressivos utilizando modelos experimentais agudos de dislipidemias.

6.2 Efeito hipolipemiante do PCO-C na dislipidemia experimental induzida por Triton WR1339 e Poloxamer 407.

A relação dos elevados níveis de colesterol com a doença coronária aterosclerótica já foi demonstrada em muitos ensaios clínicos estando bem estabelecida (JORGE *et al.*, 1998). Por outro lado, a ligação entre os triglicerídios e o risco de DCVs tem sido assunto de grande interesse, cuja atuação no desencadeamento fisiopatológico das doenças cardiovasculares ainda não está totalmente elucidada (FREITAS, 2004).

Estudos experimentais têm correlacionado a elevação dos níveis séricos de triglicerídios ao aumento do risco de doenças coronarianas. Surgem então, evidências de que a hipertrigliceridemia é um fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, dado o efeito aterogênico direto das lipoproteínas ricas em triglicerídios, particularmente as VLDL-C (SHIAVO *et al.*, 2003; MOTTA, 2003).

Dados epidemiológicos têm mostrado uma maior prevalência de hipertrigliceridemia entre pessoas portadoras de DAC do que em populações sadias (HOPKINS *et al.*, 2005) e uma associação entre elevados níveis de TG e aumento de risco cardiovascular (CRIQUI *et al.*, 1993). Excessiva deposição de TG em vários tecidos induz a obesidade, principalmente quando essa ocorrência atinge tecidos não adiposos (músculo esquelético, fígado, células- β pancreáticas) e está associada com a lipotoxicidade (UNGER e ZHOU, 2001).

Recentemente, uma atenção maior tem sido atribuída a pesquisas relacionadas à descoberta de novas drogas capazes de reduzir ou regular os níveis séricos de colesterol total e triglicerídios, resultando em inúmeros achados de drogas com atividades terapêuticas provenientes de fontes naturais (KIM *et al.*, 2008). Como

exemplo, pode-se citar o estudo da ação de uma proteína isolada das sementes de *Amaranthus cruentus* (Amaranthaceae), no metabolismo lipídico (ESCUDERO *et al.*, 2006), avaliação da atividade hipolipidêmica das sementes de *Cassia tora* Linn (Leguminosae) (PATIL *et al.*, 2004), demonstração do potencial da *Mormodica charantia* como agente redutor dos níveis séricos de triglicerídios (SENANAYAKE *et al.*, 2004) e investigação do efeito do diterpeno isolado da *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae) na redução dos triglicerídios (SILVA *et al.*, 2001).

Desenvolvidos em 1950, os polímeros Triton WR-1339 (tiloxapol) e Poloxamer-407 tem sido empregados em modelos experimentais pré-clínicos de indução de hiperlipidemia (JOHNSTON, 2004; SCHOTZ *et al.*, 1957). Tais protocolos têm sido aplicados como uma forma de *screening* na descoberta de novos agentes hipolipidêmicos (TAKAHASHI *et al.*, 2003).

O Triton WR-1339 é um detergente não-iônico amplamente utilizado para produzir hiperlipidemia aguda em modelos animais, sendo por essa razão, empregado tanto para o estudo do metabolismo do colesterol e dos triglicerídios bem como para a triagem de drogas hipolipemiantes (GOLDFARB, 1978; OH *et al.*, 2006; HARNAFI *et al.*, 2008).

O mecanismo pelo qual a administração intraperitoneal (i.p.) ou intravenosa (i.v.) do Triton WR-1339 determina a ocorrência de hiperlipidemia aguda deve-se à inibição da atividade da enzima lipase lipoproteica, o que resulta no acúmulo de triglicerídios e VLDL-C no plasma (JANICKI e ARON, 1962). Acredita-se ainda, que o Triton forme uma camada na superfície das lipoproteínas, evitando a hidrólise, especialmente no caso das VLDL-C, provocada pela lipoproteína lipase (LPL), levando a um quadro de hipertrigliceridemia (HALL *et al.*, 2000; PATIL *et al.*, 2004).

Goldfarb (1978) e Kuroda *et al.* (1977), publicaram que o mecanismo de hipercolesterolemia induzido pelo Triton WR-1339 se deve à estimulação da biossíntese hepática de colesterol por aumento da atividade da HMG-CoA redutase. Além do mecanismo acima referido, ocorre um efluxo do CT oriundo dos tecidos para a circulação conforme descrito por Friedman e Bayer (1957).

A VLDL-C tem por função o transporte dos TG sintetizados pelo fígado para os tecidos periféricos. Os triglicerídios existentes nessa lipoproteína sofrem um processo de hidrólise mediado pela lipoproteína lipase localizada na superfície das células endoteliais vasculares dos tecidos adiposo, muscular e cardíaco. Outra molécula importante nesse processo é a apolipoproteína C-II, que funciona como um potente ativador da LPL. Essa apoproteína é transferida da HDL para a VLDL e, resultados de estudos prévios tem sugerido que o Triton evita essa transferência entre essas lipoproteínas (HALL *et al.*, 2000).

Dessa forma, o aumento relevante da concentração plasmática de colesterol e triglicerídios verificados pela injeção de Triton WR-1339 resulta principalmente da exacerbação da secreção de VLDL pelo fígado, ausência de transferência de apo C-II que ocasiona uma redução significativa do catabolismo de LDL e VLDL (HARNAFI *et al.*, 2007).

A dose de Triton na concentração de 400mg/kg utilizada no presente estudo está de acordo com as pesquisas realizadas por Takahashi *et al.*, (2003) e Oh e Lim (2006). Verificou-se que neste protocolo de indução de dislipidemia, o PCO-C foi efetivo em reduzir significativamente as taxas de CT e TG plasmáticos. Observa-se também, como mostrado nas figuras 25, 26, 27 e 28 que tanto maior a concentração da dose testada, maior a redução nas taxas dos parâmetros analisados. No que se refere aos triglicerídios, esses resultados sugerem que o PCO-C possivelmente foi capaz de viabilizar a transferência da apo C-II da HDL para a VLDL, fato este que estimula a atividade lipolítica da LPL e, conseqüentemente a hidrólise dos TG plasmáticos. Entretanto, mais estudos são necessários para identificar o exato mecanismo de ação de como o PCO-C foi capaz de restaurar o desequilíbrio no metabolismo dos TG induzido após injeção i.p. de Triton. Se o aumento dos níveis de colesterol foi obtido no protocolo de indução pelo Triton em virtude da maior atividade da HMG-CoA redutase conforme já publicado, a redução deste parâmetro pelo PCO-C pode estar associada à inibição da referida enzima. Para confirmação do mecanismo através do qual ocorre a inibição enzimática promovida pelo PCO-C na diminuição de CT, são necessárias, como no caso dos TG, pesquisas utilizando testes mais adequados incluindo técnicas de biologia

molecular que revelem a presença de possíveis eventos moleculares e de ação desses ésteres do ácido cinâmico (PCO-C).

Nesse mesmo protocolo experimental, no tempo de 48 horas após a indução, verificou-se que a redução nos níveis de triglicerídios promovida pela administração do PCO-C na dose de 100mg/kg foi maior que a proporcionada pelo fármaco de referência, no caso, o gemfibrozil.

