

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
Departamento de Alimentos e Nutrição

**EFEITO DA HESPERIDINA NO PERFIL
LIPÍDICO DE RATOS TRATADOS COM DIETA
ACRESCIDA DE ÁCIDOS GRAXOS
SATURADOS**

JULIO VINUEZA GALARRAGA

ARARAQUARA - SP

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
Departamento de Alimentos e Nutrição

**EFEITO DA HESPERIDINA NO PERFIL
LIPÍDICO DE RATOS TRATADOS COM DIETA
ACRESCIDA DE ÁCIDOS GRAXOS
SATURADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em “Alimentos e Nutrição” – Área de Ciência dos Alimentos – da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” para obtenção do grau de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Thaís Borges César

Co-orientador: Prof. Dr. João Bosco Faria

ARARAQUARA - SP
2008

*Caminante son tus huellas el camino y nada más;
caminante, no hay camino se hace camino al andar.*

*Al andar se hace camino
y al volver la vista atrás
se ve la senda que nunca
se ha de volver a pisar.
Caminante no hay camino sino estelas en la mar...*

Antonio Machado

Dedico este trabalho,

Aos meus queridos pais, Guillermo Vinueza Figueroa e Maria Victoria Galárraga Silva, que sempre me apoiaram e, o mais importante, me ensinaram diversas lições que não podem ser encontradas em livros.

À minha filha Samantha Carolina, que trouxe alegria e felicidade à minha vida e mesmo que longe de mim é a força para continuar em frente.

Aos meus irmãos, que sempre acreditaram em mim, mesmo com o problema de saúde que eu tinha.

Dedico ainda àqueles que pude conviver diariamente bem como àqueles que estavam distantes, familiares e eternos amigos, pelas orações e pelo apoio emocional constante.

*Agradeço a Iawe, por conceder-me
sabedoria e força em todos os
momentos de minha vida.*

*Agradeço a todos que participaram da realização deste
trabalho.*

*Em especial, à minha orientadora Profa. Dra. Thaís
Borges César, por sua competência, dedicação, atenção,
respeito e, sobretudo, pelo apoio desde o início desta
caminhada.*

*Ao Professor João Bosco Faria, pela sua colaboração
como co-orientador e pelo auxílio oferecido na obtenção
dos materiais e reagentes para a pesquisa.*

*Aos docentes do Departamento de Alimentos e
Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
UNESP/ Campus Araraquara, pelo conhecimento
transmitido durante o curso de Mestrado.*

*Aos funcionários do Departamento de Alimentos e
Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
UNESP/Araraquara, pelo estímulo e ajuda sempre
demonstrada.*

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação, pela atenção e colaboração durante todo o período do mestrado.

Aos funcionários dos distintos Laboratórios Experimentais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pela amizade e enorme auxílio na realização do trabalho experimental.

À Profa. Dra. Ana Dóris de Castro, professora da Disciplina de Fármacos e Medicamentos, pelo apoio e colaboração na formulação e elaboração da dieta experimental.

À Profa. Dra. Maria Virgínia Scarpa Gomes, professora do Departamento de Fármacos e Medicamentos, pela colaboração com o biotério do departamento para a realização do trabalho experimental.

À Profa. Dra. Cleópatra da Silva Planeta, professora do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia, pela colaboração com o biotério do Departamento para a realização do projeto piloto.

À Profa. Dra. Regina Célia Vendramini, professora do Departamento de Análises Clínicas, pela realização das análises bioquímicas das amostras da pesquisa.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Campus

Araraquara, pelo auxílio na obtenção do material bibliográfico.

Às secretárias do departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências farmacêuticas da UNESP, Campus de Araraquara, pela presteza e competência com a que sempre fizeram as suas tarefas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudo outorgada.

Finalmente, agradeço aos meus amigos do Mestrado: Principalmente Ederlan, Caio, Michelle, Juliana, Arnóbio, Alessandra, Gustavo e a todos os colegas pela troca de conhecimentos, pelo companheirismo e apoio em todos os momentos.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da hesperidina na concentração dos lípides sanguíneos em ratos tratados com dieta acrescida de gordura saturada (17%). A hesperidina foi administrada isolada ou associada ao suco de laranja nas dietas dos ratos e após 30 dias de tratamento foram realizadas as análises bioquímicas de colesterol total, HDL-C e triglicérides no soro dos animais. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos para as concentrações de colesterol total e triglicérides, como também não houve diferenças no ganho de peso dos animais tratados com hesperidina ou com suco de laranja mais hesperidina. Houve, todavia, uma diminuição significativa no HDL-C com a suplementação da hesperidina (-20%), mas não com o suco isolado ou em associação com a hesperidina. Estes resultados apontam um papel regulador e específico da hesperidina no metabolismo dos lípides no rato.

Palavras-chave: hesperidina, suco de laranja, lípides sanguíneos, rato.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of hesperidin on the blood lipids in rats treated with a diet added with saturated fat (17%). Hesperidin was administrated isolated or associated to orange juice in the animal diets, and after 30 days of dietary treatment it was carried out biochemical analysis in the serum of the rats. It was not observed any statistical differences among groups for the concentration of total cholesterol or triglycerides, neither for the weight gained in the rats that had received hesperidin or orange juice. However, it was verified a significant reduction on HDL-C with hesperidin supplementation (-20%), but no effect was observed with orange juice, alone or in association with hesperidin. These results showed a regulatory and specific role for hesperidin on the lipid metabolism of the rat.

Keywords: hesperidin, orange juice, blood lipids, rat.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Grupos de animais e respectivos tratamentos dietéticos.	30
Tabela 2 - Análise centesimal da ração preparada para os outros grupos experimentais.	33
Tabela 3 - Ganho de peso, tecido adiposo e índice da gordura víscero-somática dos grupos experimentais. Grupo controle (C), Grupo gordura saturada (GS,) Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL, Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).	40
Tabela 4 - Valores médios \pm desvios padrão do colesterol total (CT); HDL colesterol e Triglicérides (TG), no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas. Valores seguidos de letras iguais não diferem entre si.	45

LISTA DE QUADROS

Quadros 1 - Nutrientes do suco de laranja pronto para beber, em uma porção (249 g ou 250 mL).	17
Quadro 2 - Concentração de hesperidina nos sucos de laranja brasileiros.	18
Quadro 3 - Gordura Vegetal Colméia em porção de 10g.	31
Quadro 4 - Análise centesimal da ração comercial para ratos Labina, produzida pela Purina® para o grupo controle.	33

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética	68
Anexo 2 – Laudo do Suco de laranja Lanjal	69
Anexo 3 – Laudo da análise da Hesperidina	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonóides. As ligações, posições de insaturações e grupos funcionais são específicos para cada classe de flavonóides.	15
Figura 2 - Estrutura dos metabólitos da hesperidina.	20
Figura 3 - Esquema de classificação dos flavonóides cítricos.	24
Figura 4 - Valores médios \pm desvios padrão do ganho de peso dos grupos experimentais.	41
Figura 5 - Valores médios \pm desvios padrão do tecido adiposo dos grupos experimentais.	42
Figura 6 - Valores médios \pm desvios padrão do IGV dos grupos experimentais.	43
Figura 7 - Valores médios \pm desvios padrão do Colesterol Total no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas experimentais.	46
Figura 8 - Valores médios \pm desvios padrão do HDL-C no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas experimentais.	47
Figura 9 - Valores médios \pm desvios padrão dos Triglicérides no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas experimentais.	48

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAT	Acetil-Coenzima-A transferase
AGS	Ácido graxo saturado
AMDR	Taxa de Variação de Recomendação de Macronutrientes
Apo-B	Apoproteína B
Apo-E	Apoproteína E
DAC	Doença arterial coronária
CBG	β -glicosidase citosólica
CT	Colesterol total
DRI	Recomendações de Ingestão Dietética
GS	Gordura saturada
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade - colesterol
HepG2	Linhagem de células do hepatócito
HMG-CoA	Hidroxi -Metil-Glutaril Coenzima A
IGV	Índice de gordura víscero somático
Kcal	Quilocalorias
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Lípase hepática
LLP	Lípase lipoprotéica
LPH	Florisina hidrolase lactase
MTP	Proteína transferidora de triglicerídeos microssomal
Nob	Nobelitina
PMF	Flavonas polimetoxiladas
RER	Retículo Endoplasmático Rugoso
rpm	Rotações por minuto
Tan	Tangeritina
TG	Triglicerídeos
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
3. OBJETIVO GERAL	29
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1. ENRIQUECIMENTO DAS DIETAS	31
4.2. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA DIETA EXPERIMENTAL	32
4.3. ADMINISTRAÇÃO DA HESPERIDINA E DO SUCO DE LARANJA AOS RATOS	34
4.4. GANHO DE PESO DOS RATOS	34
4.5. ÍNDICE DE GORDURA VÍSCERO-SOMÁTICA (IGV)	34
4.6. OBTENÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO	35
4.7. EXAMES LABORATORIAIS DOS LIPÍDEOS SÉRICOS	35
4.8. DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL SÉRICO	36
4.9. DETERMINAÇÃO DE HDL-COLESTEROL	36
4.10. DETERMINAÇÃO DE TRIGLICÉRIDES	37
4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5. RESULTADOS	39
5.1. GANHO DE PESO DOS RATOS	39
5.2. EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM HESPERIDINA E DO SUCO DE LARANJA SOBRE OS LIPÍDEOS SÉRICOS NOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	44
6. DISCUSSÃO	49
6.1. EFEITO DA HESPERIDINA NA EVOLUÇÃO PONDERAL E ÍNDICE DE GORDURA VÍSCERO-SOMÁTICA	49
6.2. EFEITO DA HESPERIDINA NO PERFIL LIPÍDICO DE RATOS TRATADOS COM ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS	52
7. CONCLUSOES	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	67

1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da ciência e tecnologia dos alimentos, da nutrição, da medicina e de áreas afins, aumentaram as evidências científicas da ligação entre a dieta e a saúde do consumidor. As conseqüências da presença de substâncias conhecidas como antinutricionais têm sido rediscutidas, devido a descobertas recentes que evidenciam o potencial de algumas delas em exercer funções benéficas ao organismo humano (KUROWSKA et al., 2000 a e b; MIDDLETON et al., 2000; ERLUND, 2004).

As substâncias químicas de origem vegetal e ativas biologicamente são conhecidas como fitoquímicos, e dentre estes, os compostos fenólicos constituem o maior grupo. Os estudos sobre a influência dos compostos fenólicos na alimentação humana são ainda controversos. Há pesquisas demonstrando suas propriedades: anti-carcinogênica, e inibidora da digestão e da absorção dos alimentos, bem como sua eficiência em converter os nutrientes absorvidos em novas substâncias (AMEER et al., 1996; MIDDLETON et al. 2000).

Entre as diversas classes que compõem os compostos fenólicos, os flavonóides são considerados muito importantes para a alimentação humana devido a sua ampla distribuição em frutas, hortaliças e legumes, além de grãos cereais e leguminosas. Quimicamente, os flavonóides são compostos de baixa massa

molecular, encontrados naturalmente em certas frutas, hortaliças, chás, vinhos, nozes, sementes e raízes. Esta subclasse de polifenóis é caracterizada por conter dois ou mais anéis aromáticos, cada qual consistindo de um anel conectado com um oxigênio que une os dois anéis (A e B), formando um terceiro anel (C) (Figura 1).

