

*Geovana Maria Xavier Ebaid*

**EFEITOS DO AZEITE DE OLIVA E SEUS FENÓIS  
SOBRE PARÂMETROS NUTRICIONAIS,  
MORFOMÉTRICOS, CALORIMÉTRICOS,  
LIPÍDIOS SÉRICOS E ESTRESSE OXIDATIVO EM  
RATOS ALIMENTADOS COM DIETA PADRÃO E  
HIPERCALÓRICA**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Fisiopatologia em Clínica Médica, da  
Faculdade de Medicina de Botucatu -  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre.

**Orientadora:** Professora Titular Dr<sup>a</sup>. Ethel Lourenzi Barbosa  
Novelli

Botucatu - SP

2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *Sulamita Selma Clemente Colnago*

Ebaid, Geovana Maria Xavier Ebaid.

Efeitos do azeite de oliva e seus fenóis sobre parâmetros nutricionais, morfométricos, calorimétricos, lipídios séricos e estresse oxidativo em ratos alimentados com dieta padrão e hipercalórica. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Orientador: Ethel Lourenzi Barbosa Novelli

1. Azeite na nutrição humana – Estudos experimentais

CDD 612.3

Palavras chave: Azeite de oliva; Oleuropeia; Ácido cafeico; Calorimetria indireta; Lipídios séricos; estresse oxidativo

## **ORIENTADOR**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ethel Lourenzi Barbosa  
Novelli

Estudo realizado no Departamento de Química e Bioquímica  
do Instituto de Biociências e no Laboratório Experimental  
do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de  
Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista -  
UNESP.

# *DEDICATÓRIA*

---

Aos meus pais *Samir Ebaid* e *Sidi Xavier*, meus eternos amores, minha  
razão de viver.

## *AGRADECIMENTOS ESPECIAIS*

---



A *Deus*, por Seu infinito amor.

À *Profª Drª Ethel Lourenzi Barbosa Novelli*,  
Orientadora e amiga, pelos conhecimentos profissionais e humanos.  
Pelos preciosos ensinamentos, incentivo e carinho.

Aos meus amados irmãos *Gustavo e Leonardo*, pela presença constante  
em minha vida.

Ao *José Marcos*, meu grande companheiro, pelos momentos  
compartilhados, por seu amor... Por tornar minha vida mais feliz.

À *Fapesp* pelo apoio financeiro e incentivo ao desenvolvimento deste

trabalho.

# *AGRADECIMIENTOS*

---

Aos meus amigos, *Hosana, Gisele, Cristiano, Fábio, Luciane, Yeda, Regina, Katiucha, Juliana, Priscila e Heloísa* pela dedicação à realização deste trabalho, pelo carinho e amizade, pelos momentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. *Carlos Roberto Padovani*, do Departamento de Bioestatística, UNESP, Botucatu, pelos cuidados estatísticos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. *Léa Silvia Sant'Ana*, do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, pela preciosa colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

À secretária da Pós-Graduação da Clínica Médica *Ana Maria Mengue*, aos funcionários do Laboratório Experimental da Clínica Médica *Mário Baptista Bruno e José Carlos Georgette* e aos funcionários da sessão de Pós-graduação da UNESP-Botucatu, *Regina Célia Spadin, Nathanael P. Salles, Lílian Cristina B. Nunes e Janete Herculano Nunes*, pela atenção e pelo carinho que sempre demonstraram.

Ao *Fábio Henrique Fava, Maria A. N. de Oliveira e Lurdes Ribeiro de Lemos* do Departamento de Química e Bioquímica - IB, pela dedicação e pelo auxílio técnico prestado.

# *SUMÁRIO*

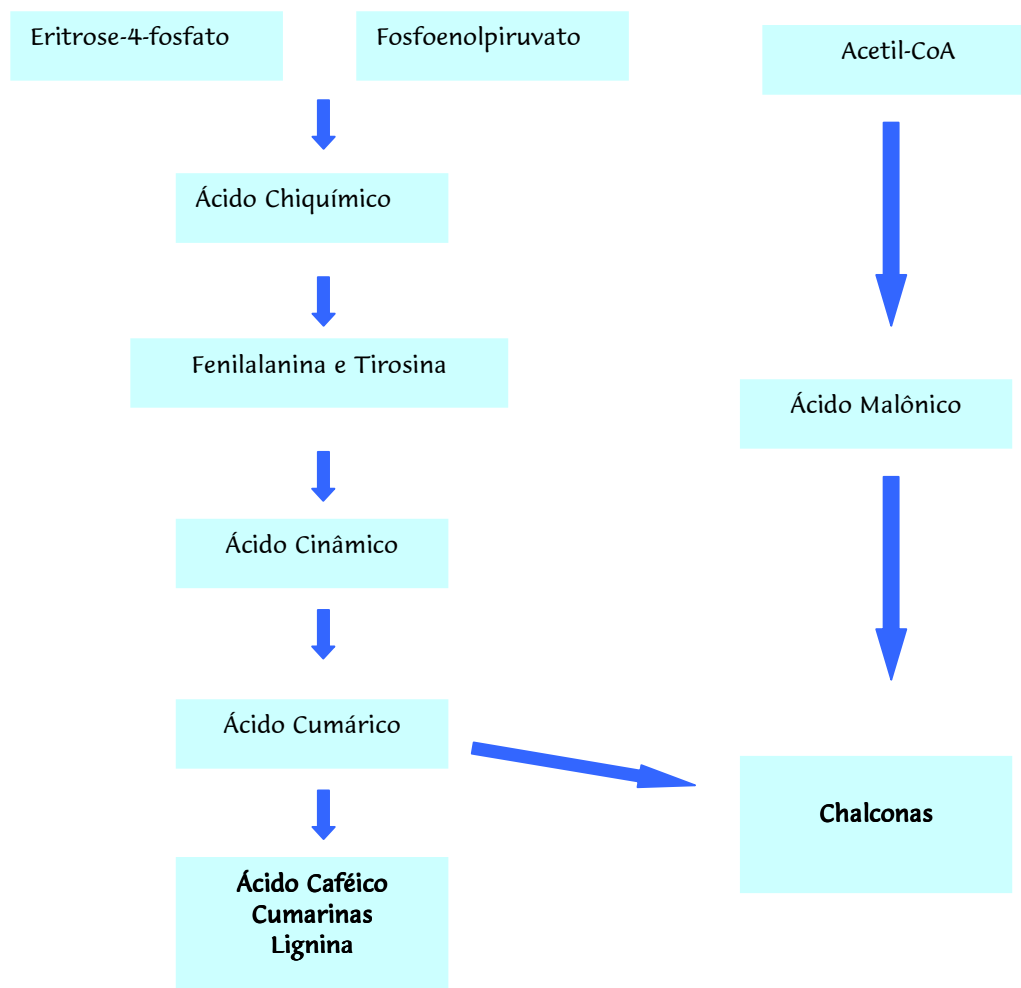
---

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
Referências Bibliográficas .....	10
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	12
Ação do azeite de oliva e seus componentes fenólicos oleuropeína e ácido caféico sobre parâmetros nutricionais, morfométricos e calorimétricos em ratos alimentados com dieta padrão e hipercalórica.....	12
Resumo.....	13
Introdução.....	15
Objetivos.....	20
Material e Métodos.....	20
Resultados.....	26
Discussão.....	43
Referências Bibliográficas.....	56
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	65
Perfil lipídico e estresse oxidativo sérico: ação do azeite de oliva e seus fenóis em animais submetidos a ingestão de dieta padrão e hipercalórica.....	65
Resumo.....	66
Introdução.....	68
Objetivos.....	72
Material e Métodos.....	73
Resultados.....	77
Discussão.....	89
Referências Bibliográficas.....	104
<b>Considerações Finais</b> .....	114
Considerações Finais.....	114

# *INTRODUÇÃO*

---

Os vegetais produzem grande variedade de produtos secundários, denominados compostos fenólicos, que apresentam em sua estrutura um grupo fenol, uma hidroxila funcional e um anel aromático (Vissers et al., 2004). Os compostos fenólicos são biossintetizados nos vegetais por meio de diferentes vias, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico. Duas vias metabólicas estão envolvidas na síntese dos compostos fenólicos: a do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico (Figura 1) (Taiz & Zeiger, 2004).



**Figura 1.** Via metabólica do ácido chiquímico e malônico e síntese de chalconas (Taiz & Zeiger, 2004).



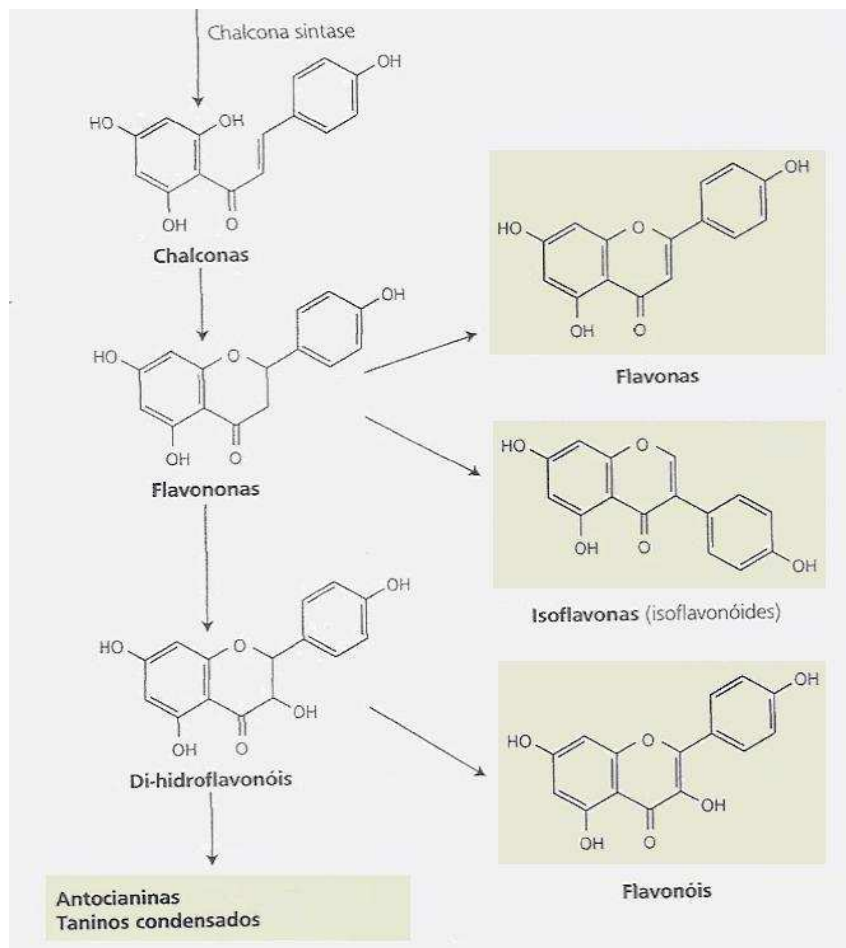
A partir do ácido cumárico e do malônico são formadas as chalconas, consideradas precursores dos flavonóides, desde que todos os outros flavonóides são obtidos a partir de alterações na estrutura básica da chalcona (Figura 2).

A via do ácido chiquímico converte precursores derivados da glicólise, o fosfoenolpiruvato (PEP) e da via do fosfogluconato, a eritrose-4-fosfato em aminoácidos aromáticos como a fenilalanina e a tirosina. A classe mais importante dos compostos fenólicos é derivada da fenilalanina, que através da eliminação de uma molécula de amônia origina o ácido cinâmico. A reação subsequente origina o ácido cumárico, do qual derivam compostos fenólicos simples, ou fenilpropanóis, assim chamados por conterem um anel benzênico e uma cadeia lateral de 3 carbonos. Os fenilpropanóis são importantes unidades básicas para a formação de compostos fenólicos mais complexos.

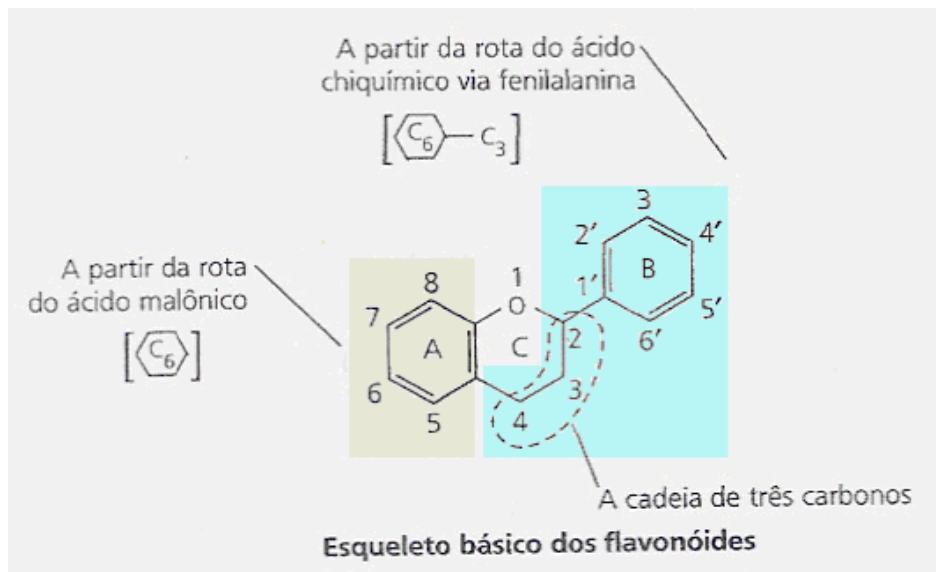
Os flavonóides constituem a maior classe de compostos fenólicos vegetais. O nome flavonóide deriva de *flavus* (latim) ou colorido, sendo primeiramente identificados como pigmentos encontrados em vegetais. Posteriormente foram identificados compostos menos coloridos que apresentavam estrutura molecular similar, constituído de vários fenóis, sendo chamados genericamente de polifenóis (Figura 2). A estrutura básica dos polifenóis contem 15 carbonos organizados em dois anéis aromáticos ligados entre si por uma cadeia de três carbonos.

Estruturalmente os flavonóides são considerados derivados benzo- $\gamma$ -pirano consistindo de um anel benzênico, freqüentemente denominado anel

“A”, ligado a 6 carbonos que constituem um anel heterocíclico, denominado anel “C” e apresentando, ligado ao carbono 2, um grupo fenil. A numeração dos anéis “A” e “C” é feita com números ordinários, enquanto o anel “B” é numerado utilizando-se apóstrofo (Taiz & Zeiger, 2004) (Figura 3).



**Figura 2.** Síntese de flavonóides (Taiz & Zeiger, 2004).



**Figura 3.** Estrutura geral dos flavonóides (Taiz & Zeiger, 2004).

Os flavonóides são classificados em 3 tipos principais, as flavonas, flavonóis e isoflavonas. Também compreendem as flavononas e os dihidroflavonóis. Os diferentes tipos de flavonóides diferem na estrutura molecular. Podem ser agliconas, glicosídeos ou derivados metilados (Hsieh & Kinsella, 1998; Scalbert & Williamson 2000).

Os flavonóides agliconas apresentam o anel benzo- $\gamma$ pirano, sendo o anel C um  $\gamma$ pirano nas flavonas e flavonóis, e um derivado 2,3-dihidroxi (desidro derivados) nas flavanonas e flavanóis. A posição do anel benzeno divide os flavonóides em duas classes. Quando o benzeno está na posição 2 temos os flavonóis e flavonas e na posição 3, as isoflavonas. As isoflavonas constituem, portanto, um grupo de flavonóides no qual a posição de um anel aromático está invertida. Flavonóis diferem das flavononas pelo grupo hidroxil na posição 3 e uma dupla ligação entre o C2-C3. Flavonóides são

usualmente hidroxilados nas posições C 3, 5, 7, 3', 4' ou 5' (Taiz & Zeiger, 2004).

Os flavonóides glicosilados são formados com a ligação de carboidratos principalmente nas posições 3 ou 7. Em geral são conjugados com carboidratos simples formando os glicosídeos ou os heterosídeos. Os glicosídeos são normalmente hidrofílicos enquanto as formas agliconadas, ou agliconas são insolúveis em água, estando presente em óleos (lipofílicos) (Hsieh & Kinsella, 1998).

Antioxidantes dietéticos apresentam um importante papel na manutenção da homeostase do controle oxidativo. Vitamina C, vitamina E,  $\beta$ -caroteno, polifenóis, selênio, entre outros, são tidos como constituintes antioxidantes de uma dieta (Schwedhelm et al., 2003).

A dieta do Mediterrâneo, rica em frutas, vegetais, grãos e relativamente baixa em carne vermelha está associada com a baixa incidência de doenças cardiovasculares (Visoli & Galli, 1998), particularmente, por sua alta proporção de compostos bioativos como vitaminas e compostos fenólicos (Visoli et al., 1998). Seu efeito benéfico é atribuído ao seu alto conteúdo em compostos com propriedades biológicas antioxidantes e a elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados (Renaud et al., 1995; Trichopoulou et al., 1995; De Lorgeril et al., 1998).

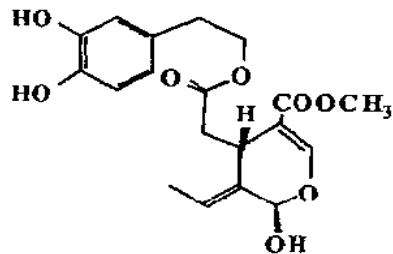
Os compostos fenólicos encontrados no azeite de oliva constituem uma fração complexa formada por um número elevado de componentes, que contribuem consideravelmente para a estabilidade oxidativa do óleo

(Wiseman et al., 1996). O azeite de oliva contém fenóis simples como o ácido caféico, hidroxitirosol, ácido vanílico, *p*-cumárico, ácido ferúlico, entre outros. Também contém flavonóides como apigenina, luteolína, oleuropeína e ligstrosídeos (Visioli & Galli, 1998; Brenes et al., 1999).

Azeite de oliva é conhecido por sua alta resistência à degradação oxidativa. Tal propriedade pode ser devido, em grande parte, à elevada concentração de antioxidantes polifenólicos encontrados principalmente na composição do azeite de oliva extra-virgem (Wiseman et al., 1996). Os polifenóis são os responsáveis pela textura e aroma característicos do azeite, conferindo à oliva elevada resistência à rancificação, ou oxidação (Montedoro et al., 1992).

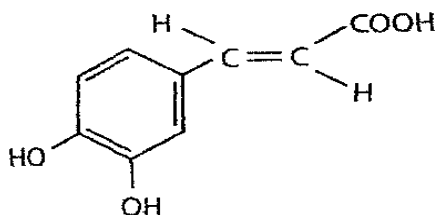
Um polifenol do tipo flavonóide encontrado na oliva é a oleuropeína (Figura 2), glicosídeo secoiridóide, que é um éster do ácido elenólico com o hidroxitirosol (Tuck & Hayball, 2002). A oleuropeína aglicona é formada por meio da remoção de glicose da oleuropeína glicosilada através da ação da enzima  $\beta$ -glicosidade. A forma aglicona e seus derivados são os mais abundantes fenóis no óleo de oliva (Vissers et al., 2004).

Como é sintetizado na oliva, pode estar presente em diferentes proporções das formas glicosiladas ou agliconas dependendo do processamento do azeite.



**Figura 4.** Estrutura da Oleuropeína na forma aglicona.

O ácido caféico, as cumarinas e o ácido salicílico, entre outros fenilpropanóis simples constituem importantes compostos fenólicos simples encontrados no azeite de oliva (Scalbert & Williamson, 2000; Taiz & Zeiger, 2004).



**Figura 5.** Estrutura do ácido caféico.

Tendo em vista a procura por agentes antioxidantes dietéticos, muita atenção tem sido dada ao azeite de oliva e seus componentes fenólicos. Apesar de existirem evidências científicas que fundamentam os efeitos benéficos da suplementação da dieta com azeite de oliva (Aviram & Eias, 1993; De La Cruz, 2000; Roche, 2000), o potencial antioxidante de seus

componentes, bem como seus efeitos sobre o organismo ainda não foram estabelecidos.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi determinar o efeito da suplementação nutricional com azeite de oliva extra-virgem e seus compostos fenólicos, oleuropeína e ácido caféico sobre parâmetros nutricionais, morfométricos e calorimétricos, lipídios séricos e estresse oxidativo no soro de ratos alimentados com dieta controle e dieta hipercalórica, visando determinar o potencial antioxidante e identificar o principal componente antioxidante do azeite de oliva.

Para alcançar os objetivos propostos, o tema foi explorado em 2 capítulos:

- **Capítulo 1.** Ação do azeite de oliva e seus componentes fenólicos oleuropeína e ácido caféico, sobre parâmetros nutricionais, morfométricos e calorimétricos em ratos alimentados com dieta padrão e hipercalórica.
- **Capítulo 2.** Perfil lipídico e estresse oxidativo séricos: ação do azeite de oliva e de seus fenóis em animais submetidos a ingestão de dieta padrão e hipercalórica.
- **Considerações Finais.**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

\*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted journal. *N Engl J Med.* 1997;336:309-315.

Aviram M, Eias K. Dietary olive oil reduces low density lipoprotein uptake by macrophages and decreases the susceptibility of the lipoprotein to undergo lipid peroxidation. *Ann Nutr Metab.* 1993;37:75-84.

Brenes M, Garcia A, Garcia P, Rios JJ, Garrido A. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J Agric Food Chem.* 1999;47:3535-40.

De La Cruz JP, Quintero L, Villalobos MA, De La Cuesta F S. Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipidemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1485:36-44.

De Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Boucher P, Mammele M. Mediterranean dietary pattern in a randomized trial: prolonged survival and possible reduced cancer rate. *Arch Inter Med.* 1998;158:1181-87.

Hsieh RJ, Kinsella JE. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Adv Food Nutr Res.* 1989;33:233-341.

Montedoro GF, Servili M, Baldioli M, Miniati E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil: 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J Agric Food Chem.* 1992;40:1571-8.

Renaud S, de Lorgeril M, Delaye J, Guidollet J, Jacquard F, Mamelle F, et al. Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:1360S-7S.

Roche HM, Gibney MJ, Kafatos A, Zampelas A, Williams CM. Beneficial properties of olive oil. *Food Res Internat.* 2000;33:227-31.



- Scalbert A, Williamson G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *J Nutr.* 2000;130:2073S-2085S.
- Schwedhelm E, Maas R, Troost R, Böger R. Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(5):437-59.
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal.* 3<sup>rd</sup>ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.
- Trichopoulou A, Katsouyanni K, Stuver S, Tzala L, Gnardellis C, Rimm E, et al. Consumption of olive oil and specific food groups in relation to breast cancer risk in Greece. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:110-16.
- Tuck KL, Hayball PJ. Major phenolic compounds in olive oils: metabolism and health effects. *J Nutr Biochem.* 2002;13:636-44.
- Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys Res Comm.* 1998;247:60-64.
- Visioli F, Galli C. The effects of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutr Rev.* 1998;56:142-47.
- Vissers MN, Zock PI, Katan MB. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans. *Clin Nutr.* 2004;58:955-65.
- Wiseman SA, Mathot JNNJ, Fouw NJ, Tijburg LBM. Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low-density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atheroscler.* 1996;120:15-23.