O Poloxamer-407 (P-407) ou Pluronic[®]-127, igualmente ao Triton WR-1339, é um surfactante não iônico e hidrofílico largamente empregado em protocolos experimentais de hiperlipidemia, uma vez que ocasiona elevações significantes dos lipídios plasmáticos em modelos animais incluindo ratos, camundongos e coelhos (WASAN *et al.*, 2003). Tal efeito sobre os parâmetros do metabolismo lipídico tem sido explicado pela inibição significativa da lipoproteína lipase (LPL) plasmática, tanto *in vitro* como *in vivo*, acompanhada pelo aumento da atividade da LPL tecidual (JOHNSTON e PALMER, 1993). Tem sido reportado ainda, que o P-407 não possui ação sobre a HMG-CoA redutase, atuando somente na inibição da 7- α hidroxilase (JOHNSTON, 2004), sendo portanto possivelmente esse o seu mecanismo de indução da hipercolesterolemia.

A dose utilizada de Poloxamer-407 de 1000mg/kg, no presente estudo, está de acordo com os trabalhos realizados por Wasan *et al.* (2003), Cogger *et al.* (2006) e Millar *et al.* (2005). O expressivo aumento de TG e CT apresentado no modelo experimental do Poloxamer, foi reduzido pela administração do PCO-C em todos os tempos após indução (Figuras 35, 36, 37, 38, 39 e 40). No que se refere aos triglicerídios, o tratamento com o PCO-C mostrou diminuição crescente à medida que a concentração das doses aumentava conforme mostrada nas figuras 38, 39 e 40. Quanto aos níveis de colesterol, este efeito, foi produzido com maior intensidade nos dois últimos períodos após a indução (Figuras 35, 36 e 37). A droga em estudo apresentou nos tempos de 48 e 72 horas maior efetividade que o fármaco de referência (Figuras 36 e 37).

Esses resultados sugerem que o PCO-C pode ser um agente efetivo na redução lipídica e um potencial protetor do desenvolvimento de doenças

cardiovasculares resultantes do quadro de hiperlipidemia farmacológica. Mesmo não se podendo afirmar com exatidão o mecanismo de ação para a atividade de tal composto, os resultados dos protocolos experimentais aqui realizados são sugestivos de que o mesmo atue estimulando a LPL plasmática bem como diminuindo a atividade da LPL tecidual. Portanto, como descrito acima acerca da ação da 7- α -hidroxilase no metabolismo de CT, a redução desse analito é passível também de ter ocorrido pelo aumento da atividade dessa enzima.

6.3 Efeito hipoglicemiante do PCO-C

O diabetes é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia e associadas a complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, cérebro, coração e vasos sanguíneos. Pode resultar de defeitos de secreção e/ou ação da insulina envolvendo processos patogênicos específicos, por exemplo, destruição das células beta do pâncreas (produtoras de insulina), resistência à ação da insulina, distúrbios da secreção da insulina, entre outros (BRASIL. Ministério da Saúde, Caderno de Atenção Básica, 2006).

Muitas espécies de plantas têm sido usadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar dos sintomas do diabetes melito (IVORRA, PAYÁ e VILLAR, 1989; RAHMAN e ZAMAN, 1989; HANDA e CHAWLA, 1989; NEEF, DECLERCQ e LAEKEMAN, 1995; OLIVEIRA e SAITO 1995; JOHNS E CHAPMAN, 1995; MARLES e FARNSWORTH, 1995; KAR, CHAUDHARY e BANDYOPADHYAY, 1999). Estas plantas representam mais de 725 gêneros em 183 famílias, estendendo-se fisiologicamente das algas marinhas e fungos para plantas, tais como as compostas. Na medicina chinesa tradicional, 82 plantas medicinais têm sido usadas como medicamentos naturais para o tratamento do diabetes melito e suas complicações (LI *et al.*, 2004). A maioria das plantas que são utilizadas como antidiabéticas ao serem avaliadas farmacologicamente demonstraram ter atividade hipoglicêmica e possuir constituintes químicos que podem ser utilizados como modelos para novos agentes hipoglicemiantes (NEGRI, 2005).

O mecanismo de ação pelos quais as plantas reduzem a taxa de glicose do sangue pode ser atribuído aos seguintes fatores: 1) aumento da liberação de insulina através da estimulação das células β -pancreáticas; 2) resistência aos hormônios que aumentam a taxa de glicose; 3) aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; 4) diminuição da perda de glicogênio; 5) aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos; 6) eliminação de radicais livres; 7) resistência à peroxidação de lipídios; 8) correção da desordem metabólica causada em lipídios e proteínas e 9) estímulo ao aumento da microcirculação do sangue no organismo (MARLES e FARNSWORTH, 1995; SAID *et al.*, 2002; VOLPATO *et al.*, 2002; HUO *et al.*, 2003; LI *et al.*, 2004).

Além dessas já mencionadas, milhares de outras substâncias químicas extraídas de plantas medicinais apresentam comprovados efeitos redutores da glicemia sendo consideradas como agentes terapêuticos eficazes ou coadjuvantes no tratamento da diabetes. Os estudos feitos com as plantas medicinais usadas, tradicionalmente, no tratamento do diabetes melito, demonstraram que, em sua maioria, possuem característica hipoglicemiante, confirmando a utilização como antidiabético na medicina popular. Contudo muitas plantas exercem efeito hipoglicemiante, atribuído a vários mecanismos de ação, porém nem todas são terapêuticamente úteis. Algumas plantas utilizadas podem ser tóxicas, enfatizando a necessidade de encontrar aquelas que possam oferecer eficácia terapêutica e saúde. A grande diversidade de classes químicas indica que variedade de mecanismos de ação deve estar envolvida na redução do nível de glicose no sangue. Algumas destas substâncias podem ter potencial terapêutico, enquanto outras podem produzir hipoglicemia como efeito colateral devido à sua toxicidade, especialmente relacionada com distúrbios hepáticos (NEGRI, 2005).

O farelo de arroz e os seus componentes solúveis reduziram a hiperglicemia em humanos portadores de diabetes mellitus. Esse estudo mostrou diminuição da concentração da glicemia de jejum em 29% e 33% em pacientes com DM1 e DM2 (MARONGIU, PIRAS e PORCEDDA, 2004).

Chen e Cheng *et al.* (2006) demonstraram que camundongos alimentados com uma dieta contendo RBO, Gama-Orizanol e Gama-Tocotrienol apresentaram uma redução nos níveis de glicose plasmática.

À semelhança dos demais produtos naturais acima descritos, o PCO-C reduziu os valores glicêmicos em todos os protocolos estudados (Figuras 17, 18, 29, 30, 41, 42 e 43). Por se tratar de um composto pouco estudado em protocolos experimentais para avaliação do metabolismo dos carboidratos, existe uma total escassez de publicações relacionadas com o assunto para comparação de resultados. Portanto, se faz necessário que mais estudos sejam realizados e divulgados com o objetivo de ratificar ou negar os resultados obtidos no que diz respeito à ação hipoglicemiante do PCO-C bem como propor possíveis mecanismos de ação.

6.4 Efeito do PCO-C sobre as análises bioquímicas (AST,ALT, URÉIA e CREATININA) e histopatológicas na investigação de possíveis efeitos nos tecidos hepático e renal.

Algumas plantas medicinais têm demonstrado efeitos hepato e nefrotóxicos, sendo que o dano causado a esses órgãos normalmente resultam em elevações de parâmetros bioquímicos como AST, ALT, fosfatase alcalina, uréia e creatinina (BABAYI *et al.*, 2007; NYARKO *et al.*, 2005).

Como descrito por Babayi *et al.* (2007), algumas preparações de ervas medicinais, drogas convencionais e substâncias químicas podem afetar vários componentes sanguíneos. Alterações da massa relativa dos órgãos, alterações hematológicas e bioquímicas podem expressar sinais de toxicidade (FLAMMANG *et al.*, 2007). A partir desse pressuposto, o acompanhamento de todas as variáveis mencionadas é de grande importância em estudos de toxicidade.