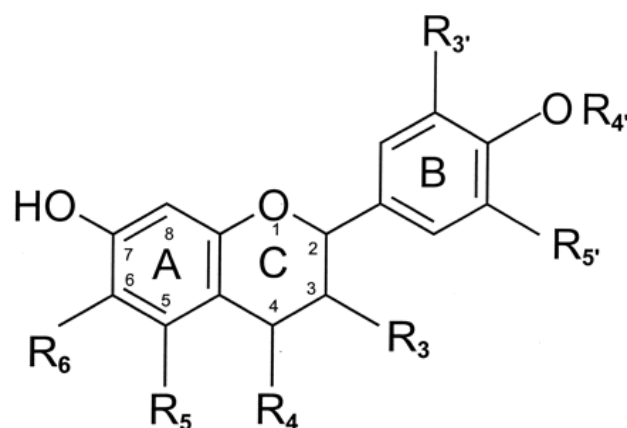


Figura 1 - Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonóides. As ligações, posições de insaturações e grupos funcionais são específicos para cada classe de flavonóides.

Embora não sejam consideradas vitaminas, os flavonóides têm várias funções nutricionais que têm sido descritas como modificadores da resposta biológica; a maioria atua como antioxidantes, e alguns têm propriedades antiinflamatórias (MIDDLETON et al., 2000). Tem sido ainda demonstrado que os flavonóides previnem ou retardam o desenvolvimento de alguns tipos de câncer (HEIM et al., 2002; SILALAH 2002; GUTHRIE & KUROWSKA 2001).

Há ainda os flavonóides cítricos que são apontados como redutores da hipercolesterolemia, da hipertensão e da obesidade (MANTHEY et al., 2001; KUROWSKA et al., 2000 a,b; KUROWSKA & MANTHEY, 2004; FUJIOKA & LEE, 2007). O conhecimento sobre a relação dos compostos flavonóides e o colesterol sanguíneo é ainda pequeno e estudos complementares são necessários para um melhor esclarecimento sobre o efeito desta interação.

Buscando contribuir com uma nova abordagem sobre o papel dos compostos flavonóides para a saúde, este trabalho teve como objetivo avaliar, em animais de experimentação a influência da hesperidina sobre as concentrações do colesterol total, HDL-C, triglicérides e a evolução ponderal de ratos tratados com dieta suplementada com ácidos graxos saturados e suco de laranja, uma fonte natural do flavonoide hesperidina.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Um dos maiores grupos de fitonutrientes que apresentam efeitos benéficos à saúde são os flavonóides. Sabe-se que o suco de laranja natural possui quantidades apreciáveis destes compostos, como os flavonóides cítricos (hesperidina e naringina), além da vitamina C (Quadro 1), que apresentam ação antioxidante, vaso protetora e hipocolesterolemica (RISO et al., 2005; ERLUND, 2004; USDA, 2006).

Quadro 1: Nutrientes do suco de laranja pronto para beber em uma porção (249 g ou 250 mL) (USDA, 2006).

Nutrientes	g	mg	µg	Nutrientes	mg	µg
Água	222			Vitamina A		22
Proteína	1,5			Vitamina C	86	
Gordura total	0,4			Vitamina B-6	0,2	
Carboidrato	25,0			Vitamin E, alfa tocoferol	0,5	
Açúcar total	21,0			Folato total		45
Fibra dietética total	0,5			Vitamina K		0,2
Cálcio		20		Niacina	0,8	
Cobre		0,1		Riboflavina	0,1	
Ferro		1,1		Thiamina	0,2	
Magnésio		27		Beta Caroteno		72
Fósforo		35		Alfa Caroteno		12
Potássio		436		Beta Criptoxantina		369
Selênio			0,2	Luteína + zeaxantina		286
Sódio		5				
Zinco		0,2				
Flavonóides		mg		Energia	kcal	
Hesperitina	13,75 ± 2,41				105	
Naringinina	3,86 ± 0,27					

A ingestão média de flavonas/flavononas é de cerca de 25 mg/dia em muitos países da Europa, com variações em função dos hábitos alimentares. As laranjas e seus sucos são boas fontes destes flavonóides e contêm cerca de 40 mg/100g do alimento, mas perdas consideráveis ocorrem com a remoção da casca, antes do consumo ou no processo industrial (ALIMENTOS FUNCIONAIS, 2001).

Em geral, as concentrações de flavonóides nos alimentos processados são aproximadamente 50% menores do que nos produtos frescos e sua absorção é mais eficiente quando se encontra conjugado a glicose (ANDALAUER et al., 1998; WISEMAN, 1999). O Quadro 2 apresenta a concentração da hesperidina em alguns sucos de laranja industrializados no Brasil.

Quadro 2 - Concentração de hesperidina nos sucos de laranja brasileiros.

SUCO	HESPERIDINA (mg/L)
Suco de laranja espremido manualmente	104-537
Suco de laranja concentrado e congelado	531-690*
Suco de laranja concentrado sem a polpa	1089-1200
* após diluição para 12° Brix. (Pupin, et al 1998)	

De modo geral, os flavonóides podem ocorrer em sua forma livre (aglicona) ou então conjugada a açúcares (glicosídeos). Nos alimentos, estes compostos estão na forma glicosídica, e após serem ingeridos e chegarem ao intestino grosso, a molécula de açúcar é degradada e os flavonóides passam para a forma aglicona. Os açúcares mais comuns encontrados conjugados aos flavonóides são: glicose, galactose, ramnose, xilose e arabinose, e menos freqüentemente, alguns dissacarídeos (LEE et al., 1999; KIM et al., 2003; HARBORNE & WILLIAMS, 2000). Mais de 80 espécies de açúcares têm sido descritos como ligados aos flavonóides (LIU, 2004).

A grande variedade de compostos pode ser explicada pelas modificações estruturais na composição básica da molécula, como reações de hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras. A glicosilação pode ocorrer nos grupos hidroxilas, ligando o flavonóide à molécula de açúcar através de um átomo de oxigênio, ou diretamente no núcleo do flavonóide, através de um átomo de carbono (AMEER et al., 1996; LEE et al., 1999; KIM et al., 2003; YAMADA et al., 2006).

Os flavonóides das frutas cítricas hesperidina e naringina são resistentes ao suco gástrico do estômago sendo absorvidos no trato gastrintestinal (KUROWSKA et al., 2000ab; AMEER et al., 1996; HOLLMAN & KATAN, 1999), após deglicosilação por enzimas de bactérias intestinais (HAVSTEEN, 1983).

A baixa solubilidade da hesperidina em água dificulta sua absorção, que é menor que 0,01%, entretanto, um derivado da hesperidina, a glicosil hesperidina (G-Hesperidin) é marcadamente mais solúvel em água que a hesperidina (YAMADA et al., 2006). Alguns tipos de flavonóides podem ser dissolvidos em carboximetil celulose sódica ou em propileno glicol para elevar sua absorção no organismo (YAMADA et al., 2006).

Previamente, outros autores reportaram que o metabólito hesperitina, da hesperidina (Figura 2) inibe a HMG-CoA redutase e reduz a concentração plasmática do colesterol em ratos (LEE et al., 1999; KIM et al., 2003).

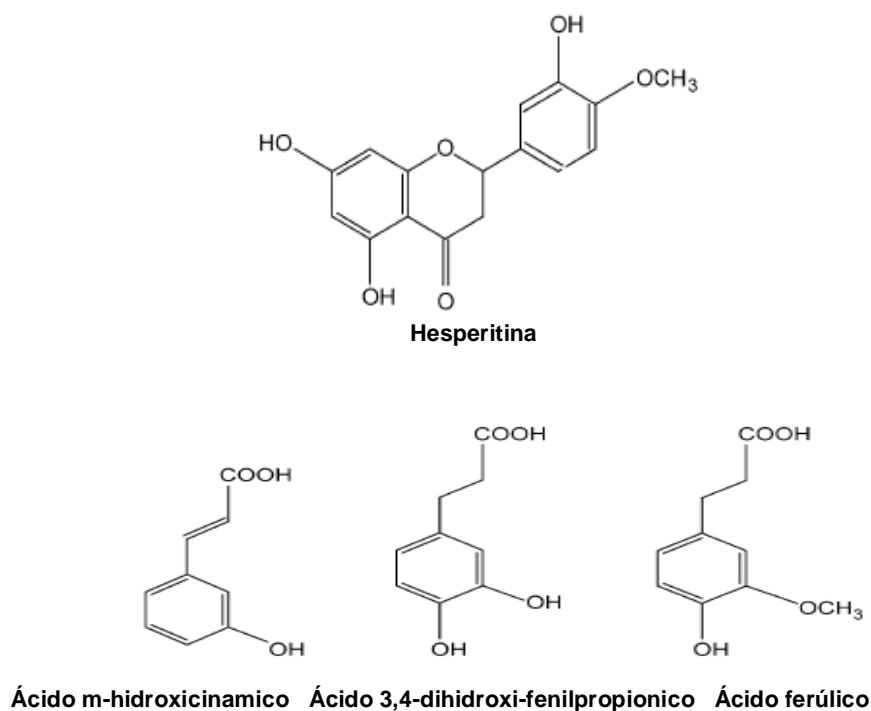


Figura 2 - Estrutura dos metabólitos da hesperidina (KIM et al., 2003).

A hesperidina encontrada quase que exclusivamente nos sucos cítricos, reduz o colesterol e os triglicérides do plasma, inibe a taxa de oxidação da LDL e o crescimento da placa ateromatosa, tanto em animais experimentais como no ser humano (COOK e SAMMAN, 1996; MONFORTE et al., 1995; KUROWSKA et al., 2000a,b). Tem sido demonstrado que a hesperidina inibe a absorção intestinal do colesterol alimentar e aumenta o catabolismo do colesterol hepático, contribuindo assim para um balanço negativo de colesterol (MONFORTE et al. 1995).

Tem sido sugerido que hidrolases e glicosidases, florisina hidrolase lactase (LPH), β -glicosidades e β -glicosidade citosólica

(CBG), atuam sobre os flavonóides em geral (FORMICA & REGELSON, 1995; TAPIERO et al., 2002; ERLUND, 2004).

A análise dos produtos de excreção urinária, após a ingestão de flavanonas isoladas (naringina e hesperidina), de suco de laranja ou “grapefruit”, evidenciou a presença de metabólitos destes compostos na urina, comprovando sua absorção pelo organismo (AMEER et al., 1996). Foi verificada ainda uma variação considerável na taxa de absorção entre os indivíduos, possivelmente devido às diferenças da ação da microflora gastrintestinal na deglicosilação das flavanonas (ERLUND et al., 2001, 2002).

Alguns estudos têm mostrado que as concentrações plasmáticas máximas de hesperitina e naringenina variam após o consumo de sucos cítricos (ERLUND et al., 2001, 2002; MANACH et al., 2003). Após a ingestão de cerca de 500 mL de suco de laranja essas concentrações variaram entre $0,46 \pm 0,07 \mu\text{mol/L}$ e $2,20 \pm 1,58 \mu\text{mol/L}$ para hesperitina, e de $0,06 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$ a $0,64 \pm 0,40 \mu\text{mol/L}$ para a naringenina (MANACH et al., 2003; ERLUND et al., 2001). No entanto, ainda não foi observado o acúmulo de flavanonas no plasma (ERLUND et al., 2002). O tempo de meia-vida plasmática destes compostos é de cerca de 1 a 2 horas após a ingestão e a excreção urinária é dose-dependente, isto é, proporcional à ingestão de flavanonas.

Após 24 horas da ingestão, as flavanonas são quase totalmente eliminadas pela urina, indicando que estes compostos

não atuam como biomarcadores de ingestão a longo prazo (ERLUND et al., 2001). Já de acordo com Brevik et al. (2004), que analisaram a excreção urinária de indivíduos consumindo duas ou cinco porções de frutas e hortaliças, as excreções urinárias de naringenina e hesperitina estavam aumentadas no grupo que consumiu cinco porções diárias de frutas e hortaliças.