# *CAPÍTULO 1*

**AÇÃO DO AZEITE DE OLIVA E SEUS COMPONENTES  
FENÓLICOS OLEUROPÉINA E ÁCIDO CAFÉICO  
SOBRE PARÂMETROS NUTRICIONAIS,  
MORFOMÉTRICOS E CALORIMÉTRICOS EM RATOS  
ALIMENTADOS COM DIETA PADRÃO E  
HIPERCALÓRICA**

---

## RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo determinar os efeitos da administração de azeite de oliva-extra virgem e seus componentes fenólicos, oleuropeína e ácido caféico sobre parâmetros nutricionais, morfométricos e calorimétricos em ratos mantidos com dieta padrão (DP) e hipercalórica (DH). Para tanto, 48 ratos, Wistar,  $180,52 \pm 21,05g$ , foram divididos inicialmente em 2 grupos. O grupo P (n=24) foi mantido com dieta padrão e água *ad libitum* e o grupo H (n=24) foi mantido com dieta rica em colesterol e sacarose e água *ad libitum*. Após 21 dias de tratamento os dois grupos foram divididos em 4 subgrupos cada (n=6): C considerado controle, mantido com as respectivas dietas P ou H e sem suplementação; AO receberam respectivamente ração P ou H e suplementação nutricional com azeite de oliva extra-virgem (Colavita, Itália) (3mL/Kg/dia); O receberam ração P ou H, respectivamente e suplementação nutricional com oleuropeína (Genay, France) (0,023mg/Kg/dia); AC receberam respectivamente ração P ou H e suplementação nutricional com ácido caféico (Sigma, USA) (2,66mg/Kg/dia). O experimento teve duração de 43 dias. Os resultados mostraram que dieta hipercalórica induziu obesidade nos animais com elevação no IMC. Houve correlação positiva entre IMC e peso final. A análise calorimétrica demonstrou que suplementação nutricional com azeite de oliva induziu modificação no substrato usado para obtenção de energia. O efeito benéfico do azeite foi associado a seu composto fenólico ácido caféico.

**Palavras chave:** azeite de oliva, oleuropeína, ácido caféico, dieta hipercalórica, parâmetros nutricionais e morfométricos, quociente respiratório.

## INTRODUÇÃO

A importância de uma alimentação adequada é amplamente reconhecida por seus inúmeros efeitos benéficos, desde que existe relação direta entre nutrição, saúde e bem-estar físico e mental do indivíduo.

Os adultos mantêm um peso corporal constante, graças ao sistema complexo de mecanismos neurais, hormonais e químicos que mantêm o equilíbrio entre ingestão e perda energética, dentro de limites precisamente regulados, podendo os fatores genéticos contribuir para as diferenças individuais (Proserpi et al., 1997; Ravussin, et al., 1988). Anormalidades destes mecanismos, muitas não completamente entendidas, resultam em flutuações exageradas no peso. Destas, as mais comuns são o excesso de peso e a obesidade (Larson et al., 1995).

Obesidade constitui uma doença multifatorial que vem atingindo proporções epidêmicas tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento (Peña e Bacallao, 2000; Pereira et al., 2003). Constitui atualmente a mais importante desordem nutricional e metabólica (Novelli, 2005) e é caracterizada por ingestão energética acima do gasto, por um período prolongado (WHO, 1998). Porém, a obesidade não é uma doença singular, e sim um grupo heterogêneo de condições com múltiplas causas que, em última análise, refletem o fenótipo obeso (Jebb, 1999).

Dentre os fatores envolvidos com o desenvolvimento da obesidade, a composição da dieta é certamente o mais importante (McCrorry, 2000). De fato, é sabido que dietas ricas em lipídios e colesterol estão geralmente

associadas com o desenvolvimento de obesidade (Smith, 1998; Hill, 2000), desde que o elevado consumo de lipídios estimula o apetite e induz hiperfagia (Fridman, 1998). Parece existir um controle preciso entre o consumo de um macronutriente da dieta e sua oxidação (e vice-versa) (Pereira, 2003) e que um quadro de desequilíbrio neste controle pode levar a obesidade.

Diferenças no metabolismo energético desempenham importante papel na regulação do peso corporal e na patogênese da obesidade (Weyer, 2000). Estudos prospectivos (Buscemi et al., 1998) demonstraram que uma taxa metabólica basal relativamente baixa e um quociente respiratório alto, são preditores do ganho de peso.

A taxa metabólica basal é a quantidade de energia necessária para a manutenção das funções vitais do organismo (Warlich & Dos Anjos, 2001). Um dos métodos mais utilizados para se medir o metabolismo basal é a calorimetria indireta. Constitui uma maneira não invasiva de determinar as necessidades nutricionais e a taxa de utilização dos substratos energéticos a partir do consumo de oxigênio e da produção de gás carbônico obtidos por análise do ar inspirado e expirado pelos pulmões (Diener, 1997). A quantidade de oxigênio consumida em relação ao dióxido de carbono produzido pela oxidação de diferentes substâncias nutritivas varia de acordo com o teor de oxigênio do nutriente. A proporção do volume de dióxido de carbono produzido para a do oxigênio consumido é conhecida como quociente respiratório ( $QR = VCO_2/VO_2$ ) (Schutz, 1980). O quociente

respiratório depende da mistura de combustíveis que estão sendo metabolizados. Para carboidratos o QR é igual a 1, porque o número de moléculas de CO<sub>2</sub> produzido é proporcional ao número de moléculas de O<sub>2</sub> consumido. O QR aproximado para lipídios e proteínas é de 0,70 e 0,82, respectivamente, sendo que para uma dieta mista, geralmente aceita-se 0,85 (Rosado & Monteiro, 2001).

Mudanças significativas nos hábitos alimentares têm sido marcadas pelo aumento do conteúdo de lipídios na dieta (Cooling & Blundell, 1998), que é geralmente tido como um contribuinte significativo no aumento da incidência da obesidade (Flatt & Tremblay, 1998; Hill, 2000), devido ao elevado quociente respiratório da dieta e estimulação do hiperconsumo de energia (Green & Blundell, 1996).

Este tipo de dieta, rica em lipídios e colesterol (Seidell, 1998), é fator de risco crucial para o envelhecimento (Droge, 2002), hipercolesterolemia, aterosclerose (Yang et al., 1999), doenças cardiovasculares (Novelli et al., 2002; Faine et al., 2002; Schaffer, 2003; Diniz et al., 2002) e obesidade (Feoli et al, 2003).

A ingestão de dietas hipercalóricas está relacionada a hiperlipidemia e estresse oxidativo, desde que a oxidação de nutrientes através da cadeia respiratória constitui fonte endógena para a produção de espécies reativas de oxigênio (Feuers, 1998; Esposito et al., 1999, Hart et al., 1999). Deste modo, alimentos naturais, ricos em antioxidantes, deveriam constituir a principal parte da dieta humana, uma vez que os antioxidantes naturais

destas dietas têm importante papel na manutenção da saúde (Benzie et al, 2003).

Na tentativa de reverter os danos causados pela inadequada ingestão alimentar, muito interesse tem sido dado à dieta do Mediterrâneo, que é rica em ácidos graxos monoinsaturados e antioxidantes naturais, devido aos seus efeitos benéficos à saúde e sua possível prevenção de riscos cardiovasculares (Bondia-Pons et al, 2007).

Azeite de oliva é rico em ácidos graxos monoinsaturados. Seu componente ácido oléico, que representa 56 a 84% do azeite de oliva, tem sido associado a atividades imunossupressoras (Jeffery et al., 1996), diminuição na agregação de plaquetas (Vicario et al., 1998), na concentração de colesterol plasmático (Choudhury et al., 1997), diminuição na hipertrigliceridemia (Roche et al., 2000) e tem efeito protetor na inibição da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) (De La Cruz, 2000). Contudo, pode não ser o único componente do azeite de oliva na proteção contra a oxidação, uma vez que o azeite de oliva é fonte de compostos fenólicos (Tuck & Hayball, 2002), que também podem contribuir para os efeitos benéficos da dieta do Mediterrâneo (Hillestrøm, et al., 2006).

A concentração de compostos fenólicos no azeite extra-virgem varia de 50 a 800mg/Kg com uma concentração média de 180mg/Kg nos azeites comerciais. Estima-se que a ingestão de azeite de oliva nos países Mediterrâneos varie de 30 a 50g/dia, o que resultaria no consumo diário máximo de 9mg/Kg de compostos fenólicos. Entretanto, a concentração e o



tipo de polifenol difere nos vários azeites, dependendo da procedência, grau de maturação do fruto, variedade da oliveira, tipo de solo e finalmente do tipo de processamento utilizado na obtenção do azeite (Visioli et al., 1998).

Os compostos fenólicos são antioxidantes primários que agem como seqüestradores de radicais livres e bloqueadores de reações em cadeia (Moreira, 2004). O principal polifenól do tipo flavonóide encontrado na oliva é a oleuropeína (Montedoro et al., 1992). A oleuropeína, dependendo do tipo de azeite, pode originar compostos fenólicos simples, o que estaria associado a diferentes concentrações de ácidos elenólicos, como a ácido caféico, considerado o principal composto fenólico simples presente no azeite de oliva (Vissers et al., 2004).

Estudos prévios em nosso laboratório demonstraram que as propriedades benéficas do azeite de oliva na lipidemia e estresse oxidativo não estavam associadas ao hidroxitirosol, um dos compostos fenólicos do azeite, bem como ao ácido oléico, ácido graxo monoinsaturado presente no azeite (Faine et al., 2004; Faine et al., 2006a; Faine., et al 2006b) indicando que outros compostos fenólicos presentes seriam responsáveis por suas propriedades antioxidantes.

## OBJETIVOS

Desde que a oleuropeína e o ácido caféico constituem compostos fenólicos do azeite de oliva, no presente trabalho serão estudados os efeitos destes componentes sobre parâmetros nutricionais, morfométricos e calorimétricos de ratos alimentados com dieta padrão, ou rica em colesterol e sacarose.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. ANIMAIS

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu - SP, adotado pelo Colégio Brasileiro de experimentação Animal (COBEA).

Foi utilizado um total de 48 ratos machos adultos *Wistar*, de peso (média  $\pm$  desvio-padrão)  $180,52 \pm 21,05$  gramas. Os animais foram provenientes do Biotério Central da UNESP, "Campus de Botucatu", e transferidos para o "Laboratório de Bioquímica na Experimentação Animal" do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu, onde permaneceram durante todo o período experimental, à temperatura de  $22 \pm 3^\circ\text{C}$ , período claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico individuais, recebendo dieta basal (Biobase, 9301, SIF nº SC - 25035, Brasil) e água destilada *ad libitum*. Para permitir a aclimação dos animais, os ratos permaneceram nas condições acima citadas por um período de 15 dias antes do início do experimento.

## 2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram inicialmente divididos em 2 grupos. O grupo P (n=24) mantido com dieta padrão (DP) e água *ad libitum*. O grupo H (n=24) mantido com dieta hipercalórica (DH) rica em colesterol (Costa et al, 1993) e sacarose.

Após 21 dias de tratamentos, os animais dos grupos P e H foram divididos em 4 subgrupos (n=6): grupo C considerado controle, mantido com as respectivas dietas P ou H e sem suplementação; AO receberam as respectivas dietas P ou H e suplementação nutricional com azeite de oliva (Colavita, Italia) (3mL/Kg/dia) (Faine et al., 2004; Vissers et al., 2004); O receberam as respectivas dietas P ou H e suplementação nutricional com oleuropeína (Genay, France) (0,023mg/Kg/dia) (Gómez-Alonso et al., 2002) e o AC receberam as respectivas dietas P ou H e suplementação nutricional com ácido caféico (Sigma, USA) (2,66mg/Kg/dia) (Montedoro et al., 1992).

As concentrações dos polifenóis utilizadas corresponderam à quantidade presente no azeite de oliva administrado aos animais dos grupos PAO e HAO, sendo previamente dissolvidos em solução de etanol 10%. O azeite de oliva e seus polifenóis foram administrados por gavagem, como suplementação da dieta basal, cinco vezes por semana, durante o período de 21 dias. Animais dos grupos PC e HC receberam solução 10% de etanol através de gavagem. O fenol oleuropeína e ácido caféico foram dissolvidos em etanol 10% (Carluccio et al., 2003). Solução de etanol 10% não induz efeitos

adversos em animais (Turner et al., 1998). O período experimental total foi de 43 dias.

### **3. DIETA HIPERCALÓRICA**

Para obtenção da ração contendo elevada concentração de ácidos graxos insaturados, colesterol, sacarose e ácido cólico, foram adicionados ao farelo da ração padrão a quantidade de 84,77g de óleo de soja, 131,01g de sacarose, 12,33g de colesterol cristalino e 1,23g de ácido cólico para cada 1 Kg de ração (Reeves, 1997; Quiles et al., 2003). A seguir, as rações foram transferidas para máquina específica para formação de “pellets”. Estes foram secos em estufa com ar circulante por um período de 24h, em temperatura inferior a 70°C. Após secagem as rações foram deixadas à temperatura ambiente para esfriar durante 24h, e conservadas em câmara fria à 6°C. A validade da ração preparada era de 3 meses.

### **4. DETERMINAÇÃO DO METABOLISMO BASAL E UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATO ENERGÉTICO**

No quadragésimo (40°) dia do período experimental foram determinados o metabolismo basal, o consumo de O<sub>2</sub> (VO<sub>2</sub>), a produção de CO<sub>2</sub> (VCO<sub>2</sub>). A utilização de lipídios e carboidratos como fonte de energia foi obtida através do quociente respiratório (VCO<sub>2</sub>/VO<sub>2</sub>) (Strohl et al., 1997).

As determinações foram realizadas com uso de câmara metabólica para sistema respiratório animal (CWE, Inc, St. Paul, USA) com medidas obtidas em computador através de programa específico (software MMX, CWE, Inc., USA). Inicialmente, os animais foram adaptados á câmara metabólica

durante 7 dias, sendo colocados pela manhã (período das 8:00 as 12:00h) na caixa respiratória com fluxo de ar ambiente de 3,0L/min., durante 15 minutos/dia (Ghibaudi et al., 2002).

O metabolismo basal foi determinado nos animais após jejum de 14h, para que no momento da determinação o glicogênio muscular e hepático estivesse depletado (Commerford et al., 2000). Após a calibração do equipamento (temperatura, pressão) cada animal foi transferido para câmara metabólica permanecendo durante 10 minutos em repouso com fluxo de ar constante.

Foram registrados o consumo de  $O_2$  ( $VO_2$ ), a produção de  $CO_2$  ( $VCO_2$ ) e parâmetros respiratórios dos animais sendo calculada a média de 3 medidas consecutivas, permitindo evidenciar as alterações no quociente respiratório (QR) nos diferentes grupos experimentais e a taxa metabólica basal (TMB) (Strohl et al., 1997).

Tendo como base os dados da calorimetria indireta ( $VO_2$ ,  $VCO_2$  e TMB), energia total ingerida e peso corporal final, foram calculados:

- Energia metabolizável (Kcal/dia) = energia ingerida (kcal/dia) - TMB (kcal/dia) (Labayen et al., 1999)
- Consumo de oxigênio pela superfície corporal ( $mL/h/g^{0,7}$ ) =  $VO_2$  (ml/h) / superfície corporal ( $g^{0,7}$ ) (Bray, 1969)
- Oxidação de lipídios (mg/min) =  $NPVO_2 \times (1 - QRNP) \times 0,746 / 0,293$  (Labayen et al., 1999)

- Oxidação de carboidratos (mg/min) =  $NPVO_2 \times (QRNP - 0,707) \times 0,746 / 0,293$  (Labayen et al., 1999)

OBS:  $NPVO_2$  (consumo de oxigênio não protéico); QRNP (quociente respiratório não protéico).

A obesidade foi evidenciada através da análise da taxa metabólica basal (Kunz et al., 2000), oxidação de lipídios (Weyer et al., 2000), IMC (Novelli et al., 2007) e  $VO_2$ /superfície corporal (Bray, 1969).

## 5. PARÂMETROS NUTRICIONAIS E MORFOMÉTRICOS

O consumo alimentar e a ingestão de água foram controlados diariamente, no mesmo horário (9:00 às 11:00 horas). Foi ofertada 50g de ração e 60 mL de água por animal, diariamente. O consumo alimentar diário foi calculado pela subtração da ração ofertada e pelo peso da ração restante, após o consumo *ad libitum* em 24 horas. A ingestão de água foi obtida pela subtração da água ofertada e pela quantidade restante, após consumo *ad libitum* em 24 horas.

Os animais foram pesados antes do início do experimento e semanalmente durante todo o período experimental. Tendo como base o consumo alimentar diário médio, a energia da ração, as porcentagens de proteínas, ácidos graxos e carboidratos e o ganho de peso, foram calculados os parâmetros nutricionais (Diniz et al., 2002; Novelli et al., 2002; Ebaid et al., 2006):

- Energia Ingerida (Kcal/dia) = consumo diário médio de ração x energia metabolizável de ração em Kcal/g

- Eficiência Alimentar (%) = [consumo de ração diário médio (g)/ peso final (g)] x 100
- Consumo específico de água (%) = [ingestão de solução aquosa (mL)/ 60 mL solução aquosa ofertada] x 100
- Consumo de proteínas (g/dia) = consumo diário médio de ração (g) x concentração de proteínas da ração
- Consumo de ácidos graxos (g/dia) = consumo diário médio de ração (g) x concentração de ácidos graxos da ração
- Ingestão de carboidratos (g/dia) = consumo diário médio de ração (g) x concentração de carboidratos da ração

Após 43 dias de tratamento, os animais foram anestesiados para determinação do comprimento corporal.

Tendo como base o peso e o comprimento corporal foram calculados os parâmetros morfométricos:

- Índice de massa corporal (IMC) (g/cm<sup>2</sup>) = peso corporal/(comprimento corporal)<sup>2</sup> (Diniz et al., 2006)
- Índice de Lee =  $\sqrt[3]{\text{peso/comprimento}}$  (Bernardis, 1970)
- Superfície corporal (g<sup>0,7</sup>) = (peso corporal final)<sup>0,7</sup> (Bray, 1969).

## 6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada no Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu-SP.

Os resultados obtidos foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A comparação entre os grupos foi realizada pela técnica da análise de variância (ANOVA) para o modelo com dois fatores (dieta e suplementação) complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey (Zar, 1999). O nível de significância foi de 5% para a discussão dos resultados (Norman & Streiner, 1994).

As letras utilizadas nas tabelas são referentes as seguintes comparações:

- Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação;
- Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta;
- Letras distintas: diferença significativa entre as variáveis

## RESULTADOS

A Tabela 1 mostra a composição da ração padrão e hipercalórica. Como esperado, houve elevação no conteúdo de lipídios e de carboidratos totais na dieta hipercalórica, uma vez que no preparo da ração foram adicionados óleo de soja e sacarose. Desde que houve acréscimo de ácidos graxos insaturados e sacarose, a dieta hipercalórica apresentou conteúdo calórico de 341,10 Kcal/100g, comparada à dieta padrão com 275,89 Kcal/100g. As concentrações de fibra, umidade, vitaminas e sais minerais foram suficientes para a manutenção normal das atividades orgânicas dos animais.



Administração de azeite de oliva, oleuropeína e de ácido caféico não induziu alteração no peso final dos animais, mantidos com dieta padrão (DP) e hipercalórica (DH). Animais do grupo HC e HO apresentaram elevação significativa no peso corporal final, comparado ao PC e PO. Entretanto, na presença de azeite de oliva e ácido caféico, os grupos mantidos com dieta hipercalórica não apresentaram diferença significativa no peso corporal final, em relação aos mantidos com dieta padrão. Administração de azeite de oliva e seus polifenóis não induziu aumento no IMC nos animais dos grupos DP e DH. Porém, o IMC mostrou-se elevado nos animais mantidos com dieta hipercalórica comparado aos mantidos com dieta padrão. Não foram observadas alterações significantes no índice de Lee entre animais do grupo DP e DH. Entretanto o índice de Lee esteve aumentado nos animais dos grupos HC e HAC comparados aos PC e PAC (Tabela 2). Não foram observadas alterações significantes na superfície corporal dos animais dos grupos DP e DH, que receberam azeite e seus polifenóis. Entretanto, animais dos grupos HC, HAO e HO, tiveram um aumento significativo na superfície corporal, comparados aos grupos PC, PAO e PO. Administração de ácido caféico não alterou a superfície corporal dos animais HAC comparado aos animais do grupo PAC.

Foram observadas correlações positivas significantes entre o IMC ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) e o peso final (g) ( $r= 0,8515$  e  $p<0,01$ ) (Figura 1), entre o índice de Lee e o peso final (g) ( $r= 0,6330$  e  $p<0,01$ ) (Figura 2).

Azeite de oliva e seus compostos fenólicos não modificaram significativamente a ingestão alimentar nos animais dos grupos DP e DH. Embora a administração de oleuropeína não tenha alterado a ingestão alimentar nos animais do grupo HO em relação aos do grupo PO, foi observada alteração significativa na ingestão alimentar nos animais dos grupos HC, HAO e HAC em relação aos animais dos grupos PC, PAO e PAC, respectivamente. Não foi observada alteração na ingestão de proteínas nos animais dos grupos PAO e PO em relação ao grupo PC, porém houve elevação na ingestão de proteínas nos animais do grupo PAC em relação ao PC. Azeite de oliva e seus polifenóis não alteraram a ingestão de proteínas nos animais DH. Animais do grupo DH tiveram menor ingestão de proteínas comparada ao grupo DP. Azeite de oliva e seus polifenóis não induziram alteração na ingestão de lipídios nos animais dos grupos DP e DH. Dieta hipercalórica aumentou a ingestão de lipídios nos animais dos grupos DH em relação aos do grupo DP. Embora azeite de oliva e seus polifenóis não tenham alterado a ingestão de carboidratos nos animais mantidos com dieta hipercalórica, animais do grupo PAC tiveram maior ingestão de carboidratos, e animais dos grupos PAO e PO não alteraram sua ingestão, comparados ao grupo PC. Não houve alteração significativa na ingestão de carboidratos nos grupos HC, HAO e HO, em relação aos grupos PC, PAO e PO, respectivamente, entretanto, no grupo HAC, houve diminuição na ingestão de carboidratos comparada ao grupo PAC. Foi observada correlação positiva significativa

entre ingestão de lipídios (g/dia) e o peso final (g) ( $r= 0,4986$  e  $p<0,01$ ) (Figura 3) entre os animais.

Administração de azeite de oliva, oleuropeína e ácido caféico não induziu alteração da energia ingerida e eficiência alimentar nos animais mantidos com dietas padrão e hipercalórica. Animais do grupo HC, HAO e HO tiveram a energia ingerida aumentada em relação aos grupos PC, PAO e PO, respectivamente. Não houve alteração significativa na energia ingerida nos animais do grupo HAC em relação ao PAC. A eficiência alimentar esteve diminuída nos animais que receberam DH em relação aos mantidos com DP. Embora os polifenóis não tenham alterado o consumo específico de água nos animais que receberam dieta padrão, animais do grupo HAC tiveram a o consumo específico de água reduzido em relação ao grupo HC. O consumo específico de água não foi alterado nos animais dos grupos HAO e HO em relação ao grupo HC. Houve diminuição no consumo específico de água nos animais que receberam DH em relação aos seus respectivos controles mantidos com DP (Tabela 4). Na Figura 4 pode-se observar que houve correlação positiva significativa entre a energia ingerida (kcal/dia) e o peso final (g) ( $r=0,3836$  e  $p<0,01$ ).

Embora administração de azeite de oliva, oleuropeína e ácido caféico não tenha induzido diferenças significantes na eficiência protéica, lipídica e glicídica nos grupos de animais que receberam dieta padrão e hipercalórica, a eficiência protéica esteve reduzida e eficiência lipídica esteve aumentada nos animais do grupo DH em relação aos do grupo DP. Embora não tenha

sido observada diferença significativa nos grupos que receberam polifenóis e foram mantidos com dieta hipercalórica, a eficiência glicídica esteve diminuída no grupo HC em relação ao PC (Tabela 4).