As aminotransferases, AST e ALT, são consideradas indicadoras sensíveis de lesão hepatocelular, fornecendo uma avaliação quantitativa de agravos causados ao fígado (AL-HABORI *et al.*, 2002). Como a ALT é uma enzima

predominantemente citosólica, qualquer perturbação na membrana plasmática das células hepáticas irá, conseqüentemente, elevar os níveis dessa enzima no soro. Em relação à AST, cerca de 60% dela encontram-se na mitocôndria. Diferentemente da ALT, a AST está presente em outros órgãos (músculo cardíaco e esquelético) além do fígado, sendo o seu aumento sugestivo tanto de danos hepáticos como musculares (KANAAAN *et al.*, 2008).

Os resultados laboratoriais dos parâmetros bioquímicos AST e ALT dos grupos de animais tratados com o PCO-C não apresentaram diferença significativa quando comparados aos grupos controles indicando que a droga avaliada não possui efeito hepatotóxico nas concentrações utilizadas.

Esse fato pode ser comprovado associando-se, por exemplo, a ausência de toxicidade dos compostos aqui estudados, uma vez que eles não demonstraram atividade deletéria no tecido hepático de acordo com análise histológica realizada por microscopia ótica aos resultados obtidos pelas determinações das enzimas ALT, AST e úteis na detecção de processos inflamatórios hepatocelulares.

Creatinina, uréia e ácido úrico são os principais produtos do catabolismo do músculo, proteína e metabolismo das purinas, respectivamente. Como esses compostos são excretados na urina, o quadro de disfunção renal está geralmente associado ao aumento da concentração plasmática dessas substâncias (MOTA, 2003). O aumento da creatinina e uréia sérica em estudos experimentais pode ser atribuído à diminuição da capacidade funcional de depuração dos rins (AFOLAYAN *et al.*, 2009; ANIAGU *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos no presente estudo revelaram que nenhum dos parâmetros utilizados para avaliação da função renal foi alterado de forma significativa após o tratamento com PCO-C. Dessa forma, pode-se sugerir que essa substância parece não interferir na capacidade de excreção renal dos metabólitos, refletindo uma preservação da integridade da função renal dos animais tratados.

É importante destacar que a substância em estudo não apresentou lesões renais, uma vez que de acordo com a análise histológica, não se constatou, em

nenhum dos grupos avaliados, alterações morfológicas nas estruturas analisadas através de microscopia ótica.

7 CONCLUSÃO

Os Ésteres do ácido cinâmico (PCO-C) estudados apresentaram importantes efeitos hipolipemiantes nos protocolos de indução de dislipidemias em camundongos com dieta hipercolesterolêmica, Triton WR-1339 e Poloxamer-407. Os compostos analisados mostraram uma ação semelhante ou superior às drogas de referência (Sinvastatina[®] e Gemfibrozil[®]) utilizadas nesse estudo.

O PCO-C no protocolo de indução de dislipidemia com dieta hipercolesterolêmica, apresentou uma ação efetiva no metabolismo lipídico reduzindo o colesterol total.

Os fitoconstituintes extraídos do pó cerífero da carnaúba mostraram eficácia na modulação do metabolismo lipídico reduzindo significativamente as taxas de triglicerídios e colesterol total nos protocolos de indução utilizando Triton WR-1339 e Poloxamer-407.

Além de não ser o foco principal do trabalho nem o protocolo adequado para avaliar o metabolismo de carboidratos, o PCO-C diminuiu significativamente a concentração plasmática da glicose.

A toxicidade desse composto foi avaliada através da determinação laboratorial da AST, ALT, uréia e creatinina e por meio da análise histológica do fígado e dos rins. Todos os resultados obtidos demonstraram que esses compostos não apresentaram efeitos tóxicos evidentes. Porém, mais estudos são necessários para que o PCO-C possa ser utilizado com segurança como uma estratégia terapêutica no tratamento das dislipidemias e comorbidades correlatas.

REFERÊNCIAS

- AFOLAYAN, A. J.; YAKUBU, M. T.; APPIDI, J. R.; MOSTAFA, M. Toxicological implications of aqueous extract of *Clematis brachiata* Thunb. leaves in male *Wistar* rats. **African J Pharm Pharmacol**, 3(11), 531-538, 2009.
- AL-HABORI, M.; L-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. **J Ethnopharmacol**. 83, 209-217, 2002.
- AMATO, G. W. **Farelo do Arroz: uma nova visão**. Porto Alegre: Centro de Excelência do arroz - IRGA, 2006. Disponível em: http://www.irga.rs.gov.br/index.php?action=artigo_detalhe&id=28. Acesso em: 15 set. de 2006.
- ANIAGU, S. O.; NWINYL, F. C.; AKUMKA, D. D.; AJOKU, G. A.; DZARMA, S.; IZEBE, K. S. Toxicity studies in rats fed nature cure bitters. **African J Pharm Pharmacol** 4 (1), 72-78, 2005.
- ARAUJO, R. G.; CASELLA FILHO, A.; CHAGAS, A. C. P. Ezetimiba – farmacocinética e terapêutica. **Arq Brás Cardiol** - Volume 85, Suplemento V, Outubro 2005.
- ASHAFA, A. O. T.; YAKUBU, M. T.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Toxicological evaluation of the aqueous extract of *Felicia muricata* Thunb. leaves in wistar rats. **African J Biotechnol**, vol. 8 (6), 949-954, 2009.
- ASPERGER, A.; ENGEWALD, W.; WAGNER, T. Quantitative determination of acrylat-based copolymer retarding layers on drug granules using pyrolysis-gas chromatography. **J Anal Appl Pyrolysis**. 47: 191-200, 1998.
- BABAYI, H. M.; UDEME, J. J.; ABALAKA, J. A.; OKOGUN, J. I.; SALAWU, O. A.; AKUMKA, D. D.; ADAMU ZARMA, S. S.; ADZU, B. B.; ABDULMUMUNI, S. S.; IBRAHIME, K.; ELISHA, B. B.; ZAKARIYS, S. S.; INYANG, U. S. Effect of oral administration os aqueous whole extract of *Cassythra filiformis* on haemograms and plasma biochemical parameters in rats. **J Med Toxicol**. 3(4), 146-151, 2007.
- BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica Médica**. São Paulo: Editora Elsevier, 2007.

BEHER, W. T.; BAKER, G. D.; PENNEY, D. G. A comparative study of the effects of bile acids and cholesterol on cholesterol metabolism in the mouse, rat, hamster and guinea pig. **J Nutr.** 79 (63), 523-530, 1962.

BERGER, A.; REIN, D.; SCHÄFER, A.; MONNARD, I.; GREMAUD, G.; LAMBELET, P.; BERTOLI, C. Similar cholesterol-lowering properties of rice bran oil, with varied gamma-oryzanol, in mildly hypercholesterolemic men. **Eur J Nutr.** 44(3):163-73, 2005.

BORRIS, R. P. Natural products research: Perspective from a major pharmaceutical company. **J Ethnopharmacol** . v.51, p.29 – 38, 1996.

BRASIL. **Informe Epidemiológico do SUS**. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Epidemiologia. Brasília: CENEA / FNS / MS, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Anuário Estatístico de Saúde 2001. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/saude/aplicacoes/anuario2001/index.cfm>>. Acesso em: 21 jul 2003.

BRASIL. **Cadernos de Atenção Básica**, n. 16 (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes Mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 52 p. il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos – **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, Ministério da Saúde, 2006b.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**. 232: 34–47, 1986.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz **Fundamentos Da Química Clínica**. 6ª EDIÇÃO. Elsevier, 2006.