O mecanismo de absorção e ação dos flavonóides no organismo ainda não está totalmente esclarecido. No intestino delgado a absorção dos flavonóides parece ocorrer através da especificidade das enzimas intestinais pela molécula de açúcar ligada ao composto (ERLUND, 2004).

Sabe-se que os flavonóides conjugados são levados pelo sistema porta dos enterócitos ao fígado, onde sofrem outras reações, como metilação, sulfatação e glicuronidação, resultando uma variedade de formas conjugadas (SCALBERT et al., 2002). Os flavonóides conjugados podem ser excretados pela bile ou levados aos tecidos periféricos pelo sistema sanguíneo, onde desempenham ações, tais como atividade antioxidante, prevenção de estresse oxidativo e de doenças crônicas (HOLLMAM & KATAN, 1997; TAPIERO et al., 2002; LIU, 2004).

Pesquisas com animais de experimentação têm demonstrado ação hipolipidêmica da hesperidina sobre a concentração de colesterol plasmático. A hesperidina, quando administrada como composto isolado em ratos tratados com colesterol dietético diminuiu o colesterol total, o LDL e os triglicérides plasmáticos, ao

mesmo tempo em que aumentou o HDL-C (MONFORTE et al., 1995).

O tratamento de células HepG2 com hesperidina e naringina reduziu a secreção de Apo B, indicativo da inibição da síntese do colesterol éster e de LDL. Além disso, os sucos cítricos contêm altas concentrações de limonóides, os quais parecem ter ação redutora sobre a apo B em células HepG₂ (BORRADAILE et al., 1999).

Outros estudos em humanos têm demonstrado que o suco de laranja reduz a excreção fecal e a concentração hepática de colesterol, indicando que os efeitos anti-colesterolêmicos são devidos às modificações endógenas no metabolismo do colesterol (KUROWSKA et al. 2000a). Além disso, o suco de laranja elevou o HDL-C e diminuiu a oxidação da LDL, devido à complexa composição em vitaminas, minerais e flavonóides deste alimento (BORRADAILE et al. 1999; KUROWSKA et al. 2000a).

Nas frutas cítricas, além das flavanonas, são encontradas também as flavonas altamente metoxiladas, também conhecidas como polimetoxiladas (PMF). A Figura 3 apresenta os flavonóides cítricos encontrados nas diferentes partes das frutas e em diferentes concentrações, variando de acordo com solo, clima, variedade da fruta, época da colheita, entre outros fatores.

As PMF cítricas mais comuns são tangeritina (Tan) e nobelitina (Nob), encontradas em laranjas, tangerinas e casca de laranja azeda (*Citrus aurantium*). Tem sido mostrado que as PMF

possuem maior potencial hipolipidêmico do que as flavanonas cítricas (KUROWSKA & MANTHEY, 2004).

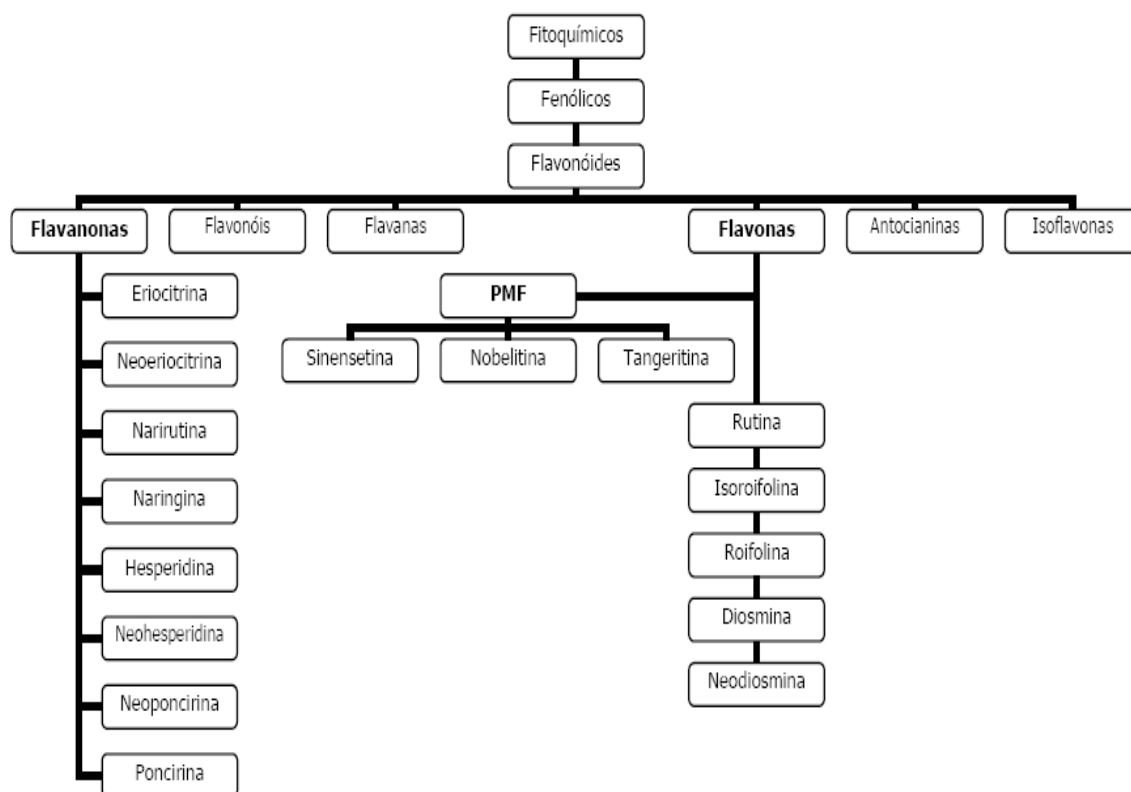


Figura 3 - Esquema de classificação dos flavonóides cítrico (LIU, 2004).

Estudos feitos por Kurowska e Manthey (2004) verificaram o efeito das PMF em hamsters com hipercolesterolemia induzida pela dieta. Foi observada no grupo suplementado com 1% de PMF, diminuição de 27% do colesterol e 44% de triglicérides no sangue, que foi comparável ao grupo tratado com dieta suplementada com 3% da combinação hesperidina/naringina (1:1), sugerindo um maior potencial hipolipidêmico das PMF.

A soja contém um flavonóide conhecido como genisteína, que reduz o colesterol de VLDL e LDL em macacos, ratos e coelhos. Tem sido relatada uma similaridade estrutural entre a genisteína da soja e a hesperidina dos sucos cítricos, sugerindo que este também pode apresentar propriedades hipocolesterolêmicas (KUROWSKA et al, 2000 a,b). A ação hipocolesterolêmica de compostos polifenólicos tem sido atribuída à ocorrência comum dos grupos hidroxila na posição 3, 4 ou 5 da sua estrutura (MONFORTE et al., 1995).

Em outro estudo, as flavanonas cítricas retiradas da casca da tangerina e uma mistura de flavonóides contendo hesperidina e naringina foram administradas a ratos hipercolesterolêmicos. Os resultados mostraram que os grupos suplementados tiveram redução das concentrações plasmáticas e hepáticas de colesterol e também de TG hepáticos, quando comparados ao grupo que não recebeu suplementação, sugerindo uma diminuição da síntese de colesterol endógeno devido à inibição da hidroximetil glutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzima responsável pela transformação da HMG-CoA em Mevalonato, na cadeia de reações da biossíntese de colesterol, também foi observada uma diminuição na excreção de colesterol fecal (MONFORTE et al. 1995; BOK et al. 1999; LEE et al., 1999; KIM et al. 2003).

Há evidências de que as flavanonas atuam reduzindo ou inibindo a atividade da proteína transferidora de triglicerídeos microsomal (MTP), reduzindo assim a formação da VLDL

nascente e, conseqüentemente, as concentrações de LDL circulantes (BORRADAILE et al., 2002). Na primeira etapa deste processo ocorre a formação de uma pequena partícula pré-VLDL no retículo endoplasmático rugoso (RER) hepático que se une à apo-B na membrana do RER e é enriquecida com triglicerídeos.

Na etapa seguinte, há a necessidade de outra MTP, para formar a VLDL flutuante no hepatócito que será, posteriormente, secretada para o sangue. Esta proteína irá transferir os triglicerídeos sintetizados para fundirem-se com a apo-B, ambos sintetizados no fígado para então formar a VLDL nascente, que será mais enriquecida com lipídeos e secretada, sendo chamada de VLDL flutuante (LARSSONN et al., 2004). Notou-se ainda que a atividade dos receptores de LDL estava aumentando (WILCOX et al., 2001), corroborando a evidência de que a expressão dos receptores hepáticos de LDL modula a secreção de apo-B (TWISK et al., 2000).

Homens e mulheres moderadamente hipercolesterolêmicos suplementados com 750 mL/dia de suco de laranja por várias semanas apresentaram aumento de 21% do HDL-C e redução de 16% da razão LDL/HDL (KUROWSKA et al., 2000a). Em estudo semelhante conduzido por CARNEIRO (2004), onde homens e mulheres foram tratados com 500 mL/dia de suco de laranja durante 60 dias, observou-se aumento significativo de 17% do HDL-C em homens e 8% em mulheres (CESAR et al., 2004).

Os efeitos da hesperidina devem-se a um ou mais mecanismos envolvendo inibição da absorção intestinal de colesterol, aumento da degradação de colesterol e interferência com lipoproteínas. Além disso, a diminuição da síntese do colesterol, induzida pela hesperidina, pode levar a um aumento de receptores de LDL e conseqüentemente, a uma diminuição do colesterol de LDL (MONFORTE et al. 1995). A hesperidina parece também aumentar o catabolismo do colesterol hepático, pois estudos sobre a distribuição de isótopos radioativos de flavonóides têm demonstrado que estes compostos estão concentrados especialmente no fígado (GRIFFITHS, 1982; MONFORTE et al. 1995).

A HDL no rato é a lipoproteína que faz o transporte do colesterol para os órgãos do corpo, assemelhando-se, portanto ao papel da LDL no homem (GROENER et al., 1989; KADOWAKI et al., 1992), além do transporte reverso do colesterol. No rato, o sistema de receptores responsáveis pela captação das LDL é semelhante ao do homem, apesar de não ser idêntico (INNERARITY et al., 1980). No plasma dos ratos, quase todas as VLDL, após hidrólise, são removidas da circulação via receptores hepáticos B/E e poucas partículas dão origem às LDL, que também são removidas preferencialmente pelo fígado (HAVEEL, 1984). Estudos metabólicos têm verificado que no rato, o transporte e a distribuição do colesterol para os tecidos são feitos basicamente

pelas HDL (INNERARITY et al., 1980; MAHLEY e INNERARITY, 1983; GROENER et al., 1989; KADOWAKI et al., 1992).

Mahley e Innerarity (1983) propuseram um modelo para explicar a alta afinidade dos receptores B/E por partículas ricas em apo E. Eles estimaram, baseados no peso molecular das HDL e das apo E, que cada partícula de HDL contém, em média, cerca de 16 moléculas de apo E e as LDL apenas uma molécula de apo B100. No modelo, cada partícula de HDL se liga a 4 sítios do receptor, enquanto as LDL se ligam a um único sitio de ligação do receptor. Assim, a alta afinidade das HDL resulta das múltiplas ligações entre 4 apos E com o receptor, o que é compatível com o menor número de partículas necessárias para saturar os sítios de ligação.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da hesperidina no controle dos níveis dos lipídeos sanguíneos em ratos tratados com dieta acrescida de ácidos graxos saturados.

3.1. Objetivos específicos

Avaliar nos ratos tratados com hesperidina, isolada ou associada ao suco de laranja e dieta enriquecida com ácidos graxos saturados, os seguintes parâmetros:

- a) Concentração sanguínea do colesterol total (CT), HDL-C e triglicérides nos animais experimentais e controle.
- b) Evolução ponderal dos animais experimentais e controle.
- c) O índice de gordura víscero-somático

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Biotério do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, SP.

