

VIVIANE BOZOLAN PORTO

**Efeitos da suplementação de chá mate solúvel (*Ilex paraguariensis*)
nos biomarcadores de oxidação lipídica, na defesa antioxidante e nos
parâmetros bioquímicos de voluntários normo e hiperlipidêmicos**

Bragança Paulista

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

VIVIANE BOZOLAN PORTO

**Efeitos da suplementação de chá mate solúvel (*Ilex paraguariensis*)
nos biomarcadores de oxidação lipídica, na defesa antioxidante e nos
parâmetros bioquímicos de voluntários normo e hiperlipidêmicos**

Orientadora: Patrícia de Oliveira Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em
Ciências da Saúde da Universidade
São Francisco (USF) para obtenção do
título de Mestre em Ciências da Saúde.

Bragança Paulista

2009

QV 325
P883e

Porto, Viviane Bozolan.

Efeitos da suplementação de chá mate solúvel (*Ilex paraguariensis*) nos biomarcadores de oxidação lipídica, na defesa antioxidante e nos parâmetros bioquímicos de voluntários normo e hiperlidêmicos / Viviane Bozolan
Porto. -- Bragança Paulista, 2009.

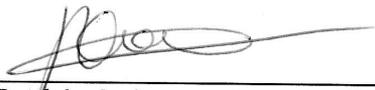
72 p.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós- Graduação
Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco.

Orientação de: Patrícia de Oliveira Carvalho.

1. *Ilex paraguariensis*). 2. Peroxidação lipídica.
3. Enzimas antioxidantes. I. Carvalho, Patrícia de Oliveira.
II. Título.

PORTO, Viviane Bozolan. “Efeitos da Suplementação de Chá Mate Solúvel (*Ilex paraguariensis*) nos Biomarcadores de Oxidação Lipídica, na Defesa Antioxidante e nos Parâmetros Bioquímicos de Voluntários Normo e Hiperlipidêmicos”. Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em dezoito de Dezembro de 2009 pela Banca examinadora constituída pelos professores:



**Prof. Dr. Patrícia de Oliveira Carvalho- Orientadora e Presidente
Universidade São Francisco**



**Prof.ª Dr.ª Patrícia Moriel
Universidade Estadual de Campinas**



**Prof.ª Dr.ª Sônia Valéria Pinheiro Malheiros Marques Fernandes
Universidade São Francisco**

DEDICATÓRIA

Ao meu melhor amigo...

Aquele que tudo fez, tudo criou, tudo formou.

*Aquele que manda o sol para iluminar meus dias,
e a noite para que eu possa repousar.*

*Aquele que sonda e conhece o meu coração,
e já me conhecia antes mesmo de
me formar dentro do ventre de minha mãe.*

*Aquele que me sustenta com braço forte,
me guarda e me livra de todo mal.*

*Aquele que me conduz pelo caminho da justiça,
e com amor me corrige dos erros.*

Aquele que renova minhas forças a cada amanhecer.

Aquele que possui toda sabedoria e conhecimento.

*Ao único DEUS, Senhor da minha Salvação,
que eu amo, e em quem espero todos os dias.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço aqueles que com amor me conceberam, me ensinaram a viver com dignidade, muitas vezes renunciaram aos seus sonhos, para que, eu pudesse realizar os meus, sempre me compreendendo, aconselhando, me mantendo firme, forte e determinada diante das dificuldades e limitações. Papai e Mamãe vocês sempre fizeram o melhor por mim e me deram algo que eu terei para sempre, mesmo que um dia venha a perder tudo: O infinito amor de DEUS! Amo vocês!

Aos dois grandes homens que Deus colocou em minha vida: meu marido Sandro e meu filho Gustavo, que sempre estiveram ao meu lado. Suportaram minha ausência e agüentaram meu estresse com paciência. Vocês que são meu porto seguro, pois nos momentos mais difíceis, eu sempre encontrava palavras de carinho, amor e “aquele” sorriso que recompensava todas as dificuldades. Amo vocês! Meu muito obrigada, a minha bizinha que com 84 anos sempre foi para mim um exemplo de fé e perseverança, e mesmo com todas suas limitações ajudou minha mãe a cuidar do Gustavo para que eu pudesse me dedicar a essa pesquisa.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora que de maneira muito especial me aceitou como aluna, estando sempre disposta a transmitir seus conhecimentos com muita paciência, sendo sempre um exemplo de pesquisadora. A você professora Patrícia todo meu carinho, admiração e respeito pela confiança depositada, muito obrigada, pois você é acima de tudo uma grande Educadora!

A querida amiga Fernanda Martins..... uma amizade presenteada por DEUS, que desde o primeiro momento me segurou pelas mãos e me ajudou a dar os primeiros passos em um universo até então desconhecido, Muito obrigada Fefe!

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa da Universidade São Francisco Rosemary Joana, Marcela Santana, Tatiana Noso, Rafael, Vania Castrini, Fabiano Sallowicz, Isabel Cristina, Fernanda Fernandes, Aline Curriel e Jim Battagin pelos quais tenho enorme admiração, pois sempre que precisei estavam disposto e presentes me auxiliando na realização das análises.

Aos queridos Adailson (Dada), Neuzinha e Amandinha, por terem sempre uma palavra de fé, esperança e dia após dia intercederam pela minha vida em oração.

Aos professores Carlos Martinez e Marcelo Ribeiro que nunca se estressaram para nos ensinar sobre estresse oxidativo.

A FINEP pelo incentivo a pesquisa e a concessão da verba para realização dessa pesquisa.

Ao Professor Dr. Gilberto Tadeu Reis da Silva e a Irmã Luiza Vanz que não apenas acreditaram em mim, mas me incentivaram, apoiaram e liberam de minhas obrigações profissionais para que eu pudesse ir em busca dessa conquista (FASM - Faculdade Santa Marcelina e Escola Sophia Marchetti).

A Professora Cláudia de Araujo Silva que sempre compreendeu minhas ausências me apoiando e incentivando (Escola "Sophia Marchetti")

Aos amigos Rosangela, Luciano e Charles que além do apoio, compreensão e incentivo, mantiveram sempre o espírito de equipe realizando as atividades inerentes aos Laboratórios durante minhas ausências (FASM - Faculdade Santa Marcelina e Escola Sophia Marchetti).

A Gisele assessora científica da Randox do Brasil pela atenção, disponibilidade e contribuição.

A Valéria S. Nunes, Rodrigo Iborra e Fabiana Ferreira do (LIM 10) Laboratório de Lípidos da USP, que se dispuseram com toda atenção a me ensinar e acompanhar na realização de técnicas que eram necessárias para minhas análises.

Aos professores e amigos Luiz, Fátima, Rosana, Adilson, Luciene e Mário que juntos comigo nunca deixavam minha peteca cair dando-me fundamental apoio durante este trabalho.

Aos grandes amigos Oberdan (carinhosamente Bebe) e Anderson (And) muito obrigada por sempre, sempre e sempre me auxiliar em tudo que diz respeito à informática (tabelas, índices, formatações, etc e tal...).

A todos os meus alunos do Curso Técnico em Análises Clínicas que sempre me fizeram acreditar que ainda é possível transformar o ser e fazer valer a pena toda dedicação do educador.

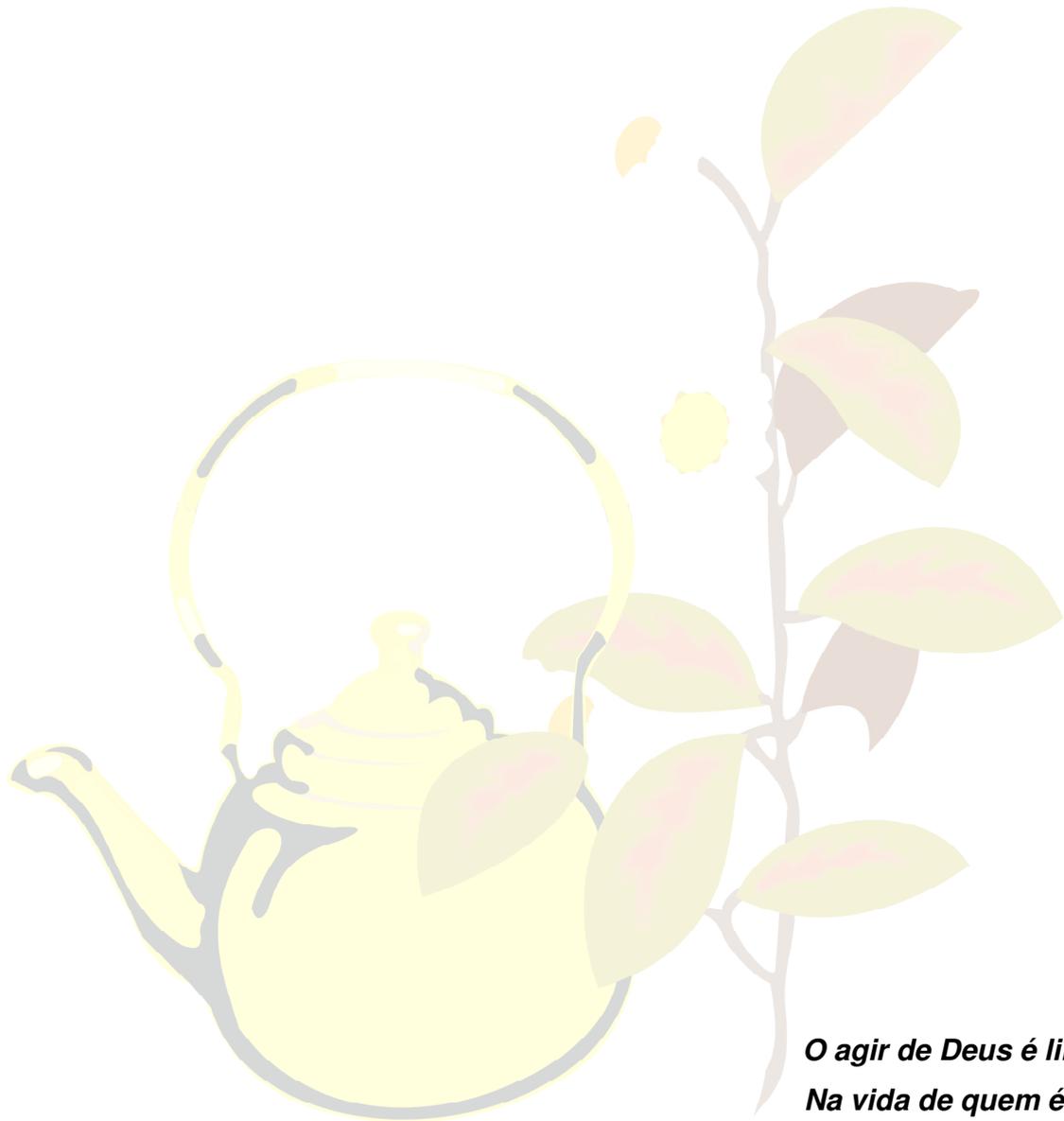
A amiga Ana Marta que me socorreu sempre que precisei com seus conhecimentos na língua inglesa.

Ao meu Pastor e Amigo Martin Barcala, por seus sábios aconselhamentos e direcionamentos me mantendo firme na Rocha que é Cristo.

A todos aqueles que de alguma maneira contribuiu para a realização desse trabalho, sendo vocês família de sangue, colegas de trabalho, amigos pessoais, ou família da fé.

Que Deus abençoe de maneira muito especial a vida de cada um.

MUITO OBRIGADA!



*O agir de Deus é lindo
Na vida de quem é fiel
No começo tem provas amargas
Mas no fim têm o sabor do mel...*

*Quando DEUS está no princípio de todas as
coisas, há graça, vida e sustentação...*

RESUMO

Diversos produtos de origem vegetal vêm sendo estudados por serem fontes promissoras de antioxidantes. A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta nativa do Brasil e de outros países da América do Sul, consumida principalmente na forma de chá, chimarrão e tererê. O chá mate, o qual apresenta em sua composição uma grande variedade de polifenólicos, embora possua propriedades antioxidantes comprovadas *in vitro*, poucos relatos de pesquisa estão disponíveis em ensaios com humanos. O objetivo do estudo foi investigar os efeitos da suplementação de chá mate solúvel (60 dias) nos biomarcadores de oxidação lipídica, na capacidade antioxidante enzimática e em alguns parâmetros bioquímicos séricos de voluntários normo e hiperlipidêmicos. Um total de 60 voluntários de ambos os sexos, dos quais 18 eram hiperlipidêmicos (grupo HL) e 42 tinham perfil lipídico normal (grupo NL) ingeriram 200mL de chá-mate (2,5 mg/ml) por dia. As amostras de sangue foram coletadas antes e 60 dias após ingestão de chá-mate. Para verificar a capacidade antioxidante do chá mate foram realizadas as seguintes análises: produtos de peroxidação lipídica avaliada pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), capacidade antioxidante total (TAS), atividade eritrocitária das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), bem como a susceptibilidade da LDL a oxidação induzida por cobre monitorada por dienos conjugados. Além disto, foi avaliado o efeito do mate nos parâmetros bioquímicos séricos: glicemia de jejum, lípidos (colesterol total, TG, HDL, VLDL, LDL), uréia, creatinina e transaminases. Observou-se que o consumo de chá foi capaz de aumentar a defesa antioxidante, tanto pelo aumento nos níveis de TAS como pelo incremento na atividade da enzima SOD nos dois grupos analisados (grupos NL e HL). Além disto, observou-se também uma redução tanto da oxidação dos lípidos séricos (TBARS) quanto da suscetibilidade da LDL à oxidação no grupo HL. Por outro lado, o consumo do mate não teve efeito sobre os parâmetros bioquímicos testados. Portanto, evidenciamos o potencial antioxidante do chá-mate, possivelmente pela participação de vários mecanismos, indicando sua possível contribuição na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

Descritores: *Ilex paraguariensis*, peroxidação lipídica; enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

Several vegetable products have been studied as a promising source of antioxidant. The *erva-mate* (*Ilex paraguariensis*) is a plant native of Brazil and others South America countries, consumed mainly as tea, *chimarrão* and *tererê*. The mate tea, which presents in its composition a wide variety of polyphenols, although it has proven antioxidant properties in vitro, although a small number of researches have been developed with human experiments. The objective of this study was to investigate the effects of soluble mate tea supplement in oxidative stress biomarkers, in antioxidant defense and in some parameters of biochemical profile of normo and hyperlipidemic volunteers after 60 days of tea intake. A total of 60 volunteers, male and female, of those 18 were hyperlipidemics (HL group) and 42 had normo lipid profile (NL group), drank 200mL of mate tea (12.5 mg/mL) a day. Blood samples were collected before and 60 days after the tea ingest. As to verify the mate tea antioxidant capacity several analyses were made: lipid peroxidation products valued by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), total antioxidant capacity (TAS), enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), as well as the LDL susceptibility in copper induced oxidation monitored by conjugated dienes. Glycemic in fast, lipid (total cholesterol, TG, HDL, VLDL, LDL), urea, creatinine and transaminases were also valued in volunteers' blood serum. It was observed that the intake of tea for 60 days was able to increase the antioxidant capacity, both by the increase in the TAS level and by the improvement of the antioxidant enzyme SOD, in both groups (NL and HL). Moreover, there was also a reduction in both serum lipid oxidation (TBARS) and the susceptibility of LDL to oxidation in the HL group. On the other hand, the tea intake had no effect over the biochemistries parameters tested. Therefore, this study pointed out the possible antioxidant potential of the mate tea, probably by the action of several mechanisms, indicating its contribution in preventing oxidative stress related sickness.