BYINGTON, R. P.; JUKEMA, J. W.; SALONEN, J. T.; PITT, B.; BRUSCHKE, A. V.; HOEN, H.; FURBERG, C. D.; MANCINI, G. B. Reduction in cardiovascular events during pravastatin therapy. Pooled analysis of clinical events of the Pravastatin Atherosclerosis Intervention Program. **Circulation**. 1;92(9):2419-25, 1995.

- CAMBRI, L. T.; SOUZA, M.; MANNRICH, G.; CRUZ, R. O.; GEVAERD, M. S. Perfil lipídico, dislipidemias e exercício físico. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum** 8 (3), 100-106, 2006.
- CARVALHO, J. L. V.; VIEIRA, N. R. A. **A cultura do arroz no Brasil: usos alternativos**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p.605-621, 1999.
- CHANDRASHEKAR, P.; LOKESH, B. R.; KRISHNA, A. G. G. Hypolipidemic effect of blends of côconut oil with soybean oil or sunflower oil in experimental rats. **Food Chemistry**. Article in press. 2010.
- CHANG, Q.; ZUO, Z.; HARRISON, F.; CHOW, M. S. Hawthorn. **J Clin Pharmacol** 42:605–12, 2002.
- CHARLTON-MENYS, V.; DURRINGTON, P. N. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. **Exp Physiol**. 93: 27–42, 2007.
- CHEN, C. W.; CHENG, H. H. A rice bran oil diet increases LDL-receptor and HMG-CoA reductase mRNA expressions and insulin sensitivity in rats with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. **J Nutr**. 136(6):1472-6, 2006.
- CHEN, J.; XUE, B.; LI, K.; SHI, J.; KREMPIN, D.; ZHU, M.; GARLAND, C. The effects of an instant haw beverage on lipid levels, antioxidant enzyme and immune function in hyperlipidemia patients. **Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi**. 36:172–5, 2002.
- CHEN, Z. Y.; JIAO, R.; MA, K. Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. **J Agric Food Chem** 56:8761–73, 2008.
- COGGER, V. C.; HILMER, S. H.; SULLIVAN, D.; MULLER, M.; FRASER, R.; COUTEUR, D.G.L. Hyperlipidemia and surfactants: the liver sieve is a link. **Atherosclerosis**. 189, 273-281, 2006.
- COSTA, A. F. E.; MORAES, M. E.; FROTA, F. A.; MORAES, M. O. Plantas Medicinais Usadas pelos Pacientes Atendidos nos Ambulatórios do Hospital Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. **Pesq Méd**. v.1 : 20 – 25, 1997.

CRIQUI, M. H.; HEISS, G.; COHN, R.; COWAN, L. D.; SUCHINDRAN, C. M.; BANGDIWALA, S.; KRITCHEVSKY, S.; JACOBS, D. R.; O'GRADY, H. K.; DAVIS, C. E. Plasma triglyceride level and mortality from coronary heart disease. **N Engl J Med** 328:1220 –1225, 1993.

DALLWITZ, M. J. A general system for coding taxonomic descriptions. **Taxon**, 29, 41-45. 1980.

DAYRIT, C. S. Côconut oil: atherogenic or not? (What therefore causes atherosclerosis?). **Philippine J Cardiol** 31 (3), 97-104, 2003.

EJTF. European Joint Task Force IV. **Prev Cardiovasc Dis**, WONCA perspective-general practice, 2007. Guidelines. Available from: <http://www.woncaeurope.org/Web%20documents/European%20Joint%20Task%20Force/Vienna%20Walma-Gjelsvik%20JTF%20IV%20presentation%20.pdf>

ELVERS, B.; HAWKIN, S. (Eds.), **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, 5th ed., vol. A28, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 105–107, 1996.

ELVIN-LEWIS, M. Should we be concerned about herbal remedies. **J Ethnopharmacol.** v.75, p. 141 – 164, 2001.

ESCUDERO, N. L.; ZIRULNIK, F.; GOMEZ, N. N.; MUCCIARELLI, S. I.; GIMENEZ, M. S. Influence of a protein concentrate from *Amaranthus cruentus* seeds on lipid metabolism. **Exp Biol Med** 231, 50-59, 2006.

EVANS, C. W. **Pharmacognosy**. 14th ed. WB Saunders Company Limited, UK, 1996.

FANG, N.; YU, S.; BADGER, T. M. Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. **J Agric Food Chem**, v.51, p. 3260-3267, 2003.

FARNSWORTH, N. R.; SOEJARTO, D. D. Potential consequence of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. **Econ Bot**, v. 39, p. 232-40, 1985.

FERREIRA, S. H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998.

- FIELDING, C. J.; FIELDING, P. E. Molecular transport physiology of reverse cholesterol. **J Lipid Res.** 36: 211-28, 1995.
- FLAMMANG, A. M.; EREXSON, G. L.; MIRWALD, J. M.; HENWOOD, S. M. Toxicological and cytogenetic assessment of a *Salacia oblonga* extract in a rat subchronic study. **Food Chem Toxicol** 45, 1954-1962, 2007.
- FREITAS, E. V. Triglicerídios e doença arterial coronariana. **Revista da SOCERJ** 17(1), 45-49, 2004.
- FRIEDMAN, M.; BAYER, S. O. The mechanism underlying hypocholesterolemia induced by Triton WR-1339. **AM J Physiol** 190, 439-445, 1957.
- GATTI, R. M.; SANTOS, B. R. M.; FURLANETO, C. J.; GOULART, I. M. M.; MOREIRA, P. A. Avaliação dos fatores de risco para doença arterial coronariana em pacientes de São Caetano do Sul segundo o Escore de Framingham e sua relação com a síndrome metabólica. **Arq Sanny Pesq Saúde.** 1(1):8-17, 2008.
- GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G. L.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade.** 1(1), 52-61, 2005.
- GOLDFARB S. Rapid increase in hepatic HMG-CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after Triton WR 1339 injection. **J Lipid Res.** 19: 489-94, 1978.
- GOMES, A. P. F.; CARMO, M.G.T. Dislipidemia pós-prandial e doença cardiovascular. **Res Bras Nutr Clin.** 21 (1), 60-71, 2006.
- GRUNDY, S. M. Bile acid resins. Mechanisms of action. In **Pharmacological Control of Hyperlipidemia** (pp. 3-19). S.A., J.R. Prous Science Publishers, 1986.
- GRÜNWARD, J. The market situation and marketing of Herbal Medicinal Products (HMP) in Europe. In: ICMAP/ISHS/SAIPA. **Abstracts**, 1997.
- GYLLING, H.; STRANDBERG, T.; TILVIS, R.; MIETTINEN, T. A. Regulation of serum cholesterol level in middle-aged and elderly men. Relation of cholesterol absorption and synthesis to lipoprotein metabolism. **Arterioscler Thromb.** 14(5):694-700, 1994.