No ensaio biológico foram utilizados ratos machos albinos com 40 dias de idade, da linhagem *Wistar*, pesando 194 ± 16 g, provenientes do Biotério central da UNESP de Botucatu-SP. Eles receberam uma dieta não purificada, obtida comercialmente, e água a vontade durante o tempo de aclimação ou adaptação de cinco dias, em caixas compartilhadas e em ambiente climatizado, com temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, com períodos de claro e escuro de 12 horas, antes de iniciarem os tratamentos da experimentação.

Foram constituídos cinco grupos de animais distribuídos ao acaso e submetidos ao tratamento dietético descrito na Tabela 1. Cada grupo continha 8 ratos sendo que foram mantidos 2 animais de cada grupo por gaiola.

Tabela 1 - Grupos de animais e respectivos tratamentos dietéticos.

Grupos	N	Dieta = Ração Comercial acrescida de:
Controle	8	água com açúcar
GS	8	gordura vegetal + água com açúcar
GS+SL	8	gordura vegetal + suco de laranja
GS+SL+H	8	gordura vegetal + suco laranja com hesperidina
GS+H	8	gordura vegetal + água com açúcar + hesperidina
Total	40	

4.1. Enriquecimento das dietas

As dietas foram preparadas a partir de ração comercial para ratos Labina, procedente da Purina®. Para enriquecimento das dietas foi utilizada a gordura vegetal comercial, com mistura de óleos de palma (90%) e de soja (10%), da marca Colméia da Vida Alimentos Ltda., em quantidade adequada para se obter a concentração final de 17% de gordura saturada na dieta, a composição da gordura vegetal está apresentada no Quadro 3.

Quadro 3 - Gordura Vegetal Colméia em porção de 10g .

Quantidade por porção	10g (1 colher de sopa)
Valor Energético	90 kcal
Carboidratos	0 g
Proteínas	0 g
Gorduras Totais	10 g
Gorduras Trans	2,6 g
Gorduras Saturadas	2,4 g
Colesterol	0 mg
Fibra Alimentar	0 g
Sódio	0 mg

Após a fusão da gordura vegetal em banho-maria termostaticado a 55°C, esta foi aspergida à ração comercial, utilizando equipamento de revestimento de núcleos sólidos do tipo drageadeira marca Max H. Neuberger, fabricado no Brasil. Durante o processo de enriquecimento foi utilizada agitação a 30 rpm e com fluxo de ar de secagem a temperatura ambiente.

Depois de produzida, a ração foi adequadamente acondicionada em sacos plásticos escuros e armazenada sob refrigeração (4-8°C) durante todo o período de utilização. A composição centesimal da dieta está apresentada no Quadro 4 e na Tabela 2.

4.2. Composição centesimal da dieta experimental

A composição centesimal da dieta experimental foi determinada seguindo-se as recomendações da AOAC (1995).

O conteúdo de umidade das amostras foi determinado submetendo-se as amostras em estufa a 105°C, por 4 horas até peso constante.

Os teores de proteína das amostras foram obtidos após determinação do nitrogênio total pelo método semi micro-Kjedahl e multiplicação pelo fator 6,25.

O extrato etéreo das amostras foi determinado através do aparelho Soxhlet, utilizando como solvente o éter de petróleo com refluxo contínuo através da amostra por 6 horas.

O teor de cinzas foi obtido carbonizando-se as amostras em mufla a 550°C, por 4 horas até peso constante.

O conteúdo de carboidratos totais presentes nas amostras foi calculado por diferença, ou seja, subtraindo-se de 100g de cada

amostra o total em gramas de umidade, proteína, lipídeos, cinzas (Tabela 2).

Quadro 4 - Análise centesimal da ração comercial para ratos Labina, produzida pela Purina® para o grupo controle.

Componentes	Ração Comercial (%)
Umidade (Máx.)	13
Proteína Bruta (Mín.)	23
Extrato Etéreo (Mín.)	4
Matéria Fibrosa (Máx.)	5
Matéria Mineral (Máx.)	10
Glicídios (Diferença)	45
Cálcio (Máx.)	1,3
Fósforo (Mín.)	0,85

Tabela 2 - Análise centesimal da ração preparada para os outros grupos experimentais.

Componentes	Componentes na Ração experimental (%)
Umidade	7,1
Proteína Bruta	21,5
Extrato Etéreo	16,9
Matéria Mineral	6,3
Glicídios (Diferença)	43,1

4.3. Administração da hesperidina e do suco de laranja aos ratos

Para administrar a hesperidina e o suco de laranja aos animais, a água oferecida foi substituída por suco de laranja (Lanjal®, Global Sucos, Matão, SP, Brasil), (Anexo 2), na diluição 1:6 e com hesperidina, C₂₈H₃₄O₁₅ (Pharma-Nostra, Campinas, SP, Brasil) na concentração de 25 mg/L. Nas diluições sem o suco de laranja, foi adicionado sacarosa para atingir a concentração de 100g/L de carboidratos, similar à composição do suco de laranja. A ração e a bebida foram oferecidas “*ad libitum*”.

4.4. Ganho de peso dos ratos

Durante a realização do experimento os animais foram pesados no início, semanalmente e no final do experimento.

4.5. Índice de gordura víscero-somática (IGV)

Os valores foram determinados pela relação entre o peso da gordura visceral (GV) e o peso corporal (PC) do rato, pela equação: $IGV = (GV/PC) \times 100$.

4.6. Obtenção de material biológico

Depois de quatro semanas de tratamento, e após 16 horas de jejum, os animais foram decapitados e colhidas amostras de sangue e tecido adiposo para análises laboratoriais. Este procedimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa animal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP/ Campus Araraquara, com o parecer n° 42/2006 apresentado no (Anexo 1).

4.7. Exames laboratoriais dos lipídeos séricos

As determinações bioquímicas do colesterol total (CT), colesterol de HDL (HDL-C), e triglicerídeos (TG) foram realizadas com o material das coletas supracitadas. As determinações bioquímicas foram realizadas no soro, após jejum de 16 horas. Todas as dosagens bioquímicas foram por método espectrofotométrico enzimático, no equipamento automático RAXT-Technicon®, utilizando-se os kits comerciais:

a) **COLESTEROL TOTAL CHOD-PAP**

MS/ANVISA 80115310040 Método: “CHOD-PAP”

Teste Fotométrico enzimático da marca Kovalent®

b) **TRIGLICERÍDEOS GPO-PAP**

MS/ANVISA 80115310039 Método: “GPO-PAP”

Teste Colorimétrico enzimático usando Glicerol-3-fosfato

Oxidase da marca Kovalent®

c) **HDL-C LE**

ANVISA 10009010057

Metodologia: Inibição seletiva da marca Labtest®

4.8. Determinação do colesterol total sérico

O colesterol total foi quantificado pelo método de Trinder (1969a). Esta reação ocorre em tampão fosfato 50 mmol/L, pH 7,0, o conteúdo colesterol esterase 250UI, colesterol oxidase 250 UI, peroxidase 1000 UI, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L e fenol 2,4 mmol/L. A colesterol esterase produz a hidrólise dos ésteres de colesterol e ácidos graxos. A enzima colesterol oxidase oxida o colesterol na presença do oxigênio, produzindo colest-4-en-3-ona e peróxido de hidrogênio. Esse, na presença de fenol, 4-aminoantipirina e sob ação da peroxidase produz a antipirilquinonimina e água. A antipirilquinonimina é de cor vermelha, e absorve luz em λ a 500 nm. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração do colesterol da amostra.

4.9. Determinação de HDL-Colesterol

As lipoproteínas de alta densidade (HDL) foram determinadas após precipitação seletiva das lipoproteínas de baixa

e muito baixa densidade (LDL e VLDL) mediante a adição de uma solução de ácido fosfotúngstico 1,5 mmol/L e cloreto de magnésio 54 mmol/L. Após centrifugação, o colesterol HDL foi determinado no sobrenadante, pelo método enzimático de Trinder (1969a), que utiliza o colesterol oxidase/peroxidase, conforme descrito anteriormente.

4.10. Determinação de triglicérides

Os triglicérides foram quantificados pelo método enzimático de Trinder (1969b), no qual inicialmente a lipase hidrolisa os triglicérides, produzindo ácidos graxos e glicerol. O glicerol é fosforilado pelo ATP na presença de oxigênio, à dihidroxiacetona, produzindo peróxido de hidrogênio. Este último, com a adição de 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, na presença de peroxidase forma a 4-antipirilquinonimina, que é colorida e absorve luz em λ igual a 510 nm. As reações são realizadas com a adição de um reagente contendo tampão fosfato 50 mmol/L, pH 7,5, lipase 1400 UI, glicerolquinase 1000 UI, glicerol-3-fosfato oxidase 3500 UI, peroxidase 440 UI, 4-aminoantipirina 0,7 mmol/L, ATP 0,18 mmol/L, 4-clorofenol 5,44 mmol/L e íons magnésio. A reação é desenvolvida a 37°C.

4.11. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com a realização de 5 tratamentos com 8 repetições. Foram realizadas análises de variância (ANOVA), seguidas do test de *Tukey* para comparação entre as médias, considerando o nível de significância menor ou igual a 0,05 ($p \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas com o software *Biostat 4.0*, enquanto a representação gráfica dos resultados foram efetuadas com o software *OriginPro 7.5*

5. RESULTADOS

O estudo do efeito da hesperidina pura ou associada com o suco de laranja em animais com dieta suplementada com gordura saturada constituiu uma estratégia para verificar o efeito do principal flavonóide cítrico do suco de laranja, a hesperidina, sobre as concentrações séricas de lipídeos sanguíneos.

5.1. Ganho de peso dos ratos

Todos os animais do experimento apresentaram ganho de peso, mas não houve diferença estatística entre os grupos. Apesar disso, os animais do grupo suplementado com gordura saturada (GS) apresentaram em média, um ganho de peso 11,7% maior do que o grupo controle (C).

Os animais do grupo GS mais hesperidina (GS+H) foram os que apresentaram maior ganho quando comparados com os demais grupos (22,7 %). O grupo GS mais suco de laranja e hesperidina (GS+SL+H) foi o que apresentou o menor ganho de peso em relação a todos os outros grupos experimentais, igual a (2,3 %). Os valores médios estão apresentados na Tabela 3 e Figura 4.

Valores similares foram observados em relação a quantidade de tecido adiposo, cujas médias confirmam a mesma tendência do ganho de peso nos grupos. Os resultados são mostrados na Tabela 3 e Figura 5.

Tabela 3 - Ganho de peso, tecido adiposo e índice da gordura víscero-somática dos grupos experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H). Valores seguidos de letras diferentes indicam diferenças significantes ($p < 0,05$).