Na Tabela 5 pode-se notar que houve redução no QR de animais mantidos com dieta padrão que receberam azeite de oliva, indicando maior oxidação de lipídios nestes animais comparado ao PC e ao grupo PO. Animais dos grupos HAO, HO e HAC apresentaram redução significativa no QR, indicando elevação na oxidação de lipídios nestes animais, quando comparados ao grupo HC. Animais do grupo HC apresentaram elevação no QR indicando menor utilização de lipídios como substratos energéticos em relação aos animais do grupo PC. Este fato foi também evidenciado nos animais dos grupos HAO e HAC, comparados aos grupos PAO e PAC, respectivamente. Animais do grupo HO apresentaram diminuição do QR comparado ao grupo PO.

Houve elevação na taxa metabólica basal nos animais dos grupos PAO e PAC, bem como redução nos animais do grupo PO, em relação ao grupo PC. Nos grupos DH somente o ácido caféico reduziu a taxa metabólica basal. Dieta hipercalórica, comparada à dieta padrão reduziu a taxa metabólica basal nos animais dos grupos HC, HAO e HAC, comparada aos controles mantidos com dieta padrão. Administração de oleuropeína elevou a taxa metabólica basal no grupo HO, comparado ao PO (Tabela 5).

Azeite de oliva e ácido caféico aumentaram o consumo de oxigênio ( $VO_2$  ml/min) e administração de oleuropeína diminuiu o  $VO_2$  em animais

mantidos com dieta padrão, comparado ao grupo PC. Em animais mantidos com dieta hipercalórica, oleuropeína e ácido cafêico aumentaram o consumo de oxigênio em relação ao grupo HC. Azeite de oliva e ácido cafêico diminuíram o consumo de oxigênio em animais do grupo DH comparado aos DP. Não houve diferença no  $VO_2$  no grupo HC comparado ao PC (Tabela 5).

Azeite de oliva, oleuropeína e ácido cafêico aumentaram a produção de gás carbônico ( $VCO_2$  ml/min) nos grupos HAO, HO e HAC, em relação ao grupo HC. A produção de  $CO_2$  esteve diminuída nos animais dos grupos HAO e HO e inalterada no grupo HAC, em relação ao grupo HC. A produção de  $CO_2$  esteve aumentada nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e os polifenóis em relação aos mantidos com dieta padrão (Tabela 5).

Embora não tenha havido diferença significativa na relação consumo de oxigênio/superfície corporal nos grupos PO e PAC, em relação ao grupo PC, houve aumento na relação no grupo PAO. Não houve variação na relação consumo de oxigênio/superfície corporal nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis. O grupo HO não apresentou variação na relação consumo de oxigênio/superfície corporal comparado ao grupo PO, porém houve diminuição na relação nos grupos HC, HAO e HAC, comparado aos grupos PC, PAO e PAC (Tabela 5).

Administração de azeite de oliva e seus polifenóis não alterou a energia metabolizável nos animais mantidos com dieta padrão. Embora não tenha havido diferença significativa na energia metabolizável nos animais dos

grupos HAO e HO, houve um aumento no grupo HAC, comparados ao grupo HC. Dieta hipercalórica elevou a energia metabolizável no grupo DH em comparação ao grupo DP (Tabela 5).

A oxidação de lipídios esteve aumentada nos grupos PAO e PAC, porém reduzida no grupo PO, comparado ao grupo PC. Azeite de oliva e seus polifenóis aumentaram a oxidação de lipídeos nos grupos mantidos com dieta hipercalórica. Animais dos grupos HC, HAO e HAC tiveram a oxidação de lipídios diminuída, e animais do grupo HO apresentaram aumento, em relação aos seus respectivos controles, PC, PAO, PAC e PO (Tabela 5, Figura 5).

A oxidação de carboidratos apresentou-se diminuída nos grupos PAO e PAC, porém aumentada no grupo PO, comparado PC. Azeite de oliva e seus polifenóis diminuíram a oxidação de carboidratos nos animais mantidos com dieta hipercalórica, comparado ao controle HC. Dieta hipercalórica aumentou a oxidação de carboidratos nos grupo HC, HAO e HAC e diminuiu no grupo HO, comparados aos respectivos controles PC, PAO, PAC e PO (Tabela 5, Figura 5).

**Tabela 1.** Composição das rações padrão e hipercalórica

Componentes	Padrão		Hipercalórica	
	g/100g	Kcal/100g	g/100g	Kcal/100g
Proteína	19,80	79,20	15,25	61,00
Lipídio total	4,41	39,69	11,86	106,74
Óleo de soja	-	-	8,47	76,23
Lipídios saturados	4,41	39,69	3,39	30,51
Carboidrato total	39,25	157	43,34	173,36
Amido	39,25	157	30,24	120,96
Sacarose	-	-	13,10	52,40
Fibra	13,25	-	10,20	-
Colesterol	-	-	1,23	-
Ácido cólico	-	-	0,123	-
Outros *	23,29		17,94	-
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>275,89</b>	<b>100</b>	<b>341,10</b>

(\*) *Umidade, Vitaminas:* (mg/Kg de ração) (A) 25,000 UI; (B<sub>1</sub>) 8,0 mg; (B<sub>2</sub>) 30,00 mg; (B<sub>6</sub>) 14,0 mg; (B<sub>12</sub>) 40,0 mcg; (D<sub>3</sub>) 5,000 UI; (E) 60,0 mg; (K) 6,0 mg; Biotina 80,0 mg; Niacina 80,0 mg; Ácido fólico 3,0 mg; Ácido pantotênico 50,0 mg, Colina 1200 mg, *Sais Minerais:* Zinco 70,0 mg; Cobre 10,0 mg; Iodo 2,0 mg; Manganês 70,0 mg; Cobalto 1,5 mg; Ferro 50,0 mg; Selênio 0,1 mg e L-Lisina 1,2% e Metionina 0,45%. Composição básica do produto: milho moído, farelo de soja, farelo de trigo, calcário calcítico, fosfato bicálcico, cloreto de sódio (sal comum). Composição das dietas determinada no Departamento de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agrônomicas e Departamento de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp, Botucatu.

**Tabela 2.** Peso inicial, índice de massa corporal (IMC), índice de Lee e superfície corporal dos animais alimentados com dietas padrão (P) ou hipercalórica (H), sem suplementação (C), que receberam azeite de oliva (AO), oleuropeína (O) e ácido caféico (AC)

Variável	Dieta	Suplementação			
		C	AO	O	AC
Peso final (g)	P	335,75±54,32 <sup>aA</sup>	357,84±45,09 <sup>aA</sup>	344,08±36,31 <sup>aA</sup>	372,28±29,40 <sup>aA</sup>
	H	397,66±36,54 <sup>bA</sup>	388,74±43,46 <sup>aA</sup>	400,44±24,24 <sup>bA</sup>	397,83±38,42 <sup>aA</sup>
IMC (g/cm <sup>2</sup> )	P	0,54±0,05 <sup>aA</sup>	0,58±0,05 <sup>aA</sup>	0,57±0,06 <sup>aA</sup>	0,59±0,05 <sup>aA</sup>
	H	0,63±0,03 <sup>bA</sup>	0,65±0,04 <sup>bA</sup>	0,65±0,02 <sup>bA</sup>	0,67±0,03 <sup>bA</sup>
Índice de Lee	P	0,27±0,007 <sup>aA</sup>	0,28±0,010 <sup>aA</sup>	0,28±0,011 <sup>aA</sup>	0,28±0,010 <sup>aA</sup>
	H	0,29±0,005 <sup>bA</sup>	0,29±0,010 <sup>aA</sup>	0,29±0,004 <sup>aA</sup>	0,30±0,004 <sup>bA</sup>
Superfície corporal (g <sup>0,7</sup> )	P	58,51±6,60 <sup>aA</sup>	61,23±5,38 <sup>aA</sup>	59,60±4,39 <sup>aA</sup>	63,00±3,5 <sup>aA</sup>
	H	65,96±4,29 <sup>bA</sup>	64,90±5,10 <sup>bA</sup>	66,31±2,82 <sup>bA</sup>	65,98±4,49 <sup>aA</sup>

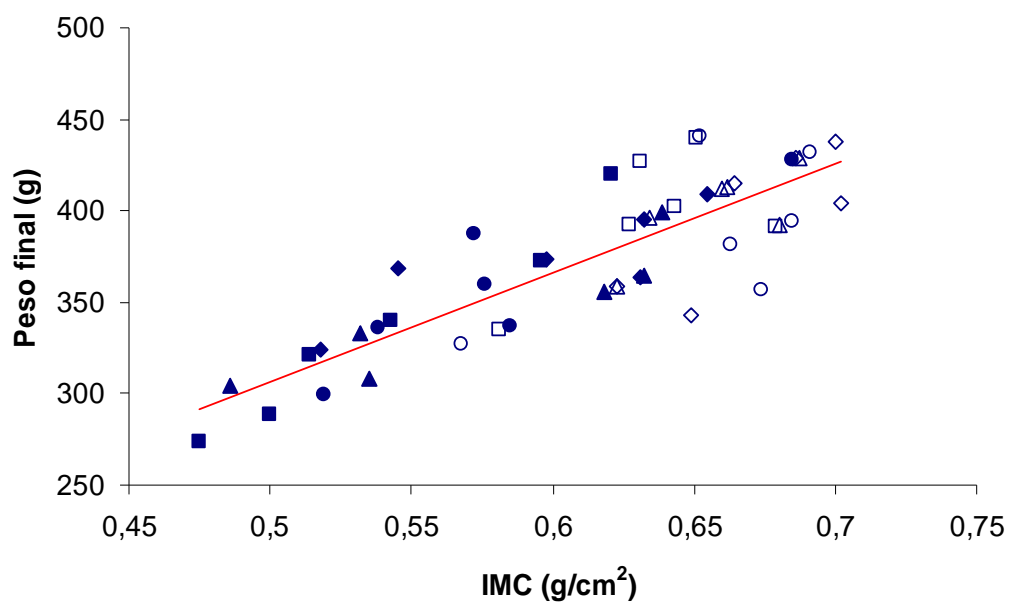
Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05).

Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação

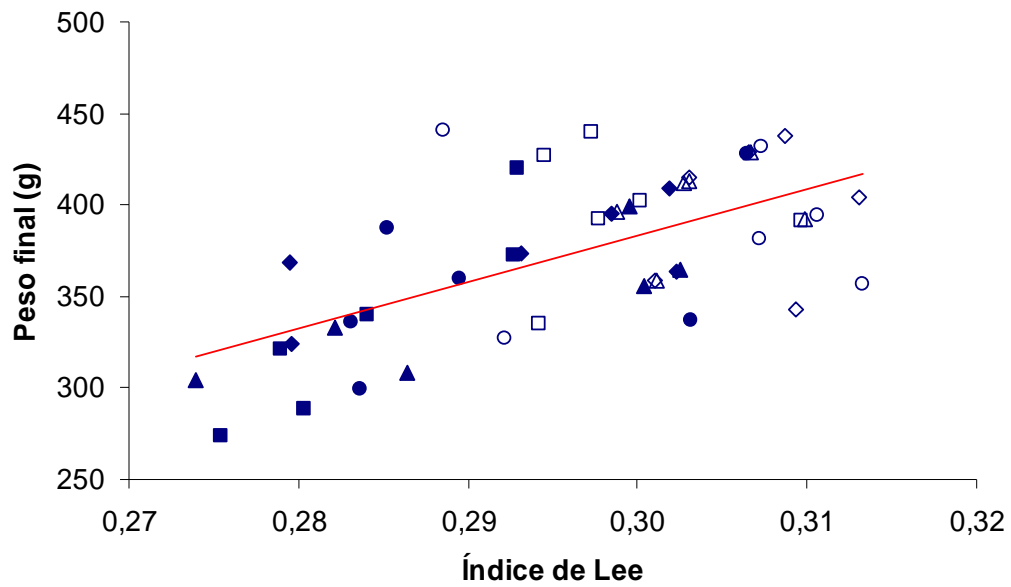
Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta

Letras distintas: diferença significante entre as variáveis





**Figura 1.** Relação linear entre o índice de massa corporal ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) e o peso final (g) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r=0,8515$  e  $p<0,01$ .



**Figura 2.** Relação linear entre índice de Lee e peso final (g) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r=0,6330$  e  $p<0,01$ .

**Tabela 3.** Ingestão alimentar, ingestão de proteínas, ingestão de lipídios e ingestão de carboidratos nos animais alimentados com dietas padrão (P) ou hipercalórica (H), sem suplementação (C), que receberam azeite de oliva (AO), oleuropeína (O) e ácido cafêico (AC)

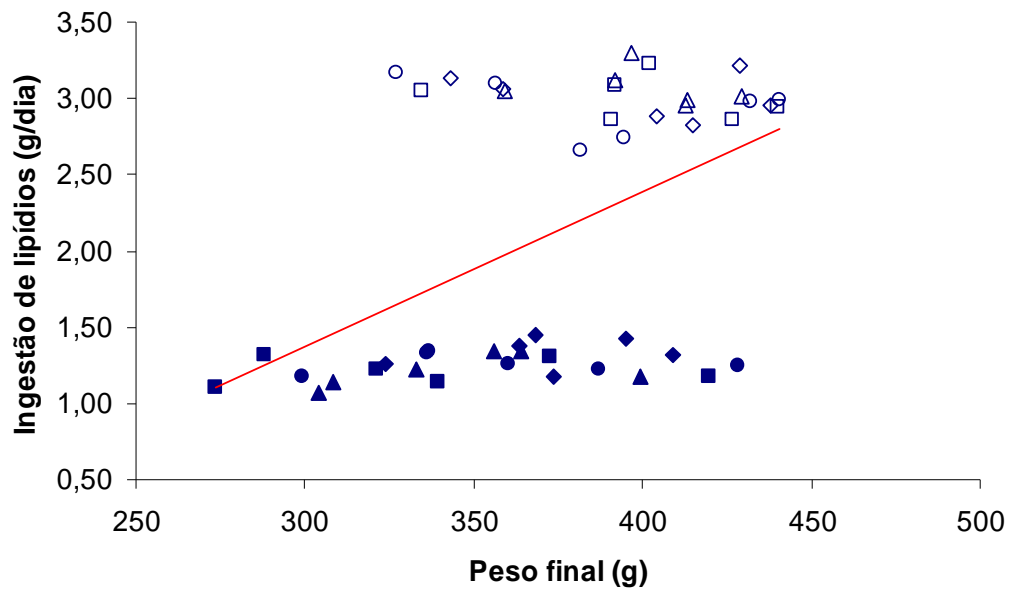
Variável	Dieta	Suplementação			
		C	AO	O	AC
Ingestão alimentar (g/dia)	P	27,41±1,92 <sup>ba</sup>	28,64±1,45 <sup>ba</sup>	27,58±2,45 <sup>aA</sup>	30,20±2,34 <sup>ba</sup>
	H	25,31±1,20 <sup>aA</sup>	24,78±1,69 <sup>aA</sup>	25,89±1,06 <sup>aA</sup>	25,40±1,27 <sup>aA</sup>
Ingestão de proteínas (g/dia)	P	5,42±0,38 <sup>ba</sup>	5,67±0,29 <sup>baB</sup>	5,46±0,48 <sup>ba</sup>	5,98±0,46 <sup>baB</sup>
	H	3,86±0,18 <sup>aA</sup>	3,78±0,25 <sup>aA</sup>	3,94±0,16 <sup>aA</sup>	3,87±0,19 <sup>aA</sup>
Ingestão de lipídios (g/dia)	P	1,20±0,08 <sup>aA</sup>	1,26±0,06 <sup>aA</sup>	1,21±0,10 <sup>aA</sup>	1,33±0,10 <sup>aA</sup>
	H	3,00±0,14 <sup>ba</sup>	2,94±0,20 <sup>ba</sup>	3,07±0,12 <sup>ba</sup>	3,01±0,15 <sup>ba</sup>
Ingestão de carboidratos (g/dia)	P	10,76±0,75 <sup>ba</sup>	11,24±0,57 <sup>baB</sup>	10,82±0,96 <sup>baB</sup>	11,85±0,91 <sup>baB</sup>
	H	10,97±0,52 <sup>aA</sup>	10,74±0,73 <sup>aA</sup>	11,22±0,46 <sup>aA</sup>	11,01±0,55 <sup>aA</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05).

Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação

Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta

Letras distintas: diferença significante entre as variáveis



**Figura 3.** Relação linear entre a ingestão de lipídios (g/dia) e o peso final (g) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆). Valores de  $r=0,4986$  e  $p<0,01$ .

**Tabela 4.** Energia ingerida, eficiência alimentar, consumo específico de água, eficiência protéica, eficiência lipídica, eficiência glicídica nos animais alimentados com dietas padrão (P) ou hipercalórica (H), sem suplementação (C), que receberam azeite de oliva (AO), oleuropeína (O) e ácido caféico (AC)

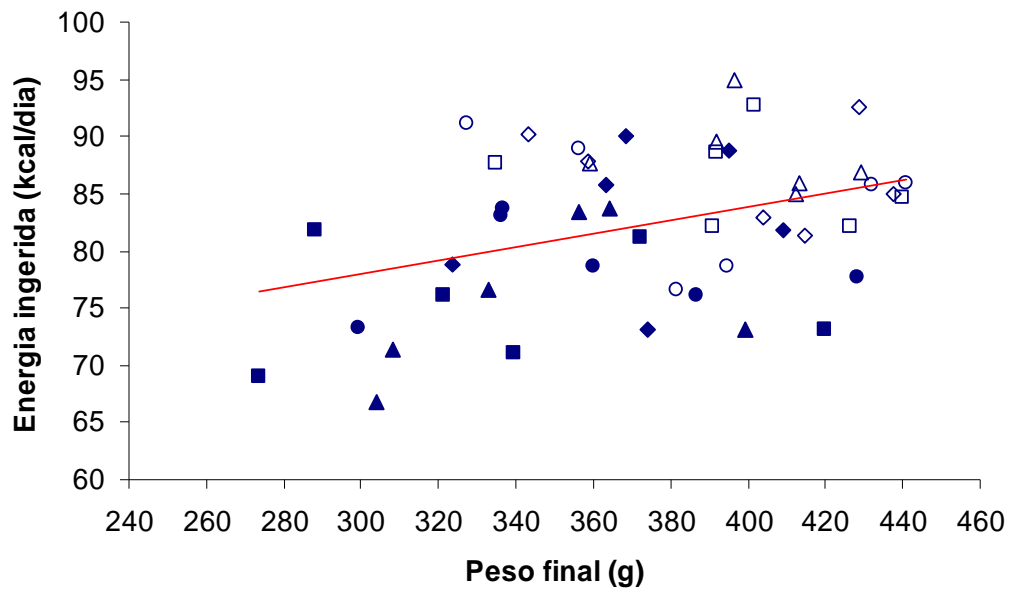
Variável	Dieta	Suplementação			
		C	AO	O	AC
Energia ingerida (kcal/dia)	P	75,39±5,29 <sup>aA</sup>	80,01±4,27 <sup>aA</sup>	75,85±6,75 <sup>aA</sup>	83,06±6,43 <sup>aA</sup>
	H	86,33±4,11 <sup>bA</sup>	85,90±4,85 <sup>bA</sup>	88,30±3,61 <sup>bA</sup>	86,64±4,34 <sup>aA</sup>
Eficiência alimentar	P	8,33±1,37 <sup>bA</sup>	8,10±1,04 <sup>bA</sup>	8,28±0,21 <sup>bA</sup>	8,14±0,78 <sup>bA</sup>
	H	6,42±0,78 <sup>aA</sup>	6,46±1,03 <sup>aA</sup>	6,49±0,53 <sup>aA</sup>	6,44±0,82 <sup>aA</sup>
Consumo específico de água	P	72,33±10,00 <sup>bA</sup>	71,16±4,40 <sup>bA</sup>	73,00±9,31 <sup>bA</sup>	70,36±6,57 <sup>bA</sup>
	H	63,86±3,79 <sup>aB</sup>	53,44±5,50 <sup>aAB</sup>	61,07±9,23 <sup>aAB</sup>	51,54±5,81 <sup>aA</sup>
Eficiência protéica (%)	P	1,65±0,27 <sup>bA</sup>	1,60±0,20 <sup>bA</sup>	1,59±0,14 <sup>bA</sup>	1,61±0,15 <sup>bA</sup>
	H	0,98±0,12 <sup>aA</sup>	0,98±0,15 <sup>aA</sup>	0,99±0,08 <sup>aA</sup>	0,98±0,12 <sup>aA</sup>
Eficiência lipídica (%)	P	0,36±0,06 <sup>aA</sup>	0,35±0,04 <sup>aA</sup>	0,35±0,03 <sup>aA</sup>	0,36±0,03 <sup>aA</sup>
	H	0,76±0,09 <sup>bA</sup>	0,76±0,12 <sup>bA</sup>	0,77±0,06 <sup>bA</sup>	0,76±0,09 <sup>bA</sup>
Eficiência glicídica (%)	P	3,2±0,54 <sup>bA</sup>	3,18±0,41 <sup>aA</sup>	3,16±0,27 <sup>aA</sup>	3,19±0,30 <sup>aA</sup>
	H	2,78±0,33 <sup>aA</sup>	2,80±0,44 <sup>aA</sup>	2,81±0,23 <sup>aA</sup>	2,79±0,35 <sup>aA</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05)

Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação

Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta

Letras distintas: diferença significante entre as variáveis



**Figura 4.** Relação linear entre a energia ingerida (kcal/dia) e o peso final (g) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r=0,3836$  e  $p<0,01$ .

**Tabela 5.** Quociente Respiratório (QR), taxa metabólica basal (TMB), consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>), produção de gás carbônico (VCO<sub>2</sub>), VO<sub>2</sub>/superfície corporal, energia metabolizável, oxidação de lipídios e oxidação de carboidratos nos animais alimentados com dietas padrão (P) ou hipercalórica (H), sem suplementação (C), que receberam azeite de oliva (AO), oleuropeína (O) e ácido cafêico (AC)

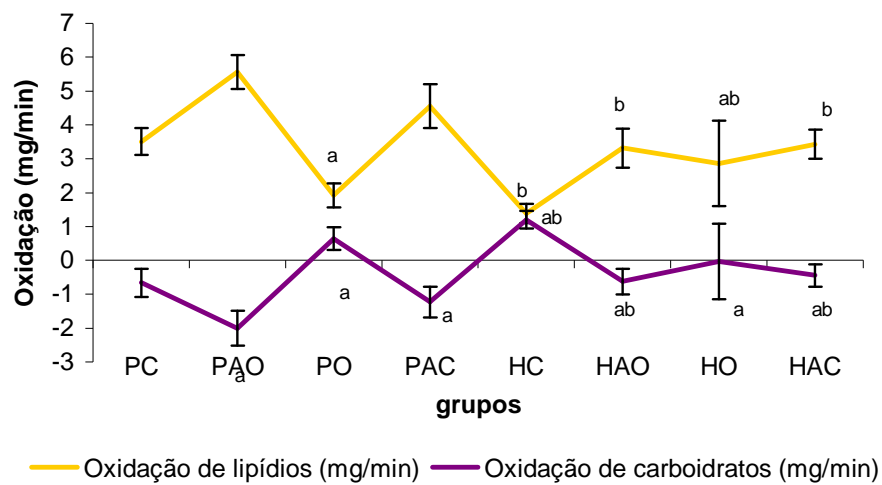
Variável	Dieta	Suplementação			
		C	AO	O	AC
Quociente Respiratório	P	0,63±0,04 <sup>aBC</sup>	0,54±0,04 <sup>aA</sup>	0,78±0,03 <sup>bC</sup>	0,60±0,03 <sup>aAB</sup>
	H	0,84±0,03 <sup>bB</sup>	0,64±0,03 <sup>bA</sup>	0,70±0,11 <sup>aA</sup>	0,66±0,03 <sup>bA</sup>
TMB (kcal/h)	P	1,07±0,02 <sup>bB</sup>	1,21±0,09 <sup>bC</sup>	0,97±0,04 <sup>aA</sup>	1,18±0,06 <sup>bC</sup>
	H	0,97±0,01 <sup>aB</sup>	0,97±0,04 <sup>aB</sup>	1,05±0,06 <sup>bB</sup>	0,42±0,07 <sup>aA</sup>
VO <sub>2</sub> (ml/min)	P	3,80±0,06 <sup>bA</sup>	4,77±0,37 <sup>bB</sup>	3,44±0,09 <sup>aA</sup>	4,45±0,26 <sup>bB</sup>
	H	3,46±0,11 <sup>aA</sup>	3,60±0,27 <sup>aA</sup>	3,78±0,23 <sup>bAB</sup>	4,00±0,14 <sup>aB</sup>
VCO <sub>2</sub> (ml/min)	P	2,35±0,001 <sup>aA</sup>	2,36±0,002 <sup>aB</sup>	2,37±0,002 <sup>aC</sup>	2,38±0,002 <sup>aD</sup>
	H	2,49±0,002 <sup>bC</sup>	2,47±0,002 <sup>bAB</sup>	2,47±0,014 <sup>bA</sup>	2,48±0,005 <sup>bBC</sup>
VO <sub>2</sub> /superfície corporal (mL/h/g <sup>0,7</sup> )	P	3,94±0,42 <sup>bA</sup>	4,69±0,38 <sup>bB</sup>	3,49±0,31 <sup>aAC</sup>	4,25±0,33 <sup>bABD</sup>
	H	3,15±0,12 <sup>aA</sup>	3,35±0,42 <sup>aA</sup>	3,43±0,29 <sup>aA</sup>	3,64±0,27 <sup>aA</sup>
Energia metabolizável (Kcal/dia)	P	49,65±5,51 <sup>aA</sup>	50,90±5,97 <sup>aA</sup>	52,49±7,37 <sup>aA</sup>	54,66±7,13 <sup>aA</sup>
	H	62,93±4,27 <sup>bA</sup>	62,42±4,60 <sup>bA</sup>	63,11±4,57 <sup>bA</sup>	76,55±5,05 <sup>bB</sup>
Oxidação de lipídios (mg/min)	P	3,50±0,39 <sup>bA</sup>	5,55±0,49 <sup>bB</sup>	1,92±0,35 <sup>aC</sup>	4,55±0,64 <sup>bD</sup>
	H	1,38±0,28 <sup>aA</sup>	3,31±0,57 <sup>aB</sup>	2,85±1,26 <sup>bB</sup>	3,42±0,42 <sup>aB</sup>
Oxidação de carboidratos (mg/min)	P	-0,66±0,42 <sup>aA</sup>	-1,99±0,51 <sup>aB</sup>	0,64±0,33 <sup>aC</sup>	-1,23±0,45 <sup>aA</sup>
	H	1,19±0,25 <sup>bB</sup>	-0,62±0,37 <sup>bA</sup>	-0,03±1,11 <sup>aA</sup>	-0,44±0,33 <sup>bA</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05).

Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação

Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta

Letras distintas: diferença significante entre as variáveis



**Figura 5.** Oxidação de lipídios (mg/min) e de carboidratos (mg/min) nos animais alimentados com dietas padrão (DP) e hipercalórica (DH), que receberam etanol 10% (PC) e (HC), azeite de oliva (PAO e HAO), oleuropeína (PO e HO) e ácido caféico (PAC e HAC). <sup>a</sup> diferença significativa em relação ao grupo controle. <sup>b</sup> diferença significativa entre as dietas e seus respectivos controles.



## DISCUSSÃO

Obesidade tem sido considerada um problema emergente de saúde (Acheson, 2004), induzindo alterações metabólicas e muitas desordens de estilo de vida (Diniz et al., 2006). É caracterizada pelo estoque aumentado de gordura, em que a energia ingerida excede a energia liberada (Commerford et al., 2000).

É amplamente aceito que o rápido desenvolvimento da obesidade tem múltiplas origens relacionadas com dietas abundantes e estilo de vida sedentário (Prentice & Jebb, 2003). Dentre os fatores que levam ao desenvolvimento da obesidade, a composição da dieta é certamente de grande importância (Iossa et al., 2003). Há evidências crescentes que a composição dos macronutrientes da dieta, particularmente carboidratos e gorduras, desempenham papel importante na manutenção do balanço energético e, desde modo, na regulação do peso corporal (Blaak & Saris, 1996).

Deste modo, o consumo de gorduras e carboidratos em diferentes populações é maior do que o recomendado, o que pode interferir no ganho de peso (Acheson, 2004) e nos parâmetros metabólicos a ele associados (Faine et al., 2002; Diniz et al., 2002), resultando em grande incidência de obesidade e doenças cardiovasculares (Faine et al., 2004; Kim et al., 2005).

Estudos recentes têm indicado que mudanças nos hábitos alimentares podem representar medidas iniciais na prevenção e tratamento de várias patologias (Battino et al., 2002). Deste modo, variação nos componentes da

dieta, como a inclusão de substâncias naturais, com propriedades antioxidantes, presentes em frutas, verduras e legumes, tem estimulado seu consumo em todo o mundo.

Suplementação nutricional com azeite de oliva tem sido recomendada como medida de interação terapêutica com papel significativo na medicina preventiva, elevando a proporção de ácidos graxos monoinsaturados em relação a saturados na dieta, com o objetivo de diminuir o colesterol sérico e, indiretamente, prevenir a aterosclerose (Visioli et al., 1998; Roche et al., 2000). Elevado consumo de azeite implica em maior ingestão de ácido graxo monoinsaturado, ácido oléico, considerado importante componente responsável pelos efeitos benéficos do azeite (Vicário et al., 1998; De la Cruz et al., 2000). Entretanto, não foi observada relação direta entre ingestão de azeite e elevação na concentração sérica de ácido oléico (Bondia-Pons et al., 2007) e estudos recentes em nosso laboratório demonstraram que os efeitos do azeite de oliva não estão inteiramente associados ao elevado conteúdo de ácido oléico (Faine et al., 2004; Faine et al., 2006).

Existe concordância entre os autores que polifenóis presentes no azeite podem ser responsáveis por seus efeitos benéficos, particularmente na lipídemia (Casalino et al., 2002; Erçok et al., 2003; Covas et al., 2006), embora, estudos recentes tenham demonstrado que o azeite de oliva foi mais efetivo que seu componente fenólico, dihidroxifenil etanol (hidroxitirosol) na melhora do perfil lipídico e na redução do estresse oxidativo (Faine et al., 2006). Deste modo, os componentes do azeite

associados a suas propriedades benéficas ainda não foram identificados. Também são necessários estudos para evidenciar os efeitos do azeite de oliva e seus componentes em condições de ingestão de dietas hipercalóricas.

Neste capítulo, estão apresentados os efeitos da administração de azeite de oliva e seus compostos fenólicos, oleuropeína e ácido caféico sobre parâmetros nutricionais, morfométricos e calorimétricos em ratos mantidos com dieta padrão, ou rica em colesterol e sacarose.

A relação entre morfometria e obesidade está bem estabelecida em humanos e o acúmulo de triacilgliceróis na região abdominal e a elevação no índice de massa corporal (IMC) são reconhecidamente, componentes críticos da obesidade, sendo utilizados como indicativo de alterações metabólicas e aumento nos fatores de risco para doenças cardiovasculares. Desde que é difícil controlar todos os fatores ambientais que regulam a ingestão alimentar em humanos, modelos animais têm sido freqüentemente utilizados no estudo da obesidade e suas conseqüências adversas.

Entretanto, existem poucas informações sobre parâmetros morfométricos em animais de laboratório e não existe uma definição clara de obesidade para roedores. Obesidade é usualmente considerada como elevação no ganho de peso nos grupos experimentais, comparados ao controle. É evidente que esta definição pressupõe que todos os animais controles, mantidos em laboratório apresentam desenvolvimento e pesos normais, embora muitos estudos apontem grande variabilidade na ingestão alimentar e consumo de calorias em ratos. A utilização da morfometria e de

parâmetros nutricionais e calorimétricos em animais de laboratório pode contribuir consideravelmente para o estudo das alterações metabólicas da obesidade e que por sua vez são associados à doenças cardiovasculares.

A análise do ganho de peso corporal, peso final, IMC, índice de Lee e superfície corporal demonstrou que o azeite de oliva e seus componentes, oleuropeína e ácido caféico, não induziram alterações tanto nos animais com dieta padrão como na hipercalórica (Tabela 2). Resultados concordantes foram obtidos por Faine et al (2004, 2006), em que administração de azeite de oliva não alterou o peso final e o ganho de peso corporal em animais controles e tratados com azeite de oliva.

Curiosamente, na presença de azeite e ácido caféico, não foi observada elevação no peso corporal final dos animais mantidos com dieta hipercalórica, comparados aos que receberam dieta padrão, sugerindo que o aumento do peso ocorreu devido à oleuropeína. A análise do índice de Lee e da superfície corporal mostrou resultados controversos nestes dois grupos. Não houve elevação no índice de Lee no grupo HAO e não houve aumento significativo na superfície corporal no grupo HAC comparados aos PAO e PAC respectivamente, sugerindo proteção pelo ácido caféico. Por outro lado, embora apresentando elevação no peso corporal final, animais do grupo HO não apresentaram elevação no índice de Lee em relação ao PO. Desde que os parâmetros IMC, índice de Lee e superfície corporal referem-se a diferentes relações entre peso final e comprimento corporal (Bray, 1969; Bernardis, 1970; Novelli et al., 2007), os resultados obtidos indicaram que o IMC

revelou-se o marcador mais abrangente das alterações morfométricas nos grupos experimentais (Tabela 2). Estudos anteriores (Novelli et al., 2007) demonstraram que o IMC para ratos adultos aumentou de  $0,45 \pm 0,02$  a  $0,63 \pm 0,05$  g/cm<sup>2</sup>, mostrando a eficiência do IMC como marcador de obesidade em ratos.

Ingestão de dieta hipercalórica induziu elevação no IMC, independente da ingestão de azeite de oliva e de seus compostos fenólicos. Nota-se que houve correlação positiva entre o IMC e o peso final ( $r= 0,8515$ ) (Figura 1), índice de Lee e peso final ( $r= 0,6330$ ) (Figura 2) demonstrando que animais mantidos com dieta hipercalórica tornaram-se obesos.

Embora tenha havido redução na ingestão alimentar e na preferência alimentar, parâmetro nutricional que expressa o quanto de dieta foi ingerida a partir da quantidade de ração ofertada, a ingestão energética foi maior nos animais mantidos com dieta hipercalórica (Tabelas 3 e 4). A redução no consumo alimentar resultou na menor eficiência alimentar e foi associada à elevada caloria da dieta hipercalórica (3,41kcal/g), comparada a da dieta padrão (2,75 kcal/g) (Tabela 1).

Estudos recentes reportaram que dieta rica em lipídios produziu um aumento no peso corporal depois de oito semanas de tratamento, comparado com o grupo que recebeu dieta padrão, demonstrando que maior energia ingerida quando comparado ao grupo controle contribuiu para o surgimento de obesidade (Kim et al., 2005). A regulação do balanço energético em ratos adultos é geralmente considerada resultado de um

controle preciso de ingestão de energia, o que serve para manter os estoques corporais de energia constantes (Burneiko et al., 2006).

Deste modo, animais mantidos com dieta hipercalórica ingeriram menor quantidade de ração e maior conteúdo energético, em relação aos que receberam dieta padrão. Embora tenha havido manutenção no consumo de carboidratos, houve redução no conteúdo de proteínas ingerido, bem como elevação na ingestão lipídica nestes animais. Estes fatos foram associados a modificações nos componentes da dieta hipercalórica. A dieta hipercalórica utilizada quando comparada a padrão, continha quantidades elevadas de lipídios (7,45%) e de carboidratos (4,09%), bem como redução no conteúdo de proteínas. Segundo Reeves (1997), ratos adultos necessitam de 14% de proteína para a manutenção do peso e desenvolvimento normais. A Tabela 1 mostra que a dieta apresentava 15,25% de proteína, não sendo, portanto, hipoproteica. Além do acréscimo de colesterol, 13,10% de carboidratos era representado pela sacarose e 8,47% por ácidos graxos poliinsaturados, provenientes do óleo de soja. É evidente que além da elevação na caloria, a dieta hipercalórica utilizada apresentou alteração nos macronutrientes (Tabela 1).

Vários fatores podem, portanto ter contribuído para a redução no consumo alimentar, observado nos animais mantidos com dieta hipercalórica (Tabela 3). Estudos em ratos têm demonstrado a modificação na preferência alimentar relacionada a diferentes componentes, carboidratos, lipídios e proteínas das dietas (Boghossian et al., 2000). A

variação nos componentes da dieta pode alterar a preferência alimentar, contribuindo ou não para a elevação na sua ingestão, modificando então o equilíbrio nutricional (Naderali et al., 2004).

É evidente que o conteúdo energético da ração representado pelo aumento no conteúdo de lipídios da dieta hipercalórica foi responsável pelo menor consumo alimentar nestes animais. Na Figura 3, pode-se notar que houve correlação positiva entre o peso corporal final e o conteúdo lipídico das dietas e a despeito da redução na eficiência protéica, houve considerável elevação na eficiência lipídica entre as dietas, indicando que parte do lipídio ingerido através da dieta contribuiu para o peso final dos animais (Tabelas 2 e 4).

Deste modo, o desenvolvimento da obesidade é mesmo possível sem aumento da quantidade de alimento ingerido, pois mudanças na composição de nutrientes ou na forma da dieta podem alterar a eficiência na utilização do alimento e, conseqüentemente, aumentar os estoques de gordura por caloria consumida (Pereira et al., 2003). Na Figura 4 pode-se observar correlação positiva entre energia ingerida e peso final dos animais.

A suplementação nutricional com azeite de oliva, oleuropeína e ácido caféico não alterou a ingestão alimentar, a ingestão de lipídios, eficiência alimentar, eficiência protéica, lipídica e glicídica tanto nos grupos mantidos com dieta padrão como com hipercalórica (Tabela 3). Fato singular foi observado no grupo PAC, que mostrou elevação na ingestão de proteínas e carboidratos comparados ao PC, o que poderia sugerir atuação do ácido

caféico na preferência por macronutrientes da dieta. Entretanto, pode-se observar que azeite de oliva e seus polifenóis não alteraram a preferência alimentar nos diferentes grupos experimentais (Tabela 4). Estudos anteriores realizados em nosso laboratório (Faine et al., 2004) demonstraram que animais tratados com azeite de oliva, não apresentaram alteração na ingestão alimentar e na energia ingerida, quando comparados aos animais controles.

Animais do grupo DH apresentaram menor eficiência alimentar, bem como menor consumo específico de água, comparado aos do grupo DP. O menor consumo específico de água apresentada pelos animais do grupo DH, deve-se à menor ingestão alimentar por esses animais, desde que eles podem modular a ingestão de líquidos em relação ao alimento (Naim et al., 1991; Ohara et al., 2000).

Durante as últimas décadas, muita atenção tem sido focada no papel da taxa de carboidratos e gorduras da dieta na manutenção do balanço de energia e na regulação do ganho de peso, desde que para o balanço de energia a composição do macronutriente da dieta deve-se igualar ao combustível oxidado pelo organismo (Blaak & Saris, 1996).

Calorimetria é uma maneira não invasiva de determinar as necessidades nutricionais e a taxa de utilização de substratos energéticos na presença de O<sub>2</sub> e liberação de CO<sub>2</sub> pela análise do ar inspirado e expirado pelos pulmões (Diener, 1997; Mourão et al., 2005). Constitui um método prático para identificar a natureza e quantidade de substratos energéticos



que estão sendo metabolizados pelo organismo. O  $VO_2$  corresponde a quantidade de oxigênio consumido, o  $VCO_2$  a quantidade de gás carbônico produzido por grama de substrato metabólico oxidado no organismo e o quociente respiratório ( $QR = VCO_2/VO_2$ ) é empregado para determinar o tipo de substrato que está sendo oxidado pelo organismo em estudo. A redução no QR indica maior utilização de lipídios como substrato energético (Wahrlich & Anjos, 2001; Schneider & Meyer, 2005). Animais mantidos com dieta padrão apresentaram menor QR comparado aos mantidos com dieta hipercalórica, fato este que indica maior oxidação de lipídios em relação a carboidratos (Tabela 5).

A maior utilização de oxigênio na oxidação de lipídios relaciona-se a maior quantidade de ATP produzida pela oxidação de ácidos graxos em relação a carboidratos, bem como o fato que ácidos graxos ( $CH_3-(CH_2)_n-COOH$ ), apresentam baixa concentração de oxigênio por molécula, em comparação com carboidratos ( $C_6H_{12}O_6$ ) (Voet et al., 2000). Deste modo, a oxidação de lipídios requer proporcionalmente maior consumo de oxigênio, e menor liberação de gás carbônico, o que pode ser observado na Tabela 5. Desde que carboidratos são polihidroxi aldeídos ou polihidroxi cetonas, apresentam estruturalmente um oxigênio por carbono. Portanto o consumo de apenas um oxigênio externo é necessário para formação de uma molécula de  $CO_2$  no processo de oxidação de carboidratos.

O efeito da dieta rica em lipídios parece estar associado com a redução do gasto energético, que acarreta a deposição de lipídios (Rosado et al.,

2001). O alto consumo energético está associado a adaptações metabólicas, como o aumento do quociente respiratório, que poderiam induzir o ganho de peso (Cooling & Blundell, 1998). Animais mantidos com dieta hipercalórica não suplementados apresentaram elevação no QR e diminuição na taxa metabólica basal, comparado aos animais mantidos com dieta padrão não suplementados. O mecanismo pelo qual dieta rica em lipídios induz obesidade não está claro, porém exposição prolongada a este tipo de dieta pode aumentar o ganho de peso e adiposidade, tanto em animais quanto em humanos (Portillo et al., 1999). Outra característica da indução de obesidade em animais por dieta rica em lipídios, é diminuição da atividade simpática, que resulta em diminuição da taxa metabólica basal. Porém não está claro como a redução da atividade simpática atua no sistema nervoso central durante o desenvolvimento da obesidade (Kim et al., 2005). Estudos prospectivos mostraram que uma taxa metabólica basal relativamente baixa, e um QR relativamente alto, isto é, uma baixa taxa de oxidação de lipídios em relação aos carboidratos, induziu o ganho de peso (Weyer et al., 2000).

A análise da calorimetria indireta demonstrou diminuição no consumo de  $O_2$  e aumento na produção de  $CO_2$  nos animais mantidos com dieta hipercalórica, indicando um aumento no quociente respiratório nesses animais comparado ao padrão (Tabela 5).

Pode-se notar que animais do grupo DH apresentaram maiores valores de energia metabolizável, indicando que a ingestão de sacarose e lipídios influenciou diretamente o aumento da absorção de energia. Por outro lado,

houve diminuição na relação  $VO_2$ /superfície corporal, indicando menor consumo de oxigênio em relação a superfície corporal nos animais do grupo DH comparado ao DP, corroborando com a menor oxidação de lipídios nestes animais.

Elevada ingestão de carboidratos induz aumento em sua própria oxidação (Labayen et al., 1999). A modificação e seleção de substrato energético são controladas pela ingestão de carboidratos e sua oxidação reduz a oxidação de lipídios (DeLany e West, 2000).

Desde que a energia metabolizável reflete a relação entre energia absorvida e a utilizada (Labayen et al., 1999), é evidente que não houve alteração na disponibilidade de nutrientes das dietas pela suplementação com azeite e seus polifenóis, exceto nos animais do grupo HAC. Este fato pode estar associado à redução na taxa metabólica basal observada nestes animais.

Os efeitos do azeite de oliva e seus compostos fenólicos foram claramente evidenciados na análise calorimétrica.

Em animais mantidos com dieta hipercalórica, a taxa metabólica basal não foi alterada pela suplementação com azeite de oliva e oleuropeína, embora tenha havido redução no quociente respiratório destes animais, comparado ao grupo HC. A redução no quociente respiratório indicou que tanto a suplementação com azeite de oliva como de seus fenóis elevou a oxidação de lipídios, em detrimento da oxidação de carboidratos (Tabela 5, Figura 5). Desde que a oxidação de lipídios requer maior consumo de

oxigênio, houve elevação no  $VO_2$  ajustado à massa corporal (Tabela 5). A relação  $VO_2$  e massa corporal e  $VCO_2$  e massa corporal permite comparar consumo de oxigênio e produção de gás carbônico em diferentes espécies e tecidos animais, desde que reflète especificamente as trocas gasosas associadas à oxidação de nutrientes por unidade de massa (Brito, 2004).

De fato, em condição de dieta padrão, a despeito da variabilidade no  $VO_2$  e  $VCO_2$ , azeite de oliva e polifenóis induziram, de maneira geral, elevação no volume de oxigênio por unidade de massa corporal. A produção de gás carbônico foi reduzida nos animais que receberam azeite de oliva em relação ao PC, fato associado à redução no quociente respiratório, elevação na oxidação de lipídios e redução na oxidação de carboidratos. Azeite de oliva induziu ainda elevação na taxa metabólica basal (Tabela 5).

Suplementação dietética com oleuropeína em animais com dieta padrão reduziu o  $VO_2$  específico e elevou o  $VCO_2$  específico comparado ao PC, desde que induziu menor oxidação de lipídios e elevou a oxidação de carboidratos. Houve, portanto elevação no quociente respiratório nestes animais e redução na taxa metabólica basal. Por outro lado, efeitos opostos foram induzidos pelo ácido caféico, que elevou a taxa metabólica basal, o  $VO_2$  específico e a oxidação de lipídios, reduzindo a oxidação de carboidratos quando comparados ao PC (Tabela 5, Figura 5).

Independente do tipo de dieta, é evidente que a suplementação nutricional com azeite de oliva induziu modificação no substrato usado para obtenção de energia, elevando consideravelmente a oxidação de lipídios.

A análise da resposta calorimétrica ao azeite de oliva e seus componentes permitiu inferir que o efeito do azeite reduzindo a oxidação de carboidratos e aumentando o aproveitamento de lipídios como fonte energética foi associado a seu composto fenólico ácido caféico.

Os resultados deste capítulo permitiram concluir que dieta hipercalórica induziu obesidade nos animais, através da elevação no IMC e no QR e diminuição na TMB e na oxidação de lipídios. A análise calorimétrica demonstrou que suplementação nutricional com azeite de oliva induziu modificação no substrato usado para obtenção de energia. O efeito benéfico do azeite foi associado a seu composto fenólico ácido caféico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

\*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted journal. *N Engl J Med.* 1997;336:309-315.

Acheson KJ. Carbohydrate and weight control: where do we stand? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2004;7:485-92.

Bass A, Brdiczka D, Eyer P, Hofer S, Pette D. Metabolic differentiation of distinct muscle at the level of enzymatic organization. *Eur J Biochem.* 1969;10:198-206.

Battino M, Quiles JL, Huertas J, Ramirez-Tortosa C, Cassinello M, Mañas M, et al. Feeding Fried Oil Changes Antioxidant and Fatty Acid Pattern of Rat and Affects Rat Liver Mitochondrial Respiratory Chain Components. *J Bioen Biomem.* 2002;34(2):127-34.

Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol.* 2003;136(Pt A):113-26.

Bernardis LL. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's nutritive ratio in rats with hypothalamic obesity. *Experientia.* 1970;26:789-90.

Blaak EE, Saris WHM. Postprandial thermogenesis and substrate utilization after ingestion of different dietary carbohydrates. *Metabolism.* 1996; 45(10): 1235-42.

Boghossian S, Veyrat-Durebex C, Alliot J. Age-related in adaptive macronutrient intake in swimming male and female Lou rats. *Physiol Behav.* 2000;69:231-8.

Bondia-Pons I, Schröder H, Covas MI, Castellote AI, Kaikkonen J, Poulsen HE, et al. Moderate consumption of olive oil by healthy European men reduces systolic blood pressure in non-mediterranean participants. *J Nutr.* 2007;137:84-7.

Bray GA. Oxygen consumption of genetically obese rats. *Experientia.* 1969;23:1100-101.

- Brito HFV. Determinação da taxa metabólica basal em *Dasyprocta azarae* por calorimetria indireta [dissertação]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2004.
- Burneiko RCM, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GMX, Faine LA, et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol.* 2006;44:1167-72.
- Buscemi S, Di Maggio O, Blunda G, Maneri R, Verga S, Bompiani GD. A low resting metabolic rate is associated to body weight gain in adult Caucasian subjects: preliminary results of a 8-10 year longitudinal study. *Int J Obesity.* 1998;22(Suppl 1):S75.
- Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, Visioli F, Distante A, Caterina R. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:622-9.
- Casalino E, Calzaretti G, Sblano C, Landriscina V, Tecce MF, Landriscina V. Antioxidant effects of hidroxytyrosol (DPE) and Mn<sup>2+</sup> in liver of cadmium-intoxicated rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2002;133:625-632.
- Choudhury N, Tan L, Truswell AS. Comparison of palmolein and olive oil: effects on plasma lipids and vitamin E in young adults. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:1043-51.
- Commerford SR, Pagliassotti MJ, Melby CL, Wei Y, Gayles EC, Hill JO. Fat oxidation, lipolysis, and free fatty acid cycling in obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279:875-85.
- Cooling J, Blundell J. Differences in energy expenditure and substrate oxidation between habitual high fat and low fat consumers (phenotypes). *Int J Obes.* 1998;22(7):612-18.
- Costa NMB, Walker AF, Low AG. The effect of graded inclusion of baked beans (*Phaseolus vulgaris*) on plasma and liver lipids in

- hypercholesterolaemic pigs given a Western - type diet. *Br J Nutr.* 1993;70:515-24.
- Covas MI, Torre K, Farré-Albaladejo M, Kaikkonem J, Fitó M, López-Sabater C, et al. Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *F Radic Biol Med.* 2006;40:608-16.
- De La Cruz JP, Quintero L, Villalobos MA, De La Cuesta F S. Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipidemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1485: 36-44.
- Delany JP, West DB. Changes in body composition with conjugated linoleic acid. *J Am Coll Nutr.* 2000;19:487S-93S.
- Diener JRC. Calorimetria indireta. *Rev Ass Med Bras.* 1997;43(3):245-53.
- Diniz YS, Faine LA, Almeida JA, Silva MDP, Ribas BO, Novelli ELB. Toxicity of dietary toxicity of fat enriched diets on cardiac tissue. *Food Chem Toxicol.* 2002;40:1893-9.
- Diniz YS, Rocha KKHR, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, et al. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006;543:151-157.
- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
- Ebaid GMX, Faine LA, Diniz YS, Rodrigues HG, Galhardi CM Ribas BO, Fernandes AAH, Novelli ELB. Effect of digitonin on hyperglycaemia and dyslipidemia induced by high-sucrose intake. *Food Chem Toxicol.* 2006;44:293-299.
- Erçok F, Keskin N, Erçok S. Theoretical investigation of hydroxytyrosol and its radicals. *J Mol Structure.* 2003;625:87-94.



- Esposito LA, Melov S, Cottrell BA. Mitochondrial disease in mouse resulting increased oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci.* 1999;96:4820-5.
- Faine LA, Diniz YS, Almeida JA, Novelli ELB, Ribas BO. Toxicity of ad lib. overfeeding: effects on cardiac tissue. *Food and Chem Toxicol.* 2002;40:663-668.
- Faine LA, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Burneiko RC, Santana LS, Cicogna AC, Novelli ELB. Synergistic action of olive oil supplementation and dietary restriction on serum lipids and cardiac antioxidant defences. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2004;82(11):969-975.
- Faine LA, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ebaid GMX, Diniz YS, Fernandes AAH, et al. Butyl hydroxytoluene (BHT)-induced oxidative stress: Effects on serum lipids and cardiac energy metabolism in rats. *Exper Toxicol Path.* 2006;57:221-226.
- Faine LA, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ebaid GMX, Diniz YS, Padovani CR, et al. Effects of olive oil and its minor constituents on serum lipids, oxidative stress, and energy metabolism in cardiac muscle. *Can J Physiol Pharmacol.* 2006;84:1-1.
- Feoli AM, Roehrig C, Rotta LN, Kruger AH, et al. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. *Nutrition.* 2003; 19:789-793.
- Feuers RJ. The effects of dietary restriction on mitochondrial dysfunction in aging. *Ann NY Acad Sci.* 1998;854:192-201.
- Flatt JP, Tremblay A. Energy expenditure and substrate oxidation. In: Bray GA, Bouchard C, James WPT. *Handbook of obesity.* New York: Marcel Dekke; 1998. p.513-37.
- Friedman MI. Fuel partitioning and food intake. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67(Suppl):S513-8.
- Ghibaudi L, Cook J, Farley C, Van Heek M, Hwa JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors and energy metabolism of Sprague-Dawley rats. *Obesity Research.* 2002;10(9):956-963.

- Gómez-Alonso S, Salvador MD, Fregapane G. Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.* 2002;50:6812-6817.
- Green SM, Blundell JE. Effect of fat and sucrose containing foods on the size of eating episodes and energy intake in lean dietary restrained and unrestrained females: potential for causing overconsumption. *Europ J Clin Nutr.* 1996;50(9):625-35.
- Hart RW, Dixit R, Seng J, Turturro JE, Leakey JEA, Feurs R. Adaptative role of caloric intake on degenerative disease processes. *Toxicol Sci.* 1999;52:3-12.
- Hill JO, Melanson EL, Wyatt HT. Dietary Fat Intake and Regulation of Energy Balance: Implications for Obesity. *J Nutr.* 2000;130:284S-288S.
- Hillestrøm PR, Covas MI, Poulsen HE. Effect of dietary virgin olive oil on urinary excretion of etheno-DNA adducts. *Free Rad Biol Med.* 2006;41:1133-38.
- Jebb SA. Obesity: from molecules to man. *Proc Nutr Soc.* 1999;58:1-14.
- Jeffery N, Yaqoob P, Newsholme E, Calder P. The effects of olive oil upon rat serum lipid levels and lymphocyte functions appear to be due to oleic acid. *Ann Nutr Metab.* 1996;40:71-80.
- Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int J Food Sci Tech.* 2001;36:703-25.
- Kim JH, Hahm DH, Yang DC, Kim JH, Lee HJ, Shim I. Effect of crude saponin of Korean red ginseng on high - fat diet-induced obesity in the rat. *J Pharmacol Sci.* 2005;97:124-31.
- Kunz I, Schorr U, Klaus S, Sharma AM. Resting metabolic rate and substrate use in obesity hypertension. *Hypertension.* 2002;36:26-32.
- Labayen I, Forga L, Martinez JA. Nutrient oxidation and metabolic rate as affected by meals containing different proportions of carbohydrate and fat, in healthy young women. *Eur J Nutr.* 1999;38:158-66.
- Larson DE, Ferraro RT, Robertson DS, Ravussin E. Energy metabolism in weight-stable post-obese individuals. *Am J Clin Nutr.* 1995;62(4):735-39.

- McCrary MA, Fuss PJ, Saltzman E, Roberts SB. Dietary determinants of energy intake and weight regulation in healthy adults. *J Nutr.* 2000;130:276S-279S.
- Montedoro GF, Servili M, Baldioli M, Miniati E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil: 1 . Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J Agric Food Chem.* 1992;40:1571-8.
- Moreira AVB, Mancini-Filho J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. *Rev Nutr.* 2004;17(4):411-24.
- Mourão DM, Monteiro JBR, Hermsdorff HHM, Teixeira MCL. Alimentos modificados e suas implicações no metabolismo energético. *Rev Nutr.* 2005;18(1):19-28.
- Naderali EK, Fatini S, Williams G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. *Atherosclerosis.* 2004;172:63-9.
- Nain M, Ohara I, Kare MR, Levinson M. Interaction of MSG taste with nutrition perspectives in consummatory behaviour and digestion. *Physiol Behav.* 1991;49:1019-24.
- Norman GR, Streiner DL. *Biostatistic - the base essentials.* St. Louis: Mosby Book; 1994.
- Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals.* 2007;41(1):111-9.
- Novelli ELB, Fernandes AAH, Campos KE, Diniz YS, Almeida J A, Faine LA, et al. The adverse effect of a high energy dense diet on cardiac tissue. *J Nutr Environ Med.* 2002;12:287-94.
- Novelli ELB. *Nutrição e Vida Saudável - estresse oxidativo e metabolismo energético.* Ribeirão Preto: Tecmed; 2005.

- Ohara I, Tabuchi R, Onai K, Econ H. Effects of modified rice brain on serum lipids and taste preference in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res.* 2000;20:59-68.
- Peña M, Bacallao J. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para la salud pública., Washington(DC):OPS; 2000. Publicación Científica,nº 576.
- Pereira LO, Francischi RP, Júnior AHL. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47:111-27.
- Portillo MP, Simon E, Garcia-Calonge MA, Del Barrio AS. Effects of high-fat diet on lipolysis in isolated adipocytes from visceral and subcutaneous WAT. *Eur J Nutr.* 1999;38:177-82.
- Prentice AM, Jebb AS. Fast foods, energy density and obesity: a possible mechanistic link. *Obesity.* 2003;4:187-94.
- Proserpi C, Sparti A, Schutz Y, Vetta D, Milon H, Jéquier E. *Ad libitum* intake of a high-carbohydrate or high-fat diet in young men: effects on nutrient balances. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(3):539-45.
- Quiles JR, Huertas JR, Ochoa JJ, Battino M, Mataix J, Mañas M. Dietary fat (virgin olive oil or sunflower oil) and physical training interactions on blood lipids in the rat. *Nutrition.* 2003;19:363-68.
- Ravussin E, Lillioja S, Knowler W, Christin L, Freymond D, Abbott WGH, et al. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body weight gain. *New Engl J Med.* 1988;318(8):467-72.
- Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr.* 1997;127:838S-841S.
- Roche HM, Gibney MJ, Kafatos A, Zampelas A, Williams CM. Beneficial properties of olive oil. *Food Res Internat.* 2000;33:227-31.
- Rolls BJ. The role of energy density in the overconsumption of fat. *J Nutr.* 2000;130:268S-271S.
- Rosado EL, Monteiro JBR. Obesidade e a substituição de macronutriente da dieta. *Rev Nutr.* 2001;14(2):145-52.

- Schaffer JE. Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol.* 2003;14:281-287.
- Scharrer E. Control of food intake by fatty acid oxidation and ketogenesis. *Nutrition.* 1999;15:704-14.
- Schneider P, Meyer F. As equações de predição da taxa metabólica basal são apropriadas para adolescentes com sobrepeso e obesidade? *Rev Bras Med Esporte.* 2005;11(3):193-6.
- Schutz Y, Ravussin E. Respiratory quotient lower than 0,7 in ketogenic diets. *Am J Clin Nutr.* 1980;33(6):1317-9.
- Schwedhelm E, Maas R, Troost R, Böger R. Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(5):437-59.
- Seidell JC. Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective. *Am J Clin Nutr.* 1998;67:S546-S550.
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, de Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia - da planta ao medicamento.* 5 ed. Porto Alegre: UFRGS e UFSC; 2004.
- Smith BK, Kelly LA, Pina R, York DA, Bray GA. Preferential fat intake increases adiposity but not body weight in Sprague-Dawley rats. *Appetite.* 1998;31:127-39.
- Strohl KP, Thomas AG, Jean PST, Achlenker EH, Koletsky RJ, Schork NJ. Ventilation and metabolism among rats strains. *J Appl Physiol.* 1997;82(1):317-23.
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal.* 3<sup>rd</sup>ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.
- Tuck KL, Hayball PJ. Major phenolic compounds in olive oils: metabolism and health effects. *J Nutr Biochem* 2002;13:636-44.
- Turner RT, Evans GL, Zhang M, Maran A, Sibonga JD. Is Resveratrol an Estrogen Agonist in Growing Rats? *Endocrinology.* 1999;140:50-54.
- Vicário IM, Malkova D, Lund EK, Johnson I. Olive oil supplementation in healthy adults: effects in cell membrane fatty acid composition and platelet function. *Ann Nutr Metab.* 1998;42:160-69.

- Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys Res Comm.* 1998; 247:60-64.
- Vissers MN, Zock PI, Katan MB Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans. *Clin Nutr.* 2004;58:955-65.
- Voet D, Voet JG, Pratt CW. *Fundamentos de Bioquímica.* Porto Alegre: ArtMed Editora, 2000.
- Warhlich V, Dos Anjos LA. Aspectos históricos e metodológicos da medição e estimativa da taxa metabólica basal: uma revisão de literatura. *Cad Saúde Pública.* 2001;17(4):801-17.
- Weyer C, Pratley RE, Salbe AD, Bogardua C, Ravussin E, Tataranni PA. Energy expenditure, fat oxidation, and body weight regulation: A stumetabolic adaptation to long-term weight change. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1087-94.
- World Healthy Organization. *Obesity: Prevention and managing the global epidemic.* Report of a WHO Consultation on obesity. Geneva; 1998.
- Yang Y, Wu T, He K, Fu ZG. Effect of aerobic exercise and ginsenosides on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemia mice. *Acta Pharmacol Sin.* 1999; 20:563-5.
- Zar JH. *Biostatistical analysis.* 4<sup>th</sup>ed. New Jersey: Practice-Hall; 1994.

## *CAPÍTULO 2*

**PERFIL LIPÍDICO E ESTRESSE OXIDATIVO SÉRICOS:  
AÇÃO DO AZEITE DE OLIVA E DE SEUS FENÓIS EM  
ANIMAIS SUBMETIDOS A INGESTÃO DE DIETA  
PADRÃO E HIPERCALÓRICA**

---

## RESUMO

Inúmeras condições patológicas estão associadas ao estresse oxidativo e dislipidemias. A ingestão de azeite de oliva, rico em polifenóis, tem aumentado nos últimos anos, na maioria das populações. Deste modo o estudo dos efeitos do azeite de oliva e seus componentes fenólicos, oleuropeína e ácido caféico sobre a dislipidemia e estresse oxidativo séricos associados à ingestão de dietas inadequadas é de grande interesse. Para tanto, 48 ratos, Wistar,  $180,52 \pm 21,05g$ , foram divididos inicialmente em 2 grupos. O grupo P (n=24) foi mantido com dieta padrão e água *ad libitum* e o grupo H (n=24) foi mantido com dieta rica em colesterol e sacarose e água *ad libitum*. Após 21 dias de tratamento os dois grupos foram divididos em 4 subgrupos cada (n=6): C considerado controle, mantidos com as respectivas dietas P ou H e sem suplementação; AO receberam respectivamente ração P ou H e suplementação nutricional com azeite de oliva extra-virgem (Colavita, Itália) (3mL/Kg/dia); O receberam ração P ou H, respectivamente e suplementação nutricional com oleuropeína (Genay, France) (0,023mg/Kg/dia); AC receberam respectivamente ração P ou H e suplementação nutricional com ácido caféico (Sigma, USA) (2,66mg/Kg/dia). O experimento teve duração de 43 dias. Os resultados demonstraram que dieta hipercalórica induziu dislipidemia. Em condições de dieta padrão, azeite de oliva e seus fenóis foram eficazes na defesa antioxidante. Azeite de oliva em dieta padrão mostrou-se benéfico através do aumento na relação HDL/LDL, embora tenha induzido elevação na trigliceridemia. Azeite de oliva e seus fenóis em dieta hipercalórica diminuíram os fatores de risco para doença cardiovascular. O ácido caféico



mostrou-se mais efetivo na redução do estresse oxidativo em dieta controle; embora na lipídemia os compostos fenólicos estudados não tenham apresentado efeitos quando analisados isoladamente.

**Palavras chave:** azeite de oliva, compostos fenólicos, dieta hipercalórica, dislipídemia, estresse oxidativo.

## INTRODUÇÃO

Hábitos alimentares inadequados têm sido frequentemente relacionados com o surgimento da obesidade, que é um importante fator de risco para formação de ateromas, predisposição para hipertensão, dislipidemia e doenças cardiovasculares. Obesidade está relacionada com anormalidades específicas de disfunção endotelial, que ocorrem em condições pró-aterogênicas (Naderali et al., 2001).

A aterosclerose é a principal causa de morte nos países ocidentais. Pode ser acelerada ainda por uma série de fatores de risco como diabetes, obesidade e fumo.

Como os níveis de colesterol vêm sendo caracterizados como um fator determinante para a progressão da aterosclerose, a obesidade é um dos fatores que determinam uma predisposição a essa doença. Hoje sabe-se que esta predisposição está relacionada não apenas com a ação direta do aumento de LDL circulante no sangue, mas também com o aumento do tamanho das células do tecido adiposo e, principalmente com a susceptibilidade da LDL à oxidação (Covas et al., 2006). A oxidação da LDL está relacionada com a formação de placas ateroscleróticas, que contribui para o desenvolvimento de doenças coronarianas (Tuck & Hayball, 2002).

Estratégias focadas em restaurar as disfunções endoteliais parecem ser ferramentas úteis na prevenção de doença cardiovascular. Dentre estas estratégias estão as intervenções na dieta, que parecem modular a função endotelial (Volp & Alfenas, 2006).

Tanto a indústria, como pesquisadores e consumidores têm demonstrado grande interesse nos flavonóides pelo potencial papel na prevenção do câncer e doenças cardiovasculares devido às suas propriedades antioxidantes. Estudos epidemiológicos têm sugerido associações entre o consumo de alimentos ou bebidas ricos em polifenóis e a prevenção de doenças (Scalbert & Williamson, 2000), como aterosclerose, diabetes, envelhecimento e câncer (Nardini et al., 2006).

Polifenóis são agentes redutores e, junto com outros agentes dietéticos, como a vitamina C, vitamina E e carotenóides, protegem os tecidos corporais contra o estresse oxidativo (Scalbert & Williamson, 2000).

O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e as espécies reativas de nitrogênio (ERO/ERN), conhecidas genericamente como radicais livres (RL) (Romero et al., 1998; Diniz et al., 2007) é denominado estresse oxidativo. O estresse oxidativo é uma condição celular ou fisiológica de elevada concentração de ERO/ERN que causa danos moleculares às estruturas celulares, com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais (Droge, 2002), em diversos tecidos e órgãos, tais como músculo, fígado e tecido adiposo (Barja de Quiroga, 1992; Goldfarb, 1993). No entanto, o efeito deletério do estresse oxidativo, varia consideravelmente de um ser vivo para o outro, de acordo com a idade, estado fisiológico e dieta (Niess et al, 1999).

Os radicais livres (RL) são átomos ou moléculas que contêm em sua estrutura um ou mais elétrons não pareado na sua última camada (Novelli,

2005), que se converte em um composto altamente instável e com grande capacidade de formar outros radicais livres através de reações em cadeia. São sintetizados fisiologicamente no organismo humano como parte do metabolismo energético, porém, a produção pode aumentar frente a diferentes agressões como infecções, exercício físico extremo, dietas desequilibradas, alimentos tóxicos, contaminantes ambientais entre outros.

Os RL estão relacionados com variedade de doenças, incluindo câncer, doenças hepáticas, aterosclerose e envelhecimento (Moriel et al., 1999; Chisolm & Steinberg, 2000). Na maioria das vezes esta relação se dá pela propriedade que os RL têm de reagir com os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), servindo como iniciadores do processo de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO).

Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de antioxidantes na dieta é de grande importância e o consumo de frutas e vegetais está relacionado com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres (Pompella, 1997).

Antioxidantes são classicamente definidos como moléculas que, presentes em concentrações menores que as biomoléculas, podem prevenir, proteger ou reduzir a extensão da destruição oxidativa das biomoléculas. Existem dois grupos de antioxidantes, as enzimas de atividades antioxidantes e os antioxidantes não enzimáticos (Novelli, 2005).

É notório o fato que antioxidantes naturais são encontrados na natureza em várias combinações, diferindo no tipo e quantidade de antioxidantes. Fato como este permite a atuação conjunta de diferentes antioxidantes, aumentando consideravelmente a eficácia da resposta contra o estresse oxidativo (Fuhrman & Aviram, 2001).

Os compostos fenólicos têm sido muito estudados devido a sua influência na qualidade dos alimentos. Englobam uma gama enorme de substâncias, entre elas os compostos fenólicos, os quais, por sua constituição química, possuem propriedades antioxidantes (Soares, 2002).

A associação do estresse oxidativo com doenças cardiovasculares tem elevado a procura por agentes antioxidantes naturais (Ng et al., 1999), desde que o estresse oxidativo está relacionado com a maioria das doenças (Bjelakovic et al., 2007).

A dieta do Mediterrâneo tem sido associada com os benefícios da prevenção secundária de doenças cardiovasculares (Fitó et al., 2002).

Os efeitos benéficos da dieta do Mediterrâneo, que têm como principal componente o azeite de oliva, podem não ser atribuídos somente à alta relação ácidos graxos monoinsaturados do azeite, mas também às propriedades antioxidantes de seus compostos fenólicos (Tripoli et al., 2005).

Azeite de oliva extra-virgem contém compostos fenólicos com capacidade antioxidante, com potencial proteção contra a oxidação da LDL (Wiseman et al., 1996; Vissers et al., 2002).

Os polifenóis possuem habilidade em prevenir a ação de radicais livres sobre a superfície das membranas biológicas (Erçok et al., 2003), através da doação de elétrons ou hidrogênios dos grupos hidroxilas ao ácido graxo insaturado, estabilizando, deste modo, o RL (Morton et al., 2000; Kaur & Kapoor, 2001).

Alguns dos compostos polifenóis presentes no azeite de oliva são o ácido caféico (Bianchi & Antunes, 1999) e a oleuropeína (Gutiérrez-Rosales et al., 2003; Caturla et al., 2005). Esses compostos são de considerável importância na dieta desde que podem inibir o processo de peroxidação lipídica (Halliwell et al., 2000).

Zhou & Zheng (1991) observaram que o ácido caféico, ácido vanílico entre outros são compostos capazes de suprimir a formação do ânion superóxido e a produção de peróxidos de lipídios.

## **OBJETIVOS**

Desde que o elevado consumo de azeite de oliva pode estar associado a atividades antioxidantes de seus componentes, o presente trabalho teve por objetivo verificar se as propriedades benéficas do azeite de oliva, sobre o perfil lipídico sérico e estresse oxidativo, estão relacionadas aos seus compostos ácido caféico e oleuropeína, em condições normais e de ingestão de dieta rica em colesterol e sacarose.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. ANIMAIS

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu - SP, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foi utilizado um total de 48 ratos machos adultos *Wistar*, de peso (média  $\pm$  desvio-padrão) 180,52  $\pm$  21,05 gramas. Os animais foram provenientes do Biotério Central da UNESP, "campus de Botucatu", e transferidos para o "Laboratório de Bioquímica na Experimentação Animal" do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu, onde permaneceram durante todo o período experimental, à temperatura de 22  $\pm$  3°C, período claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico individuais, recebendo dieta basal (Biobase, 9301, SIF nº SC - 25035, Brasil) e água destilada *ad libitum*. Para permitir a aclimação dos animais, os ratos permaneceram nas condições acima citadas por um período de 15 dias antes do início do experimento. As gaiolas foram limpas diariamente.

### 2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram inicialmente divididos em 2 grupos. O grupo P (n=24) mantido com dieta padrão (DP) e água *ad libitum*. O grupo H (n=24) mantido com dieta hipercalórica (DH) rica em colesterol (Costa et al, 1993) e sacarose.

Após 17 dias do início do tratamento os animais foram deixados em jejum de 12-14 horas, para determinação das concentrações de glicose (Boehringer Mannheim, Eli Lilly do Brasil, SP, Brasil) e triacilgliceróis (Accutrend, GCT, Roche Diagnosis, Ltda, Suíça) através do sangue coletado pela veia da cauda para verificar a presença de dislipidemia causada pela dieta antes da suplementação com azeite e seus fenóis (tabela 1).

Tabela 1. Peso, concentrações de glicose e triacilgliceról no sangue coletado pela veia caudal dos animais alimentados com dietas padrão e dieta hipercalórica aos 17 dias

Variável	Grupos	
	Padrão	Hipercalórica
Peso 17d (g)	273,86±0,48 <sup>a</sup>	296,34±1,99 <sup>b</sup>
Glicemia 17d (mg/dL)	58,83±7,08 <sup>a</sup>	72,83±6,21 <sup>b</sup>
Triacilglicerol 17d (mg/dL)	152,00±16,68 <sup>a</sup>	188,83±14,19 <sup>b</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05)

Letras distintas: diferença significante entre os grupos.

Após 21 dias de tratamentos, os animais dos grupos P e H foram divididos em 4 subgrupos (n=6): grupo C considerado controle, mantido com as respectivas dietas P ou H e sem suplementação; AO receberam as respectivas dietas P ou H e suplementação nutricional com azeite de oliva (Colavita, Italia) (3mL/Kg/dia) (Faine et al., 2004; Vissers et al., 2004); O receberam as respectivas dietas P ou H e suplementação nutricional com oleuropeína (Genay, France) (0,023mg/Kg/dia) (Gómez-Alonso et al., 2002) e o AC receberam as respectivas dietas P ou H e suplementação nutricional com ácido caféico (Sigma, USA) (2,66mg/Kg/dia) (Montedoro et al., 1992).



As concentrações dos compostos fenólicos utilizadas corresponderam à quantidade presente no azeite de oliva administrado aos animais dos grupos PA e HA. O azeite de oliva e seus polifenóis foram administrados por gavagem, como suplementação da dieta basal, cinco vezes por semana, durante o período de 21 dias. Animais dos grupos PC e HC receberam solução 10% de etanol através de gavagem. O período experimental total foi de 43 dias.

### **3. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS**

Os animais foram pesados antes do início do experimento e semanalmente durante todo o período experimental. Após 43 dias de tratamento, os animais foram anestesiados para determinação do comprimento corporal. Tendo como base o peso e o comprimento corporal, foi calculado o índice de massa corporal (IMC) dos animais:

- $IMC (g/cm^2) = \text{peso corporal}/(\text{comprimento corporal})^2$  (Diniz et al., 2006)

Após 43 dias de tratamento, os animais foram anestesiados e submetidos à eutanásia através de decapitação. O sangue foi coletado em tubos de ensaio, com auxílio de funil. O soro foi separado por centrifugação a 4.500 rpm e utilizado para determinações das concentrações de triacilgliceról, colesterol total e lipoproteína de densidade elevada (HDL-colesterol) (CELM diagnóstico, Companhia de Equipamentos de Laboratório Moderno, São Paulo, Brasil).

As concentrações de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL-colesterol) foram determinadas através do cálculo de Friedewald et al

(1972). A lipoproteína de densidade baixa (LDL-colesterol) foi isolada através da precipitação (CELM diagnóstico, Companhia de Equipamentos de Laboratório Moderno, São Paulo, Brasil) e suspensão do precipitado em hidróxido de sódio (Scoccia et al., 2001). A lipoproteína LDL-colesterol foi determinada através da quantificação do colesterol e a LDL-oxidada pela quantificação do hidroperóxido de lipídio na mistura ressuspensa (Jiang et al., 1991). A apolipoproteína B (apo B) foi quantificada determinando-se a concentração de proteína na mistura ressuspensa (CELM diagnóstico, Companhia de Equipamentos de Laboratório Moderno, São Paulo, Brasil).

O hidroperóxido de lipídio (HP) foi determinado através da oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  (sulfato ferroso amoniacal). O  $\text{Fe}^{3+}$  formado reage com alaranjado de xilenol formando composto colorido (Jiang et al., 1991). As substâncias antioxidantes totais (SAT) foram calculadas através da porcentagem de inibição na formação de HP (Mehmetcik et al., 1997).

As leituras espectrofotométricas foram realizadas no espectrofotômetro Pharmacia Biotech com temperatura controlada (U/V visible Ultrospec 5000, software Swift II, 974213, Cambridge, England, UK). Todos os reagentes eram de procedência Sigma (St. Louis, MO, USA).

#### **4. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados obtidos foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A comparação entre os grupos foi realizada pela técnica da análise de variância (ANOVA) para o modelo com dois fatores (dieta e suplementação) complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey (ZAR,

1999). O nível de significância foi de 5% para a discussão dos resultados (Norman & Streiner, 1994).

As letras utilizadas nas tabelas são referentes as seguintes comparações:

- Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação;
- Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta;
- Letras distintas: diferença significativa entre as variáveis

## RESULTADOS

Após 43 dias de período experimental azeite de oliva e seus compostos fenólicos não alteraram a glicemia dos animais mantidos com dieta padrão (DP) e dieta hipercalórica (DH). Porém, a glicose sanguínea esteve aumentada nos animais do grupo HO em relação aos PO (Tabela 2). Foi observada correlação positiva entre glicemia (mg/dL) e o peso final (g) ( $r=0,2887$  e  $p<0,05$ ) (Figura 1) e entre a ingestão de lipídios (g/dia) e a glicemia (mg/dL) ( $r=0,3063$  e  $p<0,05$ ) (Figura 2).

Não houve alteração na trigliceridemia nos animais dos grupos PO e PAC em relação ao grupo PC, porém houve elevação no grupo PAO. Não houve alteração na trigliceridemia nos animais mantidos com dieta hipercalórica. Embora não tenha sido observada alteração na trigliceridemia nos animais do grupo HC em relação ao grupo PC, houve diminuição nos animais dos grupos HAO, HO e HAC, em relação aos seus respectivos controles, PAO, PO e PAC (Tabela 2).

Administração de azeite de oliva e de seus compostos fenólicos não alterou as concentrações de colesterol nos animais mantidos com dieta padrão. Embora não tenha havido alteração nas concentrações de colesterol nos animais dos grupos HO e HAC, foi observada elevação significativa nas concentrações de colesterol nos animais do grupo HAO em relação ao controle, HC. Não foi observada alteração na concentração de colesterol nos animais do grupo HAC em relação ao PAC, porém observou-se um aumento nos animais do grupo HC, HAO e HO, comparado ao PC, PAO e PO, respectivamente (Tabela 2).

Não foi observada diferença estatística nas concentrações de HDL-colesterol nos animais dos grupos DP e DH. Houve diminuição nas concentrações de HDL-colesterol nos animais dos grupos mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis, comparados aos animais mantidos com dieta padrão (Tabela 2).

Não houve diferença estatística nas concentrações de LDL-colesterol nos animais mantidos com dieta padrão e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis. Embora não tenha havido alteração na concentração de LDL-colesterol nos animais dos grupos HAO e HAC, houve diminuição nos animais do grupo HO, comparados ao HC. Dieta hipercalórica elevou as concentrações de LDL-colesterol em relação à dieta padrão (Tabela 2). Dados do índice de massa corporal (IMC) (capítulo 1, página 34) permitiram verificar que houve correlação positiva significativa entre o IMC ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) e a concentração de LDL-colesterol ( $\text{mg}/\text{dL}$ ) ( $r= 0,4420$  e  $p<0,01$ ) (Figura 3).

Embora não tenha havido diferença significativa nas concentrações de VLDL-colesterol e triacilgliceról nos animais dos grupos PO e PAC, houve aumento nos animais do grupo PAO, comparados ao PC. Não foi observada diferença significativa nas concentrações de VLDL-colesterol e TG nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis. Embora não tenha havido diferença nos animais do grupo HC, comparado ao PC, houve diminuição na VLDL-colesterol e TG nos animais dos grupos HAO, HO e HAC, em relação aos respectivos grupos PAO, PO e PAC (Tabela 2).

Quando analisada a relação colesterol/HDL, não foram observadas alterações significantes nos animais mantidos com dieta padrão e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis, bem como com dieta hipercalórica. Foi observada elevação na relação colesterol/HDL nos animais que receberam dieta hipercalórica comparados aos que receberam dieta padrão (Tabela 2).

Embora não tenha havido diferença significativa na relação HDL/LDL, nos animais dos grupos PO e PAC, houve elevação na relação nos animais do grupo HAO, comparados ao PC. Não houve diferença estatística na relação HDL/LDL nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis. Houve diminuição na relação HDL/LDL nos animais mantidos com dieta hipercalórica, comparados à dieta padrão (Tabela 1). Foi observada correlação negativa significativa entre o IMC

(g/cm<sup>2</sup>) (capítulo 1, página 34) e a relação HDL/LDL ( $r= 0,4793$  e  $p<0,01$ ) (Figura 4).

Houve diminuição na relação HDL/LDL nos animais dos grupos HC e HAO, comparados aos seus grupos controles, PC e PAO (Tabela 2).

Não foram observadas alterações na relação LDL/TG nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis, porém, em dieta padrão, houve diminuição nesta relação nos animais do grupo PAO, comparado ao PC. Foi observado aumento na relação LDL/TG nos animais HAO, HO e HAC, em relação aos animais PAO, PO e PAC (Tabela 2).

Embora não tenha sido observada alteração significativa na concentração de hidropéroxido de lipídios (HP) nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis, houve diminuição nas concentrações de HP nos animais dos grupos PAO, PO e PAC, comparados ao grupo PC. Não houve diferença estatística nos animais do grupo DH comparado ao grupo DP (Tabela 3).

Não houve alteração na porcentagem de substâncias antioxidantes totais (SAT) nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis, porém houve elevação na porcentagem de SAT nos grupos PAO e PAC, comparado ao grupo PC. Não houve diferença estatística nos animais do grupo DH comparado ao grupo DP (Tabela 3).

Concentração de LDL-oxidada não esteve alterada no grupo PAO, porém esteve aumentada nos grupos PO e PAC, comparados ao grupo PC.

Não houve alteração na LDL-oxidada nos grupos HO e HAC, porém houve diminuição no grupo HAO, comparados ao HC. Embora não tenha sido observada alteração na concentração de LDL-oxidada no grupo HC, comparado ao PC, houve diminuição nos grupos HAO, HO e HAC, em relação aos seus respectivos controles PAO, PO e PAC (Tabela 3). Na Figura 5 pode-se observar que houve correlação negativa significativa entre as concentrações séricas de lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) (mg/dL) e LDL-oxidada ( $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) ( $r= 0,6266$  e  $p<0,01$ ).

Embora não tenha sido observada diferença significativa nas concentrações de apolipoproteína B (Apo B) nos animais mantidos com dieta padrão e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis, foi observada elevação na Apo B nos animais dos grupos PAO, PO e PAC, comparados aos grupos HAO, HO e HAC, respectivamente. Não foi observada alteração na Apo B no grupo HC, comparado ao PC, entretanto, houve diminuição nos grupos HAO, HO e HAC, em relação aos seus respectivos controles PAO, PO e PAC (Tabela 3).

Foi observada elevação na relação SAT/HP nos animais dos grupos PAO, comparado ao PC, porém não houve alteração na relação nos animais HO e HAC, comparado ao PC. Não foi observada diferença estatística na relação SAT/HP nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus polifenóis. Não houve diferença significativa na relação nos animais mantidos com dieta hipercalórica comparado aos mantidos com dieta padrão (Tabela 3).

**Tabela 2.** Glicemia, concentrações de colesterol total (CT), lipoproteína de densidade elevada (HDL), lipoproteína de densidade baixa (LDL), lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), triacilgliceról (TG) e relações CT/HDL, HDL/LDL e LDL/TG no soro dos animais alimentados com dietas padrão (P) ou hipercalórica (H), sem suplementação (C), que receberam azeite de oliva (AO), oleuropeína (O) e ácido caféico (AC)

Variável	Dieta	Suplementação			
		C	AO	O	AC
Glicemia (mg/dL)	P	59,16±5,19 <sup>aa</sup>	66,50±5,82 <sup>aa</sup>	59,33±5,46 <sup>aa</sup>	63,33±9,83 <sup>aa</sup>
	H	66,16±5,67 <sup>aa</sup>	65,16±6,14 <sup>aa</sup>	68,66±8,09 <sup>ba</sup>	64,66±3,14 <sup>aa</sup>
CT (mg/dl)	P	103,95±7,04 <sup>aa</sup>	87,05±18,44 <sup>aa</sup>	98,28±8,99 <sup>aa</sup>	104,23±19,37 <sup>aa</sup>
	H	124,70±2,00 <sup>ba</sup>	146,92±16,77 <sup>bb</sup>	116,95±16,11 <sup>ba</sup>	118,44±14,68 <sup>aa</sup>
HDL (mg/dl)	P	36,58±5,85 <sup>ba</sup>	45,95±15,95 <sup>ba</sup>	35,26±4,20 <sup>ba</sup>	40,83±5,35 <sup>ba</sup>
	H	27,04±2,15 <sup>aa</sup>	27,20±0,84 <sup>aa</sup>	22,26±5,84 <sup>aa</sup>	27,41±3,32 <sup>aa</sup>
LDL (mg/dl)	P	55,55±5,59 <sup>aa</sup>	45,88±5,93 <sup>aa</sup>	48,94±2,48 <sup>aa</sup>	49,03±11,20 <sup>aa</sup>
	H	72,92±4,46 <sup>baB</sup>	86,20±8,26 <sup>bb</sup>	70,78±21,81 <sup>ba</sup>	76,53±5,43 <sup>baB</sup>
VLDL (mg/dl)	P	17,70±3,10 <sup>aa</sup>	23,32±3,6 <sup>bb</sup>	19,61±3,08 <sup>baB</sup>	19,11±1,03 <sup>ba</sup>
	H	17,40±2,38 <sup>aa</sup>	19,29±2,04 <sup>aa</sup>	15,74±2,13 <sup>aa</sup>	15,64±2,51 <sup>aa</sup>
TG (mg/dl)	P	88,52±15,45 <sup>aa</sup>	116,60±18,09 <sup>bb</sup>	98,07±15,42 <sup>baB</sup>	95,54±5,16 <sup>ba</sup>
	H	87,01±11,93 <sup>aa</sup>	96,50±10,21 <sup>aa</sup>	78,70±10,68 <sup>aa</sup>	78,21±12,57 <sup>aa</sup>
CT/HDL	P	2,88±0,36 <sup>aa</sup>	2,07±0,70 <sup>aa</sup>	2,80±0,26 <sup>aa</sup>	2,54±0,24 <sup>aa</sup>
	H	4,64±0,41 <sup>ba</sup>	5,40±0,67 <sup>ba</sup>	5,63±1,87 <sup>ba</sup>	4,37±0,76 <sup>ba</sup>
HDL/LDL	P	0,66±0,10 <sup>ba</sup>	1,00±0,36 <sup>bb</sup>	0,72±0,08 <sup>ba</sup>	0,85±0,13 <sup>baB</sup>
	H	0,37±0,05 <sup>aa</sup>	0,31±0,03 <sup>aa</sup>	0,34±0,15 <sup>aa</sup>	0,36±0,04 <sup>aa</sup>
LDL/TG	P	0,64±0,16 <sup>ab</sup>	0,40±0,07 <sup>aa</sup>	0,50±0,08 <sup>ab</sup>	0,51±0,11 <sup>ab</sup>
	H	0,85±0,16 <sup>aa</sup>	0,90±0,16 <sup>ba</sup>	0,90±0,25 <sup>ba</sup>	1,00±0,21 <sup>ba</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05).

Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação

Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta

Letras distintas: diferença significante entre as variáveis



**Tabela 3.** Determinações de hidroperóxido de lipídio (HP), substâncias antioxidantes totais (SAT), LDL-oxidada (LDL-oxi), apolipoproteína B (Apo B) e relação SAT/HP no soro dos animais alimentados com dietas padrão (P) ou hipercalórica (H), sem suplementação (C), que receberam azeite de oliva (AO), oleuropeína (O) e ácido caféico (AC)

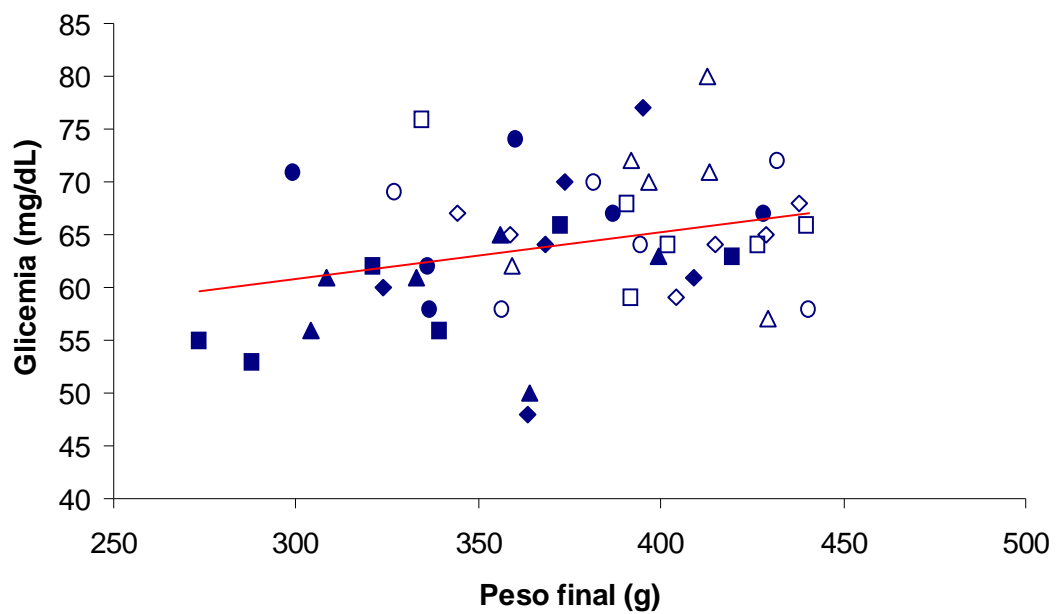
Variável	Dieta	Suplementação			
		C	AO	O	AC
HP (nmol/g tec)	P	5,33±0,40 <sup>ab</sup>	4,60±0,32 <sup>aA</sup>	4,57±0,66 <sup>aA</sup>	4,71±0,11 <sup>aA</sup>
	H	4,92±0,38 <sup>aA</sup>	4,79±0,32 <sup>aA</sup>	4,74±0,24 <sup>aA</sup>	4,76±0,38 <sup>aA</sup>
SAT (%)	P	63,78±4,79 <sup>aA</sup>	73,91±5,14 <sup>ab</sup>	70,81±3,10 <sup>aAB</sup>	71,95±1,69 <sup>ab</sup>
	H	69,19±5,73 <sup>aA</sup>	70,89±5,28 <sup>aA</sup>	71,48±3,55 <sup>aA</sup>	71,50±6,00 <sup>aA</sup>
LDL-oxi (µmol/mmol)	P	0,48±0,16 <sup>aA</sup>	0,70±0,16 <sup>bAB</sup>	0,86±0,09 <sup>bB</sup>	1,05±0,27 <sup>bB</sup>
	H	0,50±0,07 <sup>aB</sup>	0,35±0,13 <sup>aA</sup>	0,64±0,21 <sup>aB</sup>	0,57±0,17 <sup>aB</sup>
Apo B (g/dl)	P	0,11±0,03 <sup>aA</sup>	0,12±0,02 <sup>bA</sup>	0,11±0,01 <sup>bA</sup>	0,11±0,01 <sup>bA</sup>
	H	0,09±0,02 <sup>aB</sup>	0,06±0,01 <sup>aA</sup>	0,07±0,02 <sup>aA</sup>	0,07±0,01 <sup>aA</sup>
SAT/HP (nmol/g tec)	P	12,06±1,80 <sup>aA</sup>	16,19±2,24 <sup>ab</sup>	15,89±3,52 <sup>ab</sup>	15,29±0,71 <sup>aAB</sup>
	H	14,21±2,40 <sup>aA</sup>	14,90±2,31 <sup>aA</sup>	15,11±1,48 <sup>aA</sup>	15,18±2,58 <sup>aA</sup>

Valores expressos como média ± desvio-padrão (p<0,05).

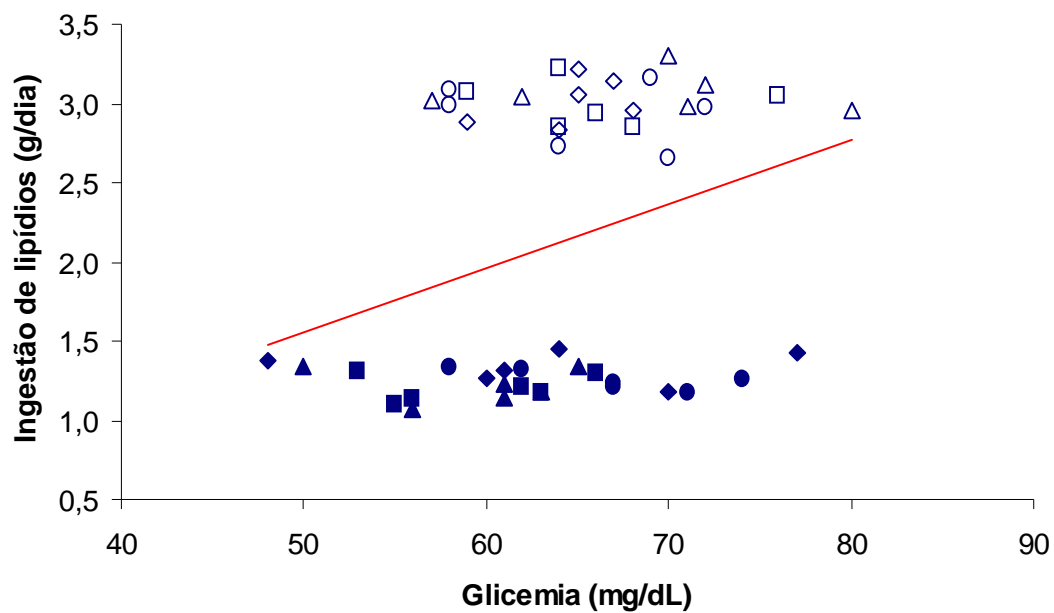
Letras minúsculas: comparação de dietas, fixada a suplementação

Letras maiúsculas: comparação da suplementação dentro da dieta

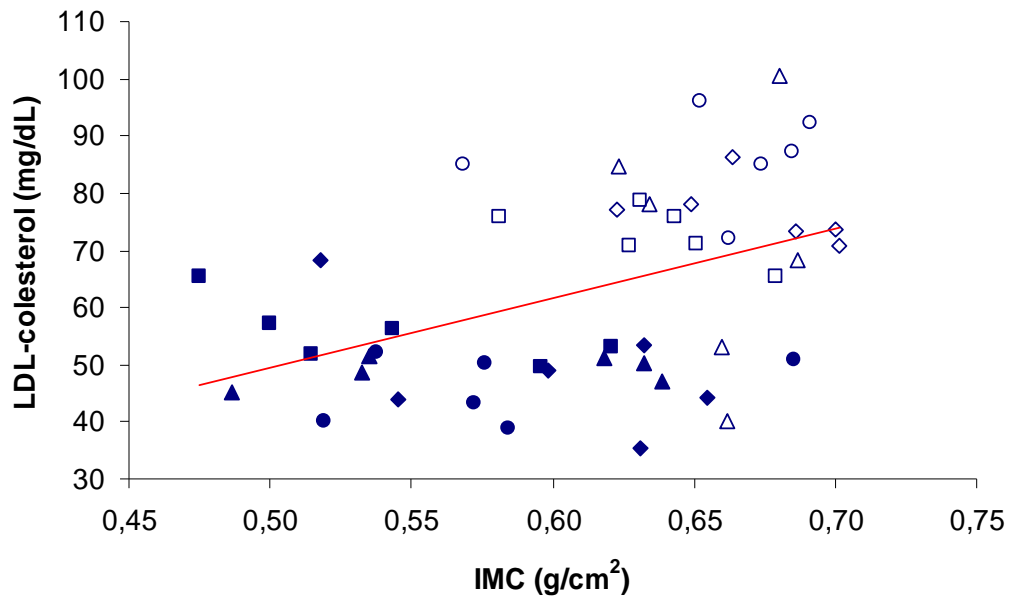
Letras distintas: diferença significativa entre as variáveis



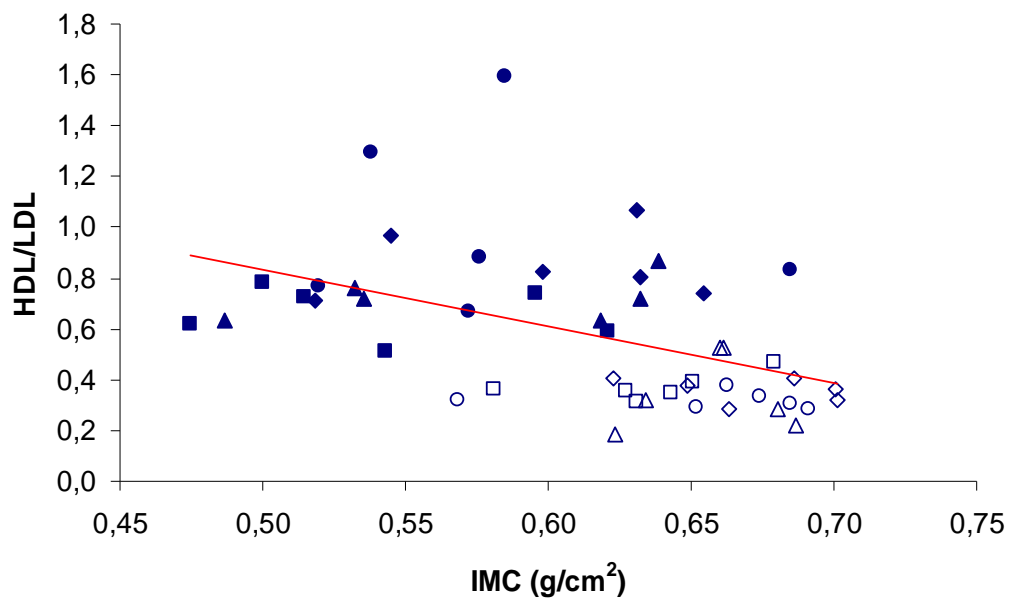
**Figura 1.** Relação linear entre a glicemia (mg/dL) e o peso final (g) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r = 0,2887$  e  $p < 0,05$ .



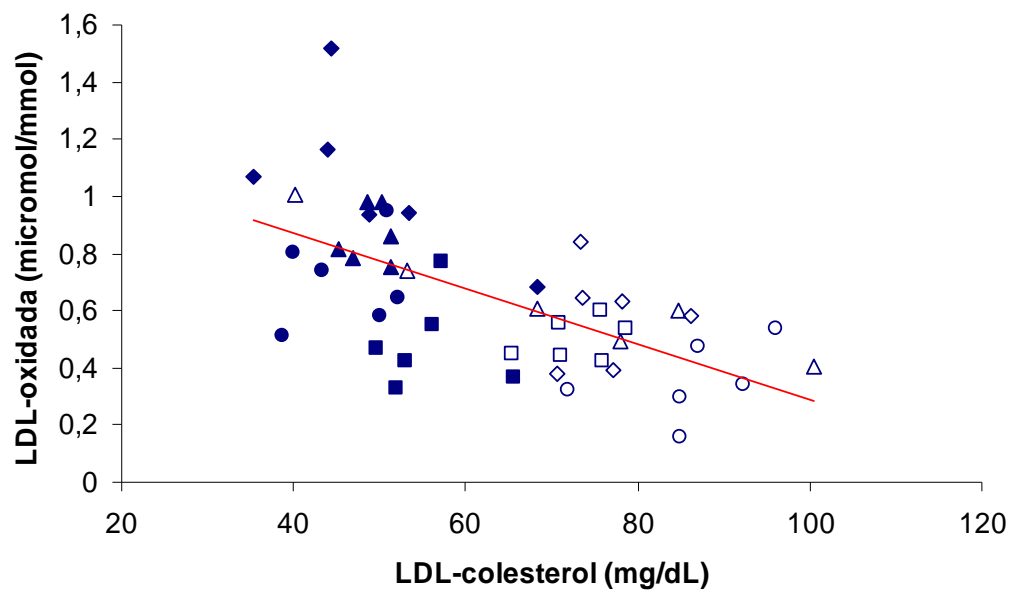
**Figura 2.** Relação linear entre a ingestão de lipídios (g/dia) e a glicemia (mg/dL) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r=0,2887$  e  $p<0,05$ .



**Figura 3.** Relação linear entre o índice de massa corporal ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) e a concentração sérica de LDL-colesterol ( $\text{mg}/\text{dL}$ ) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r=0,4420$  e  $p<0,01$ .



**Figura 4.** Relação linear entre o índice de massa corporal ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) e a relação HDL/LDL nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido cafêico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido cafêico (◇). Valores de  $r=0,2887$  e  $p<0,05$ .



**Figura 5.** Relação linear entre as concentrações séricas de lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) (mg/dL) e LDL-oxidada ( $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) nos animais alimentados com dieta padrão (■), que receberam azeite de oliva (●), oleuropeína (▲) e ácido caféico (◆) e animais alimentados com dieta hipercalórica (□), que receberam azeite de oliva (○), oleuropeína (△) e ácido caféico (◇). Valores de  $r=0,6266$  e  $p<0,01$ .

## DISCUSSÃO

O azeite de oliva é a principal fonte de gordura na alimentação da população mediterrânea. Evidências científicas indicam que a dieta do Mediterrâneo tem efeito protetor sobre processos associados com a lesão oxidativa, o que se atribui a seu alto conteúdo de compostos fenólicos com propriedades biológicas antioxidantes (Renaud et al., 1995; Trichopoulou et al., 1995), que podem prevenir, indiretamente a aterosclerose (Kaur & Kapoor, 2001). Entretanto, os efeitos do azeite de oliva, bem como de seus fenóis, oleuropeína e ácido caféico, sobre o perfil lipídico e estresse oxidativo em condições de dieta hipercalórica ainda não foram identificados.

A obesidade é o principal fator de risco para a doença cardiovascular (Defronso & Ferranini, 1993) e induz anormalidade na função arterial, decorrentes da dislipidemia e do acúmulo LDL-colesterol (LDL) no endotélio vascular (Naderali & Williams, 2004). Blundell & Mcdiarmid (1997) observaram que indivíduos alimentados com dieta rica em lipídios (45% das calorias) apresentaram aumento no IMC em relação ao grupo que ingeriu dieta de baixa concentração de lipídios (menos de 35% das calorias). No presente estudo foi observada correlação positiva entre a concentração de LDL-colesterol e o IMC (capítulo 1, Tabela 2) (Figura 3), bem como correlação negativa entre a relação HDL/LDL e o IMC (capítulo 1, Tabela 2) dos animais (Figura 4).

Hábitos alimentares inadequados, como a ingestão de grandes quantidades de colesterol, lipídios e sacarose são importantes fatores de

risco para o desenvolvimento de anormalidades no metabolismo do colesterol e das lipoproteínas, deste modo, os efeitos das dietas sobre determinações bioquímicas têm sido amplamente estudados (Costa et al., 2000).

Como esperado, a dieta rica em lipídios e colesterol elevou significativamente a colesterolemia e as concentrações de LDL e, diminuiu a concentração de HDL-colesterol (HDL). Dados concordantes foram observados por Abuja e Albertini (2001). Também foi observado aumento na relação colesterol/HDL e diminuição da relação HDL/LDL nos animais mantidos com dieta hipercalórica (Tabela 2). Um componente importante na homeostase do colesterol é seu transporte reverso dos tecidos periféricos para as HDLs e das HDLs para o fígado ou para os tecidos esteroidogênicos (Champe, 2006).

O aumento das concentrações plasmáticas de LDL e a redução de HDL são considerados fatores de risco independentes para o desenvolvimento da aterosclerose (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2003). Segundo Bisschop et al (2004), os lipídios da dieta podem afetar a absorção e a síntese hepática de colesterol, a síntese de ácidos biliares, bem como o número e a atividade de receptores da LDL.

Pode-se observar que nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva, houve também um aumento nas concentrações de colesterol total em relação ao grupo controle (HC). Sabe-se que o ácido oléico é o principal ácido graxo presente no azeite de oliva,



constituindo cerca de 55 a 85% do seu total (Ruiz-Gutiérrez et al., 1990). Estudo realizado por Faine et al (2006) demonstrou que o ácido graxo presente no azeite de oliva foi o responsável pela elevação nas concentrações de colesterol em animais. Além disso, uma das grandes diferenças entre o azeite de oliva e outros óleos comestíveis é a composição em hidrocarboneto (Lanzón et al., 1994). Dentre eles, o mais importante é o esqualeno (Ginda et al., 1993), um triterpeno poliinsaturado que aparece em alta concentração, constituindo cerca de 60-75% da fração insaponificável do azeite de oliva (Tiscornia et al., 1982), e é precursor da biossíntese de colesterol e hormônios esteróides (Perona et al., 2006).

Estudo realizado em coelhos, com três diferentes tipos de dietas (dieta A: controle; dieta B: dieta A + azeite de oliva; dieta C: dieta B + oleuropeína), mostrou que dieta B aumentou as concentrações de colesterol no soro dos animais e que dieta C normalizou as concentrações (Coni et al., 2000). Dados concordantes podem ser observados na Tabela 2. Na presença de dieta hipercalórica, houve elevação das concentrações de colesterol no soro dos animais.

Além da variação nos macronutrientes da dieta (Boghossian et al., 2000), elevando seu conteúdo calórico (Ebaid et al., 2006; Diniz et al., 2006), a maior disponibilidade de glicose no sangue, pode ter contribuído para a redução no consumo alimentar nos animais mantidos com dieta rica em lipídios e sacarose (capítulo 1). Tem sido demonstrado que a oxidação da glicose é um sinal metabólico que influencia a ingestão alimentar (Scharrer,

1999). Na Tabela 1, pode-se observar que após 17 dias de ingestão de dieta hipercalórica, animais dos grupos HC apresentaram hiperglicemia.

Foi observada hipertrigliceridemia aos 17 dias de tratamento nos animais do grupo HC comparado ao PC. Após 43 dias de tratamento tanto a glicemia como a trigliceridemia foram normalizadas nos animais mantidos com dieta hipercalórica (Tabelas 1 e 2).

É conhecido o fato que o excesso de carboidratos, particularmente de sacarose, ingerido através da dieta é precursor para a síntese de triacilglicerol no tecido hepático (Hallfrisch, 1990). Este é então liberado na corrente sanguínea através da lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), constituindo a via endógena do metabolismo de lipídios (Novelli, 2005).

O transporte de lipídios na circulação sanguínea está associado a três vias principais. A entrada exógena de lipídios, a síntese endógena de lipídios e o metabolismo dos remanescentes. A via exógena utiliza produtos da digestão e absorção de lipídios da dieta para produzir quilomícrons, enquanto a via endógena produz VLDL a partir de precursores endógenos. O metabolismo de remanescentes envolve o catabolismo de lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) e remanescentes de quilomícrons.

Ligada à membrana basal de células, particularmente dos tecidos adiposo e muscular (esquelético e cardíaco), encontra-se a lipase lipoprotéica (LPL, E.C.3.1.1.34.). A ativação da LPL inicia o processo de hidrólise de VLDL, permitindo a liberação de ácidos graxos a partir de triacilgliceróis para os

tecidos, produzindo IDL. Após transferência de grande parte de seu conteúdo de triacilgliceróis, as IDL originam as LDL. A via exógena corresponde ao transporte de lipídios disponíveis para absorção no trato intestinal, os quais derivam da dieta. Os quilomícrons atingem a circulação sistêmica onde passam por um processo de intensa catabolização pela LPL resultando em remanescentes de quilomícrons. Quando a dieta contém elevada concentração de triacilgliceróis, estes chegam ao fígado através dos remanescentes de quilomícrons. Do mesmo modo, o excesso de carboidratos da dieta pode ser convertido em triacilgliceról no fígado. O triacilgliceról hepático é exportado para a corrente sanguínea através de VLDL pela via endógena. Nas figuras 1 e 2, foram observadas, respectivamente, correlações positivas entre peso final (capítulo 1, Tabela 2) e glicemia e ingestão de lipídios (capítulo 1, Tabela 3) e glicemia, indicando que ingestão de dietas ricas em carboidratos, contribui para o aumento de peso e dislipidemia.

O efeito do azeite de oliva e seus fenóis foi claramente evidenciado através da análise da trigliceridemia ao final do experimento (Tabela 2), em que foi observada diminuição de sua concentração nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus compostos oleuropeína e ácido caféico. Kris-Etherton et al (1999) reportaram que a composição do ácido graxo do triacilgliceról, é determinante para a conversão de VLDL em outras lipoproteínas, além de atuar no metabolismo do triacilgliceról. Montalto e Bensadoun (1993) identificaram que o ácido oléico, ácido graxo monoinsaturado, não aumenta a secreção de LPL nas

células, sugerindo que a diminuição no triacilgliceról, observada no presente estudo (Tabela 2), pode refletir o aumento da remoção do triacilgliceról, o que pode ser devido a um efeito da quantidade de gorduras totais e um efeito específico do ácido graxo monoinsaturado.

Em estudos recentes, realizados com o polifenól de *Oolong tea*, foi observada a supressão da elevação dos níveis de triacilgliceról no plasma depois da administração de azeite de oliva, quando em presença de dieta rica em gorduras. Segundo estes autores o polifenól inibiu a absorção de gordura dietética no intestino através da inibição da atividade da lipase pancreática (Toyoda-Ono et al., 2007), o que poderia ter ocorrido nos animais que receberam azeite de oliva e seus compostos fenólicos (Tabela 2). Também tem sido reportado que dieta acrescida de azeite de oliva pode abaixar os níveis de triacilgliceról no plasma (Perona et al., 2006).

Frayn e Kingman (1995), estudando dietas com 20% da energia proveniente da sacarose, demonstram que a sacarose da dieta pode ou não elevar a concentração de triacilgliceról no plasma. A manutenção na trigliceridemia pode estar associada à combinação de sacarose e ácidos graxos insaturados, importantes componentes da dieta hipercalórica. Inúmeros estudos têm demonstrado o papel de ácidos graxos insaturados na redução da trigliceridemia (Diniz et al., 2005). Estes fatos podem ser suportados pela elevação no triacilgliceról nos animais do grupo PAO comparado ao PC, aos 43 dias. Desde que nos animais mantidos com dieta padrão não houve acréscimo de ácidos graxos insaturados, a elevação no

triacilgliceról pode ser atribuída ao ácido oléico (ácido graxo monoinsaturado) encontrado em grande concentração no azeite de oliva, que é substrato para síntese de triacilgliceról. Estudo realizado por Ruiz-Gutierrez (1999) observou aumento de triacilgliceról em animais que receberam azeite de oliva quando comparado a animais controle. É conhecido o fato de que durante alimentação rica em gorduras, a composição do ácido graxo do triacilgliceról no tecido adiposo é o reflexo da dieta (Lin & Connor, 1990). Benkhalti e colaboradores (2002) observaram níveis elevados de triacilgliceról em animais que receberam azeite de oliva, comparada ao grupo controle. Essa elevação pode ser devido a um efeito estimulatório do ácido graxo monoinsaturado sobre a síntese de VLDL ou uma ação inibitória do ácido graxo sobre o catabolismo da VLDL (Jeffery et al., 1996). Este fato não foi observado nos animais que receberam os polifenóis oleuropeína e ácido caféico, indicando efeito protetor desses compostos fenólicos sobre a trigliceridemia (Tabela 2). Faine e colaboradores (2006) observaram tendência na elevação da trigliceridemia, após 30 dias de tratamento, em animais que receberam azeite de oliva. Este fato está de acordo com o observado na Tabela 2, indicando que houve uma resposta adaptativa dos animais mantidos com dieta hipercalórica, impedindo o impacto de seus componentes sobre a trigliceridemia.

Al-Azzawie e Alhamdani (2006), estudando os efeitos da suplementação de oleuropeína na redução do estresse oxidativo e hiperglicemia em coelhos diabéticos, observaram uma diminuição na

concentração de glicose sanguínea quando comparado aos animais diabéticos, em dezesseis semanas de experimento. No presente estudo não foi encontrada redução na glicemia em animais mantidos com dieta hipercalórica, e suplementados com oleuropeína, comparado ao grupo PO. Esta observação pode ser atribuída à utilização de ratos não diabéticos, desde que a ação da oleuropeína pode ser associada a dois mecanismos como, potenciação da liberação de insulina induzida pela glicose e, aumento periférico da captação de glicose (González et al., 1992), fato não observado no presente estudo.

A oxidação de partículas de LDL leva a formação de lesões ateroscleróticas e com risco aumentado para doenças cardiovasculares, através de um complexo evento de cascatas bioquímicas que ocorrem dentro da parede da artéria. Muitos fatores dietéticos têm impacto nos níveis de oxidação da LDL, como alimentos ricos em gorduras, dietas hipercalóricas, nutrientes específicos como vitaminas, ácidos graxos monoinsaturados e compostos fenólicos. Estes nutrientes estão naturalmente presentes em altas concentrações em frutas/vegetais, óleos vegetais, vinho, peixe, chás; componentes estes definidos como parte das dietas do Mediterrâneo, leste da Ásia e dieta vegetariana balanceada (Galassetti & Pontello, 2006).

LDL são partículas heterogêneas derivadas de VLDL. O metabolismo de remanescentes converte remanescentes de quilomícrons e VLDL muito ricas em triacilgliceróis, em tipos especiais de LDL, partículas discóides, pequenas e compactas, que transportam colesterol e triacilgliceróis. Estas partículas

apresentam interação anormal com HDL e contribuem consideravelmente para a redução do colesterol-HDL, bem como da relação HDL/LDL observada na Tabela 2 nos animais pertencentes ao grupo H. A concentração de VLDL também influencia o tamanho e a densidade da LDL e o conteúdo de triacilgliceról da LDL pode ser elevado devido a trocas da VLDL para LDL circulantes. LDL ricas em triacilgliceróis têm menor tamanho e são mais susceptíveis à oxidação, iniciando mais facilmente a aterosclerose (Brizzi et al., 2003). Também pode ser observado que em dieta padrão, azeite de oliva elevou a relação HDL/LDL (Tabela 2) conferindo efeito protetor do azeite, indicando maior proteção da LDL à oxidação (Raveh et al., 2001).

Deste modo, altas concentrações de triacilgliceról e colesterol da dieta contribuem para a formação de partículas de LDL, ricas em colesterol. Nos animais mantidos com dieta hipercalórica e que receberam oleuropeína e ácido caféico, não foram observadas alterações nas concentrações de colesterol total, indicando possível efeito protetor desses polifenóis na colesterolemia. Fato curioso foi observado na interação dieta hipercalórica e ácido caféico, em que não se observou alteração na concentração de colesterol entre os grupos PAC e HAC, mesmo na presença de dieta contendo colesterol, evidenciando o efeito benéfico do ácido caféico. Alguns estudos em humanos e animais evidenciaram que suplementação de  $\beta$ -sitosterol, presente no azeite de oliva, pode causar diminuição na concentração de colesterol sérico (Jones et al., 1997; Vastone et al., 2001). Um dos principais mecanismos pelo qual este efeito pode ser explicado é através da inibição da

absorção do colesterol (Quilez et al., 2003). Além disso, em estudo realizado por Ho & Pal (2005), foi demonstrado que este mecanismo também envolve a diminuição das concentrações de lipoproteínas contendo ApoB do fígado e intestino. Na tabela 3, pode-se observar a diminuição das concentrações de ApoB no grupo HAC comparado ao PAC.

Alguns estudos têm mostrado que inibidores da oxidação lipídica, como a vitamina E e C, carotenóides e flavonóides, reduzem a oxidação da LDL e diminuem seu catabolismo por meio de macrófagos (Jialal et al., 1992; Abbey et al., 1993). A dieta pode, portanto, influenciar o processo oxidativo no organismo através da regulação do estoque de pró-oxidantes exógenos e antioxidantes, ou modulando a síntese de antioxidantes endógenos (Coni et al., 2000).

A oxidação da LDL não depende somente da concentração de LDL, mas também da relação LDL/TG (Brizzi et al., 2003). LDL contendo elevadas concentrações de triacilgliceróis carregam mais hidroperóxido que LDL com baixo conteúdo de triacilgliceról; deste modo, a diminuição na concentração de triacilgliceról significa redução no potencial de oxidação da LDL (Novelli, 2005). Animais tratados com dieta hipercalórica e que receberam azeite de oliva e seus fenóis apresentaram diminuição nas concentrações de triacilgliceról quando comparado aos seus controles em dieta padrão, fato este que pode significar uma redução no potencial de oxidação da LDL (Brizzi et al., 2003). Pode-se observar também aumento na relação LDL/TG



nestes animais (Tabela 2), indicando possível diminuição nas concentrações de TG.

A oxidação de partículas de LDL leva a formação de lesões ateroscleróticas e risco aumentado de doenças cardiovasculares através de um complexo evento de cascatas bioquímicas que ocorrem dentro da parede da artéria. Dislipidemia e estresse oxidativo constituem evidências da maior pré-disposição à formação de LDL-oxidada e ao aparecimento de aterosclerose. Porém, LDL-oxidada não representa o único componente do estresse oxidativo de importância na aterosclerose.

Em dieta hipercalórica, houve aumento das concentrações de LDL no soro dos animais. Desde que há altas concentrações de LDL, os polifenóis ligam-se às partículas de LDL e diminuem sua oxidação (Visioli & Gali, 2002; Marrugat et al., 2004). Fato este observado através da diminuição da LDL-oxidada nos animais mantidos com dieta hipercalórica. Nota-se que houve correlação negativa entre as concentrações de LDL-oxidada e LDL-colesterol (Figura 6), indicando que quanto maior o tamanho da partícula de LDL-colesterol e menor sua concentração de triacilgliceról, menor sua oxidação. Em dieta padrão, não houve variação na concentração de LDL. Neste caso sugere-se que houve ligação dos polifenóis presentes no azeite à outras proteínas no sangue, não havendo, portanto, diminuição das concentrações de LDL-oxidada em dieta padrão. Estudos *in vitro* demonstraram que a pré-incubação da fração pura da LDL com 10 $\mu$ mol de azeite de oliva preveniu sua oxidação (Visioli et al., 1995; Caruso et al., 1999). Porém, segundo

Vissers (2004), no plasma, os fenóis do azeite de oliva reagem avidamente com muitas proteínas e, portanto, podem se ligar a outras proteínas como a albumina, ao passo que, nas frações puras de LDL, estes fenóis podem somente se ligar às partículas de LDL. Deste modo, seriam necessárias altas concentrações de fenóis presentes no azeite de oliva para proteger a LDL da oxidação no plasma ao invés da fração pura de LDL.

As membranas das células e organelas contêm grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados. A fluidez das membranas relaciona-se à presença de cadeias insaturadas dos fosfolípidios e do colesterol e danos desta camada lipídica tendem a diminuir a fluidez da membrana e podem levar ao rompimento (Halliwell, 2000).

A lipoperoxidação é um processo em cascata desencadeado pelo ataque de radicais livres aos ácidos graxos das membranas biológicas. Esse processo envolve a retirada de um átomo de hidrogênio de um ácido graxo adjacente, formando dienos conjugados, que se oxidam em hidroperóxidos de lipídio (Parfitt et al., 1994). Os hidroperóxidos de lipídios (HP) são produtos estáveis formados durante a peroxidação de lipídios insaturados, como os ácidos graxos e colesterol (Andrade Jr et al., 2005). Os aldeídos produzidos pela peroxidação lipídica são marcadores da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados. Esses produtos podem ligar-se a apolipoproteína B-100 na superfície da LDL-colesterol, especificamente aos grupos amino, alterando a carga eletroforética e, assim, a modificação oxidativa da LDL (Cotelle, 2001).

Azeite de oliva e seus polifenóis diminuíram as concentrações de HP, considerado um marcador do estresse oxidativo (Zwart et al., 1999), quando em dieta padrão, bem como aumentaram a porcentagem de substâncias antioxidantes totais (SAT) no soro. Desde que estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio na relação entre os sistemas oxidantes e antioxidantes celulares (Abuja e Albertini, 2001; Droge, 2002), azeite de oliva e seus polifenóis induziram aumento na relação SAT/HP e, portanto, na defesa antioxidante. Scaccini et al (1992) observou diminuição nas concentrações de TBA-RS (substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico) em animais tratados com azeite de oliva quando comparados aos que receberam óleo de soja e trioléina. Azeite de oliva contém substâncias naturais, os polifenóis (Wiseman et al., 1996) e vitaminas C e E (Coni et al., 2000). Sendo assim, o aumento na porcentagem de SAT em animais do grupo controle e tratados com azeite, justifica a ação antioxidante.

Raveh et al. (2001) observaram a interrelação entre a oxidação da HDL e LDL-colesterol sobre o estresse oxidativo. A LDL-colesterol é a principal carregadora de hidroperóxidos de lipídio no plasma (Zadeh et al., 1996) e HDL-colesterol inibe a oxidação da LDL (Raveh et al., 2001). Desse modo, o aumento da relação HDL/LDL, a diminuição na concentração de HP, o aumento na porcentagem de SAT e na relação SAT/HP nos animais do grupo AO em dieta padrão, demonstraram claramente que o azeite de oliva extra-virgem induziu efeitos benéficos não somente no perfil lipídico, mas

também, indiretamente, no estado oxidante/antioxidante sérico. Os lipídios séricos devem ser analisados não só por seus valores absolutos, mas também por suas relações como expressão da homeostase lipídica (Brizzi et al., 2003). A relação entre LDL/TG (Tabela 2), que esteve diminuída pode ser o melhor parâmetro para definir a densidade e oxidação da LDL, a qual depende também da relação entre HDL/LDL (Tabela 2) que esteve aumentada nos animais que receberam azeite de oliva em dieta padrão.

Embora tenha sido observada diminuição nas concentrações de HP em animais mantidos com dieta padrão e que receberam oleuropeína, nota-se que não houve um aumento da porcentagem de SAT, e sim uma elevação na concentração de LDL-oxidada, indicando, portanto, que o composto fenólico não protegeu a LDL de sua oxidação, sendo utilizado para redução das concentrações de HP, desde que houve aumento na relação SAT/HP. Por outro lado, o composto fenólico ácido caféico, além de diminuir as concentrações de HP, elevou a porcentagem de SAT, indicando que uma pequena parte do ácido caféico presente foi utilizada na proteção contra o dano e assim mantendo elevada a defesa antioxidante, através da relação SAT/HP.

Em dieta hipercalórica e na presença de ácido caféico e oleuropeína, nota-se que houve uma diminuição nas concentrações de LDL-oxidada, indicando atuação dos polifenóis neste tipo de dieta.

Dieta rica em lipídios e colesterol (HC) não induziu aumento nas concentrações de HP, na apoB e na LDL-oxidada, comparada à dieta padrão

(PC). Porém, na interação dieta hipercalórica e azeite de oliva e seus polifenóis, foi observada diminuição da LDL-oxidada e na apoB. Lemieux et al, (2000) demonstraram que hiperinsulinemia, hiperapolipoproteína B e LDL-oxidada são os principais fatores de risco para doenças cardiovasculares.

Os resultados obtidos permitiram concluir que a dieta hipercalórica induziu dislipidemia. Azeite de oliva e seus fenóis em dieta padrão mostraram-se efetivos na defesa antioxidante através da elevação na porcentagem de SAT e na diminuição de HP. Os efeitos benéficos do azeite de oliva em dieta padrão foram demonstrados através do aumento na relação HDL/LDL, embora tenha induzido elevação na trigliceridemia. Azeite de oliva em dieta hipercalórica diminuiu as concentrações de LDL-oxidada e Apo B. A interação dieta hipercalórica e azeite de oliva e seus fenóis foi benéfica através da diminuição das concentrações de LDL-oxidada e da Apo B. Azeite de oliva e seus fenóis reduziram a trigliceridemia em animais que receberam dieta hipercalórica. O ácido caféico mostrou-se mais efetivo na redução do estresse oxidativo em dieta controle; embora na lipídemia os compostos fenólicos estudados não tenham apresentado efeitos quando analisados isoladamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

\*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted journal. *N Engl J Med.* 1997;336:309-315.

M Abbey, PJ Nestel and PA Baghurst. Antioxidant vitamins and low-density-lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr.* 1993;58:525-532.

Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta.* 2001; 306:1-17.

Al-Azzawie HF, Alhamdani MSS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *L Scienc.* 2006;78:1371-77.

Andrade-Junior DR, Souza RB, Santos AS, Andrade DR. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. *J Bras Pneumol.* 2005;31(1):60-68.

Barja de Quiroga G. Brown fat thermogenesis and exercise: two examples of physiological oxidative stress? *Free Radic Biol Med.* 1992;13:325-40.

Benkhalti F, Prost J, Paz E, Perez-Jimenez F, El Modafar C, Boustani E. Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. *Nutr Res.* 2002;22:1067-1075.

Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr.* 1999;12(2):123-130.

Bisschop PH, Badsma RHJ, Stellard F, Harmesel A, Meijer AJ, Sawerwein HP, Kuipers F, Romijn JA. Low-fat, high-carbohydrate and high-fat, low-carbohydrate diets decrease primary bile acid synthesis in humans. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:570-576.

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention. *JAMA.* 2007;297:842-857.

Blundell JE, Mcdiarmid JI. Passive overconsumption. Fat intake and short-term energy balance. *Ann NY Acad Sci* 1997; 827:392-407.

- Boghossian S, Veyrat-Durebex C, Alliot J. Age-related in adaptive macronutrient intake in swimming male and female Lou rats. *Physiol Behav.* 2000;69:231-8.
- Brizzi P, Tonolo G, Carusillo F, Malaguarnera M, Maioli M, Musumeci S. Plasma lipid composition and LDL oxidation. *Clin Chem Lab Med.* 2003;41:56-60.
- Caruso D, Berra B, Giavarini F, Cortesi N, Fedeli E, Galli G. Effect of virgin olive oil phenolic compounds on in vitro oxidation of human low density lipoproteins. *Nutr Metab Cardiovas Dis.* 1999 Jun;9(3):102-7.
- Caturla N, Pérez-Fons L, Estepa A, Micol V. Differential effects of oleuropein, a biophenol from *Olea europaea*, on anionic and zwitterionic phospholipid model membranes. *Chem Phys Lipid.* 2005;137:2-17.
- Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. *Bioquímica Ilustrada.* 3.ed. São Paulo: Artmed; 2006.
- Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: a overview. *Free Radical Biol Med.* 2000;28(12):1815-26.
- Coni E, Di Benedetto R, Di Pasquale M, Masella R, Modesti D, Mattei R, et al. Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids.* 2000;35:45-54.
- Costa NMB, Walker AF, Low AG. The effect of graded inclusion of baked beans (*Phaseolus vulgaris*) on plasma and liver lipids in hypercholesterolaemic pigs given a Western - type diet. *Br J Nutr.* 1993;70:515-24.
- Costa RP, Menendez G, Bricarello LP, Elias MC, Ito M. Óleo de peixe, fitosteróis, soja e antioxidantes: impacto nos lipídies e na aterosclerose. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 2000;10:819-27.
- Cotelle N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Topics Med Chem.* 2001;1:569-590.
- Covas MI, Torre K, Farré-Albaladejo M, Kaikkonem J, Fitó M, López-Sabater C, et al. Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are

- modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *F Radic Biol Med.* 2006;40:608-16.
- Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GMX, Burneiko RC, et al. Monosodium glutamate in standard and high-fiberdiets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition.* 2005; 21:749-755.
- Diniz YS, Rocha KKHR, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, et al. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006;543:151-157.
- Diniz YS, Burneiko RM, Seiva FRF, Almeida FQA, Galhardi CM, Novelli Filho JLVB, et al. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. *Int J Cardiol.* 2007;14 (1). In press.
- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Review.* 2002;82:47-95.
- Ebaid GMX, Faine LA, Diniz YS, Rodrigues HG, Galhardi CM Ribas BO, Fernandes AAH, Novelli ELB. Effectsof digitonin on hyperglycaemia and dyslipidemia induced by high-sucrose intake. *Food Chem Toxicol.* 2006;44:293-299.
- Erçok F, Keskin N, Erçok S. Theoretical investigation of hydroxytyrosol and its radicals. *J Mol Structure* 2003;625:87-94.
- Faine LA, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Burneiko RC, Santana LS, Cicogna AC, Novelli ELB. Synergistic action of olive oil supplementation and dietary restriction on serum lipids and cardiac antioxidant defences. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2004;82(11):969-975.
- Faine LA, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ebaid GMX, Diniz YS, Padovani CR, et al. Effects of olive oil and its minor constituents on serum lipids, oxidative stress, and energy metabolism in cardiac muscle. *Can J Physiol Pharmacol.* 2006;84:1-1.



- Fitó M, Gimeno E, Covas M-I, Miro E, López-Sabater MC, Farré M, Torre R, et al. Postprandial and short-term effects of dietary Virgin olive oil on oxidant/antioxidant status. *Lipids*. 2002;37:245-251.
- Frayn KN, Kingman SM. Dietary sugars and lipid metabolism in humans. *Am J Clin Nutr*. 1995;62:250S-63S.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.
- Fuhrman B, Aviram M. Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:41-48.
- Galassetti P, Pontello A. Dietary effects on oxidation of low-density lipoprotein and atherogenesis. *Curr Atheroscler Rep*. 2006;8(6):523-9.
- Ginda A, Lanzón A, Albi T. Differences in hydrocarbons of virgin olive oils obtained from several olive varieties. *J Agric Food Chem*. 1993;44(7):1723-6.
- Goldfarb AH. Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*. 1993;25:232-6.
- Gómez-Alonso S, Salvador MD, Fregapane G. Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem*. 2002;50:6812-6817.
- González M, Zarzuelo A, Gamez MJ, Urtilla MP, Jimenez J, Osuna I. Hypoglycaemic activity of olive leaf. *Planta Medica*. 1992;58:513-15.
- Gutiérrez-Rosales F, Ríos JJ, Gómez-Rey ML. Main polyphenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2003;21:6021-25.
- Hallfrisch J. Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB J*. 1990;4:2652-60.
- Halliwell B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovascular Research*. 2000;47:410-8.

- Ho SS, Pal S. Margarine phytosterols decrease the secretion of atherogenic lipoproteins from HepG2 liver and Caco2 intestinal cells. *Atherosclerosis*. 2005;182(1):29-36.
- Jeffery N, Yaqoob P, Newsholme E, Calder P. The effects of olive oil upon rat serum lipid levels and lymphocyte functions appear to be due to oleic acid. *Ann Nutr Metab*. 1996;40:71-80.
- Jialal I, Grundy SD. Influence of antioxidants vitamins on LDL oxidation. *Annals of the New York Academy of Science*. New York. 1992;669(30):239-248.
- Jiang ZY, Woollard ACS, Wolf S. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and on iodometric method. *Lipids*. 1991;26:853-856.
- Jones PJ, MacDougall DE, Ntanios F, Vastone CA. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can J Physiol Pharmacol*. 1997;75(3):217-27.
- Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int J Food Sci Tech*. 2001;36:703-25.
- Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, et al. High-Monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:1009-15.
- Lanzón A, Albi T, Cert A, Gracián J. The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *J Am Oil Chem Soc*. 1997;71(3):285-91.
- Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Alméras N, Bergeron J, Gaudet D, Tremblay G, Prud'homme D, Nadeau A, Després JP. Hypertriglyceridemia waist: a marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation*. 2000;102:179-184.

- Lin DS, Connor WE. Are the n-3 fatty acids from dietary fish oil deposited in the triglyceride stores of adipose tissue? *Am J Clin Nutr.* 1990;51:535-39.
- Marrugat J, Covas MI, Fitó M, Schröder H, Miro-Casas E, Gimeno E, et al. Effects of differing phenolic contents in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation. *Eur J Nutr.* 2004;43:140-7.
- Mehmetcik G, Toker G, Uysal M. Endogenous and copper-induced lipid hyperperoxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. *Horm Metab Res.* 1997;29:63-65.
- Montalto MB, Bensadoun A. Lipoprotein lipase synthesis and secretion: effects of concentration and type of fatty acids in adipocyte cell culture. *J Lipid Res.* 1993;34:397-407.
- Montedoro GF, Servili M, Baldioli M, Miniati E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil: 1 . Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J Agric Food Chem.* 1992;40:1571-8.
- Moriel P, Okawabata FS, Abdalla DSP. Oxidized lipoproteins in blood plasma: possible marker of atherosclerosis progression. *Life.* 1999;48:413-17.
- Morton LW, Caccetta RA, Puddey IB, Croft KD. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clin Experim Pharmacol Physiol.* 2000;27:152-159.
- Moura RA, Wada CS, Purchio A, Almeida TV. *Técnicas de Laboratório.* 3<sup>rd</sup>ed. São Paulo: Atheneu; 2002.
- Naderali EK, Williams G. Effects of short-term feeding of a highly-palatable diet on vascular reactivity in rats. *Eur J Clin Invest.* 2001; 31:1024-1028.
- Naderali EK, Fatini S, Williams G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. *Atherosclerosis.* 2004;172:63-9.

- Nardini M, Natella F, Scaccini C, Ghiselli A. Phenolic acids from beer are absorbed and extensively metabolized in humans. *J Nutr Biochem.* 2006;17:14-22.
- Ng TB, Liu F, Wang ZT. Antioxidative activity of natural products of plants. *Life Sci.* 1999;66:709-723.
- Niess AM, Dickhuth HH, Northoff H, Fehrenbach E. Free radicals and oxidative stress in exercise - immunological aspects. *Exerc Immunol Rev.* 1999;5:22-56.
- Norman GR, Streiner DL. *Biostatistic - the base essentials.* St. Louis: Mosby Book; 1994.
- Novelli ELB. *Nutrição e Vida Saudável - estresse oxidativo e metabolismo energético.* Ribeirão Preto: Tecmed; 2005.
- Novelli ELB. *Nutrição e Vida Saudável - estresse oxidativo e metabolismo energético.* Ribeirão Preto: Tecmed; 2005.
- Parffit VJ, Rubba P, Bolton C, Marotta G, Hartog M, Mancini M. A comparison of antioxidant status and free radical peroxidation of plasma lipoproteins in healthy young persons from Naples and Bristol. *Eur Heart J.* 1994;15:871-876.
- Perona JS, Cabello-Moruno R, Ruiz-Gutierrez V. The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *J Nutr Biochem.* 2006;17:429-45.
- Pompella A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *Intern J Vitam Nutr Research.* 1997;67(5):289-297.
- Quilez J, García-Lorda P, Salas-Salvado J. Potencial uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clin Nutr.* 2003;22(4):343-51.
- Raveh O, Pinchuk I, Fainaru M. And Lichtenberg, D. Kinetics of lipid peroxidation in mixtures of HDL and LDL, mutual effects. *Free Rad Biol Res.* 2001;31:1486-1497.

- Renaud S, de Lorgeril M, Delaye J, Guidollet J, Jacquard F, Mamelle F, et al. Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:1360S-7S.
- Romero FJ, Bosch-Morell F, Romero MJ, Romero B, Marin N, Roma J. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environ Health Perspect.* 1998;106:1229-34.
- Ruiz-Gutiérrez V, Molina MT, Vázquez CM. Comparative effects of feeding different fats on fatty acid composition of major individual phospholipids of rat hearts. *Ann Nutr Metab.* 1990;34:350-358.
- Ruiz-Gutiérrez V, Pérez-Espinosa A, Vázquez CA, Santa-María C. Effects of dietary fats (fish, olive and high-oleic-acid sunflower oils) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver. *Brit J Nutr.* 1999;82:233-41.
- Scaccini C, Nardini M, D'Aquino M, Gentili V, Di Felice M, Tomassit G. Effect of dietary oils on lipid peroxidation and on antioxidant parameters of rat plasma and lipoprotein fractions. *J Lipid Res.* 1992;33:627-633.
- Scalbert A, Williamson G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *J Nutr.* 2000;130:2073S-2085S.
- Scharrer E. Control of food intake by fatty acid oxidation and ketogenesis. *Nutrition.* 1999;15:704-14.
- Scoccia AE, Molinuevo MS, McCarthy AD, Cortizo AM. A simple method to assess the oxidative susceptibility of low density lipoproteins. *BMC Clin Path.* 2001;1:1.
- Soares SE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev Nutr.* 2002;15(1):71-81.
- Sociedade Brasileira de Diabetes. Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito do tipo 2.:consenso brasileiro sobre diabetes 2002. Rio de Janeiro: Diagraphic; 2003.
- Tiscornia EFM, Evangelisti F. Chemical composition of olive oil and its variations induced by refining. *Riv Ital Sostanze Grasse.* 1982;59:519-56.

- Toyoda-Ono Y, Yoshimura M, Nakai M, Fukui Y, Asami S, Shibata H, et al. Suppression of postprandial hypertriglyceridemia in rats and mice by Oolong Tea polymerized polyphenols. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007;71(4):971-76.
- Trichopoulou A, Katsouyanni K, Stuver S, Tzala L, Gnardellis C, Rimm E, et al. Consumption of olive oil and specific food groups in relation to breast cancer risk in Greece. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:110-16.
- Tripoli E, Giammanco M, Tabacchi G, Majo D, Giammanco S, La Guardia M. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutr Resear Rev.* 2005;18:98-112.
- Tuck KL, Hayball PJ. Major phenolic compounds in olive oils: metabolism and health effects. *J Nutr Biochem.* 2002;13:636-44.
- Vastone CA, Raeini-Sarjaz M, Jones PJ. Injected phytosterols/stanols suppress plasma cholesterol levels in hamsters. *J Nutr Biochem.* 2001;12(10):565-74.
- Visioli F, Bellomo G, Montedoro G, Galli C. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis.* 1995; 117:25-32.
- Visioli F, Galli C. Biological properties of olive oil phytochemicals. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2002;42:2009-221.
- Vissers MN, Zock PL, Roodenburg AJ, Leenen R, Katan MB. Apparent absorption of olive oil phenols in humans. *J Nutr.* 2002;132,409-417.
- Vissers MN, Zock PI, Katan MB Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans. *Clin Nutr.* 2004;58:955-65.
- Volp ACP, Alfenas RCG. Índice glicêmico, carga glicêmica e doenças cardiovasculares. *Rev Bras Nutr Clin.* 2006;21(4):302-8.
- Wiseman SA, Mathot JNNJ, Fouw NJ, Tijburg LBM. Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low-density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atherosc* 1996; 120:15-23.

- Zadeh JN, Sarmadi JT, Ling E, Wolf SP. Low-density lipoprotein is the major carries of lipid hydroperoxides in plasma. *Biochem J.* 1996; 313:781-786.
- Zar JH. *Biostatistical analysis.* 4<sup>th</sup>ed. New Jersey: Practice-Hall; 1994.
- Zhou YC, Zheng RL. Phenolic compounds and an analog as superoxide anion scavengers and antioxidants. *Biochem Pharmacol.* 1991;42(6):1177-9.
- Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology Medicine.* 1999; 26:202-26.

## *CONSIDERAÇÕES FINAIS*

---



Hábitos alimentares inadequados, como ingestão de dietas hipercalóricas, constituem importantes fatores de risco para o surgimento de obesidade, dislipidemia, doenças cardiovasculares e inúmeras alterações patológicas resultando no estresse oxidativo. A importância da procura de agentes antioxidantes está relacionada ao grande número de patologias induzidas pela liberação de radicais livres.

A associação entre ingestão de azeite de oliva e a baixa incidência de doenças cardiovasculares tem estimulado o consumo de azeite de oliva em todo o mundo.

Os resultados deste estudo permitiram concluir que dieta hipercalórica induziu obesidade nos animais, evidenciada pelo aumento no IMC e QR, e diminuição na TMB e oxidação de lipídios, bem como dislipidemia, confirmando seus efeitos deletérios no organismo.

A análise calorimétrica demonstrou que suplementação nutricional com azeite de oliva induziu modificação no substrato usado para obtenção de energia. O efeito benéfico do azeite foi associado a seu composto fenólico ácido caféico.

Em condições de dieta padrão, azeite de oliva e seus fenóis foram eficazes na defesa antioxidante. Azeite de oliva em dieta padrão mostrou-se benéfico na lipidemia, através do aumento na relação HDL/LDL. Azeite de oliva e seus fenóis foram benéficos na diminuição dos fatores de risco para doenças cardiovasculares. O ácido caféico mostrou-se mais efetivo na redução do estresse oxidativo em dieta padrão; embora na lipidemia os

compostos fenólicos estudados não tenham apresentado efeitos quando analisados isoladamente.

# 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](#)