- HA, T-Y; HAN, S.; KIM, S-R.; KIM, I-H.; LEE, H-Y.; KIM, H-K. Bioactive components in rice bran oil improve lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet. **Nutr Res**, v.25, p.597-606, 2005.
- HALL, J. A.; GRADIN, J. L.; ANDREASEN, C. B.; WANDER, R. C. Use of a nonionic detergent (Triton WR1339) in healthy cats to assess hepatic secretion of triglyceride. **Am J Vet Res** 61(8), 941-950, 2000.
- HANDA, S. S.; CHAWLA, A. S. Hypoglycemic plants – a review. **Fitoterapia**, v. 60, p. 195-224, 1989.
- HARNAFI, H.; BOUANANI, N. H.; AZIZ, M.; CAID, H. S.; GHALIM, N.; AMRANI, S. The hypolipidemic activity of aqueous *Erica multiflora* flowers extract in Triton WR-1339 induced hyperlipidaemic rats: a comparison with fenofibrate. **J Ethnopharmacol** 109, 156-160, 2007.
- HARNAFI, H.; CAID, H. S.; BOUANANI, N. H.; AZIZ, M.; AMRANI, S. Hypolipemic activity of polyphenol-rich extracts from *Ocimum basilicum* in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. **Food Chem.** 108: 205–12, 2008.
- HEGELE, R. A. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. **Nat Rev Genet.** 10: 109-21, 2009.
- HEGSTED, M.; KOUSIK, C. S. Rice bran oil may lower heart disease risk by decreasing cholesterol synthesis in the body. **Louisiana Agriculture.** 37:16-17, 1994.
- HEINZMANN, B. M.; BARROS, F. M. C. Potential of Brazilian native plants for the development of phytomedicines having *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) as example. **Saúde, Santa Maria**, vol. 33 (1), 43-48, 2007.
- HENRY, J. B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais/** John Bernard Henry; [Tradução Ida Cristina Gubert]. – 20. Ed. – Barueri, SP: Manole, 2008.
- HOPKINS, P. N.; WU, L. L.; HUNT, S. C.; BRINTON, E. A. Plasma triglycerides and type III hyperlipidemia are independently associated with premature familial coronary artery disease. : **J Am Coll Cardiol.** 5;45(7):1003-12, 2005.
- HORNER, R. Hawthorn, there is well-established support for hawthorn's role in congestive heart failure. **Nutraceuticals World** 00:46–8, 2002.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciencia y tecnología de los cereales**. Zaragoza (España): Acribia, p. 321, 1991.

HU, J. N.; ZHU, X. M.; HAN, L. K.; SAITO, M.; SUN, Y. S.; YOSHIKAWA, M.; KIMURA, Y.; ZHENG, Y. N. Anti-obesity effects of escins extracted from the seeds of *Aesculus turbinata* Blume (Hippocastanaceae). **Chem Pharm Bull.** 56(1)12-16 (2008).

HUO, Y.; WINTERS, W. D.; YAO, DA-LIN. Prevention of diet-induced type 2 diabetes in the C57BL/6J mouse model by an antidiabetic herbal formulae. **Phytother Res**, v. 17, p. 48-55, 2003.

IUCN – THE INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES. Guidelines on the conservation of medicinal plants. o-phenanthroline. **J Amer Water Works Assoc.** 38:727, 1993.

IVORRA, M. D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. **J Ethnopharmacol.**, v. 27, p. 243-275, 1989.

JANICKI, B. S.; ARON, S. A. Effect of Triton WR 1339 on lipoproteins and lipoprotein lipase of guinea pig plasma. **Proc Soc Exp Biol Med.** 109: 507-9, 1962.

JARIWALLA, R.J. Rice-bran products: phytonutrients with potential applications in preventive and clinical medicine. **Drugs Exp Clin Res.**, n.27, p. 17-26, 2001.

JOHNS, T.; CHAPMAN, L. Phytochemicals ingested in traditional diets and medicine as modulators of energy metabolism. In: ARNASON, J. T.; MATA, R.; ROMEO, J. T. (Eds.). Recent Advances in Phytochemistry. New York: **Plenum Press**, v. 29, p.161-188, 1995.

JOHNSTON, T. P. The P-407 induced murine model of dose-controlled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. **J Cardiovasc Pharmacol.** 43, 595-606, 2004.

JOHNSTON, T. P.; PALMER, W. K. Mechanism of poloxamer-407-induced hypertriglyceridemia in the rat. **Biochem Pharmacol** 46. 1037-1042, 1993.

JONES, D.L. **Palms Throughout the World**. Smithsonian Institute Press, Washington, D.C. 1995.

- JONES, P. J. H.; KUBOW, S. Lipids, sterols, and their metabolites. In Shils, M. E., Olson, J. A., Shike, M., & Ross, A. C. (Eds.), *Modern Nutr Health Dis* (p. 69). Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
- JORGE, P. A. R.; NEYRA, L. C.; OSAKI, R. M.; ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N. Efeito da berinjela sobre os lipídios plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. *Arq Bras Cardiol* 70(2), 1-5, 1998.
- JUNG, H. J.; NAM, J. H.; PARK, H. J.; LEE, K. T.; PARK, K. K.; KIM, W. B.; CHOI, J. The MeOH extract of *Pleurospermum kantschaticum* and its active component buddlejasaponin (IV) inhibits intrinsic and extrinsic hyperlipidemia and hypercholesterolemia in the rat. *J Ethnopharmacol*. 112: 255-61, 2007.
- KAHLON, T. S.; CHOW, F. I.; CHIU, M. M.; HUDSON, C. A.; SAYRE, R. N. Cholesterol-Lowering by Rice Bran and Rice Bran Oil Unsaponifiable Matter in Hamsters. *Cereal Chem*. 73(1): 69-74, 1996.
- KAISER, V. H.; RUCATTI, E. G.; OLIVEIRA, C. F.; BARATA, T. S. Análise de mercado: Rio Grande do Sul. *Informativo IRGA*, v.1, n.2, p. 1-7, 2005.
- KANAAN, S.; TERRA GARCIA, M. A.; PERALTA, R. H. S.; RIBEIRO, M. L. S.; BENJO, A. M.; AFFONSO, F. S.; *Bioquímica Clínica*. São Paulo: Editora Atheneu/Universidade Federal Fluminense, 2008.
- KAR, A.; CHAUDHARY, B. K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycaemic herbs on oral glucose tolerance test. *J. Ethnopharmacol.*, v. 64, p. 179-184, 1999.
- KIM, H. Y.; JEONG, D. M.; JUNG, H. J.; JUNG, Y. J.; YOKOZAWA, T.; CHOI, J. S. Hypolipidemic effects of *Sophora flavescens* and constituents in poloxamer 407-induced hyperlipidemic and cholesterol-fed rats. *Biol Pharm Bull*. 31 (1), 73-78, 2008.
- KIM, J.S.; GODBER, J.S.; KING, J.; PRIYAWIWATKUL, W. Inhibition of cholesterol autoxidation by the nonsaponifiable fraction in rice bran in an aqueous model system. *J Am Oil Chem Soc*, n.78, p. 685-689, 2001.

- KINGSBURY, K. J.; BONDY, G. **Understanding the Essentials of Blood Lipid Metabolism: The Function of Serum Lipids**. [Online]. Available from: http://www.medscape.com/viewarticle/451762_3. [cited Março 2010].
- KUMAR, S. A.; SUDHAHAR, V.; VARALAKSHMI, P. Protective role of eicosapentaenoate-lipoate (EPA-LA) derivative in combating oxidative hepatocellular injury in hypercholesterolemic atherogenesis. **Atherosclerosis**. 189(1):115-22, 2006.
- KURODA, M.; TANZAWA, K.; TSUJITA, Y.; ENDO, A. Mechanism for elevation of hepatic cholesterol synthesis and serum cholesterol levels in Triton WR-1339-induced hyperlipidemia. **Biochim Biophys Acta**. 489: 119-25, 1977.
- KUSUMOTO, F. M. **Fisiopatologia cardiovascular**. México: Novo México, 2001.
- LAKKAKULA, N. R.; LIMA, M. H.; WALKER, T. Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. **Bioresour Technol**, v.92, p.157-161, 2004.
- LEMOS, M. R. B.; SOARES, L. A. de S. Farelo de arroz: um subproduto em estudo. **Óleos & Grãos**, v. 7, n. 51, p.40-48, 1999.
- LEVI, F.; LUCCHINI, F.; NEGRI, E.; LA VECCHIA, C. Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world. **Heart**. 88(2):119-24, 2002.
- LI, W. L.; ZHENG, H. C.; BUKURU, J.; De KIMPE, N. Natural medicines used in the traditional chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **J Ethnopharmacol.**, v. 92, p. 1-21, 2004.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: **Instituto Plantarum**; 2002.
- MACHADO, D. F.; FERREIRA, C. L. L. F.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, T. T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido fólico. **Ciênc Tecnol Aliment**. 23 (2), 270-275, 2003.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JÚNIOR, V. F. V. GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares**. **Química Nova** 25 (3), 429-438, 2002.