DIETAS	Ganho de peso(g)	Tecido adiposo(g)	IGV (%)
C	128 ± 20	9,3 ± 2.3	2,9 ± 0,5 ^b
GS	143 ± 30	12,6 ± 2.3	3,7 ± 0,7 ^{a b}
GS+SL	135 ± 23	11,2 ± 3.0	3,5 ± 0,8 ^{a b}
GS+H	157 ± 26	14,6 ± 4.0	4,0 ± 1,0 ^a
GS+SL+H	131 ± 18	10,1 ± 3.0	3,1 ± 0,8 ^{a b}

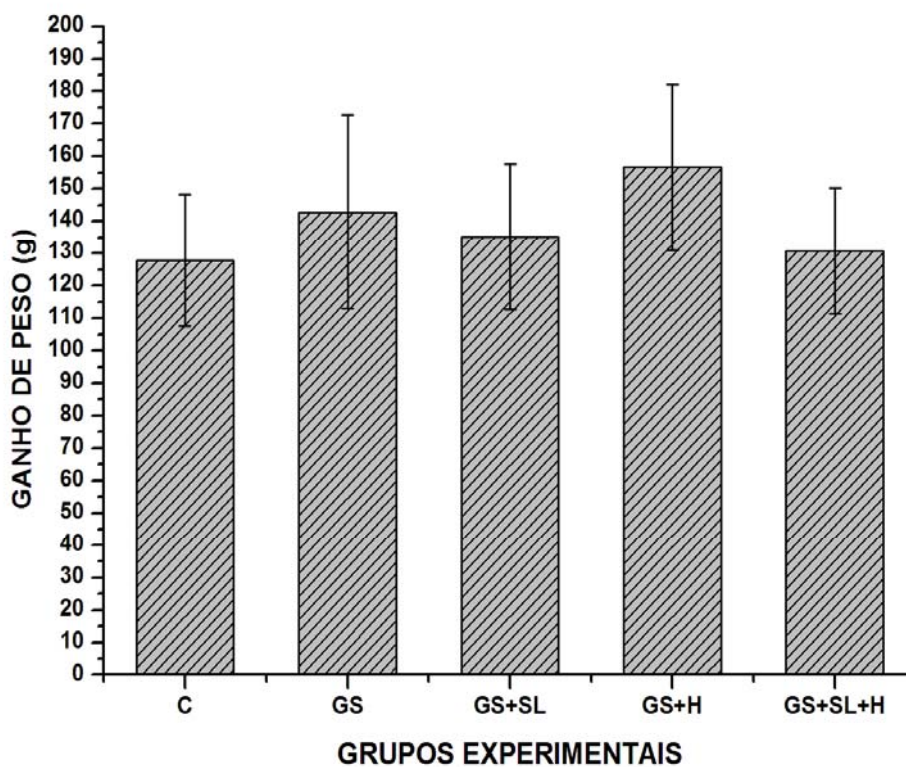


Figura 4 - Valores médios \pm desvio padrão do ganho de peso dos grupos experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

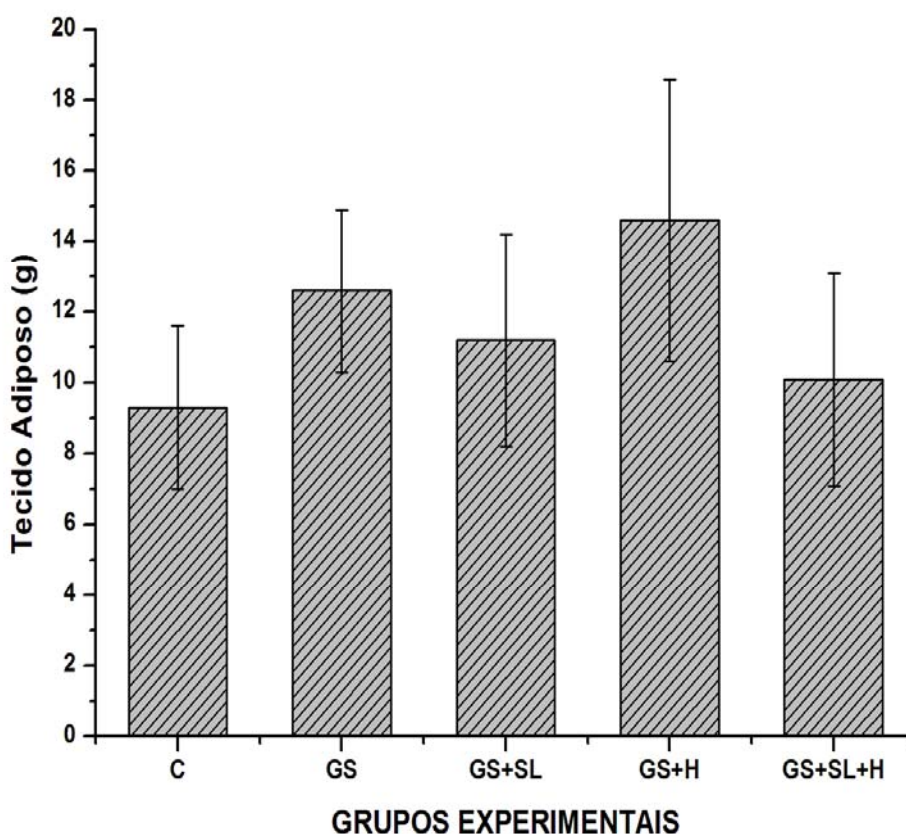


Figura 5 - Valores médios \pm desvios padrão do tecido adiposo dos grupos experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

A dieta com gordura saturada promoveu um ganho de peso em todos os grupos, representado pela tendência no aumento do ganho de peso corporal dos ratos e pela deposição de maior quantidade de tecido adiposo, quando comparado à dieta do grupo controle, embora as diferenças entre os grupos não tenham sido significativas.

O índice de gordura víscero-somático (IGV) teve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo controle (C) e o grupo (GS+H), como se observa na Tabela 3 e Figura 6.

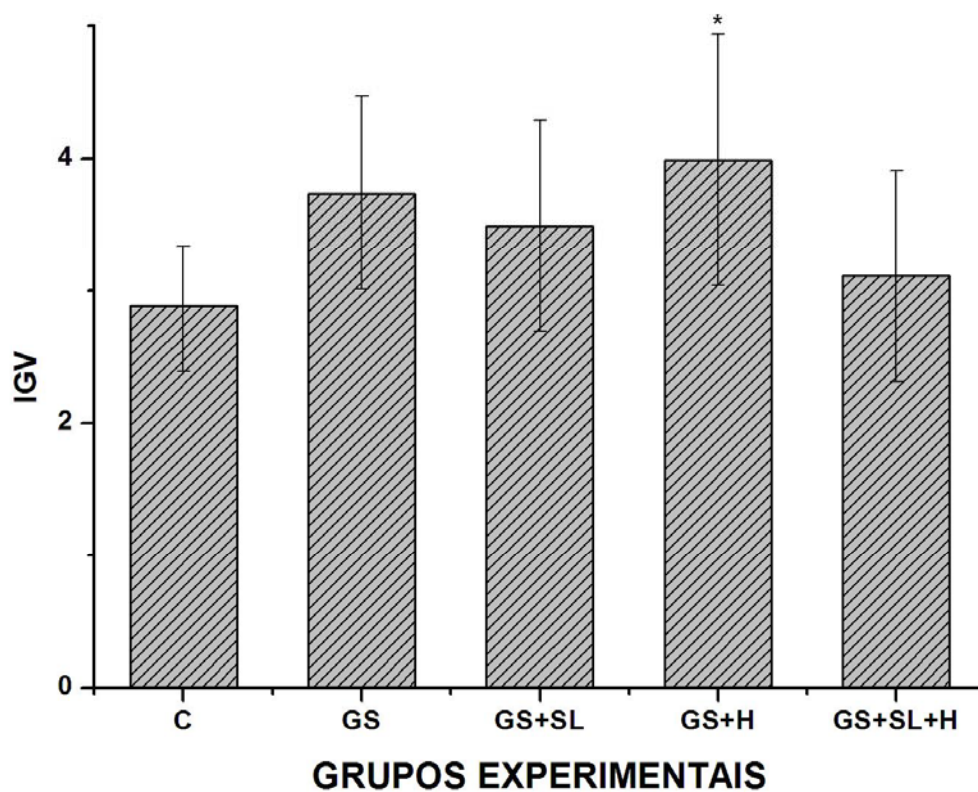


Figura 6 - Valores médios \pm desvios padrão do IGV dos grupos experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

* $p < 0,05$ em comparação ao grupo C.

5.2. Efeito da suplementação com hesperidina e do suco de laranja sobre os lipídeos séricos nos grupos experimentais

As concentrações séricas de colesterol total (CT) de cada um dos grupos de ratos alimentados com a dieta controle e dietas experimentais estão apresentados na Tabela 4. A análise estatística dos dados não mostrou diferenças significativas entre os grupos, embora os grupos (GS+SL+H) e (GS+H) apresentaram valores médios mais próximos ao controle, enquanto os grupos GS e GS+SL apresentaram medias mais elevadas. As concentrações séricas de HDL-C de cada um dos grupos de ratos alimentados com as dietas experimentais estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores da média e desvio padrão para colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-C) e triglicérides (TG) no soro sanguíneo em ratos alimentados com diferentes dietas. Valores seguidos de letras diferentes indicam diferenças significantes ($p < 0,05$). Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

DIETAS	CT (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	TG (mg/dl)
C	62 ± 8	29 ± 6 ^b	167 ± 62
GS	75 ± 10	40 ± 3 ^a	168 ± 45
GS+SL	76 ± 12	38 ± 6 ^a	182 ± 58
GS+H	68 ± 22	32 ± 6 ^{ab}	200 ± 61
GS+SL+H	69 ± 12	36 ± 5 ^{ab}	183 ± 71

As médias das concentrações séricas do CT para todos os grupos estão ilustradas na Figura 7.

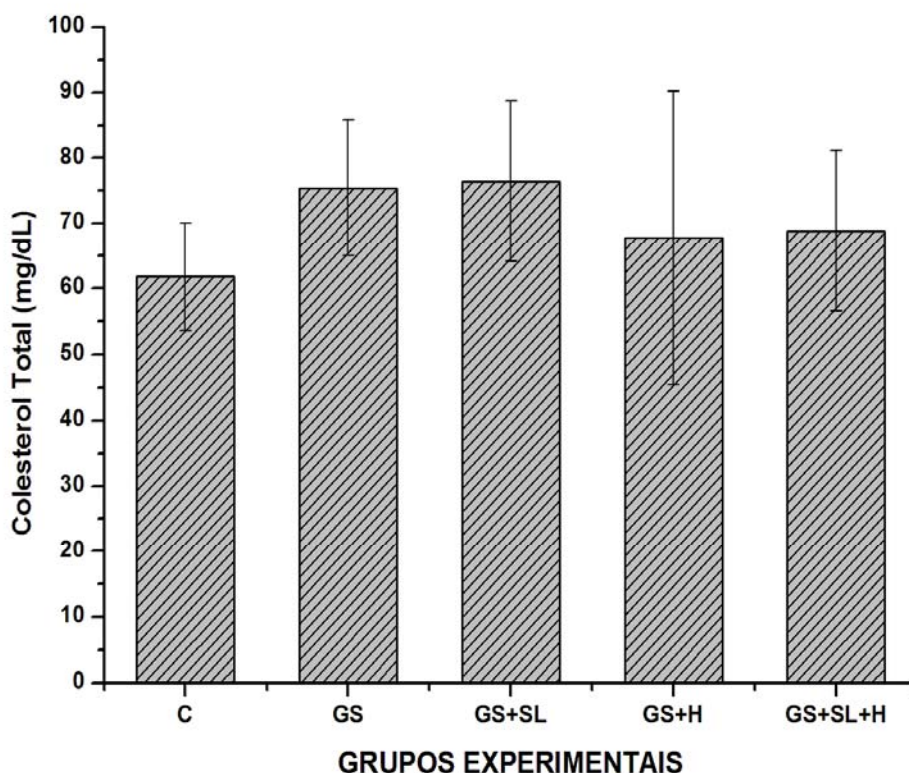


Figura 7 - Valores médios \pm desvios padrão do Colesterol Total no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

A análise estatística dos dados de HDL-C mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o grupo (GS) em comparação com o grupo controle (C), demonstrando assim aumento do HDL-C nos ratos GS. Também foi observada diminuição do grupo (GS) quando comparado ao grupo (GS+H), em uma porcentagem de 20%. Os valores de HDL-C do grupo (GS+SL+H) foram 10% menores que os

do grupo (GS) e os valores do grupo (GS+SL) foram 5% menores quando comparados ao grupo (GS), como apresentado na Tabela 4 e Figura 8.