Key words: *Ilex paraguariensis*; lipid peroxidation; antioxidant enzymes.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGPI	ácidos graxos poliinsaturados
ALT	alanina aminotransferase
AST	aspartato aminotransferase
CAT	catalase
ERN	espécie reativa de nitrogênio
EROs	espécies reativas de oxigênio
Fe ⁺²	ferro na forma ferrosa
Fe ⁺³	ferro na forma férrica
GPx	glutathione peroxidase
GR	glutathione reductase
GSH	glutathione reduzida
GSSG	glutathione oxidada
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
HDL	lipoproteína de alta densidade
HL	hiperlipidêmico
IDL	lipoproteína de densidade intermediária
IMC	índice de massa corporal
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LDL _n	lipoproteína de baixa densidade normal
LDLox	lipoproteína de baixa densidade oxidada
LPO	lipoperoxidação
MDA	malonaldeído
NADP ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NL	normolipidêmico
nm	nanômetros
NO	óxido nítrico
O ₂	molécula de oxigênio
O ₂ ^{-•}	ânion superóxido
OH ⁻	ânion hidróxido
OH	radical hidroxila
OH [•]	ânion hidroxila
ONOO ⁻	peroxinitrito
PA	pressão arterial
RO [•]	radical alcóxil
ROO [•]	radical peróxil
ROOH	hidroperóxido orgânico
SOD	superóxido dismutase
TBARS	espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TG	triglicérides
VLDL	lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no soro e na LDL isolada dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 49
- Tabela 2 – *Lag time* de oxidação da LDL e medida de dienos conjugados dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 51
- Tabela 3 – Medida da Capacidade Antioxidante Total no soro dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 52
- Tabela 4 – Efeito da intervenção com chá mate na atividade das enzimas antioxidantes eritrocitárias dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60) 53
- Tabela 5 – Dosagem sorológica da glicemia de jejum dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 54
- Tabela 6 – Dosagem sorológica do perfil lipídico dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 56
- Tabela 7 – Dosagem sorológica dos marcadores de função hepática dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 57
- Tabela 8 – Dosagem sorológica dos marcadores de função renal dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)..... 57

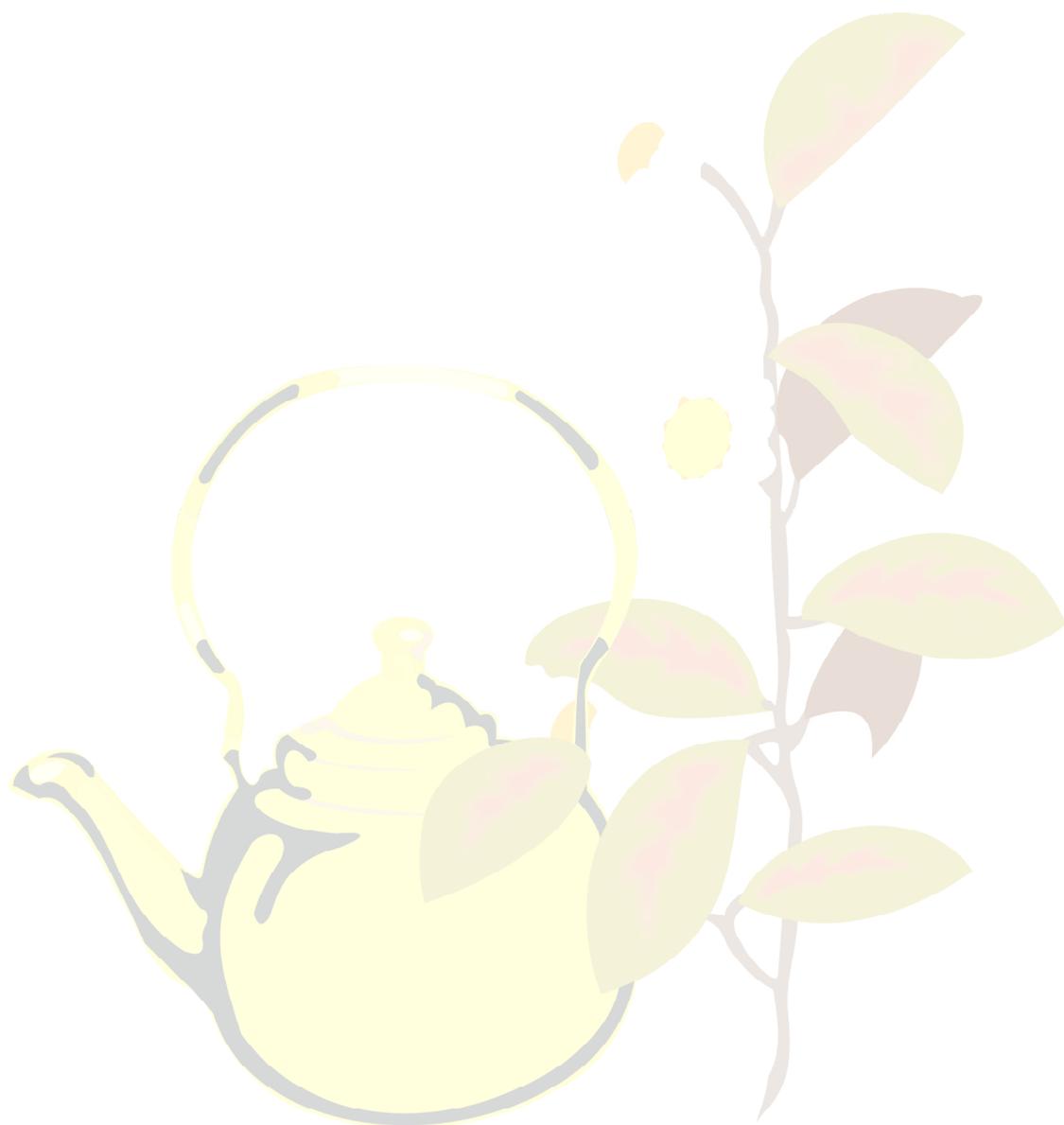
LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de produção da erva mate.....	21
Figura 2 – Reação de Haber-Weiss (com cobre ou ferro)	24
Figura 3 – Reação de Fenton (com cobre ou ferro)	24
Figura 4 – Reação de peroxidação lipídica e estrutura de alguns de seus produtos. ...	27
Figura 5 – Modelo esquemático de uma lipoproteína de baixa densidade.....	28
Figura 6 – Reação de dismutação do superóxido catalisada pela SOD.....	31
Figura 7 – Ciclo oxidativo da glutathiona.....	32
Figura 8 – Reação de degradação de peróxido de hidrogênio em presença da catalase	33
Figura 9 – Esquema de coleta de sangue dos voluntários	41
Figura 10 – Estrutura das substâncias utilizadas para a dosagem da SOD.....	43
Figura 11 – Ciclo das reações da glutathiona (GSH) utilizada para determinação da glutathiona redutase (GR) e glutathiona peroxidase baseado na conversão de NADP(H) para NADP ⁺ a 340nm	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 <i>Ilex paraguariensis</i>	19
2.1.1 Produção e consumo	19
2.1.2 Constituintes da erva mate	22
2.2 Radicais livres e estresse oxidativo	23
2.3 Peroxidação lipídica	25
2.4 Oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL)	28
2.5 Sistema antioxidante	31
3. OBJETIVOS	36
3.1 Objetivo geral	36
3.2 Objetivos específicos	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Casuística	38
4.2 Critérios de inclusão	38
4.3 Critérios de exclusão	39
4.4 Preparo do chá mate	39
4.5 Administração do chá mate	40
4.6 Desenho do estudo	40
4.6.1 Coleta de sangue	40
4.6.2 Hemograma	41
4.6.3 Análises bioquímicas	41
4.6.4 Determinação das atividades das enzimas antioxidantes	42
4.6.5 Obtenção da LDL e indução à oxidação	44
4.6.6 Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	45
4.6.7 Determinação da capacidade antioxidante total (TAS)	46

4.7 Análise estatística	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1 Voluntários que participaram do estudo	48
5.2 Potencial antioxidante da <i>Ilex paraguariensis</i>	48
5.2.1 Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no soro e na LDL.....	48
5.2.2 Medida de oxidação da LDL após desafio oxidativo	50
5.2.3 Determinação da capacidade antioxidante total (TAS) do soro.....	52
5.2.4 Quantificação das enzimas antioxidantes	53
5.3 Determinação dos parâmetros bioquímicos	54
5.3.1 Glicemia	54
5.3.2 Perfil lipídico	55
5.3.3 Marcadores de função hepática e renal	57
6. CONCLUSÃO.....	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
8. ANEXOS	68



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos houve um incremento de pesquisa na busca de determinados alimentos que possuem substâncias ativas visando benefícios a saúde ou efeitos fisiológicos desejáveis (Kroon e Williamson, 1999; Melo e Guerra, 2002). No entanto é consideravelmente recente o interesse no estudo do potencial das propriedades da erva-mate no que diz respeito à saúde.

Apesar da medicina popular há muito tempo já recomendar o uso da erva mate para doenças como: artrite, dores de cabeça, constipação, reumatismo, hemorróidas, obesidade, fadiga, retenção de líquidos, hipertensão, doenças hepáticas e de digestão lenta, os primeiros trabalhos científicos só foram publicados na década de 90. Gugliucci e Stahl (1995); Gugliucci (1996); Campos *et al.*, (1996) comprovaram atividade antioxidante *in vitro* e *ex vivo* da infusão da erva-mate verde e seca. Outros autores atribuíram variados benefícios ao extrato de *Ilex paraguariensis* como efeito colinérgico e estimulador do trânsito intestinal (Gorzalczany *et al.*, 2001), exercendo ainda ação estimulante sobre o sistema nervoso central devido à presença de cafeína e teobromina (Alikaridis, 1997). Resultados obtidos por Baisch *et al.* (1998), demonstraram que o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* tem atividade hipocolesterolêmica significativa e fornece proteção contra dietas ricas em colesterol.

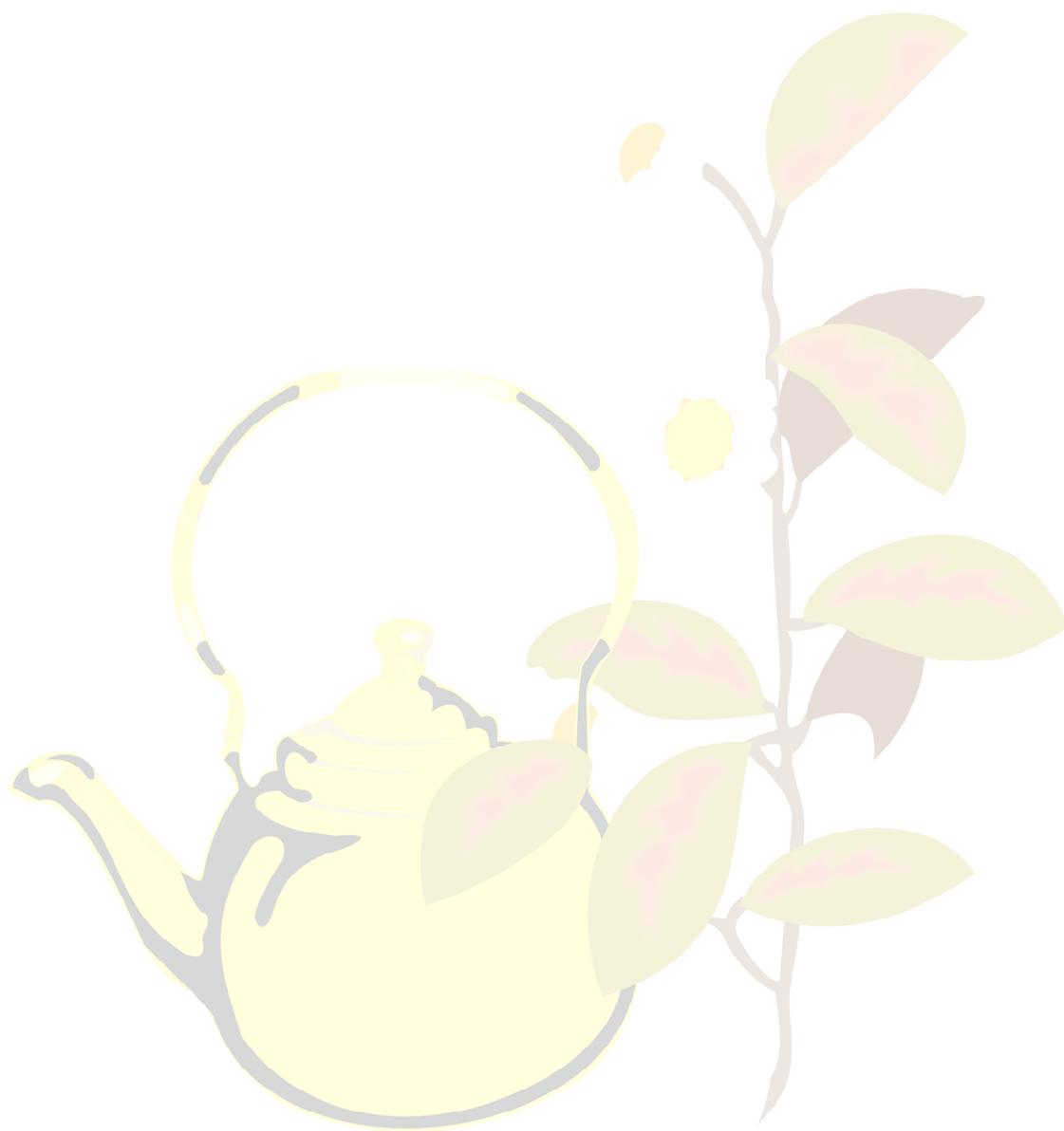
Em trabalhos desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa utilizando camundongos (*Swiss*) foi verificado o potencial antioxidante do chá mate nas concentrações de 1.0 g/Kg e 2.0 g/Kg de peso do animal em relação a proteção à oxidação dos ácidos graxos insaturados (AGPI) do fígado (Martins *et al.*, 2009) e efeito protetor quanto ao dano oxidativo de DNA no mesmo órgão, analisado pelo ensaio cometa (Miranda *et al.*, 2008).

Experimentos recentes envolvendo seres humanos comprovaram a atividade antioxidante após suplementação do extrato de mate uma vez ao dia (5.0 g/500mL de água) por 7 dias em mulheres saudáveis (Matsumoto *et al.*, 2009) e em pacientes normo e dislipidêmicos, que ingeriram 330mL (20mg/mL), três vezes ao dia por 20 e 40 dias (Morais *et al.*, 2009). Os últimos autores observaram uma redução de 10 e 13.1 % nos

níveis de colesterol total após 20 e 40 dias de ingestão respectivamente, e aumento de 6,2 % de HDL-colesterol após 40 dias (Morais *et al.*, 2009).

As xantinas, cafeína, teobromina, teofilina, saponinas e os compostos fenólicos como ácido cafeico e seus derivados, principalmente os ácidos clorogênicos, são responsáveis por vários dos efeitos farmacológicos citados, devido possivelmente à presença de substâncias capazes de seqüestrar radicais livres formados no início do processo de oxidação (Bastos *et al.*, 2007).

Assim, face ao exposto acima, acredita-se que a ingestão de erva-mate possa trazer efeitos benéficos para o homem. Portanto, o presente trabalho pretende contribuir para as pesquisas relativas às propriedades funcionais *in vivo* da erva-mate, na tentativa de melhor elucidar os mecanismos envolvidos em suas propriedades antioxidantes; além de verificar o possível efeito nos níveis séricos de glicose, lípidos, uréia, creatinina e transaminases em voluntários normo e hiperlipidêmicos que ingeriram chá-mate solúvel 1 vez ao dia (2,5 g/200mL) durante 60 dias.



REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Ilex paraguariensis*

2.1.1 Produção e consumo

A *Ilex Paraguariensis* Saint Hilaire (Aquifoleacea) conhecida popularmente como erva-mate ocorre naturalmente em três países: Brasil, Argentina e Paraguai. No Brasil está distribuída principalmente nos Estados do Paraná (PR), Santa Catarina (SC), Rio Grande do Sul (RS), Mato Grosso do Sul (MS), e Minas Gerais (MG). Na década de 70, o Rio Grande do Sul foi o maior produtor responsável por 50% da produção, atualmente sua participação gira em torno de 25% da produção Nacional (Winge *et al.*, 1995).