- MAGALHÃES, M. E. C.; BRANDÃO, A. A.; FREITAS, E. V.; POZZAN, R.; BRANDÃO, A. P. Novas perspectivas no tratamento de dislipidemias. **Revista da SOCERJ**, 105-111, 2004.
- MARLES, R.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, 2:137-89, 1995.
- MARONGIU, B.; PIRAS, A.; PORCEDDA, S. Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. **J Agric Food Chem**. 52:6278–82, 2004.
- MATOS, F. J. A.; VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. M. **Guia Fitoterápico**. Ceará. Governo do Estado do Ceará, 2001.
- MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais**. IOCE, Fortaleza, 1989.
- MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 4ª. ed. rev. ampl. Fortaleza: UFC, 2002.
- MAYES, P. A. Cholesterol synthesis, transport, and excretion. In **Harper's Biochemistry**, 25th ed. (p. 285). Appleton & Lange. 2000.
- McGOVERN, P. E.; ZHANG, J.; TANG, J.; ZHANG, Z.; HALL, G. R.; MOREAU, R. A.; NUÑEZ, A.; BUTRYM, E. D.; RICHARDS, M. P.; WANG, C. S.; CHENG, G.; ZHAO, Z.; WANG, C. Fermented beverages of pre- and proto-historic China. **Proc Natl Acad Sci USA**, 101:17593–8, 2004.
- MILLAR, J. S.; CROMLEY, D. A.; McCoy, M. G.; RADER, D. J.; BILLHEIMER, J. T. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. **J Lip Res** 46, 2023-2028, 2005.
- MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; BRANDON, K. Uma breve história da conservação da biodiversidade no Brasil. **Megadiversidade** 1 (1), 14-21, 2005.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para Laboratório: Princípios e Interpretações**. 4ª ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau; São Paulo: Robe Editorial, EDUCS - Caxias do Sul, 2003.

- NAGAO, K.; SATO, M.; TAKENAKA, M.; ANDO, M.; IWAMOTO, M.; IMAIZUMI, K. Feeding Unsaponifiable Compounds from Rice Bran Oil Does Not Alter Hepatic mRNA Abundance for Cholesterol Metabolism-related Proteins in Hypercholesterolemic Rats. **Biosci Biotechnol Biochem.** 65(2): 371-377, 2001.
- NAKAIAMA, S.; MANABE, A.; SUZUKI, J.; SAKAMOTO, K.; INAGAKI, T. Comparative effects of two forms of γ -oryzanol in different sterol compositions on hyperlipidemia induced by cholesterol diet in rats. *Jpn. J Pharmacol.* 44:135-144, 1987.
- NAKAMURA, H. Effect of γ -oryzanol on hepatic cholesterol biosynthesis and fecal excretion of cholesterol metabolites. **Radioisotopes.** 15:371-4, 1966.
- NEEF, H.; DECLERCQ, P.; LAEKEMAN, G. Hypoglycaemic activity of selected European plants. **Phytother Res.**, v. 9, p. 45-48, 1995.
- NEGRI, G. Diabetes melito: Plantas e Princípios Ativos Naturais Hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 41, n. 2, abr./jun., 2005.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica.** Tr. Simões AA, Lodi WRN. 4 ed, São Paulo: Sarvier, 2006.
- NESS, G. C.; CHAMBERS, C. M. Feedback and hormonal regulation of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: the concept of cholesterol buffering capacity. **Exp Biol Med.** 224: 8-19, 2000.
- NICOLOSI, R. J.; AUSMAN, L. M.; HEGSTED, D. M. Rice bran oil lowers serum total and low density lipoprotein cholesterol and apo B levels in nonhuman primates. **Atherosclerosis.** 88(2-3):133-42, 1991.
- NYARKO, A. K.; OKINE, L. K. N.; WEDZI, R. K.; ADDO, P. A.; OFOSUHENE, M. Subchronic toxicity studies of the antidiabetic herbal preparation ADD-199 in rat: absence of organ toxicity and modulation of cytochrome P450. **J ethnopharmacol** 97, 319-325, 2005.
- OH, P. S.; LEE, S. J.; LIM, K. T. Hypolipidemic and antioxidative effects of the plant glycoprotein (36 kDa) from *Rhus verniciflua* Stokes fruit in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. **Biosci Biotechnol Biochem.** 70: 447-56, 2006.

OH, P. S.; LIM, K. T. Glycoprotein (90kDa) isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* makino lowers plasma lipid level through scavenging of intracellular radicals in Triton WR-1339-induced mice. **Biol Pharm Bull** 29 (7), 1391-1396, 2006.

OLIVEIRA, F.; SAITO, M. L. Alguns vegetais brasileiros empregados no tratamento da diabetes. **Rev Bras Farm.**, v. 2-4, p. 137-189, 1995.

ORTHOEFER, F. T. Rice bran oil: healthy lipid source. **Food Technol**, n.50, p. 62-64, 1996.

PARRADO, J.; MIRAMONTES, E.; JOVER, M.; GUTIERREZ, J. F.; TERÁN, L. C. D. E.; BAUTISTA, J. Preparation of a Rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. **Food Chem**, v.98, p.742-748, 2006.

PATIL, U. K.; SARAF S.; DIXIT, V.K. Hypolipidemic activity of seeds of *Cassia tora* Linn. **J Ethnopharmacol** 90, 249-252, 2004.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia. Teoria e prática**. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, 1995.

PETROVAN, R. J.; KAPLAN, C. D.; REISFELD, R. A.; CURTISS, L. K. DNA vaccination against VEGF receptor 2 reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 27(5): 1095-100, 2007.

PIO CORREA, M. **Dicionário das Plantas Úteis no Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1931.

PORTUGAL. Ministério da Saúde Direção Geral de Saúde Portugal. **Ganhos em saúde em Portugal: o ponto de situação: relatório do Diretor Geral e Alto Comissário da Saúde**. 1º Semestre, 2002.

PRANCE, G. T.; BALÉE, W.; BOOM, B. M.; CARREIRO, R. L. Quantitative ethnobotany and the case of conservation in Amazônia. In: **Ethnobotany: Evolution of a Discipline Edited by Richard Evans Schultz e Siri von Reis**. Dioscorides Press, Theodore R. Dudley, PhD., General Editor, Portland, Oregon, USA. 1995.

RAHMAN, A. U.; ZAMAN, K. Medicinal plants with hypoglycemic activity. **J Ethnopharmacol.**, v. 26, p. 1-55, 1989.