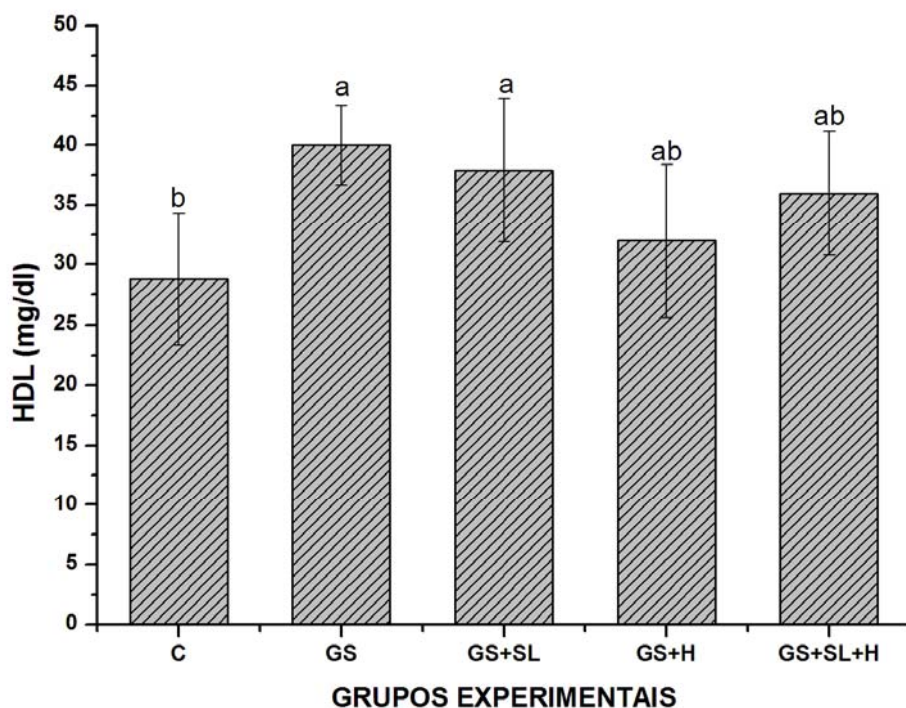


Figura 8 - Valores médios \pm desvios padrão para HDL-C no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

Valores seguidos de letras iguais não diferem entre si, ($p < 0,05$).

As concentrações séricas de triglicérides (TG) (mg/dl) dos animais submetidos às diferentes dietas experimentais estão

apresentados na Tabela 4. A análise estatística não mostrou diferenças significativas entre os grupos. As médias e o desvio padrão podem ser observados na Figura 9.

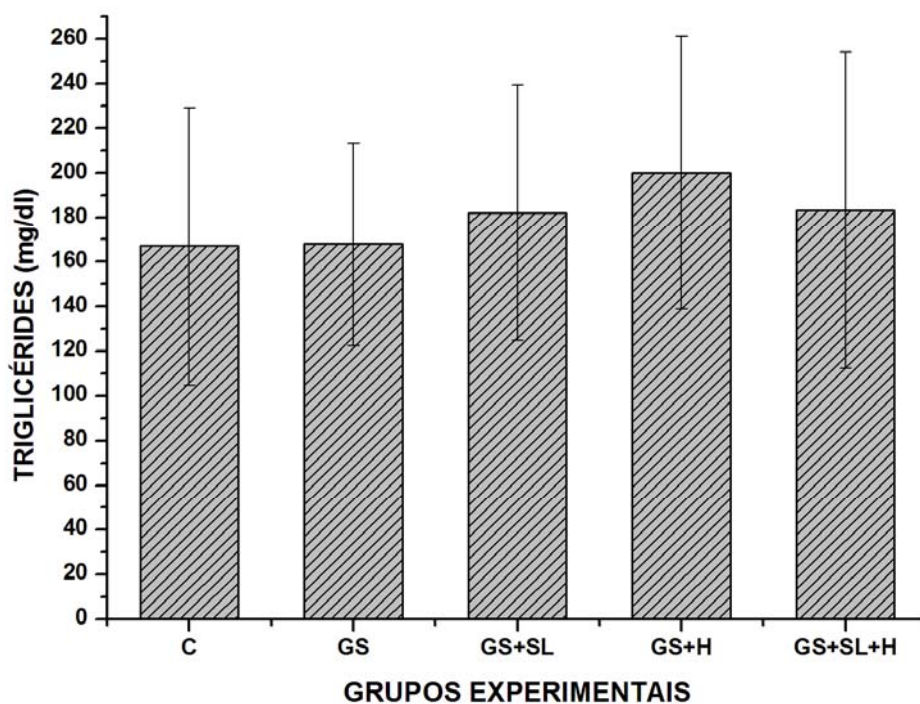


Figura 9 - Valores médios \pm desvios padrão para Triglicérides no soro sanguíneo em ratos alimentados com as diferentes dietas experimentais. Grupo controle(C), Grupo gordura saturada (GS), Grupo gordura saturada + suco de laranja (GS+SL), Grupo gordura saturada + hesperidina (GS+H), Grupo gordura saturada + suco de laranja + hesperidina (GS+SL+H).

6. DISCUSSÃO

6.1. Efeito da hesperidina na evolução ponderal e índice de gordura víscero-somática

O rato tem sido um animal experimental muito utilizado nos vários estudos da ação dos flavonóides cítricos no metabolismo lipídico (MONFORTE et al., 1995; LEE et al., 1999; BOK et al., 1999; KIM et al., 2003). Seguindo este modelo da literatura, no presente estudo foi utilizado o rato como modelo experimental.

Os animais experimentais deste estudo foram tratados com gordura saturada e não com colesterol dietético, como nos demais trabalhos encontrados na literatura (MONFORTE et al., 1995; LEE et al., 1999; BOK et al., 1999; KIM et al., 2003). A opção por este tipo de tratamento dietético foi baseada na ação pronunciada que os ácidos graxos saturados apresentam sobre o metabolismo dos lipídeos, maior do que o próprio colesterol dietético. Além disso, quando se utiliza o colesterol dietético é necessário acrescentar ácido cólico na dieta para obter o efeito desejado, devido à dificuldade natural do animal em absorver colesterol, o que não ocorre com os triglicérides, cuja biodisponibilidade é superior a 90% (ITOKAWA et al., 1973; MACHADO et al., 2003).

Os resultados deste estudo mostraram que a dieta controle e as dietas experimentais com gordura saturada, suplementada ou não com hesperidina e suco de laranja, gerou ganho de peso

semelhante em todos os grupos experimentais, e levou ao armazenamento de maior quantidade de tecido adiposo apenas nos grupos experimentais. O período de tempo estudado e a quantidade de gordura saturada, entretanto, não foram suficientes para provocar alterações significativas no ganho de peso entre os grupos.

Resultados similares aos apresentados foram observados em estudos anteriores nos quais não foi observada diferença significativa na ingestão do alimento, no ganho de peso, ou peso dos órgãos entre o grupo controle e os grupos experimentais (BOK et al., 1999; KIM et al., 2003). De acordo com os autores, o peso corporal e a ingestão do alimento não foram influenciados pela suplementação com hesperidina.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a gordura víscero-somática dos ratos do grupo hesperidina mais gordura saturada (GS+H) apresentou o maior índice de acúmulo de tecido adiposo ($p \leq 0,05$). Ao contrário, os ratos submetidos à dieta com ácidos graxos saturados suplementada com hesperidina e suco de laranja (GS+SL+H) foram os que acumularam menos gordura víscero-somática e tiveram resultados mais próximos ao do grupo controle, assim como os demais grupos que não mostraram diferenças em relação ao controle.

Assim, pudemos concluir que a hesperidina isolada não afetou o ganho de peso e sim no índice de gordura víscero-somática.

Em estudo com ratos alimentados com uma dieta elevada em colesterol (1%) e suplementados com hesperitina (0,02%), ácido m-hidroxicinâmico (m-HC), ácido 3,4-dihidroxi-fenilpropiónico (3,4-DHPP), e ácido 3-metoxi-4-hidroxi-cinâmico ou ou ácido ferúlico, não foram observadas diferenças significativa no ganho de peso, na ingestão alimentar e no peso dos órgãos entre os grupos experimentais (KIM et al., 2003)

Da mesma forma, os resultados de Kurowska e Manthey (2004), em dois estudos nos quais os flavonóides foram administrados a hamsters, mostraram nenhum efeito no peso corporal, no consumo alimentar e ou eficiência alimentar, que representa a relação entre o nutriente ingerido e o ganho de peso.

6.2. Efeito da hesperidina no perfil lipídico de ratos tratados com ácidos graxos saturados

Estudos anteriores demonstraram a influência dos ácidos graxos saturados no aumento das concentrações de colesterol sérico e no desenvolvimento da aterosclerose (GRUNDY & DENKE, 1990). Entre os ácidos graxos saturados, os ácidos graxos láurico, mirístico e palmítico são responsáveis pelo efeito hipercolesterolêmico (KEYS et al. 1965), mas ácidos graxos com menos de doze carbonos e o ácido esteárico tem pequeno ou nenhum efeito no colesterol sérico no homem (BAUDET et al., 1984; REISER et al., 1985). Outros pesquisadores obtiveram efeito hipercolesterolêmico em ratos utilizando dietas com misturas de triglicerídios saturados e insaturados, sem adição de colesterol (CLIFFORD et al., 1986).

Esta pesquisa pretendeu verificar se a hesperidina atua em oposição ao efeito dos ácidos graxos saturados, auxiliando na redução do colesterol sérico mesmo na vigência de uma dieta rica em gordura saturada. Esta abordagem pode ser vista como um aspecto inovador frente aos trabalhos já publicados sobre o efeito do colesterol dietético, pois estudou os efeitos da hesperidina na hipercolesterolemia causada por consumo de triglicérides.

No homem, os triglicérides do plasma têm sido associados ao risco de doenças arterial coronária (DAC), devido às alterações que eles causam na composição das lipoproteínas, tais como

diminuição no teor de HDL-C, aumento dos quilomicrons e remanescentes de VLDL, e ainda o aparecimento de LDL pequena e densa, que é mais aterogênica (GRUNDY & DENKE, 1990; CASTELLI, 1986). A inter-relação entre os triglicérides e o metabolismo das HDL parece ser regulada em parte pela ação da lipase lipoprotéica no homem (LEFEVRE & SCHNEEMAN, 1984).

No presente estudo não foi identificado a modificação na concentração dos triglicérides séricos quando os ratos foram tratados com gordura e/ou hesperidina na concentração de 25mg/L, isolada ou adicionada de suco de laranja. Este resultado foi similar a estudos anteriores nos quais também não se observou efeito sobre os triglicérides em ratos com a ingestão de 0,1 até 1,0% de hesperidina (BOK et al., 1999; LEE et al., 1999).

A ação específica de ácidos graxos saturados e insaturados no rato foi estudada por Kris-Etherton (1984). Segundo este autor em ratos tratados com óleo de palma, que contem cerca de 44% de ácido palmítico e 5% de ácido esteárico, não houve modificação do teor de colesterol total e do colesterol de quilomicrons, VLDL, LDL e HDL, quando comparados a outras fontes de ácidos graxos, como o óleo de açafrão, óleo de milho e óleo de oliva. Resultados semelhantes foram descritos por Ney et al. (1991).

O estudo do tamanho e da composição de HDL no rato sob diferentes tratamentos com gorduras saturadas mostrou que o óleo de palma afetou o colesterol plasmático total de forma semelhante

a outras fontes de gorduras, como o óleo de milho, a manteiga, gordura de carne e óleo de coco (NEY et al., 1991).