De acordo com o Projeto Plataforma Tecnológica da Erva-Mate do Paraná MCT/CNPq/PADCT, (2000), a erva-mate quando comparada a outros tipos de plantas e/ou produtos industrializados, é um produto centenário. Porém se encontra em fase embrionária de descobertas, principalmente, em seus usos industriais em nível internacional. Para Campos (1996), o desenvolvimento da erva-mate e derivados requer investimentos em pesquisa para modernização e otimização dos processos de produção para busca de uma maior qualidade e modernização dos produtos, permitindo uma maior procura dos mercados nacionais e internacionais.

Mesmo antes de ser conhecida a composição química, os indígenas já utilizavam a erva mate atraídos não apenas pelo paladar da bebida preparada, mas principalmente por conhecerem suas virtudes, em que se destacava a propriedade de aumentar a resistência à fadiga e por minimizar a sede e a fome.

Na América do Sul o mate é consumido em três infusões diferentes: a primeira é simplesmente pela adição de água quente ao material seco da planta (chá); a segunda pelas adições repetidas de águas bem aquecida ao mesmo material (chimarrão); e a terceira é também com adição repetidas de água fria, porém para esse a erva é torrada e acondicionada por 8 meses em local seco para só então ser consumida na forma de tererê. Conforme a Portaria Nº 519, de 26 de Junho de 1998 da Secretária de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde, o chá mate é obtido através da erva-mate e deve

seguir o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de "Chás - Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções" que define:

- Chás: são produtos constituídos de partes de vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidos por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão ou decocção em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas.
- Decocção: método de preparação no qual o chá é mergulhado em água potável mantida em temperatura acima de 90°C, por tempo determinado, conforme a(s) espécie(s) vegetal(ais).
- Esgotada: quando retirado(s) parcial ou totalmente o(s) princípio(s) ativo(s) por qualquer processo tecnológico.
- Finalidade farmacoterapêutica: finalidade de atuar como medicamento, prevenindo ou tratando doenças e/ou sintomas pela presença de substâncias ativas em concentrações suficientes para apresentação de efeitos farmacológicos.
- Folha: é a parte da planta formada pelo limbo e pecíolo.
- Infusão: método de preparação no qual a água potável, em temperatura acima de 90°C, é vertida sobre o chá que deve permanecer em repouso por tempo determinado, conforme a(s) espécie(s) vegetal(ais).
- Ramo: cada uma das divisões e subdivisões do galho.
- Sapecado: quando o produto recém podado (folhas e ramos) é submetido à ação das chamas de uma fogueira, ou outro processo tecnológico adequado, com a finalidade de eliminar o excesso de umidade (pré- desidratação) e evitar o enegrecimento das folhas.

Quanto à designação, quando o produto for simples, produzido a partir da *Camellia sinensis*, deve conter a expressão "chá", seguida dos termos verde ou preto, e quando produzido a partir da *Ilex paraguariensis*, deve conter a expressão "chá mate", seguida dos termos verde, tostado ou queimado (Brasil, 1998).

Conforme a RDC nº 277 de 02 de setembro de 2005 o produto erva-mate é constituído exclusivamente de folhas e ramos das variedades da *Ilex paraguariensis*, na forma inteira ou moída (Brasil, 2005) e as etapas de produção podem ser observadas na Figura 1.

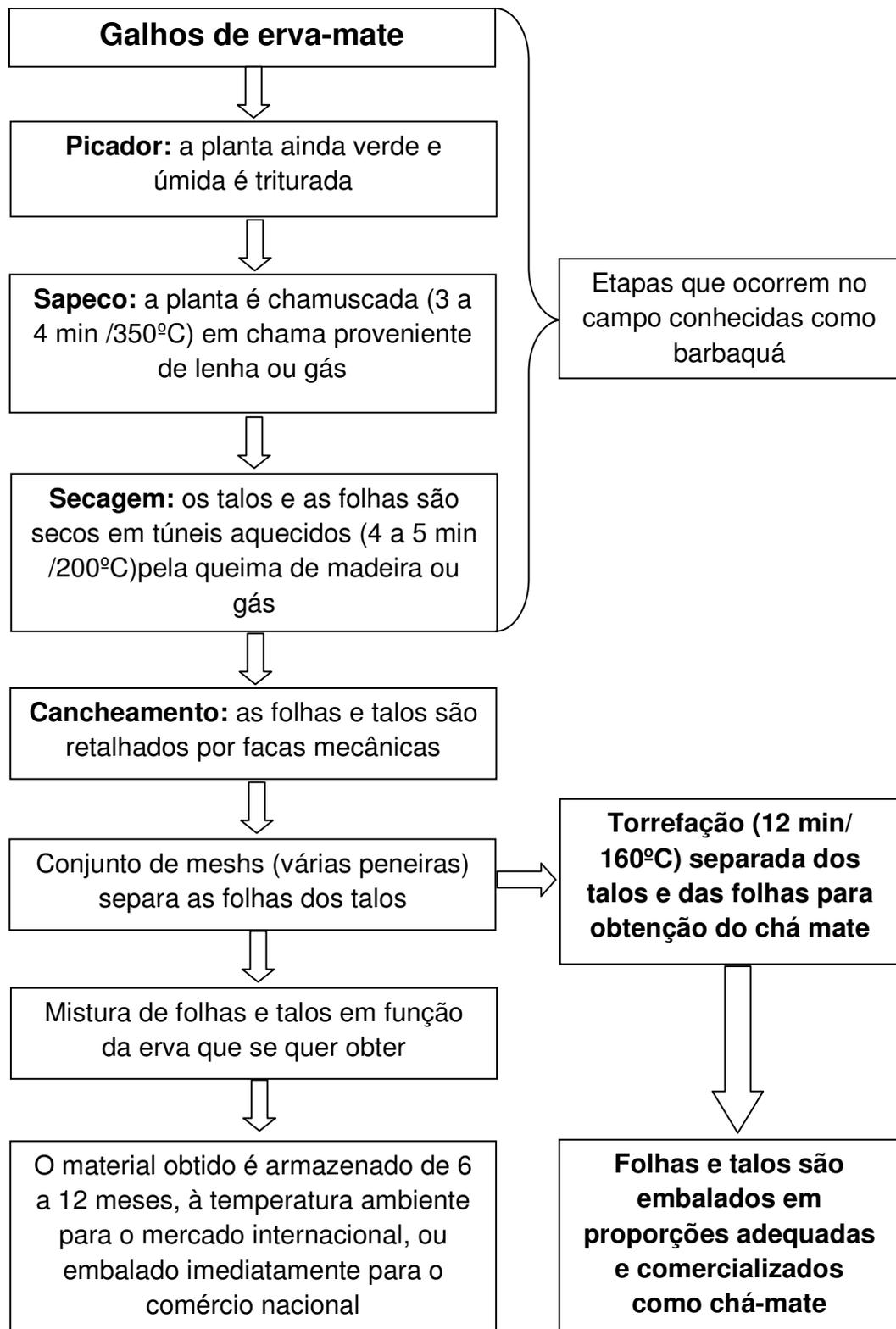


Figura1 – Fluxograma de produção da erva mate

2.1.2 Constituintes da erva mate

De acordo com Souza (1991), a erva mate é constituída por: água, celulose, gomas, dextrina, mucilagem, glicose, pentose, substâncias graxas, resina aromática, legumina, albumina, cafeína, teofilina, cafearina, cafamarina, ácido matetânico, ácido fólico, ácido caféico, ácido virídico, clorofila, colesteroína e óleo essencial. Nas cinzas encontram-se grandes quantidades de potássio, lítio, ácidos fólicos, sulfúrico, carbônico, clorídrico e cítrico, além de magnésio, manganês, ferro, alumínio e traços de arsênico.

Dentre os produtos do metabolismo secundário da espécie, pode-se destacar a presença de ácidos fenólicos (cafeico, clorogênico, 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico), dos flavonóides pertencentes a classe dos flavonóis (rutina, quercetina e kaempferol), das saponinas triterpênicas derivadas dos ácidos ursólico e oleanólico e das metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina). Os flavonoides presentes no chá estão principalmente em sua forma glicosilada, como por exemplo, a quercetina-3-rutinosídeo, também chamada de rutina (Bastos *et al.*, 2007).

Vários fatores irão terminar a concentração dessas substâncias no chá mate, como: o tempo, a temperatura da infusão, a relação massa de erva/volume de água, granulometria da erva, composição da erva (porcentagem de talos e de folhas), e presença de outras espécies de *Ilex* que são adulterantes (Bastos *et al.*, 2005).

2.2 Radicais livres e estresse oxidativo

De acordo com Halliwell *et al.* (1996), o termo radical livre é freqüentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais elétrons não pareados, nos orbitais externos. Um elétron não pareado é aquele que ocupa um orbital atômico ou molecular isoladamente. Os radicais livres podem ser formados pela perda de um único elétron ou pelo ganho de um elétron de uma substância não radical. Eles podem ser formados quando uma ligação covalente é quebrada e um elétron de cada um dos pares permanece em cada átomo, em processo chamado fissão homolítica. A energia necessária para dissociar a ligação covalente pode ser fornecida pelo calor, radiação eletromagnética ou outras fontes.

A molécula de oxigênio, naturalmente, se qualifica como radical: ela tem dois elétrons não pareados, cada um deles localizado em diferentes orbitais. Esses dois elétrons têm a mesma rotação espinorial, rotação paralela, sendo este o estado mais estável do oxigênio. O oxigênio é um bom agente oxidante, entendendo-se por oxidação a perda de elétrons por um átomo ou molécula (Halliwell e Gutteridge, 1989).

Nas últimas décadas, vem sendo realizadas diversas pesquisas para esclarecer o papel dos radicais livres nos processos fisiopatológicos como o envelhecimento, câncer, aterosclerose, inflamação entre outros (Ferreira e Matsubara, 1997). Os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular são proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA, e está relacionado com seu sítio de formação (Anderson, 1996; Yu e Anderson, 1997). Entre as principais espécies reativas de oxigênio (ERO) o superóxido ($O_2^{\cdot-}$) apresenta uma baixa capacidade oxidativa, enquanto o radical hidroxila (OH^{\cdot}) mostra uma pequena capacidade de difusão e é o mais reativo na indução de lesões celulares. A produção de HO^{\cdot} intracelular a partir da reação do $O_2^{\cdot-}$ com o H_2O_2 postulada em 1934 como reação de Haber-Weiss (Figura 2), ou a simples mistura de H_2O_2 com metais de transição como o ferro e o cobre descrita por Fenton em 1894 (Figura 3) tem grande significado biológico devido à sua elevada reatividade e nocividade (Halliwell e Gutteridge, 1999).

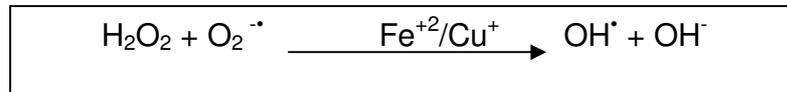


Figura 2 – Reação de Haber-Weiss (com cobre ou ferro)



Figura 3 – Reação de Fenton (com cobre ou ferro)

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) não é considerado um radical livre verdadeiro, mas é capaz de atravessar a membrana nuclear e causar danos no DNA por meio de reações enzimáticas (Anderson, 1996).

Apesar de todos componentes celulares serem suscetíveis à ação dos radicais livres, a membrana é um dos mais atingidos em decorrência das múltiplas duplas ligações dos AGPI de sua constituição, estas se tornam então, excelentes alvos para o ataque das EROs (Sies e Stahl, 1995).

Tal processo pode gerar uma série de reações deletérias que acarretam alterações na sua estrutura e permeabilidade. Conseqüentemente, há perda da seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos, e formação de produtos citotóxicos (como malonaldeído e dienos conjugados) culminando com a morte celular.

Mas as EROs não são somente os vilões do metabolismo, pois exercem importante função biológica, como na fagocitose, situação em que os EROs são produzidas para que haja a eliminação do agente agressor (Vasconcelos *et al.*, 2007).

O conjunto de condições intra e extracelulares que leva a geração exacerbada de espécies reativas de oxigênio (EROs) é denominado “estresse oxidativo” (Sies e Stahl, 1995). Tal evento é caracterizado como uma conseqüência da insuficiência do potencial antioxidante do organismo ou da exacerbação de processos que induzam uma maior formação de espécies por várias ações deletérias, tais como o aumento nos níveis de peroxidação de lipídios de membranas, aumento na carbonilação de proteínas e até danos ao DNA intracelular (Ferreira e Matsubara, 1997; Diaz *et al.*, 1997). Pode-

se dizer que um organismo encontra-se sob estresse oxidativo quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidante e antioxidante, de maneira que os primeiros sejam predominantes.

O estresse oxidativo tem sido relacionadas com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas e crônicas tais como cardiopatias, aterosclerose, doenças auto-imunes e alguns tipos de câncer (Halliwell e Gutteridge, 2000; Vasconcelos *et al.*, 2007).

Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação (LPO), ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular. Além disto, o estresse oxidativo pode gerar danos a proteínas e ao DNA provocando diversas alterações na função celular.

2.3 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) é causada pelo ataque de uma espécie reativa (geralmente OH^\bullet), que abstrai um átomo de hidrogênio de um grupo metileno alílico, normalmente, de um AGPI, deixando um elétron desemparelhado no carbono, caracterizando a etapa de iniciação. Este radical é estabilizado por um rearranjo molecular para formar um dieno conjugado, ou seja, duas duplas ligações intercaladas por uma ligação simples e forma o radical peroxila (Halliwell e Gutteridge, 1999).

A reação do radical peroxila com o átomo de hidrogênio abstraído gera um hidroperóxido lipídico (LOOH). Peróxidos cíclicos também podem ser formados, quando o radical peroxila reage com uma dupla ligação na mesma cadeia de ácido graxo, o que também pode propagar a LPO (Halliwell e Gutteridge, 1999). Na decomposição dos hidroperóxidos lipídicos são gerados radicais peroxila e alcóxila através da reação de Fenton.

A última etapa da peroxidação lipídica instala-se com a neutralização dos radicais formados por ação de antioxidantes lipossolúveis (α -tocoferol, β - caroteno) ou pela reação de dois radicais lipídicos formando produtos não radicalares. Sistemas enzimáticos também podem iniciar a oxidação dos AGPI. As principais enzimas

envolvidas neste processo são as peroxidases e dioxigenases. As peroxidases são enzimas inespecíficas que catalisam a oxidação de muitos substratos, incluindo ácidos graxos.

Peróxidos e hidroperóxidos reagem com o ferro contido no sítio catalítico das peroxidases, gerando um composto intermediário, que oxida um doador de hidrogênio, por exemplo, o NADPH. Este segundo composto formado, pode oxidar o substrato e regenerar a enzima, assim a LPO pode ocorrer durante o processo de fagocitose pelos neutrófilos e monócitos, que contêm mieloperoxidase, uma heme proteína. O sistema mieloperoxidase/H₂O₂/haletos gera espécies reativas como O₂⁻, HOCl, NO e possivelmente ONOO⁻, que podem abstrair um hidrogênio alílico, iniciando a LPO (Kanner e Kinsella, 1983).

Todas estas modificações oxidativas causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas, alterando sua fluidez e permeabilidade, com expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com conseqüente morte celular (Vasconcelos *et al.*, 2007).

A reação dos radicais livres com os AGPI, presentes nas membranas celulares e nas lipoproteínas, inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, que pode ser avaliado e utilizado como um indicador do estresse oxidativo celular (Giller e Sigler, 1995; Romero *et al.*, 1998).

Na Figura 4 estão demonstradas as etapas de iniciação, propagação e terminação. A velocidade do processo de LPO é limitada pelas fases de iniciação e propagação (Spiteller e Spiteller, 1998; Hsieh e Kinsella, 1989).