- REPA, J. J.; MANGELSDORF, D. J. The role of orphan nuclear receptors in the regulation of cholesterol homeostasis. **Annu Rev Cell Dev Biol.** 16: 459–81, 2000.
- RIGELSKY, J. M.; SWEET, B. V. Hawthorn: pharmacology and therapeutic uses. **Am J Health Syst Pharm.**;59:417–22, 2002.
- ROCHA, J. T. **Atividade hipolipidêmica do disseleneto de difenila na hiperlipidemia induzida por Triton wr-1339 em camundongos.** Programa De Pós-Graduação Em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, 2009.
- RODRIGUES, C. E. C.; PESSÔA FILHO P. A.; MEIRELLES, A. J. A. Phase equilibrium for the system rice bran oil + fatty acids + ethanol + water + γ -oryzanol + tocots. **Fluid Phase Equilibria**, v.216, p.271–283, 2004.
- RODRIGUES, V. P. **Copernicia cerifera Mart.: Aspectos Químicos e Farmacológicos de uma Palmeira Brasileira.** Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2004.
- ROGERS, E. J.; RICE, S. M.; NICOLOSI, R. J. Identification and quantitation of γ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocots in rice brain oil. **J Am Oil Chem Soc.** 70 (3):301-307, 1993.
- RONG, N.; AUSMAN, L. M.; NICOLOSI, R. J. Oryzanol Decrease Cholesterol Absorption and Aortic Fatty Streaks in Hamsters. **Lipids.** 32 (3): 303-309, 1997.
- SAID, O.; KHALIL, K.; FULDER, S.; AZAIZEH, H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. **J Ethnopharmacol.**, v. 83, p. 251-265, 2002.
- SANTOS, M. G.; PEGORARO, M.; SANDRINI, M.; MACUCO, E. C. Fatores de Risco no Desenvolvimento da Aterosclerose na Infância e Adolescência. **Arq Bras Cardiol**; 90(4): 301-309, 2008.
- SANZ, J.; FAYAD, Z. A. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. **Nature.** 451 (21): 953-957, 2008.
- SCARAVIELLO, E. M. S.; ARELLANO, D. B. γ -Oryzanol: um importante componente del aceite de salvado de arroz. **Arch Latinoam Nutr.** v. 48, n. 1, p. 7-12, 1998.

SCHEFFER, M. C.; MING, L. C.; ARAUJO, A. J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: Queiróz, M.A. de; Goedert, C.O.; Ramos, S.R.R. (eds). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro. **Petrolina**, p. 405-415, 1999.

SCHIAVO, M.; LUNARDELLI, A.; OLIVEIRA, J. R. Influência da dieta na concentração sérica de triglicerídios. **J Bras Patolog Med Lab.** 39 (4), p. 283-288, 2003.

SCHOTZ, M. C. A.; SCANU, A.; PAGE, I. H.; Effect of Triton on lipoprotein lipase of rat plasma. **Am J Physiol.** 188, 399-402, 1957.

SCHWARZ, M.; RUSSELL, D. W.; DIETSCHY, J. M.; TURLEY, S. D. Marked reduction in bile acid synthesis in cholesterol 7 α -hydroxylase-deficient mice does not lead to diminished tissue cholesterol turnover or to hypercholesterolemia. **J Lipid Res.** 39(9):1833-43, 1998.

SEETHARAMAIAH, G. S.; CHANDRASEKHARA, N. Effect of oryzanol on cholesterol absorption and biliary and faecal free acids in rats. **Indian J Med Res.** 92, 471-475, 1990.

SEETHARAMAIAH, G. S.; CHANDRASEKHARA, N. Hypocholesterolemic activity of oryzanol in rats. **Nutr Rep Int.** 38:927– 35, 1988.

SENANAYAKE, G. V. K.; MARUYAMA, M.; SHIBUYA K.; SAKONO M.; FUKUDA, N.; MORISHITA, T.; YUKIZAKI, C.; KAWANO, M.; OHTA, H. The effects of bitter melon (*Mormodica charantia*) on serum and liver triglyceride levels in rats. **J Ethnopharmacol** 91, 257-262, 2004.

SHARMA, R. D.; RUKMINI, C. Hypocholesterolemic Activity of Nonsaponifiable Matter of Rice Bran Oil. **Indian J Med Res.** 85: 278-281, 1987.

SHINOMIYA, M.; MORISAKI, N.; MATSUOKA, N.; IZUMI, Y.; SAITO, A.; KUMAGAI, A.; MITANI, K.; MORITA, S. Effects of gamma-oryzanol on lipid metabolism in rats fed highcholesterol diet. **Tohoku J Exp Med.** 141:191– 7, 1983.

SILVA, M. A.; SANCHES, C.; AMANTE, E. R. Farelo de arroz composição e propriedades. **Óleos & Grãos**, v. 10, n. 61, p. 34-42, 2001.

- SILVA, M. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BATISTA, J. S.; MOTA, C. N. Plantas medicinais usadas nos distúrbios gastrointestinais no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. **Acta Bot Bras.** 20 (4), 815-829, 2006.
- SILVA, S. **Frutas no Brasil.** 4ª edição, Empresa das Artes, Nobel, São Paulo. 2001.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria coma academia. **Rev Brás Farmacogn.** 12 (1), 35-40, 2002.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol.** 88: 2-19, s1, 2007.
- SUBBIAH, M. T. Dietary plant sterols: current status in human and animal sterol metabolism. **Amer J Clin Nutr.** 26, 219-225, 1973.
- TAKAHASHI, Y.; INABA, N.; KUWAHARA, S.; KUKI, W. Effects of γ -terpinene on lipid concentrations in serum using Triton WR-1339-treated rats. **Biosci Biotechnol Biochem.** 67, 2448-2450, 2003.
- THOLSTRUP, T.; EHNHOLM, C.; JAUHAINEN, M.; PETERSEN, M.; CARL-ERIK, H.; LUND, P.; SANDSTRÖM, B. Effects of the medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. **Am J Clin Nutr** 79, 564-569, 2004.
- TOMLINSON, T. R.; AKERELE, O. **Medicinal plants: their role in health & biodiversity.** Philadelphia: University of Pennsylvania Press: 1993.
- TOWLE, H. C.; KAYTOR, E. N.; SHIH, H. M. Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate. **Annu Rev Nutr.** 17:405-33, 1997.
- TURNER, D. M. Natural product source material use in the pharmaceutical industry: the Glaxo experience. **J Ethnopharmacol.** Apr;51(1-3):39-43, 1996.
- TWISK, J. W. R.; KEMPER, H. C. G.; VANMECHELEN, W.; POST, G. B. Clustering of risk factors for coronary heart disease: The longitudinal relationship with lifestyle. **Ann Epidemiol.** 11(3):157-65, 2001.

UNGER, R. H.; ZHOU, Y. T. Lipotoxicity of β -cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. **Diabetes**. 50, S118-S121, 2001.

VANDENBERG, B.; ROBINSON, J. Management of the Patient with Statin Intolerance, **Curr Atheroscler Rep**. 12:48–57, 2010.

VANDENBURG, L. E.; WILDER, E. A. The structural constituents of carnauba wax. **J Am Oil Chem Soc**. 47: 514, 1970.

VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes mellitus. **Rev Bras PI Med.**, v. 4, p.35-45, 2002.

VUORISTO, M.; MIETTINEN, T. A. Absorption, metabolism, and serum concentrations of cholesterol in vegetarians: effects of cholesterol feeding. **Am J Clin Nutr**. 59: 1325-31, 1994.

WASAN, K. M.; SUBRAMANIAN, R.; KWONG, M.; GOLDBERG, I.J.; WRIGHT, T.; JONSTON, T. Poloxamer 407-mediated alterations in the activities of enzymes regulating lipid metabolism in rats. **J Pharm Pharmaceut Sci**. 6 (2), 189-197, 2003.

WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. The families of Angiosperms: Automated description, with interactive identification and information retrieval. **Aust Syst Bot.**, 4, 681-695. 1994.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) 2002a. **WHO definition of health**. Disponível em: <<http://www.who.int/about/definition/en/>>. Acesso em: 02 ago 2005.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) 2002b. **The world health report 2002 - reducing risk, promoting healthy life**. ONU:WHO, 2002.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Physiology of sports and exercise. **Champaign: Human Kinetics**, 1994.

WILSON, T. A.; AUSMAN, L. M.; LAWTON, C. W.; HEGSTED, D.M.; NICOLOSI, R. J. Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: beyond fatty acid. **J Am Coll. Nutr.**, n.19, p. 601-607, 2000.

WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; WOOLFREY, B.; KRITCHEVSKY, D. Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. **J Nutr Biochem.** 18(2):105-12, 2007.

WOLBERG, A. S.; MACKMAN, N. Venous thromboembolism: risk factors, biomarkers, and treatment. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 29, p. 296-297, 2009.

XAVIER, H. T. Associação de medicamentos: estatinas e fibratos. **Arq Bras Cardiol**, 85 (supl. V), 2005.

XU, Z.; HUA, N.; GODBER, J. S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. **Journal Agric. Food Chem.**, v.49, p.2077-2081, 2001.

YAKUBU, M. T.; AKANJI, M. A.; OLADIJI, A. T. Haematological evaluation in male albino rats following chronic administration of aqueous extract of *Fadogia agrestis* stem. **Pharmacog Mag.** 3, 34-38, 2007.

YOSHINO, G.; KAZUMI, T.; AMANO, M.; TATEIWA, M.; YAMASAKI, T.; TAKASHIMA, S.; IWAI, M.; HATANAKA, H.; BABA, S. Effects of Gamma-Oryzanol on Hyperlipidemic Subjects. **Curr Ther Res.** 45 (4): 543-551, 1989.

YOSHINO, G.; KAZUMI, T.; AMANO, M.; TAKIWA, M.; YAMASAKI, T.; TAKASHIMA, S. Effects of gamma-oryzanol and probucol on hyperlipidemia. **Curr Ther Res.** 45:975- 82, 1989.

YUAN, G.; AL-SHALI, K. Z.; HEGELE, R. A. Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. **CMAJ.** 10;176(8):1113-20, 2007.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova** 24 (1), 147-152, 2001.

ZHANG, Z. S.; HO, W. K. K.; HUANG, Y.; JAMES, A. E.; LAM, L. W.; CHEN, Z. Y. Hawthorn fruit is Hypolipidemic in rabbits fed a high cholesterol diet. **J Nutr** 132:5-10, 2002.

ZOFEMLER, W. B. Guide to flowering plant families. The University of North Carolina Press. **Chapel Hill and London**. 1994.

ANEXOS

29/09/2010 01310000524
 11-56 DECE



0000221006627299

Espaço reservado ao protocolo

Espaço para etiqueta

DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE OU DE CERTIFICADO DE ADIÇÃO

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:

O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas

1. Depositante (71):

1.1 Nome: Universidade Estadual do Ceará

1.2 Qualificação:

1.3 CNPJ/CPF:

1.4 Endereço Completo: Avenida Paranjana, 1700, Itaperi, Fortaleza-CE

1.5 CEP: 60740-903

1.6 Telefone:

1.7 Fax: 85 3101-9670

1.8 E-mail:

continua em folha anexa

2. Natureza:

Invenção

Modelo de Utilidade

Certificado de Adição

Escreva, obrigatoriamente, e por extenso, a Natureza desejada: INVENÇÃO

3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade ou Certificado de Adição(54):

Processo de Produção, Uso e Composição Farmacêutica Compreendendo Compostos Obtidos a Partir da Cera de Carnaúba.

continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: do pedido N°

Data de Depósito:

5. Prioridade:

interna

unionista

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou organização de origem	Número de depósito	Data do depósito

6. Inventor (72):

Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seu(s) nome(s)

6.1 Nome:

6.2 Qualificação:

6.3 CPF:

6.4 Endereço completo:

6.5 CEP:

6.6 Telefone:

6.7 Fax:

6.8 E-Mail:

continua em folha anexa

7. Declaração na forma do item 3.2 do Ato Normativo nº 127/97:

7.1 Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

em anexo

8. Declaração de divulgação anterior não prejudicial: (Período de Graça):
(art. 12 da LPI e item 2 do AN nº 127/97)

em anexo

9. Procurador (74)

9.1 Nome:

9.2 CNPJ/CPF:

9.3 API/OAB:

9.4 Endereço completo:

9.5 CEP:

9.6 Telefone:

9.7 Fax:

9.8 E-Mail:

10. Listagem de sequências Biológicas (documentos anexados) (se houver):

- Listagem de sequências em arquivo eletrônico: nº de CDs ou DVDs (original e cópia).
- Código de controle alfanumérico no formato de código de barras: fl.
- Listagem de sequências em formato impresso: fls.
- Declaração de acordo com o artigo da Resolução INPI nº 228/09: fls.

11. Documentos anexados (assinale e indique também o número de folhas):
(Deverá ser indicado o nº total de somente uma das vias de cada documento)

<input checked="" type="checkbox"/>	11.1 Guia de Recolhimento	1 fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.5 Relatório descritivo	20 fls.
<input checked="" type="checkbox"/>	11.2 Procuração	3 fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.6 Reivindicações	3 fls.
<input type="checkbox"/>	11.3 Documentos de Prioridade	fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.7 Desenhos	2 fls.
<input type="checkbox"/>	11.4 Doc. de contrato de trabalho	fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.8 Resumo	1 fls.
<input type="checkbox"/>	11.9 Outros que não aqueles definidos no campo 11 (especificar) Convênio de Reconhecimento de Direitos e Obrigações sobre P.I.; Termos de Cessão de Titularidade.				16 fls.

12. Total de folhas anexadas (referentes aos campos 10 e 11): 46 fls.

13. Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

FORTALEZA, 28 DE SETEMBRO DE 2010

Local e Data

Assinatura e Carimbo

FOLHA ANEXA

6. Inventor(es) (72):

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileiro, casado, químico
Endereço: _____
CEP: 60 714- 80 Telefone: _____ Fax: _____

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileiro, casado, químico
Endereço: _____
CEP: _____ Telefone: 85 3101-9822 Fax: _____

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileira, divorciada, farmacêutica
Endereço: _____
CEP: _____ Telefone: 85 3101-9822 Fax: _____

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileira, solteira, química
Endereço: _____
CEP: _____ Telefone: 85 3101-9822 Fax: _____

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileiro, casado, nutricionista
Endereço: _____
CEP: _____ Telefone: 85 3101-9822 Fax: _____

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileira, casada, farmacêutica
Endereço: _____
CEP: _____ Telefone: 85 3101-9822 Fax: _____

Nome: _____ CPF: _____
Qualificação: brasileiro, casado, farmacêutico
Endereço: _____
CEP: _____ Telefone: 85 3101-9822 Fax: _____



Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366.8331 Fax: (85) 3366.8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº 90/10, sobre o projeto intitulado: “Avaliação do potencial terapêutico das substâncias extraídas do pó cerífero da *Copernícia prunifera nas dislipidemias*”, de responsabilidade de Maria Goretti Rodrigues de Queiroz, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA – em reunião realizada em 09 de setembro de 2010.

Fortaleza, 16 de Novembro de 2010.

Profa. Dra. ~~Nylane~~ Maria Nunes de Alencar
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA