

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
FACULDADE DE MEDICINA
MESTRADO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

LUDMILA FERREIRA MEDEIROS DE FRANÇA CARDOZO

**EFEITOS DO CONSUMO MATERNO DA SEMENTE DE LINHAÇA
DURANTE A LACTAÇÃO NO PERFIL LIPÍDICO E NA MORFOLOGIA
DA PRÓSTATA DE RATOS NA IDADE ADULTA.**

NITERÓI
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

LUDMILA FERREIRA MEDEIROS DE FRANÇA CARDOZO

**EFEITOS DO CONSUMO MATERNO DA SEMENTE DE LINHAÇA DURANTE A
LACTAÇÃO NO PERFIL LIPÍDICO E NA MORFOLOGIA DA PRÓSTATA DE
RATOS NA IDADE ADULTA.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Atenção Integrada à Criança.

Orientador: Prof. Dr. GILSON TELES BOAVENTURA

NITERÓI

2009

C268 Cardozo, Ludmila Ferreira Medeiros de França

Efeito do consumo materno da semente de linhaça durante a lactação na próstata de ratos na idade adulta/ Ludmila Ferreira Medeiros de França Cardozo; Orientador: Prof. Dr. Gilson Teles Boaventura – Niterói: 2009.

99f, inclui ilustrações, gráficos e tabelas, 30cm.

Dissertação Mestrado (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente). Universidade Federal Fluminense, 2009.

Bibliografia:f.65-79.

1. semente de linhaça. 2. lactação. 3. próstata. 4. perfil lipídico.I. Boaventura, Gilson Teles [orien.] II.TÍTULO

CDD 583.214

LUDMILA FERREIRA MEDEIROS DE FRANÇA CARDOZO

**EFEITOS DO CONSUMO MATERNO DA SEMENTE DE LINHAÇA DURANTE A
LACTAÇÃO NO PERFIL LIPÍDICO E NA MORFOLOGIA DA PRÓSTATA DE
RATOS NA IDADE ADULTA.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Atenção Integrada à Criança.

Aprovada em 26/03/2009.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Aduino Dutra Moraes Barbosa
Departamento de Materno Infantil/UFF

Prof. Dr. Maurício Alves Chagas
Departamento de Morfologia/UFF

Prof. Dr. Renata Brum Martucci
Instituto de Nutrição/UERJ

Orientador: Prof. Dr. Gilson Teles Boaventura
Departamento de Nutrição e Dietética/UFF

NITERÓI
2009

Dedico este trabalho a Deus, por estar sempre presente em minha vida. Ao meu filho Matheus e meu marido Hugo pelo amor, apoio e compreensão. À minha mãe Marlene pelo incentivo e fé.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, o professor Gilson Teles Boaventura, pela oportunidade, confiança, orientação e estímulo. Muito obrigada!

Ao professor Maurício Alves Chagas pela orientação, estímulo e ajuda prestada durante este trabalho.

À doutoranda Lavínia Leal Soares pela amizade, estímulo, apoio e orientação.

Aos mestrandos André Manoel pela amizade, ajuda prestada e apoio; e Juliana Azevedo pela amizade e colaboração.

Aos alunos de pós graduação do Laboratório de Nutrição Experimental da UFF: Aline Troina, Kátia Lenzi e Juliana Tomaz pela ajuda sempre prestada.

Aos bolsistas de iniciação científica do LABNE e do laboratório de Biomorfologia celular e extracelular, em especial Mariá, Juliana Rosa, Elisa, Anne e Vivian Alves pela ajuda diária, colaboração e nas análises.

Aos bioteristas Clésio e Arindo, e a técnica Solange pela ajuda no cuidado dos animais e análises bioquímicas.

À Coordenação do curso de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho e o apoio prestado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

À Arma Zen Ltda pela doação das sementes para realização deste estudo.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais
volta ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 LINHAÇA	18
2.1.1 Composição	19
2.1.2 Ácidos graxos essenciais	21
2.1.3 Lignanas	24
2.2 LINHAÇA E LACTAÇÃO	25
2.3 LINHAÇA E PROGRAMAÇÃO	27
2.4 LINHAÇA E PRÓSTATA	28
2.5 LINHAÇA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES	31
3 OBJETIVOS	34
3.1 OBJETIVO GERAL	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	35
4.2 RAÇÕES EXPERIMENTAIS	36
4.3 ANÁLISE QUÍMICA DOS PRODUTOS CONSTITUINTES DAS RAÇÕES	38
4.4 AVALIAÇÃO DO VALOR BIOLÓGICO DAS RAÇÕES	39
4.5 EXTRAÇÃO DO LEITE	40
4.5.1 Determinação do crematócrito	40

4.6 MÉTODOS BIOQUÍMICOS	41
4.7 MASSA DE GORDURA VISCERAL	42
4.8 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA PRÓSTATA	42
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5 RESULTADOS	45
6 DISCUSSÃO	56
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
9 APÊNDICE	80
9.1 ARTIGO	82

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

	Pág.
Figura 1	Estrutura dos ácidos graxos essenciais. 21
Figura 2	Esquema da dessaturação e alongação dos ácidos graxos linoléico (18:2n-6) e linolênico (18:3n-3). 22
Figura 3	Estruturas químicas 17 β -Estradiol, secoisolariciresinol, ED e EL. 25
Figura 4	Biossíntese de testosterona. 31
Figura 5	Dietas experimentais utilizadas durante o período de lactação. 37
Figura 6	Dieta comercial utilizada após o período de lactação. 38
Figura 7	Imagem da próstata binarizadas para observar a área alveolar. 43
Figura 8	Imagem do epitélio prostático onde as células foram medidas em quatro pontos diferentes por alvéolo. 44

TABELAS

	Pág.
Tabela 1	Composição a cada 100g das rações utilizadas no ensaio durante a fase de lactação (17% de proteína: AIN-G). 37
Tabela 2	Composição centesimal das rações utilizadas no experimento, representadas em g/100g de dieta. 45
Tabela 3	Consumo alimentar e protéico (g) até o 14° dia e 21° dia de lactação. 46
Tabela 4	Valores das análises bioquímicas dos animais ao final do experimento (170 dias). 54
Tabela 5	Concentração sérica de 17- β estradiol (pg/mL) e testosterona (ng/dL) dos animais aos 170 dias de vida. 54

GRÁFICOS

		Pág.
Gráfico 1	Variação de peso corporal (g) de mães que receberam rações experimentais controle e linhaça durante a lactação (21 dias).	46
Gráfico 2	Evolução do ganho de peso corporal (g) da ninhada cujas mães receberam rações experimentais controle e linhaça durante a lactação (21 dias).	47
Gráfico 3	Crematócrito (%) do leite de ratas que consumiram rações experimentais durante lactação	47
Gráfico 4	Valor de lactância (VL) de ratas que consumiram rações experimentais controle e linhaça durante os primeiros 14 dias de lactação.	48
Gráfico 5	Peso (g) ao desmame de animais cujas mães receberam rações experimentais durante a lactação.	49
Gráfico 6	Evolução de peso corporal (g) dos animais até o 28º dia pós-desmame (49 dias de vida).	49
Gráfico 7	PER de animais cujas mães receberam rações experimentais durante a lactação.	50
Gráfico 8	CEA de animais cujas mães receberam rações experimentais durante a lactação.	51
Gráfico 9	Evolução de peso corporal (g) dos animais até 170 dias de vida.	52
Gráfico 10	Consumo de ração (g) dos animais até 170 dias de vida.	52
Gráfico 11	Massa de gordura visceral (g) aos 170 dias.	53
Gráfico 12	Área alveolar média (mm) da próstata dos animais aos 170 dias.	55
Gráfico 13	Altura epitelial media (μm) da próstata dos animais aos 170 dias.	55

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidônico
AL	Ácido alfa- linoléico
AHA	Associação Americana do Coração
ALA	Ácido alfa-linolênico
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CEA	Coeficiente de Eficácia Alimentar
DCV	Doença cardiovascular
DHA	Ácido docosahexaenóico; 22:6n-3
DHT	Dihidrotestosterona
ED	Enterodiol
EL	Enterolactona
EPA	Ácido eicosapentaenóico; 20:5n-3
GC	Grupo controle
GH	hormônio do crescimento
GL	Grupo linhaça
Hb	Hemoglobina
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
Ht	Hematócrito
IGF-I	Fator de crescimento semelhante a insulina
LabNE	Laboratório de Nutrição Experimental
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
MGV	Massa de gordura visceral
PER	Protein Efficiency Ratio
PUFA	Ácido graxo poliinsaturado
PUFAs	Ácidos graxos poliinsaturados
RE	Receptores de estrogênio
RE β	Receptor de estrogênio β
rpm	Rotações por minutos
SDG	Diglicosídeo secoisolariciresinol
UFF	Universidade Federal Fluminense
VL	Valor de Lactância
VP	Variação de peso

RESUMO

O consumo da linhaça tem aumentado devido ao fato da semente conter componentes que proporcionam efeitos benéficos na saúde e prevenção de doenças. Sendo uma importante fonte de lignana, um fitoestrógeno, que pode causar alterações no aparelho reprodutor masculino. O presente estudo avaliou os efeitos da administração desta semente durante a lactação sobre o crescimento, parâmetros bioquímicos e morfologia da próstata dos filhotes machos na vida adulta. Inicialmente foram utilizadas ratas grávidas Wistar, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental/UFF, mantidos em biotério com temperatura (21-23°C) e ciclo claro-escuro (12/12h) controlados, recebendo água e ração *ad libitum*. O peso e consumo foram coletados três vezes na semana. Após o parto foram aleatoriamente divididas em 2 grupos: Grupo Controle (GC), com ração à base de caseína e Grupo Linhaça (GL), com ração à base de caseína contendo 25% de semente de linhaça. Ao desmame 8 filhotes machos de cada grupo passaram a receber ração comercial até a idade adulta quando foram sacrificados aos 170 dias para a coleta do sangue por punção cardíaca. A próstata retirada foi imediatamente fixada em formol tamponado, depois processada com a técnica padrão para inclusão em parafina. Foram feitos cortes de 5 micrômetros e corados com hematoxilina e eosina. Para realizar as medidas das áreas alveolares, as imagens foram captadas em um microscópio estereoscópico e binarizadas. Posteriormente, imagens do epitélio foram captadas, sendo as células medidas em pontos diferentes por alvéolo. Todas as imagens foram digitalizadas e analisadas no software *ImageJ* (National Institutes of Health, USA), onde foram obtidos dados da área da luz alveolar média, da área total e da altura epitelial. As análises de hemoglobina, colesterol, triglicerídeos e HDL foram realizados com a utilização de kits da BIOCLIN (Indústria Quibasa – Química Básica Ltda/ Belo Horizonte-MG) e para determinações hormonais foram utilizados kit comercial específico para cada hormônio (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA) através de quimioluminescência. Os dados foram submetidos à comparação entre os grupos utilizando-se o teste t *Student* para dados independentes. Nos resultados que não seguiram a distribuição normal foi aplicado o teste não paramétrico *Mann-Whitney*. A significância em todos os testes foi ao nível de $p \leq 0,05$. Tais análises estatísticas foram realizadas pelo programa *SPSS for Windows 10.0*. Foi observada diminuição no peso corporal da prole ao desmame ($p=0,04$) no Grupo Linhaça. Não foram verificadas diferenças sobre o consumo alimentar e peso corporal dos animais aos 170 dias. Houve redução na hemoglobina ($p=0,02$), no colesterol total ($p=0,02$), no VLDL ($p=0,03$) e nos triglicerídeos ($p=0,03$) no GL. Não foram observadas alterações na morfologia da próstata nos dois grupos analisados. De acordo com os resultados apresentados a administração de semente de linhaça durante a lactação não promove alterações histológicas nos alvéolos prostáticos, mas programa para redução do risco cardiovascular na idade adulta, através da melhora do perfil lipídico.

Palavras chave: linhaça, lactação, próstata, perfil lipídico, ratos.

ABSTRACT

Flaxseed intake has increased owing to beneficial effects to health and prevention of diseases. Provided that it's an important source of lignan, a phytoestrogen, it can cause alterations in male reproductive system. The present study aimed to evaluating the effects of the administration of this seed during lactation upon offspring's growth, biochemical parameters and prostate morphology in adult life. Pregnant Wistar rats were used, stemming from the Laboratory of Experimental Nutrition/UFF. Animals were kept under controlled temperature (21-23°C) and dark/light cycle (12/12h), receiving chow *ad libitum*. Body weight and food consumption were collected three times during the week. After delivery, mothers were randomly divided in two groups, having access during all lactation period to one of the following diets: Control group (CG), chow made up of casein and flaxseed group (FG), chow with casein and 25% flaxseed. At weaning, 8 male pups from each group (being used only one animal per mother) were weaned onto a commercial chow and this was maintained until 170 days of age, when they were sacrificed to collect blood through cardiac puncture. Prostate was immediately fixated in buffered formalin. Afterwards, it was excised and processed following the adequate technique to inclusion in paraffin. Five micrometers thick sections were stained with hematoxylin-eosin. In order to estimate alveolar areas, the images were captured by a stereoscopic microscopy and they were binarized. Then, the epithelium of each prostate was observed, being the cells measured in each alveolo. All images were digitalized to produce tiff files and were analyzed with the software *ImageJ* (National Institutes of Health, USA), by which data from average alveolar area, total area and epithelial height were obtained. Hematocrit, cholesterol, triglycerides and HDL analysis were carried out with BIOCLIN kits (Química Básica Ltda/ Belo Horizonte-MG), whereas the hormonal determination were performed through quimioluminescency (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA), using a specific commercial kit to each hormone. Data had been submitted to comparison between groups using Student T test to independent data. In the results that did not follow normal distribution, non-parametric *Mann-Whitney* test was chosen. The established significance level was $p \leq 0.05$. All these analysis were made by *SPSS for Windows 10.0*. Reduction in offspring's body mass was observed at weaning ($p=0,04$) in the Flaxseed Group. Food intake and body mass of the animals until 170 days were different between the groups. FG had reduction in the hemoglobin ($p=0,02$), cholesterol ($p=0,02$), VLDL ($p=0,03$) and triglycerides levels ($p=0,03$). Also, no alterations were observed in prostatic morphology in the two groups analyzed. In accordance with our results, flaxseed administration during lactation did not produce histological alterations in prostatic alveolos, but programmed to a reduction in cardiovascular risk in adult life through an improvement in lipid profile.

Key words: flaxseed, lactation, prostate, lipidic profile, rats.

1 INTRODUÇÃO

A mortalidade e incidência de câncer de próstata e mama são elevadas em países ocidentais comparado com os países asiáticos, tal como Japão, que possuem alto consumo de fitoestrógenos (VERHEUS et al., 2007, LE MARCHAND e et al., 1994, SEVERSON et al., 1989). O alto consumo de fitoestrógeno está relacionado com a proteção contra câncer do tipo hormônio dependente (ADLERCREUTZ, 2002) e doença cardiovascular (ANTHONY, 2002). Com base em estudos no Japão, o baixo risco para este tipo de doença está associado ao fato da dieta conter elevadas quantidades de compostos protetores, tais como fitoestrógenos que interferem no metabolismo hormonal ou na sua ação (ADLERCREUTZ, 1990).

Fitoestrógenos são compostos que são funcionalmente e estruturalmente semelhantes aos estrogênios dos mamíferos. As duas maiores classes encontradas na alimentação humana são as isoflavonas (dadizeína, genisteína e glicitina) e as lignanas (enterodiol e enterolactona) (VERHEUS et al., 2007).

Estudos antropológicos, epidemiológicos e moleculares indicam que os homens evoluíram numa dieta com relação de ácidos graxos essenciais omega-6/omega-3 (EFA) próxima de 1 enquanto que nas dietas ocidentais atuais a relação é 15/1 a 16.7/1 (SIMOPOULOS, 2006). Uma relação omega-6/omega-3 elevada, como é encontrado em dietas ocidentais, promove a patogênese de muitas doenças, incluindo a doença cardiovascular, a osteoporose, doenças inflamatórias e auto-imunes, visto que níveis aumentados dos ácidos graxos poliinsaturados n-3 (PUFA) exercem efeitos supressores (SIMOPOULOS, 2006).

Um senso comum para a prevenção do câncer, de doenças cardiovasculares e de outras patologias inclui as seguintes estratégias: manutenção de um peso saudável; a prática de atividade física; o consumo de uma dieta equilibrada e

variada, incluindo quantidades amplas de grãos inteiros, cereais, frutas, vegetais e lipídeos poliinsaturados com moderação (DIVISI et al., 2006; UAUY e SOLOMONS, 2005; FAGHERAZZI et al., 2008). Esta prevenção deve ocorrer ao longo da vida, iniciando com a dieta materna durante a gestação, na lactação, continuando durante a infância, adolescência até a idade adulta (UAUY e SOLOMONS, 2005).

A linhaça tem se destacado entre os alimentos saudáveis devido aos seus efeitos benéficos e o poder de atuar na prevenção de doenças (OOMAH e MAZZA, 2000), sendo consumida por pessoas de todas as idades, gêneros, gestantes e mulheres durante a menopausa (WIESENFELD, 2003). Em virtude da presença de componentes com atividades fisiológicas que proporcionam benefícios na saúde além da nutrição básica, a linhaça é incluída em uma das seguintes categorias: “alimentos funcionais”, “alimentos bioativos” e/ou “alimentos com atividade endócrina” (THOMPSON, 1993; KURZER, 1997; BRZEZINSKI, 1999; HASLER, 2000).

O uso diário da semente de linhaça fornece fibras, ácido graxo alfa linolênico e lignanas para uma dieta saudável (MORRIS, 2007). O aumento do consumo da semente e de seus produtos pela população está relacionado aos diversos benefícios na saúde e na prevenção de doenças que este alimento funcional oferece, tais como: ser fonte de ácidos graxos n-3, proporciona proteção cardiovascular, atividade antiinflamatória e diminuição no risco de alguns tipos de câncer (MORRIS, 2007). Deve-se ressaltar que a semente é uma rica fonte de diglicosídeo secoisolariciresinol que possui capacidade de se ligar aos receptores de estrogênio, podendo interferir no crescimento e desenvolvimento da próstata. Dessa forma, é importante determinar se o consumo materno de semente de linhaça durante a lactação causa alterações na próstata dos filhotes na idade adulta.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LINHAÇA

A linhaça, cujo nome botânico é *Linum usitatissimum*, pertence à família *Linaceae*, é uma semente oleaginosa lisa, ovalada, pontiaguda e achatada. As dimensões variam de 3,0-6,4 mm de comprimento, 1,8-3,4 mm de largura e 0,5-1,6 mm de espessura. Pode ser encontrada na natureza nas cores marrom-avermelhada e dourada. A cor é determinada pela quantidade de pigmento, quanto maior a quantidade de pigmento mais escura será a semente. A cor é facilmente modificada com técnicas de plantação (FREEMAN, 1995).

A planta da linhaça é aproveitada em quase toda sua totalidade. O caule é usado para a produção do linho, tecido utilizado para a confecção de roupas. Da sua semente extrai-se o óleo, através de compressão a frio para preservar suas propriedades; este é usado na fabricação de tintas, resinas e na indústria alimentícia. A semente também é usada como complemento alimentar, devido às suas propriedades benéficas (BATELLO, 2005).

No Brasil, o tipo mais encontrado é a linhaça marrom, cujo preço é menor que a dourada, sendo esta última mais comum na Europa (CANADIAN GRAIN COMMISSION, 2001). O maior produtor mundial de linhaça é o Canadá. Dentre os países da América do Sul, a maior parte da produção encontra-se na Argentina (80 ton/ano). O Brasil tem uma baixa produção (21 ton/ano) quando comparado com os demais países (ACEITES E GRASAS, 2000 apud TURATTI 2000).

A degradação da qualidade ocorre em particular com excessiva umidade ou calor, e pode ser reconhecida através da descoloração interna e/ou externa da semente e pelo odor. A semente de linhaça tem uma vida de armazenamento maior de 12 meses no índice de água 9-10% (COSKURNER e KARABABA, 2007).

Diversos benefícios têm sido associados ao uso da semente de linhaça e/ou sua farinha, tais como: proteção cardiovascular, através da melhora do perfil lipídico (RIEDIGER et al., 2008; ZHAO et al., 2007), prevenção e tratamento do diabetes (HILPERT et al., 2007), diminuição no risco de câncer (TOUILLAUD et al., 2007), atividade antiinflamatória (CLARK et al., 2001), prevenção da osteoporose (GRIEL et al., 2007) e melhora da saúde da próstata (NEVEN, 2003).

Devido às limitações no aumento do consumo de peixe pela população, o uso do ácido alfa linolênico de origem vegetal pode ser uma importante alternativa para fornecer concentrações adequadas de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) no plasma e tecidos. A farinha da semente de linhaça ou seu óleo podem facilmente ser incorporados a itens da dieta como pães, cereais, muffins, margarinas e em saladas (UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2006).

2.1.1 Composição

A semente de linhaça é rica em lipídeos, proteínas e fibras dietéticas. Sua composição centesimal mostrou cerca de 41% de lipídeos, 28% de fibras (lignana e celulose), 21% de proteína, 4% de resíduos e 6% de hidratos de carbono distribuídos entre ácidos fenólicos e açúcares (ZHENG, 2005). Contém potássio, cálcio, fósforo, magnésio, enxofre e vitaminas. Sendo os componentes principais os ácidos graxos insaturados, as fibras alimentares e as lignanas. Destes 41% de lipídeos, 50-55% são compostos pelos ácidos graxos poliinsaturados alfa-linolênico (n-3 ou ALA), 15-18% alfa-linoléico (n-6 ou AL) e 18% de ácidos graxos monoinsaturados ômega-9 (CARTER, 1993). A quantidade de calorías presente em 100 gramas (g) de linhaça é de 396Kcal, sendo 109kcal advindas das proteínas e 287kcal dos lipídios (TURATTI, 2001).

Com o aumento da demanda por proteínas de origem vegetal, a linhaça é uma fonte importante de proteína (OOMAH e MAZZA, 2000) assim como a soja e possuem perfil aminoacídico similar (OOMAH e MAZZA, 1993).

As proteínas da dieta são propostas como tendo um efeito em várias doenças, incluindo as coronarianas, renais e câncer. A maior proteína isolada da linhaça mostrou alto teor de aminoácidos como arginina, glutamina e aspartato (CHUNG, 2001).

A semente é pobre em carboidratos (açúcares e amidos) fornecendo apenas 1g por 100g, contribuindo pouco para a ingestão total de carboidratos (MORRIS, 2003). Dos 28% de fibras, as principais frações são a celulose, que é o principal material estrutural das paredes celulares; mucilagens, um polissacarídeo que se torna viscoso ao ser misturado a água ou outros fluidos e ligninas, que contribui para a rigidez das paredes celulares (WARRANT et al, 2005). Contém fibras solúveis e insolúveis, as quais aumentam o peso e a viscosidade do material digerido e diminuem o tempo de trânsito intestinal no intestino. Desse modo, as fibras ajudam no controle do apetite e da glicose sanguínea, promovem efeito laxativo e reduzem os lipídeos sanguíneos. Dietas ricas em fibra podem reduzir o risco de doenças cardíacas, diabetes, câncer de cólon, obesidade e inflamação (BRENNAN, 2005; CORDAIN, 2005).

A linhaça contém três tipos de extratos fenólicos: ácidos fenólicos, flavonóides e lignanas. Os compostos fenólicos possuem diferentes funções, alguns parecem ter efeitos antioxidantes e anticâncer em humanos (THOMASSET et al., 2007; OOMAH, et al., 1995). Os antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação pela inibição da lipoperoxidação, seqüestro de radicais livres e/ou quelação de íons metálicos. Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: os com atividade enzimática e os sem atividade. No primeiro grupo estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. No segundo grupo estão os que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Neste grupo incluem-se os antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos (MOREIRA e MANCINI FILHO, 2003). Os compostos fenólicos presentes em óleos de sementes possuem fortes propriedades antioxidantes e quando usados junto com ingredientes de alimentos processados contendo lipídeos podem exercer um efeito positivo na redução da oxidação lipídica (MOREIRA, 1999), podendo agir ainda como redutores de oxigênio e atuar na quelação de metais (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Apesar do alto valor nutritivo da linhaça é válido ressaltar que em sua composição existem fatores anti-nutricionais que podem causar efeitos adversos. A linatina pode interferir na absorção de vitamina B6 podendo promover deficiência; os compostos cianogênicos e ácido fítico, que pode quelar minerais como o zinco e o cálcio. Essa característica pode resultar em uma deficiência de minerais e afetar o

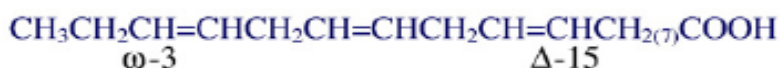
desenvolvimento ósseo (THOMPSON, 1993; OOMAH et al., 1992). O cálcio sérico se mostrou reduzido num estudo realizado com ratas gestantes em grupos que consumiram 13%, 26% de farinha de linhaça desengordurada e 20 % da farinha completa. Já 40% da farinha reduziu os teores de proteína sérica (WIESENFELD et al., 2003).

2.1.2 Ácidos graxos essenciais

Os ácidos graxos essenciais são ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), que apresentam duplas ligações *cis*, pertencentes à família ômega-3 ou ômega-6 (Figura 1). Estes ácidos não podem ser produzidos pelo organismo humano, sendo obtidos pela dieta, pois não dispõe de enzimas para a sua síntese, mas pode a partir deles produzir outros da mesma família, inserindo na cadeia carbônica um maior número de duplas ligações, por meio das enzimas dessaturases e aumentando o número de átomos de carbonos da cadeia, através das enzimas elongases (Figura 2) (SILVA e MURA, 2007).

Figura 1 – Estrutura dos ácidos graxos essenciais

Ácido graxo alfa-linolênico 18:3n-3

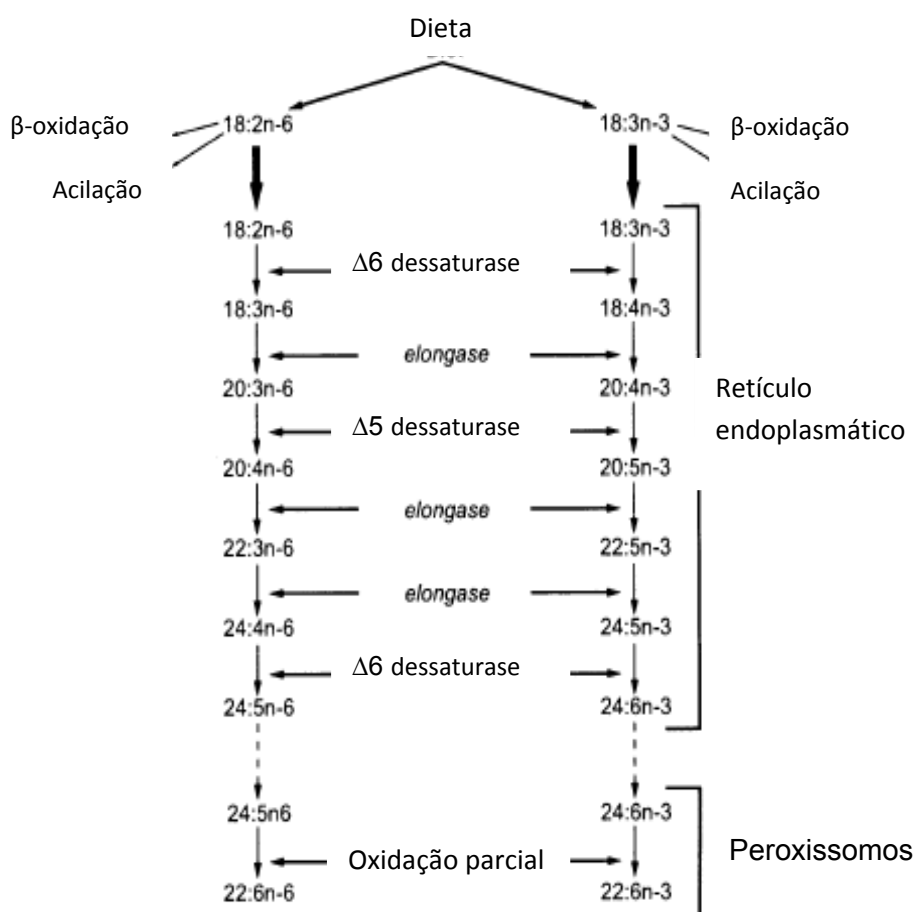


Ácido graxo linoléico 18:2 n-6



Fonte: INNIS, 2008.

Figura 2 – Esquema da dessaturação e elongação dos ácidos graxos linoléico (18:2n-6) e linolênico (18:3n-3).



Fonte: INNIS, 2003.

O ácido linoléico (AL; 18:2n-6) e o ácido alfa-linolênico (ALA; 18:3n-3) são essenciais, precursores de outros ácidos graxos e importantes componentes das membranas celulares dos animais e das plantas. A conversão do ALA da dieta em EPA (ácido eicosapentaenóico; 20:5n-3) é limitada, visto que a eficácia da síntese do ácido graxo poliinsaturado (PUFA) n-3 diminui no final da cascata de conversão. Desse modo, a síntese de DHA (ácido docosahexaenóico; 22:6n-3) a partir do ALA é ainda mais restrita que a do EPA. A presença de ácido linoléico reduz a síntese de EPA por competição, entre ambos, pelas enzimas dessaturases e elongases (SIMOPOULOS et al., 2000) da via das cicloxigenases e lipoxigenases (SIMOPOULOS, 2002). O ácido araquidônico (AA, 20:4n-6) produz eicosanóides da série 2, que são pró-inflamatórios e agregatórios; enquanto que os eicosanóides derivados do EPA são menos inflamatórios e agregatórios, da série 3 (prostaglandinas e tromboxanos) e da série 5 (leucotrienos) (SIMOPOULOS, 1999).

Outros fatores da dieta influenciam na conversão tais como a razão de poliinsaturados e gordura saturada, a quantidade de EPA, de ácidos graxos trans e de proteína consumidos (SUGANO e IKEDA, 1996). A eficiência da conversão e os fatores interferentes podem ser importantes para a saúde humana (HARPER et al., 2006), visto que o DHA é importante para membranas biológicas, retina, córtex cerebral, testículo, e o EPA devido aos seus efeitos nas artérias (antitrombótico e antiinflamatório) os quais resultam do metabolismo dos eicosanóides (MUELLER e TALBERT, 1988).

O consumo inadequado de ácidos graxos n-3 diminui os níveis de DHA e aumentam os de ácidos graxos n-6 no cérebro. A diminuição do DHA no cérebro em desenvolvimento causa deficiência na neurogênese, no metabolismo de neurotransmissores, e altera o aprendizado e a função visual em animais. Dietas ocidentais são pobres em ácidos graxos n-3, incluindo o ALA que é encontrado em óleos vegetais e o DHA, cuja principal fonte é o peixe. Os teores de DHA no recém nascido e lactente dependem da ingestão materna de DHA (INNIS, 2008). Estudos intervencionais e epidemiológicos mostraram diminuição do risco de desenvolvimento neural e visual insuficiente através da suplementação materna com DHA e relacionaram o baixo consumo com o déficit neural (INNIS e FRIESEN, 2008; DUNSTAN et al., 2006). Dessa forma, existem evidências suficientes para se concluir que o consumo materno de ácidos graxos é importante para a transferência do DHA para o bebê antes e após o nascimento, com possíveis implicações a curto e longo prazo para a função neural (INNIS, 2008).

A relação de ácidos graxos n-6/n-3 parece ser importante para a produção de ótimos efeitos na saúde humana, sendo sugerida uma razão de 2-4:1 para a população geral (SIMOPOULOS, 2002). O Instituto de Medicina dos Estados Unidos, em 2002, preconizou uma razão de 5:1 para a população dos Estados Unidos e do Canadá.

Aproximadamente 57% dos ácidos graxos totais da linhaça são compostos por ALA, enquanto que os ácidos graxos n-6 compreendem 16%. Assim, a semente contém acima de três vezes mais n-3 do que de n-6, apresentando uma relação n-6/n-3 do 0,3:1. Por comparação, a relação n-6/n-3 para o óleo de milho é 58:1; para o óleo de soja, 7:1; e para o óleo do canola, 2: 1. Uma boa fonte de ácido graxo n-3 para se introduzir na dieta é a linhaça pelo seu alto teor de ALA (MORRIS, 2007). A linhaça ou alimentos ricos em ALA, tal como ovos enriquecidos com n-3 derivado

das galinhas alimentadas com linhaça, aumentam o consumo de n-3 e melhoram a relação n-6/n-3 da dieta (FERRIER et al., 1995).

2.1.3 Lignanas

Lignanas e seus compostos fenólicos são classificados como fitoestrógenos (ADLERCREUTZ et al., 1997). A linhaça é uma importante fonte dietética de lignana, com 100 vezes mais do que em qualquer outro alimento (THOMPSON, 1991), a qual possui efeitos protetores devido ao fato da mesma interferir no metabolismo de hormônios sexuais endógenos (ADLERCREUTZ et al., 1988). O diglicosídeo secoisolariciresinol (SDG) é a principal lignana encontrada na linhaça. A semente contém outras lignanas, tais como matairesinol, pinoresinol, lariciresinol, isolariciresinol e secoisolariciresinol. O SDG é o precursor das lignanas dos mamíferos, enterodiol (ED) e enterolactona (EL), que são produzidas por ação da flora bacteriana no cólon (THOMPSON et al., 1991). A EL também pode ser formada através da oxidação do ED no cólon. Uma vez formados, as lignanas dos mamíferos caem na circulação entero-hepática e são excretados na urina (SETCHELL e ADLERCREUTZ, 1988). Estudo em humanos mostrou que a absorção no cólon ocorre variando de 8-10 horas após o consumo da lignana e atinge a maior concentração sanguínea de 7-10 horas depois. Deve-se moer ou triturar a linhaça para melhorar a biodisponibilidade das lignanas (KUIJSTEN et al., 2005).

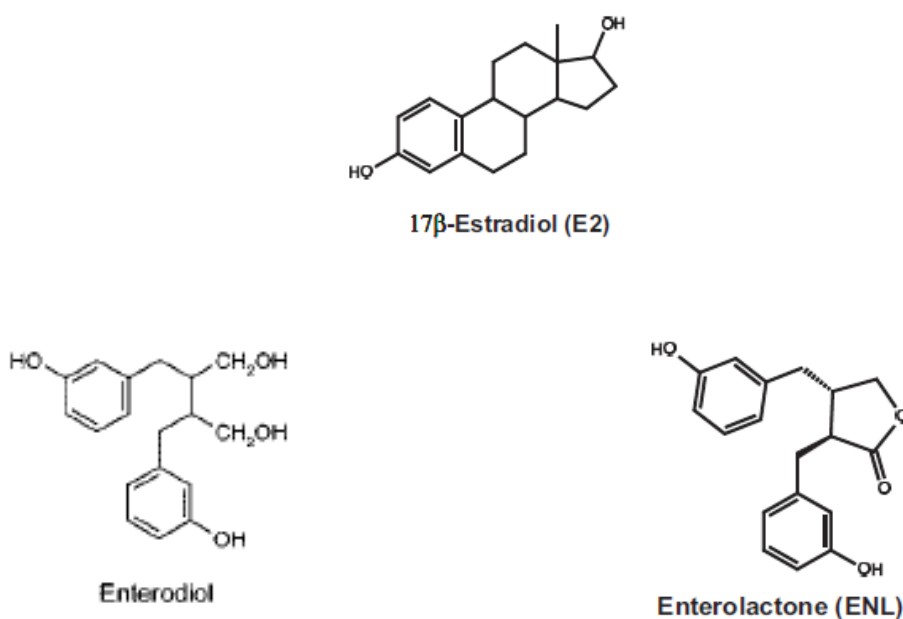
Estudo realizado com 80 pessoas que consumiram semente de linhaça ou seu óleo em uma ou duas refeições diárias demonstrou que é possível obter efeitos de aumentos significativos em concentrações séricas de EL e de ALA (TARPILA et al., 2002).

O ED e a EL possuem estruturas químicas semelhantes ao 17- β -estradiol (Figura 3) podendo se ligar aos receptores de estrogênio (RE), porém com menor afinidade que o estrogênio endógeno (MIKSICEK, 1994).

As lignanas se ligam aos receptores de estrogênio, da mesma forma que o estrogênio endógeno, esta ligação afeta a ação dos receptores e a resposta dos tecidos, tal como do aparelho reprodutor. As lignanas são menos potentes que os estrogênios, podendo agir como fracos estrogênios ou antagonizar as suas ações, dependendo da presença do endógeno (HUTCHINS e SLAVIN, 2003).

Foram atribuídas as lignanas algumas ações específicas, tais como: antioxidante, prevenindo a formação de radicais livres (PRASAD, 1997a); exerce influência nos receptores das membranas (JACOBS et al., 2005); estimula a síntese de globulina ligadora dos hormônios sexuais, que se liga diminuindo a concentração destes hormônios no plasma reduzindo a atividade biológica (ADLERCREUTZ, 1995) e inibe a aromatase, enzima envolvida com a produção de estrogênios (WANG, 2002).

Figura 3 – Estruturas químicas 17 β -Estradiol, secoisolariciresinol, ED e EL.



Fonte: BEGUM et al., 2004.

2.2 Linhaça e lactação

O crescimento saudável é alcançado com uma alimentação adequada. Na fase inicial da vida, o leite humano é o alimento que reúne as características nutricionais ideais, nutrientes adaptados às condições digestivas e metabólicas da criança, com balanceamento adequado, além de desenvolver inúmeras vantagens imunológicas e psicológicas, importantes na diminuição da morbidade e mortalidade infantil (MARQUES, 2004).

A importância do leite humano como protetor contra determinadas doenças é reconhecida há muitos anos. Estudos revelam maior resistência a infecções,

principalmente diarreias, otite média e doença respiratória nas crianças amamentadas. A atividade antimicrobiana do leite se encontra distribuída entre os componentes celulares e humorais. Os celulares incluem macrófagos, leucócitos polimorfonucleares e linfócitos. Os componentes humorais incluem imunoglobulinas, lactoferrina, lisozima, entre outros (CURY, 2003).

Nos períodos de gestação e lactação acontecem várias modificações no organismo materno a fim de garantir o crescimento e desenvolvimento fetal, manter a saúde da mãe, possibilitar a recuperação pós-parto, assim como assegurar a nutrição do recém-nascido por meio do processo da amamentação com adequada produção de leite e, conseqüentemente, o desenvolvimento do neonato (LEITE et al., 2002).

Todas estas alterações elevam as demandas nutricionais, havendo a necessidade de aumento proporcional dos nutrientes na alimentação materna, não só no período pré como no pós-natal (LEITE et al., 2002). Desta forma, o período lactacional requer também uma demanda adicional considerável nos requerimentos de aminoácidos, além dos exigidos pelas necessidades basais (OLIVEIRA et al., 2001). Parte da energia e dos nutrientes estocados durante a gestação estará disponível para manter a produção de leite durante a lactação, a qual é considerada bem sucedida quando a prole apresenta crescimento e estado nutricional adequados (LEITE et al., 2002). Portanto, uma nutrição adequada e balanceada constitui um fator protetor, tanto para o feto quanto para recém-nascido (OLIVEIRA et al., 2001).

O leite humano tem composição variável de acordo com o estágio da lactação, podendo ser chamado de colostro, leite de transição e leite maduro. O colostro é secretado nos primeiros 5 dias após o parto, elevada concentração de beta caroteno, imunoglobulina A secretória, lactoferrina, macrófagos e linfócitos. O leite de transição é produzido entre o 5º e 15º dia de vida da criança. O leite maduro tem volume (700/900ml nos primeiros 6 meses) e composição estáveis (CURY, 2003). Do total energético do leite humano, 50% são provenientes dos lipídeos, sendo necessário para fornecer energia para o rápido crescimento do recém-nascido. Os lipídios do leite humano, além de fornecerem energia, também apresentam importantes papéis fisiológicos e estruturais; são veículos para a entrada das vitaminas lipossolúveis do leite, bem como de ácidos graxos essenciais (n-3 e n-6) importantes para o completo desenvolvimento do cérebro, retina e outros órgãos incluindo a pele. Cerca de 15% da gordura do leite é constituída pelos

PUFAs de cadeia longa, entre eles o docosahexaenóico (DHA: 22:6 n-3) e o araquidônico, que são derivados dos ácidos graxos essenciais. A porcentagem destes ácidos é superior à existente no leite de vaca, o que constitui uma vantagem para os recém-nascidos em aleitamento materno (NEVILLE, 1997).

A maturação do sistema nervoso central tem início na fase intra-uterina e persiste até os 7 anos, apresentando maior intensidade nos primeiros 2 anos de vida. O processo morfogênico, diretamente associado à função do cérebro requer uma oferta de ácidos graxos específica, principalmente de ácidos araquidônico e docosahexaenóico, pois participam da mielinização e da proliferação celular (NEVILLE, 1997; PATIN, 2006).

A ingestão dietética usual de macronutrientes (glicídios, lipídios, proteínas) tem pouco efeito na quantidade total de nutrientes no leite humano. Contudo, a proporção de diferentes ácidos graxos no leite varia conforme a ingestão materna. Desta forma, a qualidade dos lipídios da dieta materna tem influência direta no perfil de ácidos graxos do leite secretado (VÍTOLO, 1994). Sabe-se que a mudança da qualidade da gordura da dieta materna pode influenciar o padrão de ácido graxo do leite produzido, dentro de 2 a 3 dias (PATIN, 2006).

A linhaça fornece uma mistura única de ácidos graxos, rica em ALA e AL, que são essenciais para os humanos e precisam ser obtidos através da alimentação (MORRIS, 2003). Sendo uma boa opção para ser utilizada como suplemento durante a lactação.

A suplementação materna de DHA resultou em elevadas concentrações plasmáticas de DHA durante a suplementação e em maior índice de desenvolvimento psicomotor aos 30 meses de idade (JENSEN et al., 2005).

2.3 Linhaça e programação

Os componentes da linhaça com atividade semelhante a hormônios podem ser transferidos durante a lactação através do leite materno (WARD et al., 2001). Estudos mostram benefícios do consumo da semente na idade adulta, porém durante a lactação, que é um período hormônio-sensível, pode causar efeitos a longo prazo em diversos sistemas como por exemplo no aparelho reprodutor. Este fato pode ser explicado pelo termo “programação” que é o processo pelo qual determinado fator atua no início da vida, num período crítico ou sensível, podendo

gerar efeitos na saúde na idade adulta (REMACLE et al.; 2004; LUCAS, 1991). Diversos estudos epidemiológicos em humanos têm indicado que a nutrição pré-natal e pós-natal inicial influenciam na predisposição, durante a vida adulta, de doenças crônicas associadas à alimentação incluindo diabetes mellitus tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares e câncer (FRANKEL et al., 1999; LEON 1998; RASMUSSEN, 1991).

Passos et al. (2000) submeteram ratas a uma dieta restrita em proteínas (8%) ou em energia (40%) durante o período de lactação. Ao nascimento os filhotes passaram a receber uma dieta normal até 180 dias. Os autores demonstraram com este modelo experimental que o tipo da nutrição materna durante a lactação pode influenciar o peso corporal de sua prole na vida adulta, e este resultado pode ser associado à concentração protéica e lipídica do leite.

Diversas investigações mostraram que a nutrição influencia a síntese de hormônios envolvidos no processo de desenvolvimento, crescimento e metabolismo (DAUNCEY et al., 2001). Os efeitos são exercidos por nutrientes específicos e por mudanças na ingestão do total de alimentos, como ocorrem durante a desnutrição. O mecanismo pelo qual a nutrição modula a ação da hormonal é pela regulação dos receptores e esta resposta pode ser específica para um determinado tecido (WELLER et al., 1994).

Estudo realizado por Owen et al. (2005) mostra uma associação positiva entre o ganho de peso durante a infância (até 3 anos) e o excesso de peso ou obesidade na idade adulta.

Em uma amostra de 393 crianças, altos níveis de DHA ao nascimento foram associados com menor risco de desenvolver problemas comportamentais aos 7 anos de idade. O autor também verificou a presença da associação negativa em crianças alimentadas com fórmulas artificiais, que são ricas em AL (KRABBENDAM et al., 2007).

2.4 Linhaça e próstata

A próstata é uma das glândulas acessórias do sistema reprodutor masculino, localizada na base da bexiga e pesando em torno de 20g em um homem adulto. As glândulas do sistema reprodutor apresentam a mesma origem embrionária, porém apenas o câncer de próstata é freqüente. A maior função deste órgão está

relacionada com a produção de uma secreção que ajuda manter a função dos espermatozoides, formando o sêmen. O crescimento e desenvolvimento da próstata são controlados por hormônios sexuais. Especula-se a possibilidade da dieta e fatores nutricionais maternos modularem o desenvolvimento de alterações na próstata e o risco de câncer décadas depois (CLINTON e GIOVANNUCCI, 1998). Uma alimentação rica em gordura saturada também parece estar associada ao risco aumentado para o câncer de próstata (ADLERCREUTZ, 1990).

O câncer de próstata é uma das principais causas de doença e morte, representando no Brasil a segunda causa de óbitos por câncer em homens. A hiperplasia prostática benigna é uma doença progressiva de alta prevalência, com evidências histológicas em 50% dos homens aos 50 anos e 90% aos 80 anos de idade. A patogênese das neoplasias prostáticas tem sido associada à ação dos androgênios e ao seu receptor nuclear específico (BRUM et al., 2005).

A incidência de cânceres hormônio dependentes, como de mama e de próstata, é menor em países orientais (China e Japão) quando comparados aos países ocidentais. Acredita-se que a dieta é o fator que possui maior efeito no risco de desenvolver doenças e um grupo de compostos, os fitoestrógenos, que são consumidos com frequência na população asiática parece estar relacionado a esta proteção. Visto que foram encontradas concentrações plasmáticas e urinárias de fitoestrógenos muito mais elevados nas áreas onde a incidência do câncer é baixa em comparação com áreas de incidência elevada (MAGEE e ROWLAND, 2003).

Em ratos, a fase crítica de diferenciação sexual ocorre do 18º dia de gestação e continua até o 10º dia pós-natal (MANSON e KANG, 1989), sendo crítico o período inicial da lactação para o desenvolvimento da próstata. É importante ressaltar que os componentes com atividades hormonais da linhaça são passados através do leite (WARD et al., 2001).

O crescimento da próstata é regulado por hormônios androgênicos e estrogênicos. A próstata é altamente dependente de andrógenos para o crescimento, os estrogênios podem controlar a função normal e o crescimento patológico da glândula (EVANS et al., 1995).

A testosterona, principal andrógeno da circulação, é responsável pelo desenvolvimento e manutenção das características sexuais masculinas e do estado anabólico de tecidos. É sintetizada a partir do colesterol (fig. 4) por uma seqüência de cadeias enzimáticas dentro das células de Leydig, localizadas no interstício do

testículo maduro (KNOBIL e NEILL, 1988). O colesterol utilizado para a síntese de testosterona pode ser obtido pelas células de Leydig por síntese “DE NOVO”, predominantemente, através de ésteres de colesterol armazenados na matriz intracelular ou a partir de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) colesterol extracelular (KNOBIL e NEILL, 1988).

A testosterona é secretada durante três épocas da vida: no primeiro trimestre da vida intra-uterina, transitoriamente; na vida neonatal e continuamente após a puberdade. O nível de testosterona produzido pode ser calculado pela depuração metabólica, pela média dos níveis de testosterona circulante, por diferença arteriovenosa testicular ou pela taxa de fluxo testicular (GEBARA et al., 2002).

Já foi documentado que os metabólitos do SDG, ED e EL, podem inibir a enzima 5 α -redutase que converte a testosterona em dihidrotestosterona (DHT), o andrógeno mais potente (EVANS et al., 1995). O DHT é o mais ativo agonista dos receptores de testosterona, que por aromatização, é também convertida em estradiol em menor proporção. No cérebro, a aromatização da testosterona em estradiol tem um importante efeito na regulação da secreção de gonadotrofina e na função sexual e, nos demais tecidos, a importância da aromatização na mediação do efeito da testosterona ainda não foi esclarecida (GEBARA et al., 2002).

Na próstata, o receptor de estrogênio β (ER β) parece ser o mais importante na regulação de alterações morfológicas que são dependentes de hormônios (WEIHUA et al., 2002; WEIHUA et al., 2001). Um estudo de caso-controle comprovou a associação do alto consumo de alimentos ricos em fitoestrógenos com a diminuição do risco de câncer de próstata (HEDELIN et al., 2006).

Tou et al. (1998) ofertaram 10% de linhaça a ratas durante o período de gestação e lactação e verificaram maior peso relativo da próstata. Em outro estudo, ratas que consumiram 20% de linhaça durante a gestação, lactação e a prole foi mantida na mesma dieta por 70 dias foi encontrado diminuição no peso da próstata indo de encontro aos resultados encontrados por Tou et al. (SPRANDO et al., 2000).

A linhaça contém 50-55% do total de lipídeos na forma de ALA (CARTER, 1993). Alguns estudos examinaram através de questionários de frequência alimentar a associação entre PUFAs e risco de câncer da próstata, em dois trabalhos os autores encontraram associação positiva (DE STEFANI et al., 2000; RAMON et al., 2000) e em outro os autores não verificaram nenhuma associação (ANDERSSON et al., 1996). Attar-Bashi et al. (2004) avaliou a evidência na associação entre o ALA e

o risco de câncer de próstata em humanos através de uma revisão de artigos publicados no Medline e concluiu que os estudos apresentam limitações pois alguns trabalhos incluem a suposição que os níveis dietéticos ou plasmáticos de ALA estão associados positivamente com concentrações aumentadas de ALA no tecido da prostático, e erros de medida no consumo alimentar, no plasma e nas concentrações do ALA nas células do sangue.

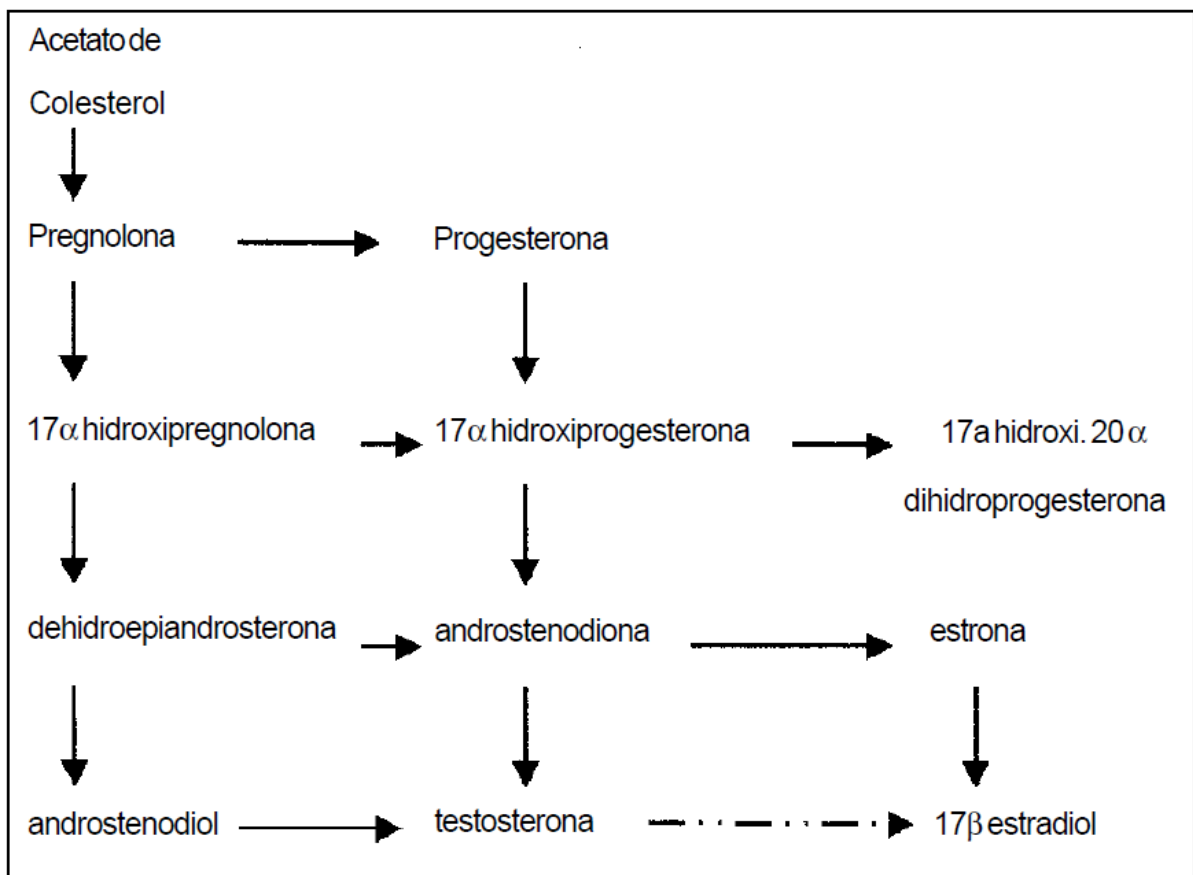


Figura 4 – Biossíntese de testosterona (KNOBIL e NEILL, 1988)

2.5 Linhaça e doenças cardiovasculares

A doença cardiovascular (DCV) continua sendo uma das principais causas de invalidez e morte. Estudos clínicos indicam que a hipercolesterolemia é o maior fator de risco para o desenvolvimento da DCV, a qual evoluiu para a principal causa de morte nos Estados Unidos desde 1990 (ROSAMOND et al., 2008). A doença cardiovascular é o resultado da aterosclerose, uma doença inflamatória que se inicia

na infância e envolve mudanças no endotélio. Um endotélio saudável mantém a fluidez sanguínea, controla o estresse oxidativo, reduz a atividade plaquetária e reações inflamatórias. O endotélio pode ser afetado pelo fumo, diabetes, infecções e pela dieta, esta devido ao seu efeito nas concentrações sanguíneas de colesterol, pressão e inflamação (CORTI et al., 2003; BARAC et al., 2007; PRATICÒ, 2005).

A hipertrigliceridemia, outro tipo comum de dislipidemia, é um fator de risco para a progressão da aterosclerose e um preditor independente de futuro infarto do miocárdio. O consumo de ácidos graxos n-3, EPA e DHA, reduzem as concentrações de triglicerídeos pós-prandiais e de jejum nos humanos assim como em animais (STAMPFER et al., 1996; ROCHE e GIBNEY, 2000).

Pesquisadores e nutricionistas procuram reduzir o risco da DCV através da normalização do colesterol sérico, triglicerídeo e melhorando a razão das lipoproteínas de alta densidade (HDL)/lipoproteínas de baixa densidade (LDL) através de mudanças na dieta e medicamentos (TZANG et al., 2008).

As sociedades européia e americana do coração incluíram o EPA em seus protocolos de tratamentos para infarto do miocárdio, prevenção de DCV e de morte súbita por doença cardíaca (VON SCHACKY, 2007). A Associação Americana do Coração (AHA) recomenda o consumo de óleo de peixe ou alimentos ricos em ALA 2 vezes na semana por indivíduos que não possuem doenças coronarianas (KRIS-ETHERTON, 2002).

Um dos motivos que tem aumentado o interesse da população pela linhaça é o fato dos seus componentes atuarem na prevenção das doenças cardiovasculares. Estudos clínicos e epidemiológicos mostraram o efeito benéfico do ALA, EPA e DHA no sistema cardiovascular (DJOUSSE et al., 2001; HU et al., 2002), pela melhora do perfil lipídico (CALABRESI et al., 2004), diminuição da pressão sanguínea (GELEIJNSE et al., 2002) e redução das proteínas inflamatórias (ZHAO et al., 2004).

A principal via de excreção do colesterol é a sua transformação em ácidos biliares, que além de participarem da emulsificação dos lipídeos da dieta, são a maneira indireta de excretar o colesterol. Parte desses ácidos biliares é excretada nas fezes e a outra parte sofre reabsorção no íleo retornando ao fígado pelo sistema porta. Esta via é denominada ciclo êntero-hepático. A linhaça possui 28% de fibras, que podem alterar este ciclo através da redução da reabsorção dos ácidos biliares, aumentando a excreção nas fezes, que acarreta uma maior produção destes ácidos pelo fígado, gerando conseqüentemente um aumento da necessidade de colesterol.

Desse modo, o fígado aumenta a expressão do receptor LDL, levando a uma diminuição da quantidade de LDL no sangue, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (SILVA e MURA, 2007).

Prasad em 1997 verificou a redução de 46% da aterosclerose na aorta de coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol somada a semente de linhaça, porém sem redução do colesterol sérico.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência de uma dieta contendo semente de linhaça, como fonte exclusiva de fibras e ácidos graxos essenciais, sobre o crescimento, parâmetros bioquímicos e morfologia da próstata dos filhotes machos na vida adulta.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o crematócrito do leite no 20º dia de lactação;
- Determinar o Valor de Lactância; o Coeficiente de Eficácia Alimentar; e o *Protein Efficiency Ratio*;
- Determinar os teores de estradiol e testosterona no soro dos animais na idade adulta;
- Avaliar as concentrações de hemoglobina, colesterol total, LDL, VLDL, HDL, triglicerídeos assim como o percentual de hematócrito, em animais na idade adulta;
- Determinar a área da luz alveolar da próstata e a altura epitelial da próstata;
- Avaliar a massa de gordura visceral nos animais na idade adulta;
- Comparar os resultados obtidos entre os grupos, analisando desta forma a utilização da semente de linhaça nos parâmetros estudados.

4 MATERIAL E MÉTODOS:

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa Animal da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal Fluminense (UFF), sob o parecer nº0024/08. Todos os procedimentos seguiram as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 16 ratos Wistar fêmeas provenientes da colônia do Laboratório de Nutrição Experimental (LabNE) da UFF, nulíparas, 90 dias de idade, acasaladas na proporção de 3 fêmeas para 1 macho recebendo ração comercial (23% de proteína, Nuvilab®, Nuvital Ltda, Paraná, Brasil). O peso e consumo de ração foram coletados 3 vezes na semana. Todos os animais foram mantidos em biotério com temperatura (21-23°C) e ciclo claro escuro (12/12h) controlados, recebendo água e ração *ad libitum*.

Após o parto, as mães foram aleatoriamente divididas em 2 grupos durante o período de lactação:

-Grupo Controle (GC), recebeu ração à base de caseína, com 17% de proteína.

-Grupo Linhaça (GL), recebeu ração à base de caseína, com 17% de proteína, adicionada de 25% de semente de linhaça.

No dia do parto, a ninhada foi ajustada para seis filhotes, número que confere maior performance lactacional (FISHBECK e RASMUSSEN, 1987).

No 20º dia as ratas lactantes foram ordenhadas para a obtenção do leite. O leite foi armazenado em freezer a - 20°C para posterior análise.

Ao desmame 8 filhotes machos de cada grupo (sendo utilizado apenas 1 animal de cada mãe) passaram a receber ração comercial até a idade adulta, quando foram sacrificados aos 170 dias de vida.

4.2 RAÇÕES EXPERIMENTAIS

A semente foi triturada em liquidificador para obtenção da farinha, que posteriormente foi pesada, ensacada, lacrada e armazenada em geladeira até ser usada para a confecção da ração. As rações experimentais preparadas no LABNE eram isocalóricas, com 17% de proteína (AIN-G), adicionadas de misturas de vitaminas e minerais segundo as normas do *Comitee on Laboratory Animal Diets*, 1979, modificadas segundo as recomendações do *American Institute of Nutrition-93* garantindo que cada nutriente exerça suas funções específicas (REEVES, 1993). A ração que foi ofertada ao Grupo Linhaça tinha uma concentração de 25% de semente de linhaça, com o objetivo de suprir toda recomendação de fibra. Os ingredientes das rações experimentais (tabela 1) foram pesados e homogeneizados em batedeira industrial Hobart® (São Paulo, SP, Brasil), com água fervente para gelatinização do amido. A massa obtida foi transformada em *pellets* e seca em estufa ventilada (Fabbe-Primar® n°171, São Paulo, SP, Brasil) a 60°C por 24h, e após identificação, armazenada sob refrigeração até o uso.

Tabela 1- Composição a cada 100g das rações utilizadas no ensaio durante a fase de lactação (17% de proteína: AIN-G).

Nutrientes	Caseína (g)	Linhaça (g)
Caseína ¹	20	14,11
Linhaça ²	0	25
Amido ³	52,95	45,84
Açúcar Refinado ⁴	10	10
Mistura de Minerais AIN 93G ¹	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas ¹	1	1
Óleo de soja ⁵	7	0
Celulose ⁶	5	0
Bitartarato de Colina ¹	0,25	0,25
Cistina ¹	0,30	0,30
<i>Tert</i> -Butil hidroquinona	0,0014	0,0014
Total	100	100

Os ingredientes utilizados no preparo das dietas foram fornecidos por: ¹ M. Cassab Comércio e Indústria Ltda (São Paulo, SP, Brasil). ² Arma Zen Produtos Naturais Ltda (Rio de Janeiro, RJ, Brasil); ³ Maisena da Unilever *Bestfoods* Brasil Ltda (Mogi Guaçu, SP, Brasil); ⁴ União (Rio de Janeiro, RJ, Brasil); ⁵ Liza da Cargill Agricultura Ltda (Mairinque SP, Brasil); ⁶ Microcel da Blanver Ltda (Cotia, SP, Brasil).

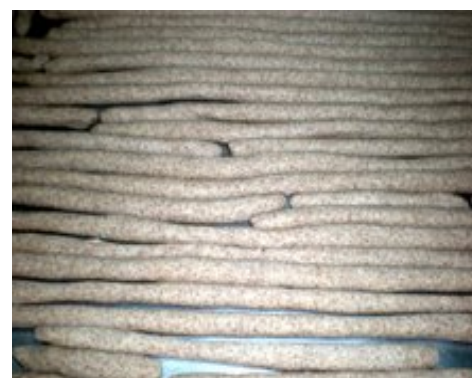


Figura 5 - Dietas experimentais utilizadas durante o período de lactação.

A ração comercial utilizada foi fornecida pela Nuvilab® (Nuvital Ltda). Suas principais fontes protéicas são: carne, peixe, soja e aminoácidos. A mesma era composta por 23% de fonte protéica, 67,6% de amido, 4% de mistura de minerais, 0,4% de mistura de vitaminas e 5% de óleo de soja.



Figura 6 - Dieta comercial utilizada após o período de lactação.

4.3 ANÁLISE QUÍMICA DOS PRODUTOS CONSTITUINTES DAS RAÇÕES

Para a análise química das rações, foram mensurados a umidade, o teor de cinzas, o extrato etéreo, as proteínas e os carboidratos, conforme detalhamento abaixo. As dosagens foram realizadas em triplicata, sendo registrada a média encontrada.

Composição Centesimal:

- Umidade: foi determinada por gravimetria, em estufa a 105° C, até a obtenção de peso constante (AOAC, 1984).
- Cinzas: A fração cinza, ou resíduo mineral fixo, foi determinada por gravimetria, utilizando-se mufla a 550° C (AOAC,1984).
- Extrato etéreo: A fração lipídica, ou extrato etéreo, foi determinado utilizando o extrator de Soxhlet, utilizando como solvente o éter etílico e o éter de petróleo (AOAC, 1984).

- Proteína: foi feita pelo método de Micro-Kjeldahl para nitrogênio total, onde o fator 6,25 foi utilizado para a conversão em proteína, a partir do percentual de nitrogênio encontrado nas dietas em estudo.
- Fração Nifext: A determinação da fração Nifext, que corresponde aos carboidratos, foi realizada pela diferença, após a determinação das frações anteriores.

4.4 AVALIAÇÃO DO VALOR BIOLÓGICO DAS RAÇÕES

Para avaliação do valor biológico das rações, foram utilizados os seguintes índices:

Protein Efficiency Ratio (PER): Este método mede o quociente do ganho de peso (g) pela quantidade de proteína ingerida (g) por um grupo de animais alimentados com uma dieta contendo a proteína em estudo durante 28 dias. Assumindo-se que ocorre variação do total de proteína corporal motivada por diferenças da qualidade protéica de dietas, é comum medir-se a variação de massa corporal como um reflexo global da atuação da proteína ingerida (ANGELIS, 1995).

Valor de Lactância (VL): É baseado no incremento do peso corporal, o qual avalia a relação entre a qualidade da proteína e a produção de leite (TAGLE, 1981a).

$$VL = \frac{\text{Variação de peso da mãe (g) + Ganho de peso das crias(g)}}{\text{Proteína ingerida (g) pela mãe}}$$

A duração do experimento corresponde ao período em que as crias se alimentam exclusivamente de leite, após o 14° dia ocorre abertura dos olhos e os filhotes começam a se alimentar com a dieta da mãe também (TAGLE, 1981a).

Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA): Determina quanto um grama de ração ingerida promove o aumento de peso corporal e é determinado pela relação entre a variação de peso (VP) dos animais e a ração consumida durante 28 dias (MADRUGA et al., 2004).

Para tal foram coletados durante o experimento:

Peso dos animais: Todos os animais foram pesados no início do ensaio biológico e a partir daí o controle foi feito, a cada 2 dias, durante todo o experimento. As pesagens foram efetuadas em balança digital, marca Gehara, modelo Balança Eletrônica, com precisão de 0,05g.

Ração Consumida: As rações consumidas foram controladas a cada dois dias, sendo as pesagens efetuadas em balança digital, marca Gehara, modelo Balança Eletrônica, com precisão de 0,05g.

4.5 EXTRAÇÃO DO LEITE

No 20° dia, as ratas foram separadas de seus filhotes e após 120 minutos receberam injeção de 1ml de ocitocina (Eurofarmah, SP, BR) na dose de 5 UI, subcutânea (KEEN et al., 1981; FELLOWS e RASMUSSEM, 1984; PINE et al., 1994). Após 15 minutos, as ratas foram anestesiadas com injeção intraperitoneal de Thiopentax® (Tiopental sódico 1G, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA, Brasil) a 5% (0,06 ml/100g p.c., i.p.). O leite foi extraído manualmente das glândulas mamárias e as amostras foram armazenados em tubos eppendorfs em freezer a -20°C para posterior determinação do crematócrito.

4.5.1 Determinação do crematócrito

As amostras foram homogeneizadas em agitador vortex (Certomat MV, B.Braun) e aquecidas em banho-maria a 40°C (Quimis – aparelhos científicos LTDA), durante 10 minutos. Foram coletadas alíquotas de 75 microlitros em tubo microcapilar em duplicata. Uma das extremidades do microcapilar foi vedada por calor em Bico de bunsen e, em seguida, os capilares foram centrifugados por 15 minutos a 15.000 rpm (rotações por minutos, Spin 1000). A leitura foi feita em escala graduada em percentuais(LIMA et al, 1977).

4.6 MÉTODOS BIOQUÍMICOS

Coleta de sangue e preparo das amostras

Os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Thiopentax (Tiopental sódico 1G, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA, Brasil) a 5% (0,15 ml/100g p.c., i.p.) para a coleta do sangue por punção cardíaca e foi colocado em tubos com e sem EDTA. O sangue com EDTA para determinação de hemoglobina e hematócrito; o sangue sem reagentes para a dosagem da fração lipídica e hormonal. O sangue coletado foi centrifugado (centrífuga Sigma) a 3500 rpm durante 15 minutos para a obtenção do soro, que foi armazenado a -20°C. As análises de hemoglobina, colesterol, triglicerídeos e HDL foram realizados com a utilização de kits da BIOCLIN (Indústria Quibasa – Química Básica Ltda/ Belo Horizonte-MG) e para determinações hormonais foram utilizados kit comercial específico para cada hormônio (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA).

Hemoglobina (Hb g/dL)

Foi determinada através da amostra de sangue total, pelo método de Cianometahemoglobina modificada. Foi feita a leitura em espectrofotômetro (Spec20MV) em 540 nanômetros (nm). Após, foi realizado o cálculo da determinação de hemoglobina: $\text{Hemoglobina g\%} = (\text{densidade óptica do sangue teste} / \text{densidade óptica do padrão}) \times \text{Fator de calibração}$ (LIMA et al, 1977).

Hematócrito (Ht%)

Foi determinado com amostra de sangue total (com EDTA), utilizando a técnica do microhematócrito através de microcapilares descartáveis. Estes microcapilares foram centrifugados (centrífuga Sigma) durante 15 minutos à 3500 rpm (LIMA et al., 1977). Após, foi realizada leitura em escala graduada em percentuais para Ht% (LIMA et al, 1977).

Métodos de análise da fração lipídica (colesterol, triglicerídeos e HDL)

Foram realizadas através de diagnóstico *in vitro*. Para análise de cada indicador bioquímico foram realizadas uma média de 2 repetições para cada amostra do soro obtido de cada animal. A quantificação do volume das amostras foi realizada através de pipetas de precisão automática de volume ajustável (Kacil) e ponteiros descartáveis. Após, as leituras foram feitas em espectrofotômetro (Spec 20MV) ajustado para os nanômetros específicos de cada indicador (LIMA et al, 1977).

Métodos de análise do VLDL e LDL

As concentrações do colesterol VLDL e LDL foram calculadas segundo a equação de Friedewald (1972). Onde:

$$\text{Colesterol VLDL} = \text{triglicerídeos} / 5$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Estradiol e Testosterona

O estradiol e testosterona foram determinados através de quimioluminescência (Immulite 2000/PPC/H2967, Siemens, Los Angeles, USA).

4.7 MASSA DE GORDURA VISCERAL

No sacrifício foram pesados a gordura retroperitoneal, mesentérica e epididimal em balança analítica (Bosch S2000).

4.8 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA PRÓSTATA

A próstata foi imediatamente fixada em formol tamponado a 10% por 24 horas. Em seguida, o lóbulo lateral esquerdo retirado e processado com a técnica padrão para inclusão em parafina. Foram feitos cortes de 5 micrômetros e corados com hematoxilina e eosina (BANCROFT e COOK, 1994). Para realizar as medidas das áreas alveolares, as imagens foram captadas em um microscópio

estereoscópico, que possibilitou a captura de praticamente toda a área do corte, facilitando os procedimentos de morfometria. As imagens foram binarizadas (Fig.7) para evidenciar a área alveolar em branco. Posteriormente, imagens do epitélio (Fig.8) de 50 alvéolos de cada próstata foram captadas, sendo as células medidas em quatro pontos diferentes por alvéolo. Todas as imagens foram digitalizadas gerando arquivos tiff. As imagens captadas foram analisadas no software *ImageJ* (National Institutes of Health, USA), onde foram obtidos dados da área da luz alveolar média, da área total e da altura epitelial.

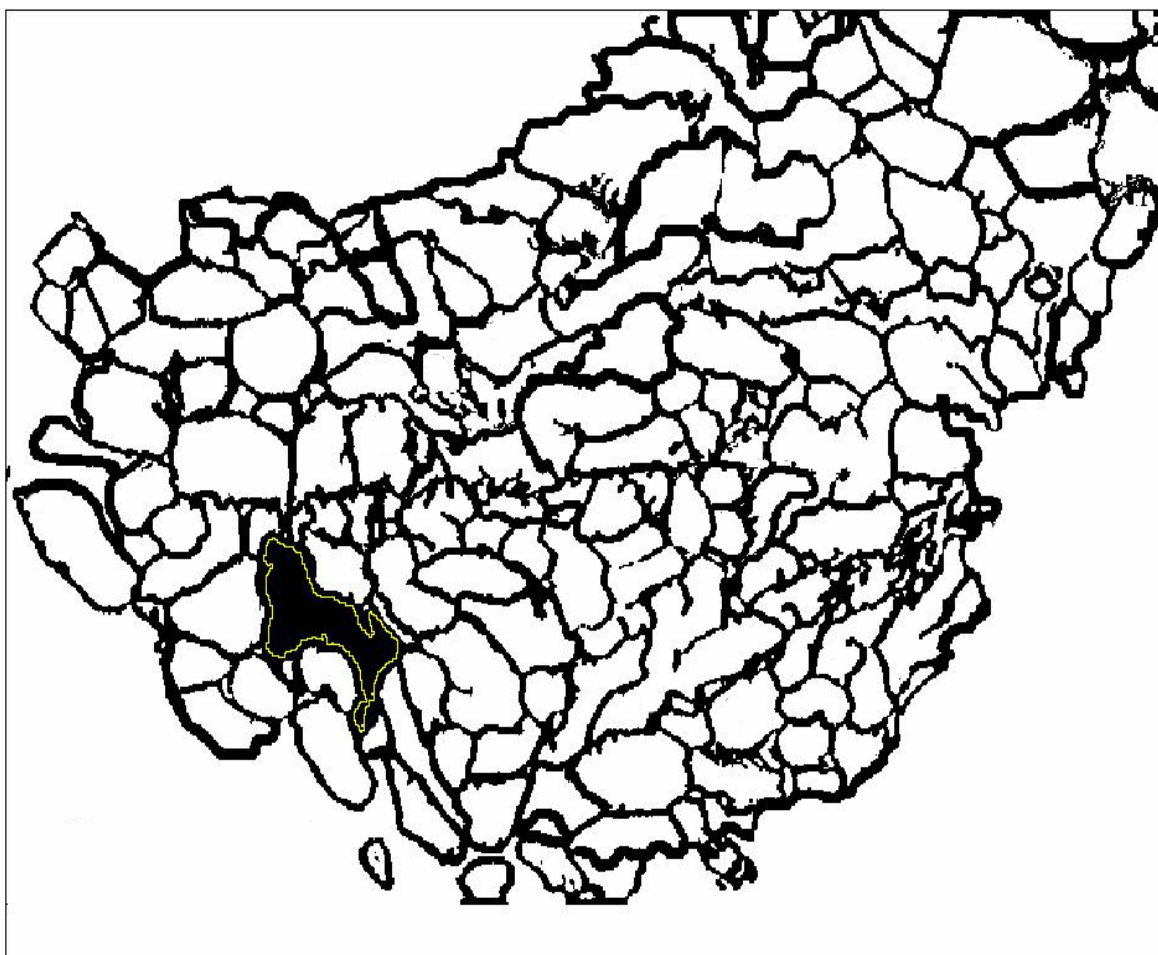


Figura 7 - Imagem da próstata binarizadas para observar a área alveolar.



Figura 8 - Imagem do epitélio prostático onde as células foram medidas em quatro pontos diferentes por alvéolo.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados na forma de média \pm desvio padrão. A distribuição normal dos valores encontrados foi analisada através do teste *Shapiro-Wilk*. Verificando-se a normalidade dos dados, estes foram submetidos à comparação entre os grupos utilizando-se o teste t *Student* para dados independentes. Nos resultados que não seguiram a distribuição normal foi aplicado o teste não paramétrico *Mann-Whitney*. A significância em todos os testes foi estabelecida ao nível de $p \leq 0,05$. Tais análises estatísticas foram realizadas pelo programa *SPSS for Windows 10.0*.

5 RESULTADOS

Composição Centesimal da Linhaça

A linhaça utilizada para o preparo da ração experimental apresentou 23,46% de proteínas, 34,87% de lipídeos, 1,61% de carboidratos, 30,64% de fibras, 6,10% de umidade e 3,32% de cinzas.

Composição Centesimal das Rações Experimentais

As médias dos valores encontrados na composição centesimal das rações preparadas para o ensaio estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 – Composição centesimal das rações utilizadas no experimento, representadas em g/100g de dieta.

Rações	Umidade	Proteína Bruta	Extrato Etéreo	Cinzas	Carboidratos*	Valor Calórico
Controle	8,74	19,68	6,54	0,06	64,98	397,53
Linhaça	7,99	19,00	7,71	0,07	65,22	406,31

Os valores estão apresentados na forma de média, as análises foram realizadas em triplicata. *

Calculado pela diferença.

Avaliação Nutricional de Mães e Prole durante a Lactação

As ratas que receberam as rações experimentais controle e linhaça durante a lactação apresentaram consumo alimentar e protéico sem diferenças (Tabela 3).

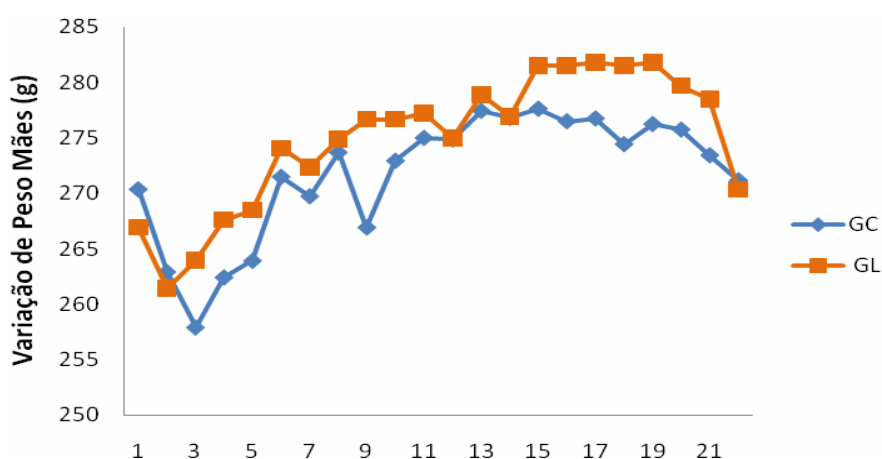
Tabela 3 – Consumo alimentar e protéico (g) até o 14° dia e 21° dia de lactação.

Grupo	Consumo 14 dias (g)		Consumo 21 dias (g)	
	Alimentar	Protéico	Alimentar	Protéico
GC	380,25±34,37	64,64±5,84	661,89±64,69	115,33±12,91
GL	384,19±27,57	65,31±4,69	634,0±43,81	109,28±8,09

Os valores estão apresentados na forma de média ± desvio padrão.* Denota significância estatística.

No final da lactação a variação do peso corporal das ratas foi semelhante (Gráfico 1). Não foram observadas diferenças entre os grupos no peso em nenhum dia do período de lactação.

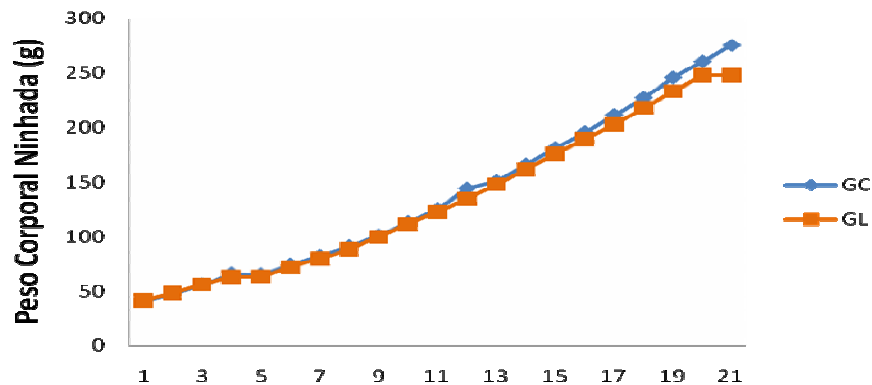
Gráfico 1 – Variação de peso corporal (g) de mães que receberam rações experimentais controle e linhaça durante a lactação (21 dias).



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça. * Denota significância estatística.

Não houve diferença significativa no ganho de peso da ninhada ao final dos 21 dias de lactação (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Evolução do ganho de peso corporal (g) da ninhada cujas mães receberam rações experimentais controle e linhaça durante a lactação (21 dias).

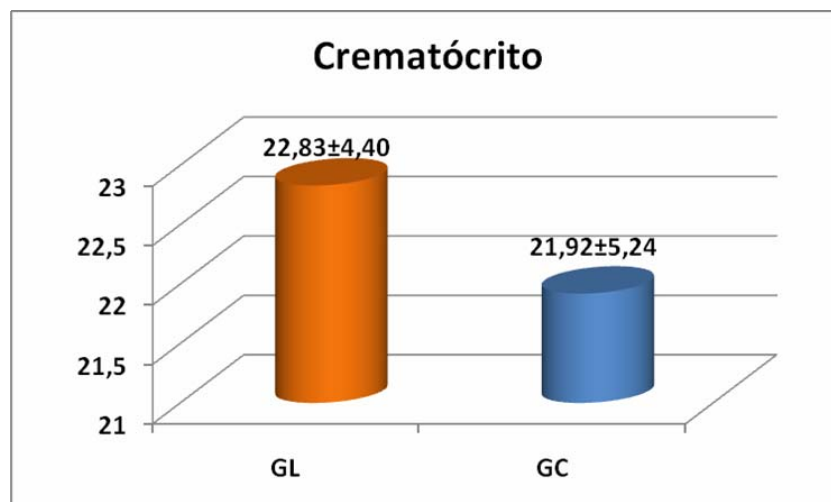


Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça. * Denota significância estatística.

Crematócrito

Com relação ao crematócrito (%) do leite materno, não foram verificadas diferenças entre os grupos (GL = $22,83 \pm 4,40$; GC = $21,92 \pm 5,24$; Gráfico 3).

Gráfico 3 – Crematócrito (%) do leite de ratas que consumiram rações experimentais durante lactação.

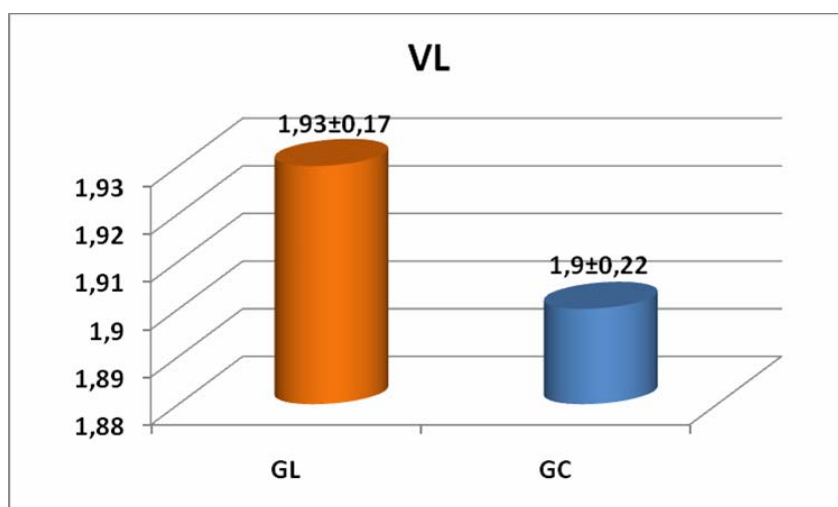


Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Valor de Lactância

As ratas apresentaram valor de lactância semelhantes durante os primeiros 14 dias de lactação (GL=1,93±0,17; GC=1,90±0,22) conforme demonstrado no gráfico 4, visto que após esta data os filhotes iniciam o consumo de ração junto com a mãe.

Gráfico 4 – Valor de lactância (VL) de ratas que consumiram rações experimentais controle e linhaça durante os primeiros 14 dias de lactação.

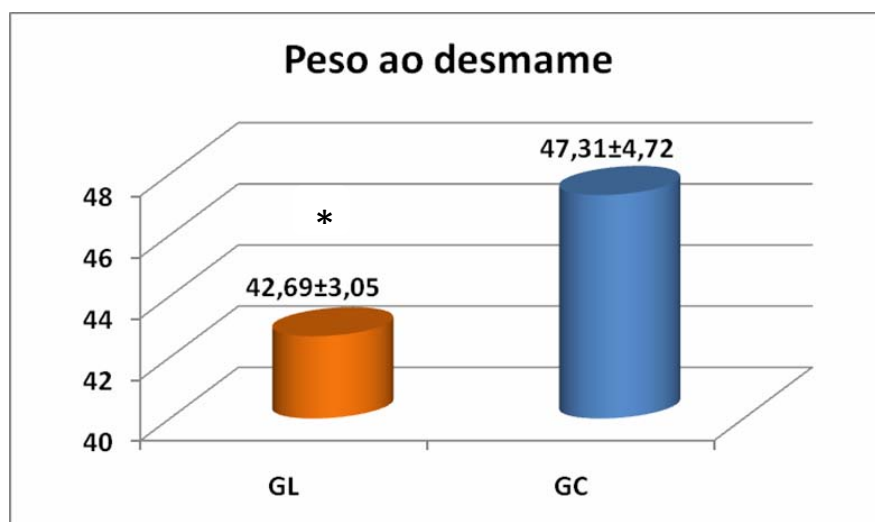


Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Avaliação nutricional dos animais pós-desmame até 49 dias

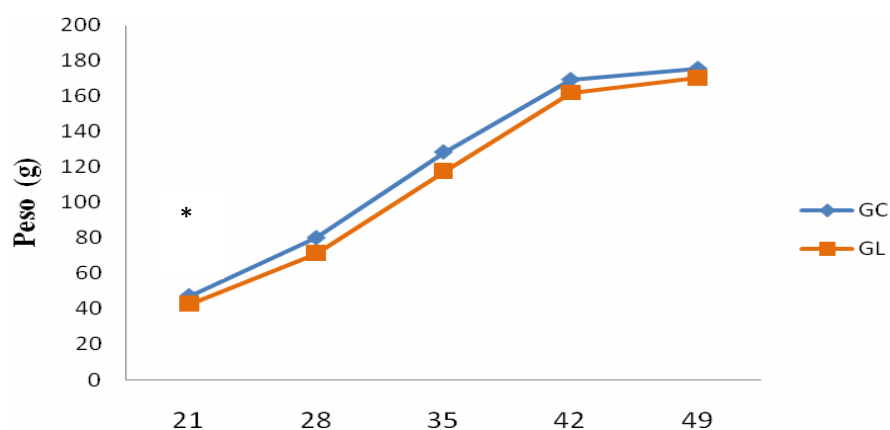
O consumo da ração a base de semente de linhaça durante a lactação promoveu redução no peso corporal ($p=0,036$) da prole ao desmame (Gráfico 5). Não foram observadas diferenças no peso no 7º, 14º, 21º e 28º dia pós desmame (Gráfico 6). Observou-se que a variação de peso até o 14º (GL=71,31±14,80; GC=81,09±12,95) e até o 28º dia (GL=127,56±20,68; GC=128,12±24,43) foram semelhantes.