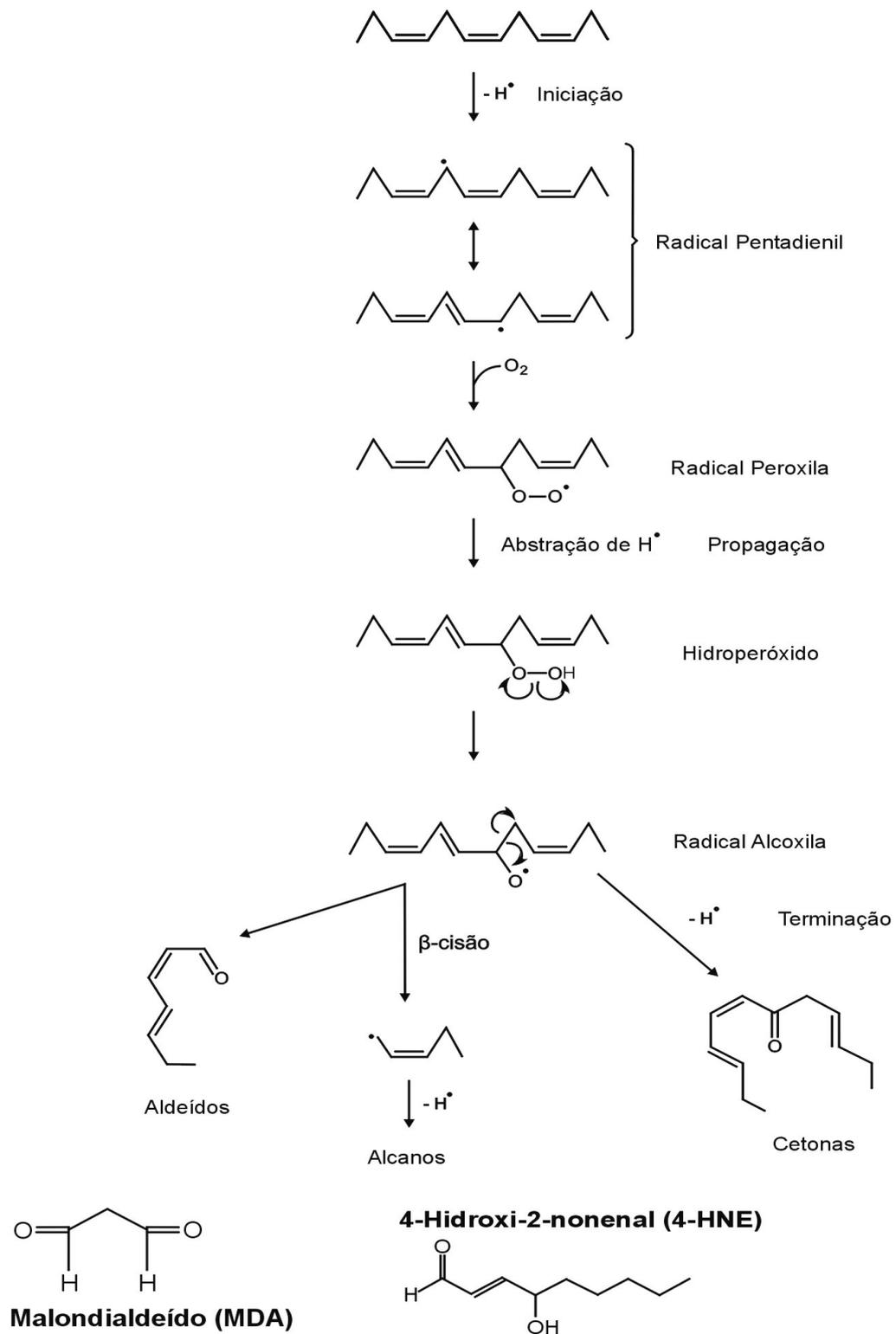


Figura 4 – Reação de peroxidação lipídica e estrutura de alguns de seus produtos. Adaptado de Halliwell e Guteridge (1999).

2.4 Oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL)

As lipoproteínas de baixa densidade, LDL ("low density lipoproteins"), são partículas com densidade entre 1.019 ~ 1.063g/mL, possui diâmetro médio de 22nm, contendo na parte central cerca de 170 moléculas de triglicérides (TG) e 1600 moléculas de ésteres de colesterol. A superfície da LDL é formada por uma monocamada constituída por cerca de 700 moléculas de fosfolipídios (principalmente fosfatidilcolina e esfingomielina), 600 moléculas de colesterol não-esterificado e uma única molécula de ApoB-100, (Figura 5) que é composta por 4536 resíduos de aminoácidos e permite o seu reconhecimento por receptores membranares específicos e conseqüentemente a sua internalização celular (Stryer 1996; Mahley *et al.*, 2003)

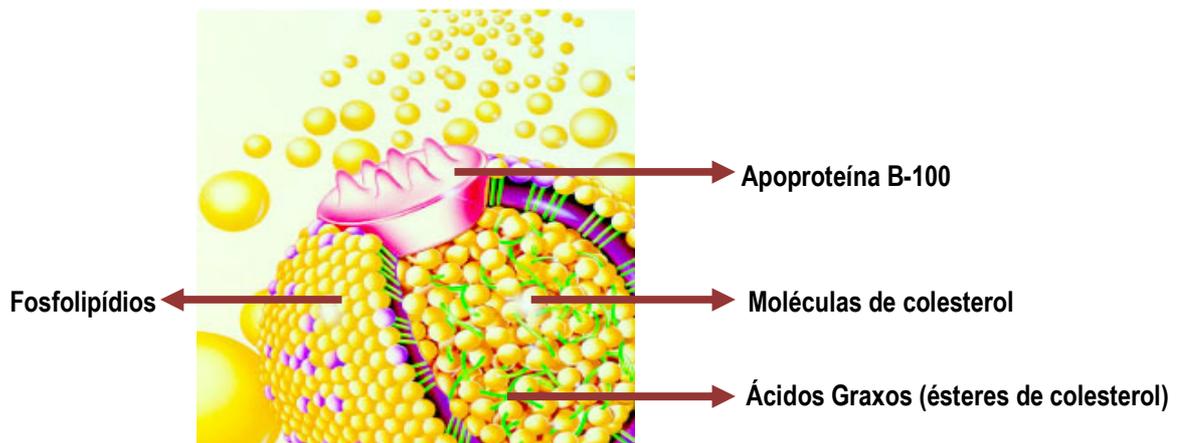


Figura 5 – Modelo esquemático de uma lipoproteína de baixa densidade (Ilustração de John Bavosi / Photo Researchers, Inc.)

A síntese endógena de colesterol e LDL iniciam-se no fígado. A primeira etapa na síntese de LDL é a secreção hepática de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) ricas em TG para o sangue. Nos capilares do tecido adiposo e do músculo, a partícula de VLDL sofre lipólise e é convertida em lipoproteína de densidade intermediária (IDL). Em comparação com a VLDL, o conteúdo de TG da IDL é reduzido e o de ésteres de colesterol enriquecido, mas retém em sua superfície duas das três apoproteínas associadas a VLDL, B-100 e E.

O metabolismo adicional de IDL ocorre ao longo de duas vias: a maioria das partículas de IDL é capturada pelo fígado através do receptor de LDL; outros são convertidos em LDL rico em colesterol por uma perda adicional de TG e apoproteína E. Dois terços da LDL resultante são metabolizados pela via do receptor de LDL e o restante por uma via independente desse receptor. O receptor de LDL liga-se às apoproteínas B-100 e E, sendo, portanto, envolvido no transporte de LDL e IDL. Embora os receptores de LDL estejam amplamente distribuídos, cerca de 75% estão localizados nos hepatócitos, de forma que o fígado desempenha um papel muitíssimo importante no metabolismo da LDL.

A primeira etapa no transporte da LDL mediado por receptor envolve a ligação ao receptor da superfície celular, seguida por interiorização endocítica. No interior das células as vesículas endocíticas fundem-se com os lisossomas e a molécula de LDL é degradada enzimaticamente, resultando afinal na libertação de colesterol livre para o citoplasma. O colesterol não apenas é utilizado pela célula para a síntese da membrana, mas também toma parte na homeostase do colesterol intracelular por um sistema sofisticado de controle do feedback.

O mecanismo de oxidação da LDL *in vivo*, ainda é foco de grande estudo, desde a década de 1980 quando se identificou a presença de LDL oxidada (LDL_{ox}) em placas ateroscleróticas tanto em modelos animais quanto em humanos. O conceito mais provável, é que a peroxidação lipídica começaria nos ácidos graxos poliinsaturados da superfície fosfolipídica da LDL e então se propagaria para o núcleo, terminando com a oxidação de todos os lipídios da partícula, seguida pela degradação dos grupos lisina da apoB (Esterbauer *et al.*, 1993). A apoB modificada pelos produtos de degradação lipídica (aldeídos) deixa de ser reconhecida pelos receptores de membrana, fazendo com que a LDL seja capturada pelos receptores scavenger dos macrófagos de uma maneira descontrolada, levando assim ao desenvolvimento das células espumosas ("foam cells") e da lesão aterosclerótica (Esterbauer *et al.*, 1993).

Teoricamente a LDL_{ox} não deveria ser encontrada circulante pois estaria protegida pelos antioxidantes plasmáticos, no entanto Henriksen *et al.*, (1981) verificaram que, após a incubação da LDL normal (LDL_n) com células endoteliais por 12

a 18 horas, a partícula resultante era captada por macrófagos em cultura, 3 a 10 vezes mais rapidamente que a LDLn.

Em 1988 Avogaro *et al.* isolaram e identificaram por cromatografia de troca aniônica, uma fração da LDL do plasma de indivíduos normolipidêmicos com maior carga negativa, a qual foi denominada LDL eletronegativa, LDL(-). Porém convém ressaltar que o *pool* de LDL(-) não era formado exclusivamente por LDLox, mas também origina-se de outros processos, como a glicação não enzimática, o enriquecimento em ácidos graxos não esterificados, modificações enzimáticas por fosfolipases, reação cruzada com a hemoglobina e outros mecanismos ainda não identificados (Sanchez *et al.*, 2004).

De acordo com Berliner *et al.*, (1990) diferente da LDL oxidada *in vitro*, a LDL (-) não apresenta fragmentação da ApoB e outras alterações decorrentes de uma oxidação excessiva. Esta observação deu origem ao termo “LDL minimamente modificada” (LDLmm), empregado por alguns pesquisadores ao se referirem à LDL de Avogaro.

A presença desses diferentes fenótipos tem importância clínica, pois, essa modificação na LDL proporciona uma maior capacidade aterogênica e por isso torna-se imprescindível a prescrição de terapias, o conhecimento não apenas da quantidade de LDL no sangue, mas, principalmente, o estado de oxidação da LDL.

A suscetibilidade das partículas de LDL à oxidação pode ser avaliada *in vitro*, após a indução da peroxidação lipídica pelos íons cobre. O processo de oxidação da LDL *in vitro* é realizado pela medida do tempo de indução (*lag time*) e da velocidade de propagação (*log rate*) da peroxidação dos ácidos graxos, monitorado espectrofotometricamente, por intermédio da absorção das duplas ligações conjugadas dos ácidos graxos oxidados na região ultravioleta ($\lambda=235\lambda\text{m}$) (dienos conjugados) (Hodis *et al.*, 1994).

2.5 Sistema antioxidante

De acordo com Halliwell e Gutteridge (1999), antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas às de um substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação deste substrato. Para prevenir ou reduzir os efeitos do estresse oxidativo, o organismo está equipado com diversos mecanismos de defesa antioxidante, tais como a presença de antioxidantes não enzimáticos (β - caroteno, α -tocoferol, vitamina C, compostos fenólicos etc.) e os antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutase – SOD, catalase – CAT e glutathione peroxidase - GPx) que neutralizam ou reduzem a ação das EROs (Yu, 1994).

O sistema antioxidante enzimático constitui a primeira defesa endógena contra espécies reativas de oxigênio, impedindo sua formação ou seqüestrando-as de forma a impedir sua interação com alvos celulares, ou seja, bloqueiam a etapa de iniciação da cadeia radicalar (Rover *et al.*, 2001).

Superóxido dismutase (SOD) - A SOD é a enzima que tem papel fundamental na defesa do organismo contra o ataque de espécies reativas do oxigênio, pois atua através da dismutação do radical superóxido formando de hidrogênio e oxigênio (Figura 6) (Winterbourn e Kettle, 2003).



Figura 6 – Reação de dismutação do superóxido catalisada pela SOD

Existem três isoformas dessa enzima: a cobre/zinco dependente (Cu/Zn dependente), a manganês dependente (Mn SOD) e a ferro dependente (Fe SOD). Sua atividade varia conforme o tecido sendo que os níveis mais elevados se encontram no fígado, glândula adrenal, rins e baço. A SOD apresenta uma isoforma mitocondrial (Mn SOD) e uma isoforma citosólica (Cu/Zn SOD), havendo também isoforma extracelular (Halliwell e Gutteridge, 1999).

Glutationa peroxidase (GPX) - A família de GPx reduz H_2O_2 e outros peróxidos a água ou álcool. Apresenta-se sob 4 formas: GPx 1 ou clássica, encontrada no citosol de todas as células do corpo; GPx 2 ou gastrointestinal, específica do trato gastrointestinal; GPx 3 ou plasmática ou extracelular, encontrada no fluido do revestimento interno do pulmão e no leite materno, além do plasma em mamíferos, e a GPx 4, que atua sobre peróxidos de resíduos de ácidos graxos nas membranas e lipoproteínas, reduzindo, também, o hidroperóxido da timina, formado como consequência do ataque dos radicais à base timina do DNA. Também integra o grupo de selenoproteínas, que têm, em seu sítio ativo, o selênio obtido da dieta ligado à metionina, em alimentos de origem vegetal (selenometionina) e, ligado à cisteína, em alimentos de origem animal (selenocisteína). O selênio é reconhecidamente um nutriente antioxidante, com recomendações de obtenção na dieta considerando sua atividade antioxidante e nutricional (Vasconcelos *et al.*, 2007).

As GPx, em geral, catalisam a redução do peróxido de hidrogênio e de outros peróxidos orgânicos, às custas da conversão da glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG), água (H_2O), peróxidos orgânicos a álcool (Figura 7). Assim, a GPx desempenha um papel importante na inibição da peroxidação lipídica e na prevenção de danos ao DNA e ao RNA (Martins, 2007).

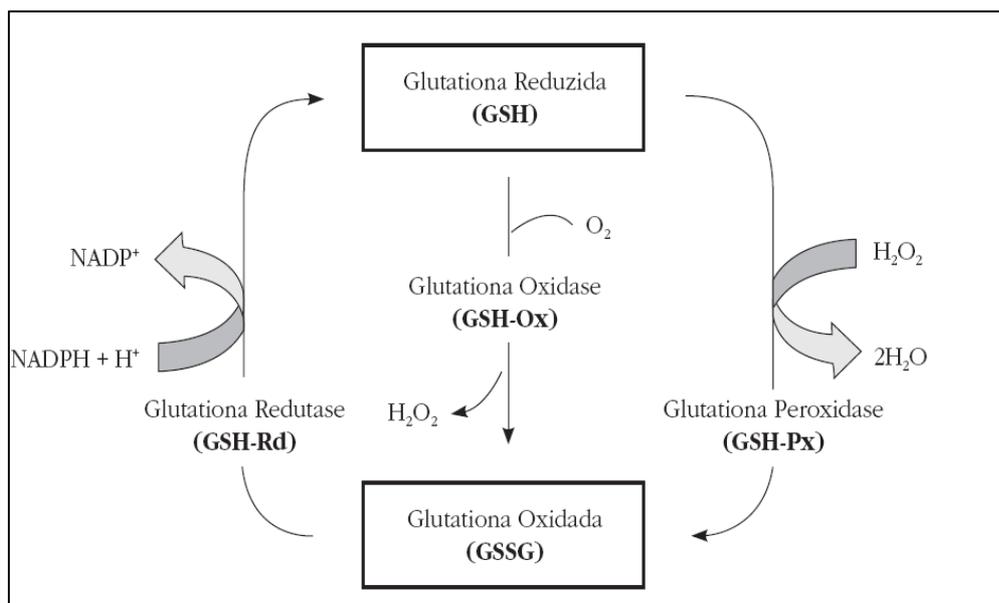


Figura 7 – Ciclo oxidativo da glutatona (modificado de Barbosa et al, 2008)

Catalase (CAT) - A catalase é uma heme proteína citoplasmática localizada nos peroxissomos do fígado e rins e em microperoxissomos de outras células. Tal enzima catalisa a redução de peróxido de hidrogênio a água e oxigênio (Rojkind *et al.*, 2002), conforme demonstrada da Figura 8.