Foi mostrado ainda que o óleo de palma aumentou o colesterol de HDL em comparação com o óleo de milho, mas reduziu significativamente o teor de apo A1 da HDL. Estes resultados sugerem que sob o efeito do óleo de palma, as partículas de HDL carregavam maior proporção de colesterol no seu núcleo lipídico, como HDL enriquecidas com colesterol, embora não apresentaram aumento significativo no número de partículas de HDL₂.

À luz destes conhecimentos, os resultados obtidos no estudo atual mostraram que no rato submetido ao tratamento com uma mistura de óleo de palma (90%) e óleo de soja (10%) não houve alteração do colesterol total. Todavia, no rato tratado com óleo de palma e hesperidina houve uma redução significativa do teor de colesterol da HDL, com tendência às concentrações normais dos animais controle. Já no rato tratado com o suco de laranja isolado que contem uma quantidade mais limitada de hesperidina, não houve efeito reparador as concentrações de HDL, enquanto nos animais suplementados com hesperidina e suco de laranja, o efeito foi intermediário.

Em ratos tratados com colesterol dietético foi verificado que a composição e o metabolismo das HDL foi bastante modificado, e que estas alterações foram relacionadas ao metabolismo dos quilomicrons (DE LAMATRE et al., 1982). No homem, a

composição da HDL parece ser relacionada ao metabolismo dos triglicérides. Após a lipólise dos quilomicrons e VLDL pela lípase lipoprotéica, os fosfolipídios e apolipoproteínas são captados pela HDL, que modifica sua densidade (de HDL₃ para HDL₂) (TALL et al., 1979; CHAJECK & EISENBERG, 1978). As proporções relativas destas subtrações de HDL estão relacionadas à taxa de catabolismo dos triglicérides (TASKINEN et al., 1982). Segundo Lefevre & Schneeman (1984), a correlação negativa entre os níveis de triglicérides plasmáticos e a razão HDL-C/Apo AI, sugere uma relação entre a composição e tamanho da HDL e a lipólise das lipoproteínas ricas em triglicérides, o que é verdadeiro também no rato.

A HDL atua como um reservatório de apo C transferindo estas apos para o quilomicron e VLDL durante a absorção de gordura, e alterando seu conteúdo da HDL pelas trocas entre as lipoproteínas durante e após a lipólise. No plasma dos ratos, quase todas as VLDL, após hidrólise, são removidas da circulação via receptores hepáticos B/E e poucas partículas dão origem às LDL, que também são removidas preferencialmente pelo fígado (HAVEL, 1984). Estudos metabólicos têm verificado que no rato o transporte e a distribuição do colesterol para os tecidos são feitos basicamente pelas HDL (INNERARITY et al., 1980; MAHLEY e INNERARITY, 1983; GROENER et al., 1989; KADOWAKI et al., 1992).

Assim, o efeito redutor da hesperidina sobre o colesterol de HDL (-20%) no rato tratado com óleo de palma, sugere uma ação reparadora deste composto aos níveis anteriores ao tratamento com ácidos graxos saturados. Havendo uma tendência a uma menor quantidade de colesterol circulante, haverá uma menor concentração de HDL-C, que no rato é a lipoproteína que faz o transporte do colesterol para os órgãos do corpo, assemelhando-se, portanto ao papel da LDL-C no homem (GROENER et al., 1989; KADOWAKI et al., 1992).

7. CONCLUSOES

A hesperidina não afetou o peso corporal de ratos tratados com ácidos graxos saturados, mas aumentou a porcentagem de tecido adiposo nos animais e elevou o índice de gordura víscerosomática.

A hesperidina reduziu o colesterol de HDL no rato tratado com óleo de palma, sugerindo uma ação reparadora deste composto sobre as concentrações de HDL-C.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. AOAC. **Official methods of analysis**. 16th ed. Washington, DF, 1995. v.2.

ALIMENTOS funcionais. O maravilhoso mundo dos nutracêuticos. **Aditivos e Ingredientes**, n17, p.38-56, 2001.

AMEER, B.; WEINTRAUB, R. A.; JOHNSON, J.V.; YOST, R.A.; ROUSEFF, R.L. Flavone absorption after naringin, hesperidin, and citrus administration. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 60, p. 34-40, 1996.

ANDAULER, W.; STEHLE, P.; FÜRST, P. Chermo prevention: a novel approach in dietetics. **Curr. Opi. Clinic Metabolic Care.**, v.1, p. 539-547, 1998.

BAUDET, M. F.; DACHET, C.; LASSERRE, M.; ESTEVA, O.; JACOTOT, B. Modification in the composition and metabolic properties of human low density and high density lipoproteins by different dietary fats. **J. Lipid Res.**, v.25, p.456-468, 1984.

BOK, S.H. LEE,S.H.; PARK, Y. B.; BAE, K.H. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hidoxy-3methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **Am. Soc. Nutr. Sci.**, v.129, p.1182-1185, 1999.

BREVIK, A.; RASMUSSEN, S.E.; DREVON, C.A. ; ANDERSEN, L.F. Urinary excretion of flavonoids reflects even small changes in the dietary intake of fruits and vegetables. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v.13, n. 5, p. 843-849, 2004.

BORRADAILE, N.M.; CARROLL K.K.; KUROWSKA E.M. Regulation of HepG2 cell apolipoprotein B metabolism by the citrus flavanones hesperetin and naringenin. **Lipids.**, v.34, p. 591-598,1999.

BORRADAILE N.M.; DREU L.E.; BARRETT, P.H.R.; HUFF. M.W. Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin: enhanced rapid intracellular degradation independent of reduced microsomal cholesteryl esters. **J. Lipid Res.**, v.43, p.1544–1554, 2002.

CARNEIRO, A. C. **Efeito do suco de laranja no perfil lipídico de homens e mulheres adultos**. 2004. 91 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

CASTELLI, W. P. The triglyceride issue: a view from Framingham. **Am. Heart J.**, v.112, p.432-437, 1986.

CESAR, T. B.; CARNEIRO, A. C.; VENDRAMINE, R. C. Effect of chronic consumption of orange juice on the lipid profile and nutritional status of healthy subjects. In: THE ACS NATIONAL MEETING, 228th. Philadelphia: Division of Agricultural & Food Chemistry, 2004.

CHAJECK, T.; EISENBERG, S. Very low density lipoprotein. Metabolism of phospholipids, cholesterol, and apolipoprotein C in the isolated perfused rat heart. **J. Clin. Invest.**, v.63, p.1654-1665, 1978.

CLIFFORD, A. J.; SMITH, L. M.; CREVELING, K.; Hamblin, C. L.; CLIFFORD, C. K. Effects of dietary triglycerides on serum and liver lipids and sterol excretion of rats. **J. Nutr.**, 116:944-956, 1986.

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

DE LAMATRE, J. G.; KRAUSE, B. R.; ROHEIM, P. S. Regulation of serum apolipoprotein E metabolism: role of chylomicron metabolism. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, v. 79, p.1282-1285, 1982.

ERLUND, I.; MERIRINNE, E.; ALFTHAN, G.; ARO, A. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. **J. Nutr.**, v. 131, p. 235-241, 2001.

ERLUND, I.; SILASTE, M.L.; ALFTHAN, G.; RANTALA, M.; KESÄNIEMI, Y.A.; ARO, A. Plasma concentrations of the flavonoids hesperetin, naringenin and quercetin in human subjects following their habitual diets, and diets high or low in fruit and vegetables. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 56, p. 891-898, 2002.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutr. Res.**, v. 24, p. 851-874, 2004.

FORMICA, J. V.; REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Food Chem. Toxicol.**, v. 33, n. 12, p. 1061-1080, 1995.

FUJIOKA, K.; LEE, M.W. Pharmacologic treatment options for obesity: Current and potential medications. **Nutr. Clin. Pract.**, v. 22, n. 1, p. 50-54, 2007.

GRIFFITHS, L.A. Mammalian metabolism of flavonoid. In: Harborne J.; Marbry, J.J. (Eds). **The flavonoids: advances in reaserch**. London: Chapman and Hall, 1982.

GROENER, J.E.M.; VAN GENT, T.; VAN TOL, A. Effect of lipid transfer protein on plasma lipids, apolipoproteins and metabolism of HDL cholesteryl ester in the rat. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1002, p.93-100, 1989.

GRUNDY, S. M.; DENKE, M. A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **J. Lipid Res.**, v.31, p.1149-1172, 1990.

GUTHRIE, N.; KUROWSKA E. Anticancer and cholesterol-lowering activities of citrus flavonoids. In: WILDMAN, R.E.C. (Ed.). **Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods**. Boca Raton, FL: CRC Press LLC, 2001

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoids since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HAVEL, R. J. The formation of LDL: mechanisms and regulation. **J. Lipid Res.**, v. 25, p. 1570-1573, 1984.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, class of natural products of high pharmacological potency. **Biochem Pharmacol.**, v. 32, p. 1141-1148, 1983.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J. Nutr. Biochem.**, v. 13, p. 572-584, 2002.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomed. Pharmacother.**, v. 51, p. 305-310, 1997.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food Chem Toxicol.**, v. 37, p. 937-942, 1999.

INNERARITY, T.L.; PITAS, R.E.; MAHLEY, R.W. Disparities in the interaction of rat and human lipoproteins with culture rat fibroblasts and smooth muscle cells. **J. Biol. Chem.**, v. 255, p.11163-11172, 1980.

ITOKAWA, Y.; INDUE, k.; SASAGAWA, s.; FUJIWARA, M. Effect of S-Methylcysteine Sulfoxide, S-Allylcysteine sulfoxide and related sulfur-containing amino acids on lipid metabolism of experimental hypercholesterolemic rats. **J. Nutr.**, v.103, p.88-92, 1973.

KADOWAKI, H.; PATTON, G.M.; ROBINS, S.J. Metabolism of high density lipoprotein lipids by the rat liver: evidence for participation of hepatic lipase in the uptake of cholesteryl ester **J. Lipid Res.**, v. 33, p. 1689-1698, 1992.

KEYS, A.; ANDERSON, J. T.; GRANDE, P. Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. **Metabolism.**, v.14, p.776-787, 1965.

KIM, H.K.; JEONG, T.S.; LEE, M.K.; PARK, Y.B.; CHOI, M.S. Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats **Clin. Chim. Acta**, v. 327, p.129–137, 2003.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HO, C. Y.; FOSMIRE, M. A. The effect of dietary fat saturation on plasma and hepatic lipoproteins in the rat. **J. Nutr.**, v.114, p. 1675-1682, 1984.

KUROWSKA, E.M.; SPENCE, J.D.; JORDAN, J.; WETMORE, S.; FREEMAN, D.J.; PICHÉ, L.A.; SERRATORE, P. HDL-cholesterol-

raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.72, p.1095-1100, 2000b.

KUROWSKA, E.M.; BORRDAILE, N.M.; SPENCE, J.D.; CARROEL, K.K. Hypocholesterolemic effects of dietary citrus juices in rabbits. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 1, p.121-129, 2000.

KUROWSKA, E.M.; MANTHEY, J.A. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamster with diet-induced hypercholesterolemia. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 2879-2886, 2004.

LARSSON, S. L.; SKOGSBERG, J.; BJÖRKEGREN, J. The low density lipoprotein receptor prevents secretion of dense apoB100-containing lipoproteins from the liver. **J Biol Chem.**, v. 279, n. 2, p. 831-836, 2004.

LEE, S.H.; JEONG, T.S.; PARK, Y.B.; KWON, Y.K.; CHOI, M.S.; BOK, S.H. Hypocholesterolemic effect of hesperitin mediated by inhibition of 3-hydroxymethyl-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and acyl coenzyme A: cholesterol diet. **Nutr. Res.**, v. 19, n. 8, p. 1245-1258, 1999.