Figura 8 – Reação de degradação de peróxido de hidrogênio em presença da catalase.

Através da ação conjunta das enzimas antioxidantes, as células tentam manter baixas as quantidades do radical superóxido e de peróxido de hidrogênio, evitando assim a formação do radical hidroxila, que é extremamente reativo e deletério às células (Boveris e Cadenas, 1997).

Muitos compostos antioxidantes são obtidos a partir da ingestão de alimentos que os contenham, tais como:

Vitamina E (tocoferol) - O tocoferol é o antioxidante lipossolúvel que atua bloqueando a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas e lipoproteínas (Vasconcelos *et al.*, 2007).

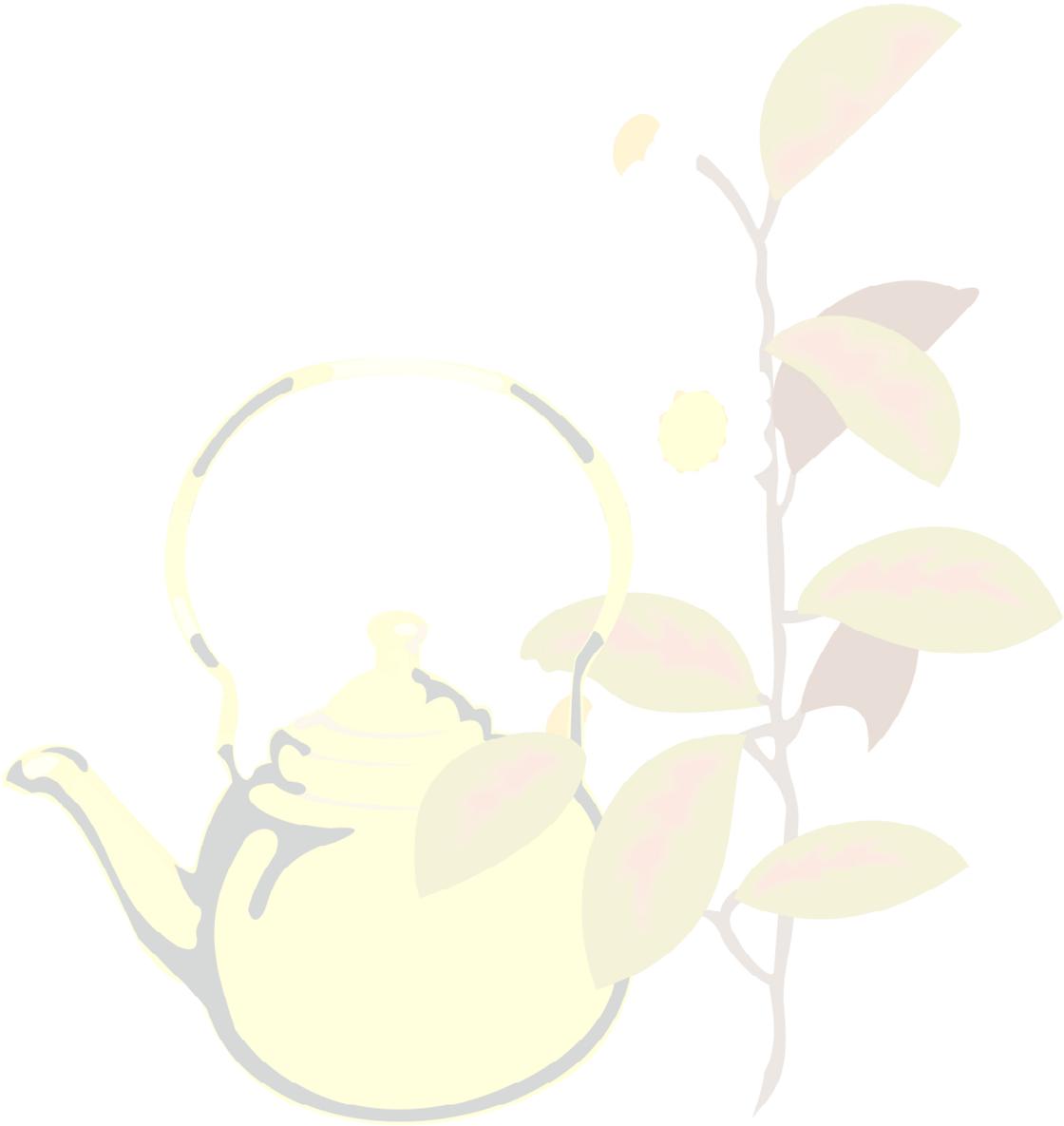
Vitamina C (ácido ascórbico) - Em sistemas biológicos, em pH fisiológico (7,4), 99,95% da vitamina C (AsCH_2) encontra-se na forma de ascorbato (Asc^-), que é a forma que atua como antioxidante, ao doar um H^\bullet ou $[\text{H}^+ + \text{e}^-]$ para um radical. O ascorbato (AscH^-) atua como antioxidante sobre ERO e ERN, em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semidesidroascorbato (Asc^\bullet), ou ascorbila, pouco reativo. Atua eficientemente sobre o ânion radical superóxido (O_2^\bullet), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o hipoclorito (ClO^-) e os radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$) e peroxila ($\bullet\text{OOH}$). O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares por impedir a iniciação da peroxidação lipídica ou indiretamente por regenerar a vitamina E, que atua como antioxidante na face lipofílica da membrana (Vasconcelos *et al.*, 2007).

β - caroteno - As propriedades antioxidantes dos carotenóides estão associadas com sua capacidade de capturar radicais e outras espécies, como oxigênio singlete, em baixas concentrações e em baixa pressão parcial de oxigênio, tais como aquelas da maioria dos tecidos sob condições fisiológicas (Vasconcelos *et al.*, 2007).

Polifenóis – o termo polifenóis ou compostos fenólicos refere-se a um amplo e numeroso grupo de moléculas encontradas em hortaliças, frutas, cereais, chás, café, cacau, vinho, suco de frutas e soja. Nas plantas, eles exercem função de fotoproteção, defesa contra microrganismos e insetos, além de serem responsáveis pela pigmentação e por algumas características organolépticas dos alimentos (Escarpa e Gonzales, 2001).

A diversidade de compostos bioativos que caem nesta categoria é enorme. Só dentro da categoria dos flavonoides estão identificadas mais de 5000 moléculas que incluem compostos como as flavonas existentes no tomilho e pimenta vermelha, os flavonóis das cebolas, bróculos, chá, cerejas e maçãs, as flavononas das ameixas e citrinos, as catequinas dos chás e maçãs, as antocianidinas das cerejas, uvas e vinho e as isoflavonas da soja e leguminosas (Ross e Kasum, 2002).

Estes compostos têm sido objeto de estudo de muitas pesquisas por estarem associados à prevenção de doenças crônicas degenerativas. A bioatividade dos fenóis pode estar relacionada com o potencial antioxidante, que é associado à própria natureza química deste grupo de compostos: devido à sua estrutura, polifenóis são em geral bons agentes redutores e juntamente com outros agentes redutores encontrados na dieta, podem proteger tecidos e estruturas celulares contra danos oxidativos (Matsumoto *et al.*, 2009). Essas substâncias são capazes de inibir a oxidação através da captação de radicais livres, bloqueando reações em cadeia e algumas vezes agindo também como quelantes de metais (Shahidi *et al.*, 1992).



OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da suplementação de chá mate solúvel nos biomarcadores de oxidação lipídica, na capacidade antioxidante enzimática e nos parâmetros bioquímicos séricos em voluntários normo e hiperlipidêmicos.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar os biomarcadores da oxidação lipídica em soro e LDL de voluntários hiper e normolipidêmicos.
- Avaliar através de ensaios de oxidação *ex vivo* se a ingestão de chá-mate diminui a susceptibilidade à oxidação da LDL.
- Detectar se a ingestão do chá-mate modifica a atividade de enzimas antioxidantes dos eritrócitos.
- Avaliar o efeito do chá nos seguintes parâmetros bioquímicos: glicemia, lipídico (colesterol total, LDL, VLDL, HDL e TG), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia e creatinina dos voluntários.



MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Casuística

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE) da Universidade São Francisco. Após orientação e consentimento obtido através do termo de consentimento livre e esclarecido, os voluntários responderam à um questionário (Anexo 1) de caracterização e avaliação geral com perguntas relacionadas a: idade, doenças preexistentes, familiares, vida social e alimentação.

Em seguida foram orientados a comparecer ao Laboratório de Pesquisa da USF (Sala 103 do Prédio 5) com jejum de 12h em uma data pré-agendada, onde foi feita a primeira coleta de sangue para a realização dos seguintes exames:

- hemograma completo como parâmetro de avaliação do estado geral de saúde e também de anemias e infecções.
- Glicemia para exclusão de voluntários diabéticos,
- Colesterol total, frações e TG, como parâmetro lipídico e separação dos grupos normolipidêmicos e hiperlipidêmicos.
- Uréia e creatinina como parâmetro de funcionalidade renal normal.
- ALT e AST como parâmetro de funcionalidade hepática normal.

4.2 Critérios de inclusão

- ◆ Idade entre 18 – 30 anos;
- ◆ Não tabagistas;
- ◆ Índice de massa corporal (IMC) maior que 19 (com variação de -2) e menor do que 32 (com variação de ± 2) (Dietary Guidelines Committee, 1995). O IMC foi obtido através da divisão da massa corporal em kilogramas pela altura, em metros ao quadrado;
- ◆ Não apresentar doenças pré-existentes ou estar em algum tratamento médico;
- ◆ Não fazer uso de qualquer medicamento, exceto mulheres que utilizam anticoncepcional por via oral;
- ◆ Não fazer uso diário de bebida alcoólica;

- ◆Manter alimentação saudável 15 dias antes, e durante a pesquisa (evitando o consumo excessivo de café, chás, chocolates);
- ◆Comparecer diariamente (entre 7h e 10h) no Laboratório de Pesquisa da Universidade São Francisco (sala 103) para ingesta de 200 ml de chá mate.
- ◆Aceitar a coleta de sangue antes, durante (se necessário) e no término da pesquisa onde os dados serão armazenados para a pesquisa (Anexo 2).

4.3 Critérios de exclusão

- ◆Qualquer voluntário que não estiver dentro dos critérios de inclusão;
- ◆Qualquer voluntário que apresentar alterações significativas nos exames hematológico realizado antes da ingesta do mate;
- ◆Fazer uso regular de qualquer hipolipemiantes ou suplementação com micronutrientes no prazo de três meses e durante o estudo;
- ◆Qualquer voluntário que faltar mais de uma vez para a ingesta do chá.
- ◆Qualquer voluntário que durante a pesquisa apresentar algum tipo de alteração metabólica e necessite da intervenção medicamentosa;
- ◆Valores de PA acima dos valores estabelecidos pela IV Diretriz de Pressão Arterial da Sociedade Brasileira de Hipertensão (Anexo 4)
- ◆Qualquer voluntário que apresentar através do preenchimento do formulário de avaliação geral, informações que estão fora do critério de inclusão.

4.4 Preparo do chá mate

As amostras de erva mate torrada solúvel foram cedidas pela empresa Leão Jr. (Curitiba PR). A quantidade de erva solúvel utilizada foi de 2,5 g diluídos em 200 mL de água filtrada a temperatura ambiente. Esta concentração foi estabelecida de maneira aleatória, de acordo com a quantidade máxima aceita pelo paladar. Cada voluntário recebeu 1 copo de 200 mL de chá e para uma melhor organização na distribuição eram preparados diariamente 12L para 150g de chá que corresponde a 60 copos.

4.5 Administração do chá mate

Diariamente entre as 7h e 10h todos os voluntários compareciam ao Laboratório de Pesquisa, sala 103, prédio 5 da Universidade São Francisco para ingestão de 200 ml de chá mate, onde assinavam a ficha de Controle de Ingesta e respondiam de acordo com uma escala de 1 a 5 seu estado geral de saúde (Anexo 3). Nos fins de semana e feriados a ingestão foi feita em casa pelos voluntários, utilizando as medidas previamente fornecidas, pesadas e embaladas separadamente para o preparo (2,5g para 200mL de água) conforme orientação.

4.6 Desenho do estudo

4.6.1 Coleta de sangue

De cada voluntário foi obtido aproximadamente 35 mL de sangue em tubos de coleta (vacutainer), sendo esses:

- Tubo gel – destinado para fazer os exames bioquímicos;
- Tubo com EDTA – destinado para hemograma completo e para isolar LDL;
- Tubo heparinizado – destinado aos exames das enzimas antioxidantes;

As coletas foram realizadas em duas etapas, ou seja, 2 dias para o (T=0) antes da ingestão e duas etapas após a ingestão de sessenta dias (T=60) do chá (Figura 9).

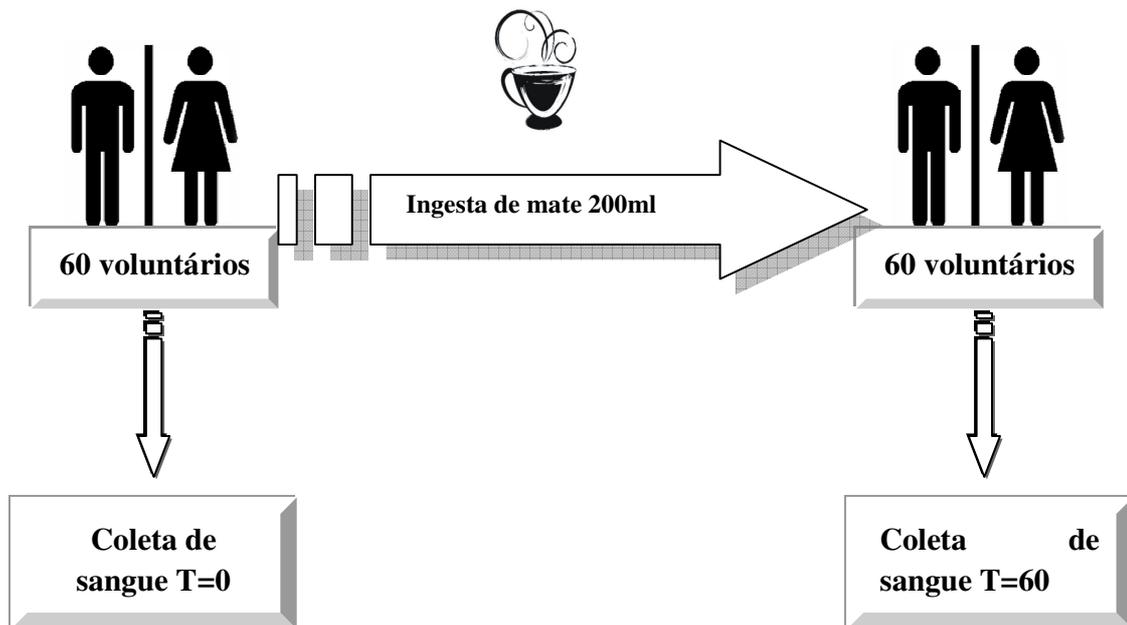


Figura 9 – Esquema de coleta de sangue dos voluntários

4.6.2 Hemograma

Esta análise foi realizada somente no T=0 para exclusão de voluntários que apresentassem qualquer distúrbio hematológico. As amostras foram analisadas em equipamento automatizado, Coulter STKS.

4.6.3 Análises bioquímicas

O soro para as análises bioquímicas foram obtidos por centrifugação do sangue 5000rpm por 10 min após a coleta. Todos os voluntários foram orientados a fazer jejum noturno de 12 h. As concentrações de colesterol total, triglicérides (TG) e lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL) foram imediatamente determinadas utilizando um analisador automático (Cobas-Mira System da Roche Diagnostics). A LDL foi calculada pela fórmula de Friedewald: $LDL = \text{colesterol total} - HDL - TG/5$. Também foram dosados no soro os níveis de glicose, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia e creatinina utilizando o Sistema Cobas-Mira (Roche Diagnostics).

4.6.4 Determinação das atividades das enzimas antioxidantes

Para avaliação de atividade enzimática de *SOD* e *GPx*, foram obtidas amostras de sangue em tubos da marca *Vacurette*, contendo heparina que ativa as antitrombinas, bloqueando assim a cascata de coagulação, estabilizando e produzindo uma amostra de sangue total.

Superóxido Dismutase (SOD) - Para determinação da atividade da SOD total foi utilizando o Kit de reagentes da Ransod (Randox Laboratories) que é baseado no método desenvolvido por Mccord e Fridovich (1985). Este método emprega a xantina e xantina oxidase (Figura 10) como fonte de O_2^- e um composto que seja reduzido pelo O_2^- , como por exemplo, 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol (INT, $C_{19}H_{13}ClIN_5O_2 \times H_2O$, M.M. 505,7) (Figura 10). O O_2^- transfere um elétron INT e produz formazana (vermelho) detectada em espectrofotômetro a 505nm. A atividade da enzima é medida a partir do grau de inibição da reação que o eritrócito foi submetido e os valores são expressos unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb). A inibição da formação do cromógeno é proporcional à atividade de SOD presente na amostra.

A concentração final dos reagentes utilizados nos ensaios foi à seguinte: 0,05 mmol/L xantina, 0,025 mmol/L INT do reagente principal e 80U/L xantina oxidase. A amostra (hemolisado 1:20) foi diluída 10 vezes em tampão KH_2PO_4 (10 mmol/L, pH 7,0) e 10 mL (+ 40 mL de H_2O), posteriormente foi adicionado 340 mL do reagente principal ao hemolisado. Uma curva padrão foi preparada, usando o padrão fornecido no kit, e o valor para a amostra diluída foi lida a partir desta curva. A atividade da SOD foi medida em 505 nm em espectrofotômetro (Jenway 6105 UV / Vis) após a adição de xantina oxidase (50mL + 20mL de H_2O) como reagente inicial. A atividade eritrocitária da SOD foi expressa em U SOD/L.

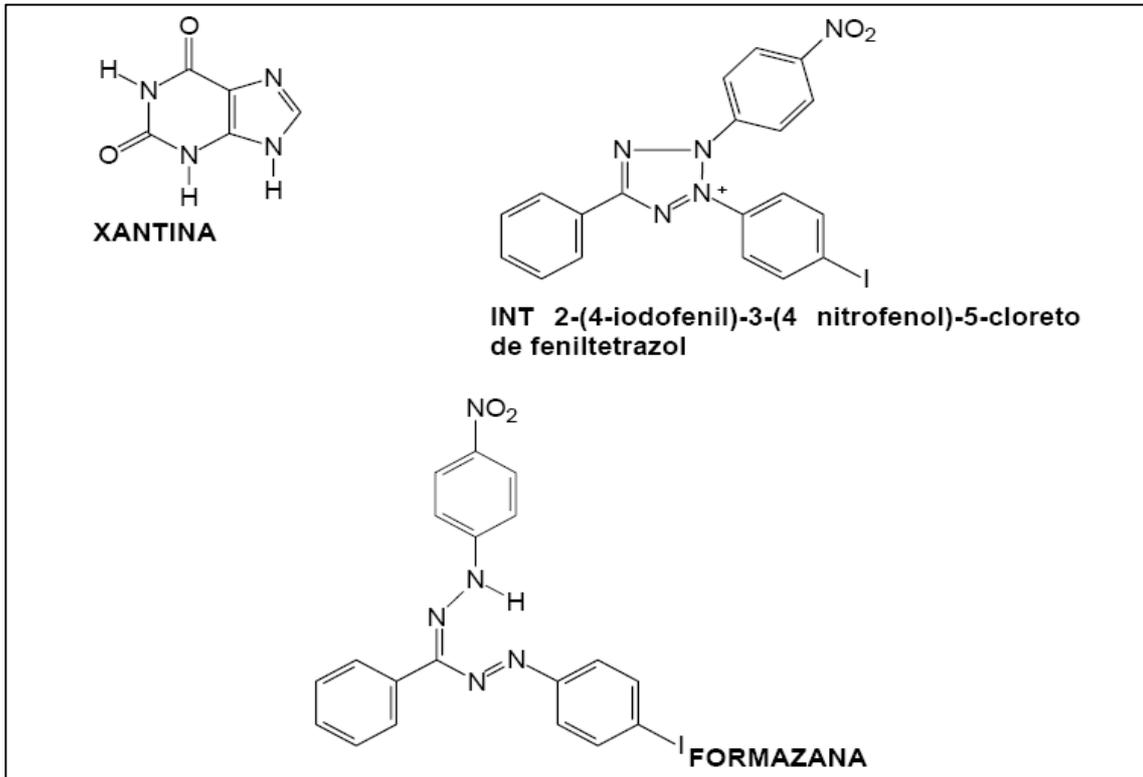


Figura 10 – Estrutura das substâncias utilizadas para a dosagem da SOD

Glutathione peroxidase (GPx) - A determinação da atividade da GPx também foi realizada utilizando um kit de teste Randox. A GPx presente nos eritrócitos catalisa a oxidação de glutathione por hidropéroxido de cumeno de acordo com o método de (Paglia *et al.*, 1967). O ensaio foi realizado em um hemolisado de eritrócitos obtidos a partir da mistura de 0,05 ml de sangue total com 1 ml de agente diluente (fornecido no kit) e 1mL de reagente Drabkin. A amostra diluída foi misturada com o reagente composto de glutathione redutase (GR) e NADPH e hidropéroxido de cumeno. A GPx catalisa a oxidação de glutathione (GSH) por hidropéroxido de cumeno. Na presença de GR e NADPH, a glutathione oxidada (GSSG) é convertida para a forma reduzida, com uma concomitante oxidação de NADPH para NADP^+ (Figura 11). A leitura da Absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Jenway 6105 UV/Vis), após 1 e 2 min a 340 nm. Os resultados foram expressos em U GPx/L.



Figura 11 – Ciclo das reações da glutathiona (GSH) utilizada para determinação da glutathiona redutase (GR) e glutathiona peroxidase (GPx) baseado na conversão de NADP(H) para NADP⁺ a 340nm

4.6.5 Obtenção da LDL e indução à oxidação

Para obtenção da LDL realizamos a coleta de 25 mL de sangue em tubo *vacutainer* contendo EDTA de 12 voluntários hiperlipidêmicos (separados na seleção de voluntários). Logo em seguida o sangue foi centrifugado a 4°C por 10 minutos a 2500 rpm para separação do plasma e adição de aprotinina, benzamidina, PMSF (inibidores de protease) e BHT (antioxidante).

O método utilizado para isolar a LDL foi proposto por Havel *et al*, 1995, onde a densidade do plasma é ajustada através da adição de Brometo de potássio (KBr) e submetido a ultracentrifugação a 40.000rpm por 20h, a 4 °C. Depois de isolada por ultracentrifugação a LDL foi dialisada em solução tampão fosfato de sódio pH 7,4 contendo 150 mmol/L NaCl, 0,1 mmol/L EDTA, por 12h e armazenada a 4 °C até utilização. Antes da utilização, LDL foi dialisada durante a noite em solução tampão sem EDTA. A concentração de proteína das LDL foi determinada pelo método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951) usando albumina de soro bovino como padrão.

A suscetibilidade do LDL à oxidação foi estimada pela incubação de LDL isolada (proteína 0,2 mg/ml) a 37 ° C, com 500 e 5 mmol/L CuSO₄ com agitação contínua por até 6 h no escuro. A cinética de oxidação do LDL foi monitorada continuamente a cada dez minutos por 6 horas e a oxidação foi interrompida pela adição de 40 μmmol/L BHT e 5 mmmol/L de EDTA. A suscetibilidade à oxidação foi acompanhada por análise de dienos conjugados (concentração de dienos).

A formação de dienos conjugados foi medida pela leitura da Absorbância diferencial em 234nm monitorada continuamente contra um branco conforme descrito

anteriormente (Esterbauer, 1989). As amostras foram preparadas simultaneamente, e a reação foi realizada a 25 °C.

Foram utilizados dois índices que indicam a suscetibilidade do LDL à oxidação: tempo de indução “*lag time*” definido como o intervalo entre o início (hora zero) e intercepto da tangente da inclinação da curva de absorbância com o tempo-eixo de escala, expresso em minutos e taxa de produção de dieno conjugados que pode ser calculado a partir da inclinação da curva de absorbância durante a fase de propagação, expressa em nanomols de dienos produzido por minuto por mg de proteína LDL, utilizando o coeficiente de absorção molar dienos conjugados ($\epsilon_{234} = 29500$).

4.6.6 Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Os lipoperóxidos da LDL e do soro foram analisados pela quantificação do malonaldeído (MDA), um produto da peroxidação lipídica que se apresenta aumentado durante estresse oxidativo. Para avaliar a lipoperoxidação foi utilizada a medida de TBARS (medida de reação ao ácido tiobarbitúrico), antes (T=0) e após a alimentação suplementada com o mate por 60 dias.

O conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico na LDL dos voluntários foi determinado de acordo com o método desenvolvido por Ohkawa *et al.*, (1979). Resumidamente, 250 μ L de amostra da LDL isolada foram misturados com 25 μ L 4% BHT em metanol, 1 mL ácido tricloroacético a 12%, 1 mL ácido tiobarbitúrico 0,73% e 750 μ L 0,1 mol/L tampão Tris-HCl contendo 0,1 mmol/L EDTA pH 7.4. Após 60 minutos de incubação em banho-maria a 100 °C, as amostras foram rapidamente resfriadas em banho de gelo, e foi adicionado 1,5 mL de n-butanol. A amostra foi homogeneizada por 30 segundos em vortex e centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos. As absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 532 nm. A quantificação foi feita utilizando-se uma curva de calibração com 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP).

4.6.7 Determinação da capacidade antioxidante total (TAS)

O kit comercial de ABTS (RANDOX, Irlanda) foi utilizado na determinação dos níveis de TAS no soro dos voluntários. A reação baseia-se na oxidação do composto ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)] o qual é incubado com uma peroxidase (metamioglobina) e H_2O_2 , a fim de produzir o cátion radical $ABTS^{\bullet+}$.

A $ABTS^+$ produz uma coloração azul estável, medida a 600 nm, conforme descrito no manual do fabricante. A presença de antioxidantes na amostra causa uma supressão da oxidação do composto ABTS, levando a redução da intensidade da cor da solução a um grau que é proporcional à sua concentração. As determinações foram realizadas em triplicata.

4.7 Análise estatística

Os resultados apresentados foram analisados e apresentados como média e desvio padrão utilizando o programa GraphPad Prism 5 Demo. Para verificar se houve diferença estatisticamente significativa foi aplicado o teste t de *Student* pareado com significância de 5% entre a análise de todos os valores obtidos nos T=0 e T=60. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando o $p \leq 0,05$.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Voluntários que participaram do estudo

Para essa pesquisa foram previamente selecionados 85 voluntários de ambos os sexos com idade média de 24 anos (homens 24 ± 6 e mulheres $22,6 \pm 6$). Após exclusão de alguns voluntários que não preencheram os critérios para a pesquisa restaram 60 voluntários os quais foram classificados em dois grupos, normolipidêmicos (NL) com $n=42$ (2 homens e 40 mulheres), e hiperlipidêmicos (HL) com $n=18$ (8 homens e 10 mulheres).

Para a classificação do grupo NL consideramos níveis de colesterol total < 200 mg/dL, LDL < 160 mg/dL, HDL ≥ 35 mg/dL e TG < 150 mg/dL. Para a classificação do grupo HL foi considerado colesterol total > 200 mg/dL, (máximo de 265 mg/dL), LDL acima de 160mg/dL (máximo de 300mg/dL) e/ou TG acima de 150 mg/dL (máximo de 246 mg/dL), conforme IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Sposito *et al.*, 2007).

5.2 Potencial antioxidante da *Ilex paraguariensis*

5.2.1 Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no soro e na LDL

Uma das técnicas mais utilizadas para se avaliar a oxidação de lipídeos é o teste do malondialdeído (MDA). O MDA é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados por cisão *beta* dos AGPI peroxidados, principalmente o ácido araquidônico. É volátil, possui baixo peso molecular ($C_3H_4O_2$, P.M. = 72,07), tem uma cadeia curta 1,3-dicarbonil e é um ácido moderadamente fraco ($pK_a = 4,46$). Em condições apropriadas de incubação (meio ácido e aquecimento), reage eficientemente com uma variedade de agentes nucleofílicos para produzir cromógenos com alta absorvidade molar no espectro visível (Janero, 1990; Benzie, 1996).

Conforme demonstrado na Tabela 1, os resultados apresentam uma redução significativa nos valores de TBARS após a ingestão de mate no soro dos voluntários pertencentes ao grupo HL, quando comparados com pessoas cujos valores de lípides séricos não estavam alterados (grupo NL).

Os resultados sugerem uma importante proteção do mate contra a oxidação lipídica em pacientes com níveis aumentados de colesterol. Por outro lado, não foi verificada uma diferença significativa nos níveis de TBARS na LDL isolada de voluntários do grupo HL após a ingestão.

Tabela 1 – Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no soro e na LDL isolada dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetro	Grupo NL (n=16)*		Grupo HL (n=12)**	
	T=0	T=60	T=0	T=60
Soro	4.9 ± 0.6 ^a	5.2 ± 0.8 ^a	11.8 ± 1.8 ^b	5.6 ± 0.7 ^a
LDL isolada	ND***	ND	0.15 ± 0.06 ^a	0.10 ± 0.04 ^a

*NL = Normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=16).

** HL = Hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

***ND não determinado

Valores de probabilidade obtidos por teste *t* pareado ($p < 0,05$). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre as medidas

Resultados semelhantes ao encontrado no presente trabalho foram relatados por Matsumoto *et al.*, (2008) após a administração de chá mate tostado (5.0 g/500mL de água) em mulheres sadias onde a concentração de malonaldeído reduziu significativamente após 1 hora e 7 dias de suplementação.

5.2.2 Medida de oxidação da LDL após desafio oxidativo

As principais metodologias utilizadas para a avaliação da LPO em sistemas biológicos medem a formação de produtos gerados durante as diferentes fases deste processo. Portanto, é importante utilizar as várias técnicas disponíveis, pois a sua escolha dependerá do propósito do investigador, ou seja, da fase do processo de LPO que se pretenda avaliar.

O processo de oxidação da LDL *in vitro* foi realizado pela medida do tempo de indução (*lag time*) da peroxidação dos ácidos graxos, monitorado espectrofotometricamente, por intermédio da absorção das duplas ligações conjugadas dos ácidos graxos oxidados na região ultravioleta ($\lambda = 230$ nm) (dienos conjugados).

Conforme demonstrado na Tabela 2, após a indução à oxidação da LDL com sulfato de cobre e posterior monitoramento da formação de dienos conjugados, pode-se observar que houve um aumento no tempo de latência (*lag time* medido em minutos) da oxidação da partícula de LDL em ambos os grupos após a ingestão de mate, embora os níveis de dienos (nmol/min/mg LDL) não apresentassem alterações. Interessante notar que o valor de *lag time* obtido para o grupo HL após ingestão de mate (27 ± 1.8 min) foi similar ao obtido para o grupo NL no tempo zero (30 ± 1.3 min).

É importante salientar que um *lag time* mais longo demonstra uma reduzida suscetibilidade da partícula de LDL para oxidar, ocasionada por uma maior concentração de antioxidantes, enquanto que, um *lag time* menor representa que a partícula de LDL leva menos tempo para oxidar, pela menor presença de antioxidantes. Isto sugere que o mate foi capaz de aumentar a resistência a oxidação lipídica da LDL em pacientes com níveis aumentados de colesterol.

Tabela 2 – *Lag time* de oxidação da LDL e medida de dienos conjugados dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60).

Parâmetros	Grupo NL (n=4)*		Grupo HL (n=3)**	
	T=0	T=60	T=0	T=60
<i>Lag time</i> (min)	30 ± 1.3 ^a	46 ± 2.1 ^b	16 ± 2.2 ^c	27 ± 1.8 ^a
Dienos conjugados (nmol/min/mg LDL)	4.7 ± 0.9 ^a	4.0 ± 0.6 ^a	5.9 ± 0.7 ^a	5.2 ± 0.7 ^a

*NL = normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=4).

**HL = hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=3).

Valores de probabilidade obtidos por teste *t* pareado ($p < 0,05$). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre as medidas

Os primeiros estudos do potencial antioxidante da erva mate verde na LDL em ensaio *ex vivo* foram publicados por Gugliucci e Stahl (1995) e Gugliucci (1996).

Laranjinha *et al.*, (1994) e Vinson e Dabbagh, (1998) verificaram o efeito do ácido clorogênico na diminuição da oxidação *in vitro* de LDL, sendo comparado ao efeito encontrado para as Vitaminas E, C e β -Caroteno. Essa ação antioxidante é devida à presença de um grupamento orto-di-hidroxila no anel aromático do ácido cafeico, que atuaria como um acceptor de radicais livres, participando na fase de iniciação e de propagação do processo oxidativo (Monteiro e Trugo, 2005).50mg

Silva *et al.*, (2008) relataram, após estudo em humanos (n=12), uma resistência a oxidação, tanto do plasma total quanto da LDL dos voluntários que ingeriram 500mL de chá-mate (50mg/mL) ao dia comparando-se ao tempo basal (T=0).

5.2.3 Determinação da capacidade antioxidante total (TAS) do soro

Os resultados dos níveis de TAS medidos no soro dos grupos NL e HL antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60) estão demonstrados na Tabela 3.

Um incremento estatisticamente significativo dos níveis de TAS foi observado em ambos os grupos após a ingestão de mate, sugerindo que o houve um aumento da defesa antioxidante nos grupos NL e HL em presença do mate.

Tabela 3 – Medida da Capacidade Antioxidante Total no soro dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetro	Grupo NL (n=16)*		Grupo HL (n=12)**	
	T=0	T=60	T=0	T=60
TAS (µmol/L)	426.1 ± 38.6 ^a	718.0 ± 18.5 ^b	447.9 ± 33.3 ^a	687.4 ± 38.4 ^b

*NL = Normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=16).

**HL = Hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

Valores de probabilidade obtidos por teste *t* pareado ($p < 0,05$). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre as medidas

Nossos resultados corroboram com outros estudos que usaram alimentos ricos em compostos fenólicos, como por exemplo o chá verde e o vinho tinto, Erba *et al.*, (2005) verificaram que o consumo de duas xícaras de chá verde promoveu uma melhora no estado antioxidante plasmático de indivíduos saudáveis. Essa resposta tem sido atribuída ao aumento do ácido úrico plasmático, o qual é responsável por cerca de 60% da atividade antioxidante total do plasma (Benzie e Strain 1996; Manah *et al.*, 2004).

Da mesma maneira Sang *et al.*, (2005) confirmaram o aumento do *status* antioxidante plasmático após a ingestão moderada de vinho tinto em jovens e idosos saudáveis. Outro estudo sugere que o café, logo após sua ingestão, pode elevar a capacidade antioxidante plasmática de indivíduos saudáveis (Natella *et al.*, 2002).

Confirmando que a *status* antioxidante pode mudar através da dieta, Thompson *et al.*, (2005) avaliaram dois grupos distintos e perceberam um incremento no TAS dos voluntários que fizeram ingestão rica em vegetais e frutas por duas semanas.

Isso nos leva a sugerir que a ingestão regular do chá-mate pode incrementar o potencial de defesa antioxidante do organismo. O mecanismo de ação proposto relaciona-se possivelmente com os altos teores de ácido cafeico e clorogênico presentes no mate (Bastos *et al.*, 2007), os quais são capazes de quelar metais e sequestrar os radicais livres formados durante o processo oxidativo (Gugliucci e Menini, 2002).

5.2.4 Quantificação das enzimas antioxidantes

Conforme observado na Tabela 4, a atividade da enzima SOD apresenta um aumento significativo tanto no grupo NL como no HL após ingestão do mate. Esse fato reforça a idéia que os componentes bioativos presentes no chá mate (*Ilex paraguariensis*) têm propriedades antioxidantes, visto que a enzima alterada é responsável pelo combate aos radicais livres presentes em concentrações exacerbadas no organismo, e conseqüentemente combate a oxidação celular.

Por outro lado os resultados mostram que os níveis eritrocitários da enzima GPx não sofreram alterações após a ingestão de mate nos dois grupos analisados.

Tabela 4 – Efeito da intervenção com chá mate na atividade das enzimas antioxidantes eritrocitárias dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetros	Grupo NL (n=16)		Grupo HL (n=12)	
	T=0	T=60	T=0	T=60
SOD (U/L)	39.7 ± 11.3 ^a	67.8 ± 9.3 ^b	29.4 ± 6.5 ^a	58.8 ± 5.8 ^b
GPx (U/L)	1585 ± 63.3 ^a	1626 ± 135.7 ^a	1502 ± 48.7 ^a	1545 ± 83.5 ^a

*NL = normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=16).

**HL = hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

Valores de probabilidade obtidos por teste *t* pareado ($p < 0,05$). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre as medidas

Diversas pesquisas indicam que as defesas antioxidantes naturais (endógenas) podem ser reforçadas pela introdução de compostos fenólicos advindos da dieta. Além da sua atividade antioxidante direta, vários outros estudos têm destacado múltiplas funções e mecanismos importantes relacionados à habilidades dos compostos fenólicos de se ligarem a receptores celulares e transportadores de membrana e influenciarem a expressão gênica de enzimas, a sinalização e a adesão celular (Giada e Mancini, 2006; Frei e Higdon, 2003). Matsumoto *et al.* (2009) relataram que ingesta aguda (7dias) de chá-mate promoveu uma aumento da expressão gênica das enzimas SOD, GPx e CAT.

Outros estudos já haviam demonstrado que a dieta enriquecida com frutas e ervas ricas em flavonóides aumentava a atividade das enzimas SOD e GPx em eritrócitos humanos (Ross e Kasum, 2002).

5.3 Determinação dos parâmetros bioquímicos

5.3.1 Glicemia

Na tabela 5 podemos observar que não houve alterações na glicemia de jejum dos dois grupos (NL e HL) após a ingestão de mate.

Tabela 5 – Dosagem sorológica da glicemia de jejum dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetro (mg/dL)	Grupo NL (n=48)*		Grupo HL (n=12)**	
	T = 0	T = 60	T = 0	T = 60
Glicose	80 ± 6.4	89 ± 7.5	86 ± 6.6	89 ± 5.8
Valores de referência	60 à 99			

*NL = normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=48).

**HL = hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

Experimentos em humanos utilizando a *Ilex paraguariensis* para redução da glicose são escassos. Por outro lado, experimentos em animais têm demonstrado que após intervenção de chá mate (na concentração de 1g/kg) por 60 dias houve uma

redução significativa do peso corpóreo, glicemia, colesterol, TG e resistência a insulina em animais obesos (Arçari *et al*, 2009).

Sabe-se que entre as qualidades nutricionais da erva mate, destaca-se a presença do cromo. Este mineral participa ativamente do metabolismo de carboidratos, principalmente co-atuando com a insulina, melhorando a tolerância à glicose. Sugere-se que a redução plasmática de glicose promovida pela *Ilex paraguariensis* seja decorrente da presença do cromo, o qual facilita a interação da insulina com os tecidos por formar um complexo com o dissulfeto da cadeia do hormônio (Gomes *et al.*,2005).

As divergências de nossos resultados com outros relatos da literatura podem ser atribuídas as concentrações administradas (frequência e dose de ingesta diária), além das variações dos componentes da dieta dos voluntários.

5.3.2 Perfil lipídico

No presente estudo, foram efetuadas as dosagens de colesterol total, LDL, VLDL, HDL e TG. Na tabela 6 podemos observar que não houve alterações no perfil lipídico dos dois grupos (NL e HL) após a ingestão de mate. Embora seja observada uma tendência na redução dos níveis séricos de colesterol total dos voluntários hiperlipidêmicos após a ingestão de chá mate, as diferenças entre os valores antes e após 60 dias não são estatisticamente significativos.

Em um estudo recente realizado pelo nosso grupo (Martins *et al.*, 2010), utilizando camundongos obesos após ingesta de dieta hiperlipídica foi verificado que o chá mate promoveu a redução significativa do peso corpóreo dos animais e dos valores séricos de lípides sanguíneos, devido a capacidade de inibir a atividade da lipase pancreática analisada em ensaios *in vitro*.

Tabela 6 – Dosagem sorológica do perfil lipídico dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetros (mg/dL)	Grupo NL (n=42)*		Grupo HL (n=12)**	
	T=0	T=60	T=0	T=60
Colesterol total	176 ± 31.5	181 ± 27.7	222.5 ± 26.8	196.9 ± 34.2
Valores de referência	≤ 200 mg/dL			
LDL-colesterol	101 ± 23.8	101.5 ± 26.0	143.9 ± 25.6	139.3 ± 24.9
Valores de referência	≤ 130 mg/dL			
VLDL-colesterol	19.0 ± 10.2	19.5 ± 8.7	18.5 ± 9.1	20.5 ± 12.6
Valores de referência	até 40 mg/dL			
HDL-colesterol	53.5 ± 11.2	56.5 ± 12.5	40.5 ± 16.4	42.5 ± 18.8
Valores de referência	> 59 mg/dL			
Triglicérides	95.5 ± 30.2	97.5 ± 43.7	146.8 ± 38.9	138.5 ± 37.8
Valores de referência	< 150 mg/dL			

*NL = normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=42).

**HL = hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

Diferente do que foi observado no presente trabalho, Morais *et al.* (2009) demonstraram resultados estatisticamente significativos na redução dos parâmetros de lipídios séricos de voluntários normolipidêmicos (NL) e hiperlipidêmicos (HL) após a ingestão da erva mate de 330 mL 3 vezes ao dia sendo avaliados em 20 e 40 dias. Seus resultados demonstraram que ambos os grupos apresentaram redução do colesterol, (de 10 a 13 %) além de apresentar um pequeno incremento nos níveis de HDL (6,2%).

Alguns autores descreveram que as saponinas possuem ação sobre o metabolismo do colesterol e também são capazes de reduzir a absorção intestinal da gordura proveniente da dieta atuando principalmente na ação da lipase pancreática (Kim *et al.*, 1996).

5.3.3 Marcadores de função hepática e renal

Nas tabelas 7 e 8 podemos observar que não houveram diferenças significativas nos valores dos marcadores de função hepática e renal após a ingestão de chá.

Tabela 7 – Dosagem sorológica dos marcadores de função hepática dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetros (UI)	Grupo NL (n=20)*		Grupo HL (n=12)**	
	T=0	T=60	T=0	T=60
ALT	20 ± 11.2	20 ± 11.1	19 ± 7.9	20.8 ± 8.4
Valores de referência	até 41			
AST	19 ± 5.7	19.5 ± 7.4	18.5 ± 8.2	19.3 ± 5.4
Valores de referência	até 40			

*NL = normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=20).

**HL = hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

UI = unidades internacionais

Tabela 8 – Dosagem sorológica dos marcadores de função renal dos grupos normo (NL) e hiperlipidêmicos (HL) antes (T=0) e após ingestão do mate (T=60)

Parâmetros	Grupo NL (n=20)*		Grupo HL (n=12)**	
	T=0	T=60	T=0	T=60
Uréia (mg/dL)	28 ± 6.2	28 ± 5.9	27.5 ± 6.7	26.9 ± 3.3
Valores de referência	de 10 à 50			
Creatinina (mg/dL)	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3
Valores de referência	de 0.6 à 1.3			

*NL = normolipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=20).

**HL = hiperlipidêmicos valores expressos como Média ± DP (n=12).

A uréia é um produto do catabolismo de aminoácidos e proteínas, sendo a principal fonte de excreção de nitrogênio do organismo pela urina, enquanto que a creatinina é o resultado do metabolismo da creatina. A determinação sérica destes compostos é um parâmetro de rastreamento importante e empregado para avaliar a filtração glomerular. Podemos sugerir também que a ingestão crônica do chá mate, nas condições usadas no presente trabalho não promove lesão no tecido hepático.



CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que o consumo do chá mate pode ser uma excelente alternativa como fonte de antioxidantes naturais na dieta em humanos. Nas condições testadas no presente trabalho, os constituintes do mate mostraram inibir a lipoperoxidação; seja pelo aumento da defesa antioxidante verificado pelo aumento nos níveis de TAS e na atividade da enzima antioxidante SOD nos dois grupos analisados (grupos NL e HL), seja na diminuição da oxidação dos lípides séricos e na redução da suscetibilidade da LDL à oxidação verificada somente no grupo HL. Este grupo mostrou melhor resposta na prevenção da lipoperoxidação quando suplementado com o mate comparado ao grupo NL.

Com isso podemos concluir que os componentes presentes no chá mate, atuando por diferentes mecanismos, podem reduzir ou neutralizar as EROs resultando em modificações do estado redox celular, podendo ser usado como um meio eficaz e econômico para suplementar a dieta com compostos que aumentem o sistema de defesa antioxidante do organismo.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIKARIDIS, F. Constituintes naturais do *Ilex* espécies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 20, p.121-144, 1997.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, v. 350, n.1, p.103-108, 1996.

ARÇARI, D. P. **Efeitos Biológicos do Consumo do Chá-Mate (*Ilex paraguayensis*) frente a obesidade em camundongos**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Curso de Programa de Pós Graduação de Nutrição em Saúde Pública, Departamento de Nutrição, Universidade de São Paulo, Bragança, 2009.

AVOGARO, P.; BON, G. B.; CAZZOLATO, G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. **Arteriosclerosis**, v. 8, p. 79-87, 1988.

BAISCH A.; JOHNSTON, F.L.; STEIN, P. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1998.

BASTOS, D. H. M.; OLIVEIRA, D. M.; MATSUMOTO, R. L. T.; CARVALHO, P. O.; RIBEIRO, M. L. Yerba maté: Phamacological properties, Research and Biotechnology. **Medical and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, v.1, p. 37-46, 2007.

BASTOS, D. H. M.; TORRES, E. A. F. S. Mate (*Ilex paraguayensis*) beverages and public health. **Nutrire Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 26, p.77-89, 2003.

BASTOS D. H. M.; FORNARI A. C.; QUEIROZ Y. S. de; SOARES R. A. M.; TORRES E. A. F. S. The Chlorogenic Acid and Caffeine Content of Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) Beverages. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 91-5, 2005.

BENZIE, I. F. F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 233-261, 1996.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BERLINER, J. A.; TERRITO, M. C.; SEVANIAN, A.; RAMIN, S.; KIM, J. A.; BAMSHAD, B.; ESTERSON, M.; FOGELMAN, .A M. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 85, n. 4, p. 1260-6, 1990.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p.123-130, 1999.

BOVERIS, A.; CADENAS, E. **Cellular sources and steady-state levels of reactive oxygen species**. In: Clerck L and Massaro D. Oxygen, Gene Expression and Cellular. Marcel Dekker, v. 105, p. 1-25, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. (org.). **Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998**: Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de "Chás - Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções", D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 29 de junho de 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. (org.). **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº. 277, de 22 de setembro de 2005**: "Regulamento Técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis". D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.