LEFEVRE, M.; SCHNEEMAN, B. O. High density lipoprotein composition in rats fed casein or soy protein isolate. **J. Nutr.**, v. 114, p.768-777, 1984.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism action. **J Nutr.**, v. 134, p. 3479S-3485S, 2004.

MAHLEY, R.W.; INNERARITY, T.I. Lipoproteins receptors and cholesterol homeostase. **Biochim. Biophys. Acta**, v.737, p.197-222, 1983.

MANACH, C.; MORAND, C.; GIL-IZQUIERDO, A.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; RÉMÉSY, C. Bioavailability in humans of the flavanonas hesperidin and nari rutin after the ingestion of two doses of orange juice. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 57, p. 235-242, 2003.

MANTHEY, J.A.; GUTHRIE, N.; GROHMANN, K. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. **Curr. Med. Chem.**, v. 8, n. 2, p. 135-153, 2001.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T.C. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. **Pharmacol Rev.**, v.52, p.673–751, 2000.

MACHADO, D.F.; FERREIRA, C.L.; COSTA, N.B.; OLIVEIRA, 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 cólico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23 n.2, p. 270-275, 2003.

MONFORTE, M.T.; TROVATO, A.; KIRJAVAINEN, S.; FORESTIERI, A.M.; GALATI, E.M.; LO CURTO, R.B. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. **Farmaco.**, v. 50, n.9, p.595-599, 1995.

NEY, D.M.; LAI, H.C.; LASEKAN, J.B.; LEFEVRE, M. Interrelationship of plasma triglycerides and HDL size and composition in rats fed different dietary saturated fats. **J. Nutr.**, v.121, p.1311-1322, 1991.

REISER, R.; PROBSTFIELD, J. L.; SILVERS, A.; SCOTT, L. W.; SHOMEY, M. L.; WOOD, R. D.; O'Brien, B. C.; GOTTO, A. M.; Phil, D.; INSULL, W. Jr. Plasma lipid and lipoprotein responses of humans to beef fat, coconut oil and safflower oil. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.42, p.190-197, 1985.

RISO, P.; VISIOLI, F.; GARDANA, C.; GRANDE, S.; BRUSAMOLINO, A.; GALVANO, F.; GALVANO, G.; PORRINI, M. Effects of blood orange juice intake on antioxidant bioavailability and on different markers related to oxidative stress. **J. Agric. Food Chem.**, v.53, p. 941-947, 2005.

SCALBERT, A.; MORAND, C.; MANACH, C.; RÉMÉSY, C. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. **Biomed & Pharmacother**, v. 56, p. 276-282, 2002.

SILALAH, J. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. **Asia Pacific J Clin Nutr.**, v. 11, n.1, p. 79–84, 2002.

TALL, A. R.; GREEN, P. H. R.; GLICKMAN, R. M.; RILEY, J. W. Metabolic fate of chylomicron phospholipids and apoproteins in the rat. **J. Clin. Invest.** v.64, p. 977-989, 1979.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. ; BA, G. N.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies. **Biomed. Pharmacother**, v. 56, p. 200-207, 2002.

TASKINEN, M.R.; KASHYAP, M. L.; SRIVASTAVA, L. S.; ASHRAF, M.; JOHNSON, J. D.; PERISUTTI, G.; BRADY, D.; GLUECK, C. J.; JACKSON, R.L. In vitro catabolism of human plasma very low density lipoprotein. Effects of VLDL concentration on the

interconversion of high density lipoprotein subfractions. **Atherosclerosis**, v.41, p.381-94, 1982.

TRINDER, P. Simple turbidimetric method for the determination of serum cholesterol. **Ann. Clin. Biochem.**, v.6, p. 165-166, 1969a.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem.**, v.6, p. 24-27, 1969b.

TWISK, J.; GILLIAN-DANIEL, D.L. ; TEBON, A. ; WANG, L. ; BARRET, P.H. ; ATTIE, A.D. The role of the LDL receptor in apolipoprotein B secretion. **J. Clin. Invest.**, v. 105, n. 4, p. 521-532, 2000.

USDA. Database for the flavonoid content of selected foods release 2, 2006. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6231>. Acesso em: 10 nov. 2007.

YAMADA, M.; TANABE, F.; ARAI, N.; MITSUZUMI, H.; MIWA, Y.; KUBOTA, M.; CHAEM, H.; KIBATA, M. Bioavailability of glucosyl hesperidin in rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v.70, n.6, p.1386-1394, 2006.

WILCOX, L. J.; BORRADAILE, N. M.; DREU, L. E.; HUFF, M.W. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **J. Lipid Res.**, v.42, p. 725-734, 2001.

WISEMAN, H. The bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phytoestrogens. **Proc. Nutr. Soc.**, v.58, p. 139-146, 1999.

ANEXOS

Anexo 1

unespUNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara

Protocolo CEP/FCF/CAr. nº 22/2006 – Animais em Pesquisa

Interessados: JULIO CÉSAR VINUEZA GALÁRRAGA

Orientador: Profa. Dra. THAIS BORGES CÉSAR


Título do Projeto: Efeito do suco de laranja no perfil lipídico de ratos
tratados com dieta suplementada com colesterol e
ácidos graxos saturados.**Parecer nº 42/2006 – Comitê de Ética em Pesquisa**

O Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade, considera o protocolo para uso de animais na pesquisa: "Efeito do suco de laranja no perfil lipídico de ratos tratados com dieta suplementada com colesterol e ácidos graxos saturados", estruturado dentro dos princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA, manifestando FAVORÁVEL à sua execução.

Araraquara, 22 de novembro de 2006.

Profª. Drª. MARIA VIRGINIA COSTA SCARPA
Coordenadora do CEP

Anexo 2

	SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE		Código: FT.GQ. 01	
	Ficha Técnica		Aplicação: G & Q	
	<u>Lanjal Sem Açúcar</u>		Revisão 00	Página de 1

Nome	CONCENTRADO DE LARANJA
Descrição	Produto de origem vegetal, obtido através do processamento da laranja, com etapas de lavagem, Filtração, Desidratação (Concentração), Homogeneização e Pasteurização.
Localização	Unidade de Laranja
Tempo de safra	todo
Embalagem	Garrafas de <u>1 litro</u> e Bombona Plásticas de <u>5 litros</u>
Condições de Armazenamento:	Deve ser mantido no congelador, temperatura < -10°C ou. 2 meses. Mantido na geladeira, temperatura 5°C.
Características	Físicas, Microbiológicas e Organolépticas.

Físico - Química			
	Unidade	Limite Inferior	Limite Superior
Índice de Refração a 20°C	%	1,50	1,50
Teor de Ácido Cítrico	100g	1,18	1,72
	%	0,0	0,0
	*-	0,40	0,90
Densidade Específica (20°C)	g/l	1,282	1,288

Microbiologia			
	Unidade	Limite Inferior	Limite Superior
Bactérias Totais	UFC/N	*-	10 ⁶
Coliformes Totais	UFC/ml	*-	10 ⁶
Coliformes de Bolors / Leveduras	UFC/ml	*-	10 ⁶

Organolépticas	
Cor	Líquido Viscoso Alaranjado
Sabor	Característico
Textura	Característico

Formação Nutricional – Porção de 200ml (1 copo)				
	porção (SUCO)	(*)	porção (Refresco)	(*)
Energia	382 kcal		265 kcal	
Carboidratos	20		14	
Proteínas	0		0	
Gorduras Totais	0		0	
Gorduras Saturadas	0		0	
Fibras	0		0	
Sódio	0		0	
	0		0	
	90	100	60	100

(*) % Valores diários de referência com base em uma dieta de 2,000 kcal ou 8,400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

(**) Valores Diários de referência não estabelecidos.

Ingredientes	parte de Lanjal Sem Açúcar + 6 Partes de Água. ► 1 parte de Lanjal Sem Açúcar + 9 Partes de Água.
Controles de Qualidade	Quality Control Manual for Citrus Processing Plants , Refratometria, Densimetria, Titrimetria, Contagem Padrão em Placas.
Rotulagem	Embrulhos BOPP Auto-adesivos ou Silk Screen com as informações: Nome do produto, Data de fabricação, Validade, Número do lote e todas as informações exigidas pela legislação.

Qualidade	rigorosamente natural isento de qualquer aditivo químico como: Conservantes, Estabilizantes, Aromatizantes, Emulsificantes, Corantes artificiais, etc.		
Recebimento	em caso de qualquer suspeita que comprometa a qualidade do produto, recomendamos a recusar o produto.		
Registros	MAPA	0204	00063-3

Responsável Técnico: Izaias Oliveira dos Santos – CRQ-IV 04435920

IMPLANTAÇÃO			IMPLEMENTAÇÃO
ELABORADO POR:	ELABORADO POR:	ELABORADO POR:	ELABORADO POR:

“Assinatura somente no documento original”

Anexo 3

**PHARMA
NOSTRA**

Superação. Nossa principal matéria-prima.

Filial Campinas
Av. Marechal Rondon, 1268 - Jd. Chapodão
Campinas-SP - 13070-205
PABX: (19) 2101-4000

Filial Anápolis
Via Primária - 5D-Qd. 10 MOD. 01 S/N
Dala - Anápolis-GO - 75133-600
PABX: (62) 3316-5226

Matriz - Rio de Janeiro
R. Aquidabã, 1144 - Méier
Rio de Janeiro-RJ - 20720-293
PABX: (21) 2141-1555

CERTIFICADO DE ANÁLISE *Entibio*

MATÉRIA PRIMA:	HESPERIDINA	DATA DE ANÁLISE:	07/11/2006	pág. 1
ORIGEM/PROCEDÊNCIA:	CHINA	LOTE FABRICANTE:	050801	
LOTE PHARMA NOSTRA:	05101426L	DATA DE FABRICAÇÃO:	Agosto/2005	
DATA DE FABRICAÇÃO:	Agosto/2005	DATA DE VALIDADE:	Agosto/2008	
CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM: TEMPERATURA ENTRE 15° E 30°C				
FM: C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅		CAS:	520-26-3	
PM: 610.57		DCB:	03601.01-3	
DATA DE EMISSÃO:	15/01/2007	NF:	092.335	

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
DESCRIÇÃO*	Pó quase branco a creme	Pó creme.	Fabricante.
SOLUBILIDADE*	Solúvel piridina, ácido acético glacial quente; Facilmente solúvel soluções alcalinas diluídas; insolúvel em acetona, metanol e benzeno.	Conforme.	Fabricante.
PERDA POR DESSECAÇÃO*	≤ 0.5% (2 horas a 105°C)	0.21%	Fabricante.
RESÍDUO POR IGNIÇÃO*	≤ 0.4%	0.25%	Fabricante.
pH (Solução 1%)*	4.5 - 7.5	5.31	Fabricante.
PONTO DE FUSÃO*	242 - 262°	244°C	Fabricante.
DENSIDADE APARENTE*	Informativo (sem compactação)	Sem compactação 0.14 g/ml	Met. Geral FB-IV
METAIS PESADOS *	≤ 10 ppm	< 10 ppm	Fabricante.
ARSÊNIO*	≤ 1 ppm	< 1 ppm	Fabricante.
SUBSTÂNCIAS INSOLUVEIS (DMF 10%)	≤ 3.0%	0.7%	Fabricante.
ABSORBÂNCIA (IN NaOH. 660NM)	< 0.15	0.12	Fabricante.
TEOR HPLC	≥ 95%	95.2%	Fabricante.

*Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade Pharma Nostra. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise Fabricante.

CONCLUSÃO: (X) Aprovado () Reprovado

[Assinatura]
Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
Renata Galvão E. de Moraes - CRF-GO N° 5009

[Assinatura]
Responsável Técnico
Amin Gabriel Gebrim - CRF-GO N° 1829

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)