CAMPOS, A. M. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Ilex paraguariensis* St. Hil. Aquifoliácea (erva mate)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia da universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 1996.

CARINI, M.; FACINO, R. M.; ALDINI, G.; CALLONI, M.; COLOMBO, L. Characterization of phenolic antioxidants from maté (*Ilex paraguayensis*) by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 12, p. 1813-1819, 1998.

CHANDRA, S.; MEJIA, E. G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinine reductase activity of aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3583-3589, 2004.

CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia. **Gulbenkian**, p. 460-461, 2003.

DIAZ, M. N.; FREI, B.; VITA, J. A.; KEANEY, J. F. Antioxidants and Atherosclerotic Heart Disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 337, p. 1158-1166, 1997.

ERBA, D.; RISO, P.; BORDONI, A.; FOTI, P.; BIAGI, P. L.; TESTOLIN, G. Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.6, n. 3, p. 144-149, 2005.

ESCARPA, A.; GONZALES, M. C. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 31, p.57-69, 2001.

- ESTERBAUER, H.; WÄG, G.; PUHL, H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. **British Medical Bulletin**, v. 49, n. 3, p. 566-76. 1993.
- ESTERBAUER, H.; DIEBER-ROTHENEDER, M.; WAEG, G.; STRIEGL, G.; JÜRGENS, G. Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. **Chemical Research in Toxicology**, v.3, n.2, p.77-92. 1990.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FILIP, R.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.
- FREI, B.; HIGDON, J. V. Antioxidant activity of tea polyphenols *in vivo*: evidence from animal studies. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3275S-84S, 2003.
- GIADA, M. L. R.; MANCINI, F. J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, p. 7-15, 2006.
- GILLER, G.; SINGLER, K. Oxidative stress and living cells. **Folia Microbiologica**, v. 40, n. 2, p. 131-152, 1995.
- GOMES, M. R. M.; ROGERO, M.; TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 262-266, 2005.
- GORZALCZANY, S.; FILIP, R.; ALONSO, M. D. R.; MIÑO, J.; FERRARO, G. E.; ACEVEDO, C. Choleric effect and intestinal propulsion of "mate" (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p. 291-294, 2001.
- GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis* induction of decreased oxidability of human LDL *in vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 224, p. 338-344, 1996.
- GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited *in vitro* by water extracts of the medicinal herb: *Achyrocline satureoides*. **Life Sciences**, v. 85, p. 693-705, 2002.
- GUGLIUCCI, A.; STAHL, A. J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry & Molecular Biology International**, v. 35, p. 47-56, 1995.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3.ed. New York: Oxford University, 1999. 936 p.

HAVEL, R. J.; EDER, H. A.; BRAGDON, J. H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 34, p. 13345 – 1353, 1955.

HENRIKSEN, T.; MAHONEY, E. M.; STEINBERG, D. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v.78, p. 6499-503, 1981.

HODIS, H. N.; KRAMSCH, D. M.; AVOGARRO, P.; BITTOLO-BON, CAZZALATO, G.; HWANG, J.; PETERSON, H.; SEVANIAN, A. Biochemical and cytotoxic characteristics of an *in vivo* circulating oxidized low density lipoprotein (LDL). **Journal of Lipid Research**, v. 35, n. 4, p. 669-77, 1994.

HSIEH, R. J.; KINSELLA, J. E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 33, p. 233-341, 1989.

JANERO, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 9, p. 515-540, 1990.

KANNER, J.; KINSELLA, J. E. Initiation of lipid peroxidation by a peroxidase/hydrogen peroxide/halide system. **Lipids**, v. 18, p. 204-210, 1983.

KIM, J.K.; WI, J.K.; YOUN, J.H. Metabolic impairment precedes insulin resistance in skeletal muscle during high-fat feed in rats. **Diabetes**, v. 45, p. 651-658, 1996.

KROON, P. A.; WILLIAMSON, G. Hydroxycinnamates in plant and food: current and future perspectives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 79, n. 3, p. 355-361, 1999.

LARANJINHA, J. A.; ALMEIDA, L. M.; MADEIRA, V. M. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: antioxidant activity upon low lipoprotein peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v. 48, p. 487-494, 1994.

LIMA, L. R. P.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Efeitos do flavonóide quercetina e dos corantes bixina e norbixina sobre parâmetros sanguíneos de coelhos. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 3, p. 305-314, 2003.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, L. A.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.

MAHLEY, R. W.; WEISGRABER, K. H.; FARESE, R. V. Disorders of lipid metabolism. In: **Williams Textbook of Endocrinology**, 10. Ed., New York: Elsevier Science, p.1646-52, 2003.

MARTINS, F.; SUZAN A. J.; CERUTTI S. M.; ARÇARI D. P.; RIBEIRO M. L.; BASTOS D. H. M.; CARVALHO P. O. Consumption of mate tea (*Ilex paraguariensis*) decreases the oxidation of unsaturated fatty acids in mouse liver. **British Journal of Nutrition**, v. 101 (4), p.527-532, 2009.

MARTINS, F.; NOSO, T. M.; PORTO, V. B.; CURIEL, A.; GAMBERO, A.; BASTOS, D. H. M.; RIBEIRO, M. L.; CARVALHO, P. O. Maté tea inhibits *in vitro* pancreatic lipase activity and has hypolipidemic effect on high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, v. 18 (1), p.42-47, 2010.

MARTINS, M. M. R. **Influência da atividade física e do ambiente sobre os níveis de glutatona peroxidase e perfil lipídico em grupo de terceira idade**. Dissertação (Mestrado). Novo Hamburgo: Centro Universitário Fevale; 2007.

MATSUMOTO, R. L. T.; BASTOS, D. H. M.; MENDONCA, S.; NUNES, V. S.; BARTCHEWSKY Jr., W.; RIBEIRO, M. L.; CARVALHO, P. O. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1775-1780, 2009.

McCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, v. n.11, p. 25, 1985.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, n.1, p 1-11, 2002.

MICALLEF, M.; LEXIS, L.; LEWANDOWSKI, P. Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans. **Nutrition Journal**, v. 24, n. 6, p. 27-32, 2007.

MIRANDA, D. D. C.; ARCARI, D. P.; PEDRAZZOLI Jr, J.; CARVALHO, P. O.; CERUTTI, S. M.; BASTOS, D. H. M.; RIBEIRO, M. L. Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H₂O₂-induced DNA damage and DNA repair in mice. **Mutagenesis**, v. 23, p. 261-265, 2008.

MONTEIRO, M. C.; TRUGO L. C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p.647-641, 2005.

MORAIS, E. C.; ALINY, S.; GRAZIELA, A. K.; BOAVENTURA, B. C. B.; ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; PIETRO, P. F.; MARASCHIN, M.; SILVA, E. L. Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8316-24, 2009.

NATELLA, F.; NARDINI, M.; GIANNETTI, I.; DATTOLO, C.; SCACCINI, C. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6211-6, 2002.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. J. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 70, n.1, p. 158 – 169, 1967.

PROJETO PLATAFORMA DA ERVA MATE NO PARANÁ. MCT/CNPq/PADCT Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva Mate, Curitiba, Paraná. In: **Produtos Alternativos e Desenvolvimento Industrial na Cadeia Produtiva da Erva Mate**, série PADCT nº 1 e Patentes Industriais e as Prioridades para os Investimentos Tecnológicos na Cadeia Produtiva da Erva Mate, serie PADCT nº 2, agosto 2000.

ROJKIND, M.; DOMÍNGUEZ, R. J.; NIETO, N. GREENWEL, P. Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. **Cellular and Molecular Life Science**, v. 59, p.1872-1891, 2002.

ROMERO, F. J.; BOSCH-MORELL, F.; ROMERO, M. J.; JAREÑO, E. J.; ROMERO, B.; MARÍN, N.; ROMÁ, J. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 106, p.1229-1234, 1998.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. **Annual Reviews of Nutrition**, n. 22, p.19-34. 2002.

ROVER, Jr L.; HOEHR, N. F.; VELASCO, A. P.; KUBOTA, L T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quimica Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

SANCHEZ, Q. J. L.; BENITEZ, S.; ORDONEZ, L. J. Electronegative low-density lipoprotein. **Current Opinion in Lipidology**, v. 15, p. 329-35, 2004.

SANG, S.; HOU, Z., LAMBERT, J. D.; YANG, C. S. Redox properties of tea polyphenols and related biological activities. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 7, n. 11-12, p. 1704-14, 2005.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

SILVA, E. L.; NEIVA, T. J. C.; SHIRAI, M.; TERAQ, J.; ABDALLA, D. S. P. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. **Food Research International**, v. 41 (10), p. 973-979, 2008.

SOUZA, M. P. **Constituintes Químicos Ativos de Plantas Medicinais Brasileiras**, Editora da UFC, p.515, 1991.

- SPITELLER, P.; SPITELLER, G. Strong dependence of lipid peroxidation product spectrum whether Fe^{2+}/O^2 or Fe^{3+}/O^2 is used as oxidant. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1392, p. 23-40, 1998.
- SPOSITO, A.C. (coord. geral). IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.88, supl. Abr, 2007.
- STRYER, L. **Biosynthesis of membrane lipids and steroids**. In: Stryer L, editor. Biochemistry. 4^a Ed., New York: WH Freeman, p.697-8, 1996.
- THOMPSON, H. J.; HEIMENDINGER, J.; GILLETTE, C.; SEDLACEK, S. M.; HAEGELE, A.; O'NEILL, C.; WOLFE, P. *In vivo* investigation of changes in biomarkers of oxidative stress induced by plant food rich diets. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 53, p. 6126-6132, 2005.
- VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quimica Nova**, v. 30, p. 1323-1338, 2007.
- VINSON, J. A.; DABBAG, Y. A. Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. **Nutrition Research**, v. 18, p. 1067-107, 1998.
- WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIATH, J. E. A.; TARASCONI, L. C. **Erva mate: Biologia e Cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Editora da universidade/ UFRGS, 1995, p. 356.
- WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 305, p.729-736, 2003.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crônicas**: Informe de un grupo de estudio de La OMS. Geneva: Food and Agriculture Organization/World Health Organization; 1990. (Serie de Informes técnicos 797).
- YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Reviews**, v. 74, p. 139-61, 1994.
- YU, T. W.; ANDERSON, D. Reactive oxygen species induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, v. 379, n. 2, p. 201-210, 1997.

8. ANEXOS

ANEXO 1 QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO GERAL

Número da Ficha: _____ Nome (iniciais): _____

1. Sexo: fem () masc ()

2. Idade: _____

3. Endereço: _____

Tel contato: _____

4. Instrução: _____

Está estudando? Sim () não () Trabalha? Sim () não ()

Tipo de serviço: _____

I. Antecedentes pessoais:

a) **Álcool:** sim () não () socialmente ()

Tipo bebida: _____

Quantidade: _____

b) **Medicamentos:** sim () não () Qual _____

c) **Doenças anteriores/ internações/ cirurgias:**

II. Antecedentes Familiares

a) **Tem familiares doentes na família?** Sim () não ()

b) **Familiar:** _____ Doença: _____

Familiar: _____ Doença: _____

Familiar: _____ Doença: _____

III. Histórico Alimentar:

a) **Consumo de sal:** () menos 1 col/dia () 1 col/dia () 2col/dia () 3col/dia

b) **Carne vermelha:** () 1X/dia () 2X/dia () 3X/dia

Por refeição: () 1 bife () 2 bifos () 3 bifos

c) **Café:** () 1 xícara/dia () 2 xícaras/dia () 3xícaras/dia () 4xícaras/dia
() 5 xícaras/dia () mais 5 xícaras/dia

d) **Chá mate:** () 1 copo/dia () 2 copos/dia () 3 copos/dia () 4 copos/dia

Temperatura: () gelado () frio () quente () muito quente

e) **Chocolate:** () Bombom- quantidade/dia: _____ () Chocolate em barra-quantidade/dia: _____

f) **Condimentos na alimentação:** () diariamente () eventualmente

g) **Faz quantas refeições/dia?** () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

h) **Substitui lanches pela refeição?** () sim () não

Freqüência: () diariamente () eventualmente

ANEXO 2 CONTROLE DOS EXAMES DE SANGUE

Número Ficha: _____

Nome: _____ CPF: _____

Nome (Sigla): _____ Início da Ingestão Chá : _____ Mate: _____

Dados	Período/Data					
	Pré		30 dias		60 dias	Após 30 dias
	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__
Hemograma	Hemoglobina					
	Hematócrito					
	Eritrócitos					
	Leucócitos					
	Neutrófilos					
	Eosinófilos					
	Basófilos					
	Monócitos					
	Linfócitos					
	Plaquetas					
Bioquímica	Uréia					
	Creatinina					
	Glicose					
	ALT					
	AST					
	Colesterol					
	LDL					
	TG					
Peso						
Altura						
IMC						
PA						
Estado Saúde *						

* (1) Saudável (2) Gripe/resfriado (3) dor constante (4) Infecção (5) outra doença

ANEXO 3 FICHA DE CONTROLE DA INGESTÃO DO CHÁ MATE

Nome (Sigla):_____ Número Ficha:_____ Nome (Iniciais)_____

Número:_____ Início da Ingestão Chá Mate:_____

Dia	Ingestão Chá Mate				Coleta Exame	
	Data	Local	*Estado Voluntário	Assinatura Voluntário	Data coleta sangue	Assinatura Voluntário
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						

Dia	Ingestão Chá Mate				Coleta Exame	
	Data	Local	*Estado Voluntário	Assinatura Voluntário	Data Coleta sangue	Assinatuta Voluntário
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						
39						
40						
41						
42						
43						
44						
45						
46						
47						
48						
49						
50						
51						
52						
53						
54						
55						
56						
57						
58						
59						
60						

* (1) Saudável (2) Gripe/resfriado (3) dor constante (4) Infecção (5) outra doença

ANEXO 4. AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

A aferição da Pressão Arterial deverá seguir os seguintes critérios:

1. Explicar o procedimento ao voluntários;
2. Repousar 5 minutos antes da aferição em ambiente calmo;
3. Certificar-se que o paciente não está com a bexiga cheia; praticou exercícios físicos; ingeriu bebidas alcoólicas, café, alimentos ou fumou até 30 minutos antes;
4. Manter pernas descruzadas e braço na altura do coração;
5. Solicitar que não fale durante o procedimento;
6. Usar manguito de tamanho adequado (bolsa de borracha com largura = 40% e comprimento = 80% da circunferência do braço);
7. Palpar o pulso radial e inflar até seu desaparecimento para a estimar a sistólica;
8. Posicionar a campânula do estetoscópio sobre a artéria braquial;
9. Inflar rapidamente até ultrapassar 20 a 30 mmHg o nível estimado da pressão sistólica;
10. Desinflar lentamente;
11. Determinar a sistólica no aparecimento dos sons e a diastólica no desaparecimento dos sons.
12. Não arredondar os valores para dígitos terminados em zero ou cinco.

Classificação da pressão arterial (>18 anos) e recomendações para seguimento com prazos máximos, modificados de acordo com a condição clínica do paciente.			
Classificação	Sistólica	Diastólica	Seguimento
Ótima	< 120	< 80	Reavaliar em 1 ano
Normal	< 130	< 85	Reavaliar em 1 ano
Limítrofe	130-139	85-89	Reavaliar em 6 meses*
Hipertensão			
Estágio 1 (leve)	140-159	90-99	Confirmar em 2 meses*
Estágio 2 (moderada)	160-179	100-109	Confirmar em 1 mês *
Estágio 3 (grave)	> 180	> 110	Intervenção imediata ou reavaliar em 1 semana*
Sistólica isolada	> 140	< 90	
* Quando a sistólica e diastólica estão em categorias diferentes, classificar pela maior.			
Considerar intervenção de acordo com fatores de risco maiores, co-morbidades.			

* IV Diretriz de Pressão Arterial da Sociedade Brasileira de Hipertensão

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](#)