Gráfico 5 – Peso (g) ao desmame de animais cujas mães receberam rações experimentais durante a lactação.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Gráfico 6 - Evolução de peso corporal (g) dos animais até o 28º dia pós-desmame (49 dias de vida).



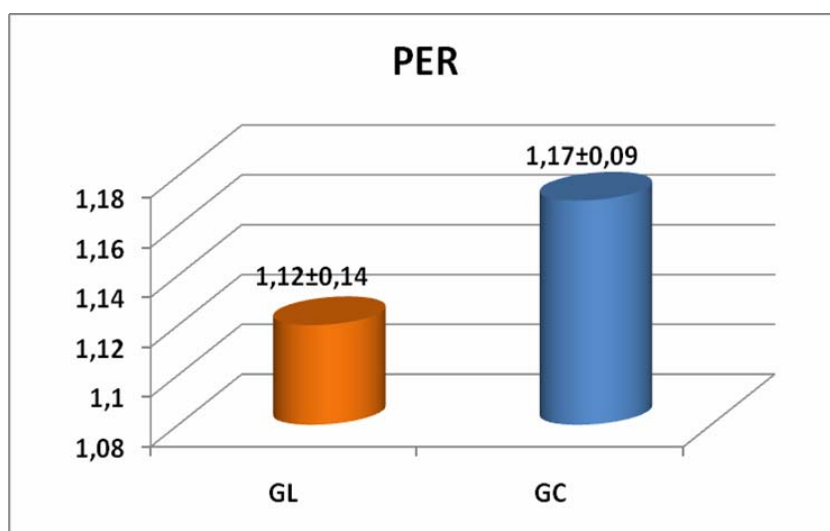
Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Não houve diferença entre os valores encontrados no consumo de ração (GL=566,50±48,77; GC=540,44±67,26) e protéico (GL=114,20±9,63; GC=108,75±14,84) aos 49 dias de vida dos animais.

Avaliação do valor biológico das rações

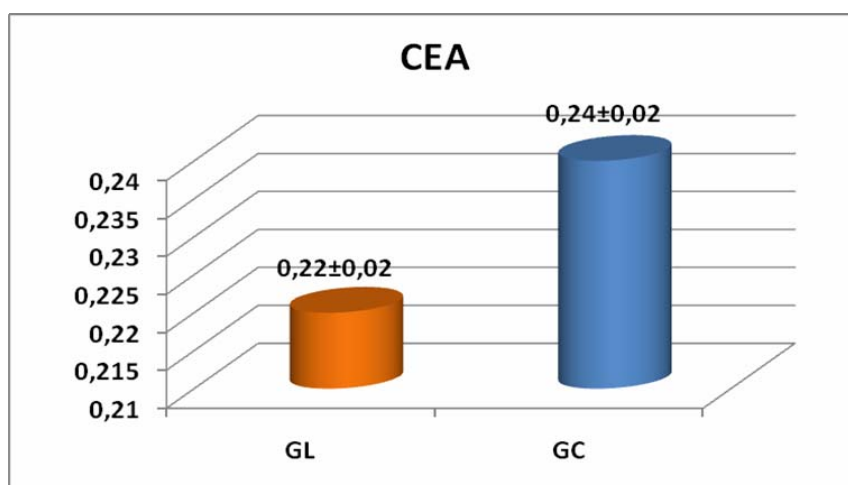
Quando avaliamos o valor biológico das rações segundo os indicadores Protein Efficiency Ratio (GL= $1,12 \pm 0,14$; GC= $1,17 \pm 0,09$, gráfico 7) e Coeficiente de Eficácia Alimentar (GL= $0,23 \pm 0,02$, GC= $0,24 \pm 0,02$, gráfico 8) não observamos diferenças entre os grupos.

Gráfico 7 – PER de animais cujas mães receberam rações experimentais durante a lactação.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Gráfico 8 – CEA de animais cujas mães receberam rações experimentais durante a lactação.

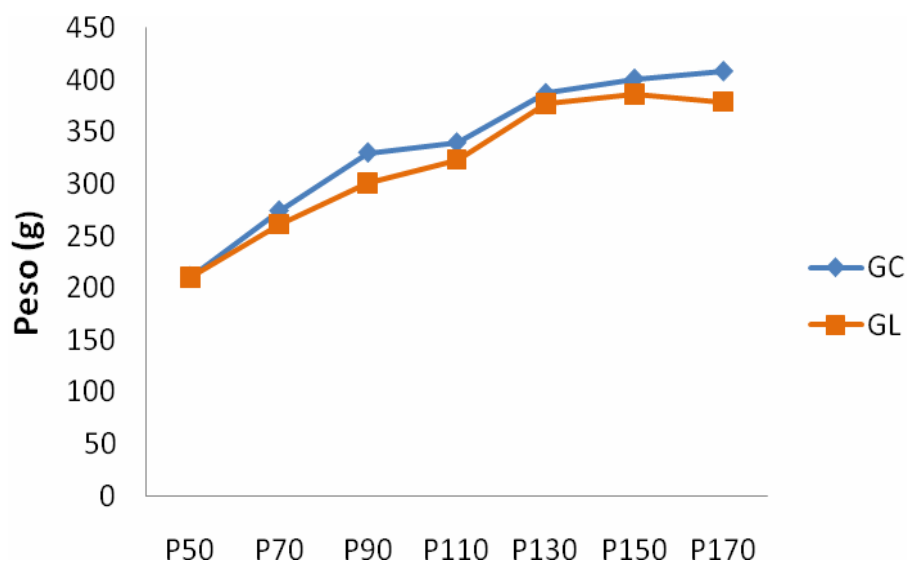


Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Avaliação Nutricional até idade adulta

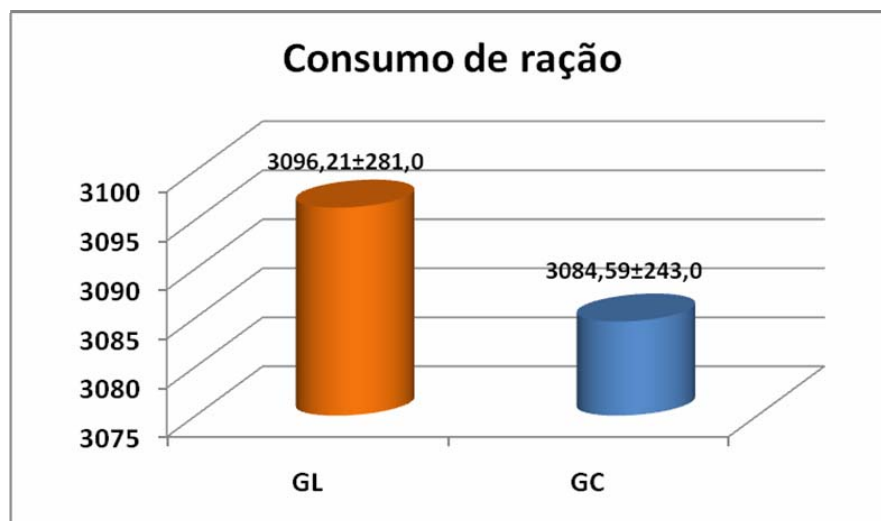
Na data do sacrifício, aos 170 dias de idade os animais não apresentaram diferenças no peso corporal (GL= $379,33 \pm 38,04$; GC= $408,07 \pm 23,17$), o gráfico 9 mostra a evolução de peso corporal de 50 até 170 dias de vida. O consumo de ração até 170 dias foi semelhante (GL= $3096,21 \pm 281,09$; GC= $3084,59 \pm 243,04$) conforme observamos no gráfico 10.

Gráfico 9 - Evolução de peso corporal (g) dos animais até 170 dias de vida.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

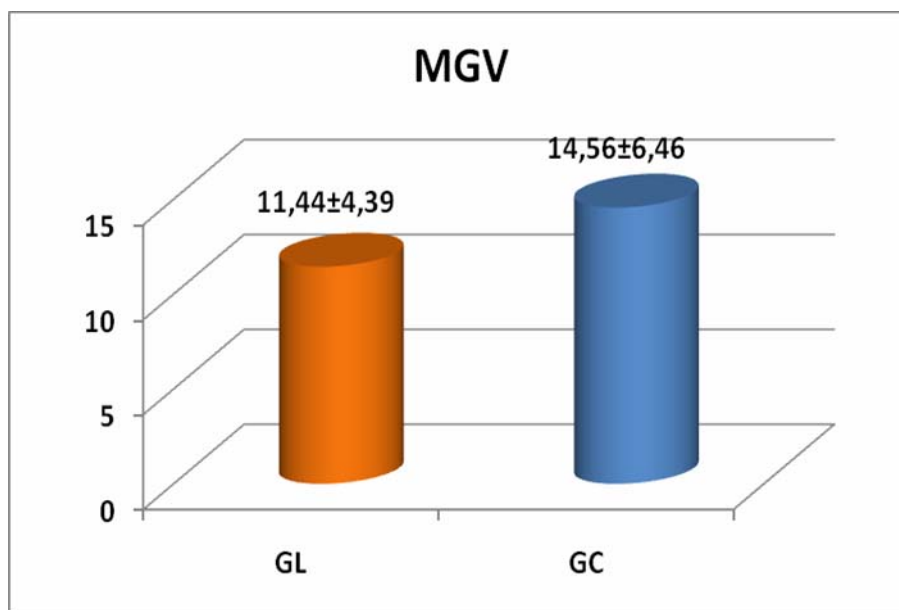
Gráfico 10 – Consumo de ração (g) dos animais até 170 dias de vida.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Com relação à massa de gordura visceral, o GL apresentou uma redução de 21,43% (GL= 11,44±4,39; comparados ao GC=14,56±6,46), porém a mesma não foi significativa.

Gráfico 11 – Massa de gordura visceral (g) aos 170 dias.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Dados bioquímicos

Os dados relativos à bioquímica estão apresentados na Tabela 4. Houve redução na hemoglobina ($p=0,02$), no colesterol total ($p=0,02$), no VLDL ($p=0,03$) e nos triglicérides ($p=0,03$) no GL. Não foram verificadas alterações nos valores de hematócrito, LDL e HDL.

Tabela 4 – Valores das análises bioquímicas dos animais ao final do experimento (170 dias).

Grupo	GC n=8	GL n=8
Hematócrito (%)	46,71±1,38	44,43±3,86
Hemoglobina (g/dL)	13,88±0,91	12,30±1,28*
Colesterol (mg/dL)	63,43±15,69	45,71±8,96*
LDL (mg/dL)	6,46±4,64	1,37±3,28
VLDL (mg/dL)	15,97±5,14	10,86±2,22*
HDL (mg/dL)	45,34±13,30	43,24±4,71
Triglicerídeos (mg/dL)	79,86±25,68	54,29±11,10*

Os valores estão apresentados na forma de média± desvio padrão. Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça * Denota significância estatística.

As concentrações de estradiol e testosterona foram semelhantes entre os grupos (tabela 5).

Tabela 5 – Concentração sérica de 17-β estradiol (pg/mL) e testosterona (ng/dL) dos animais aos 170 dias de vida.

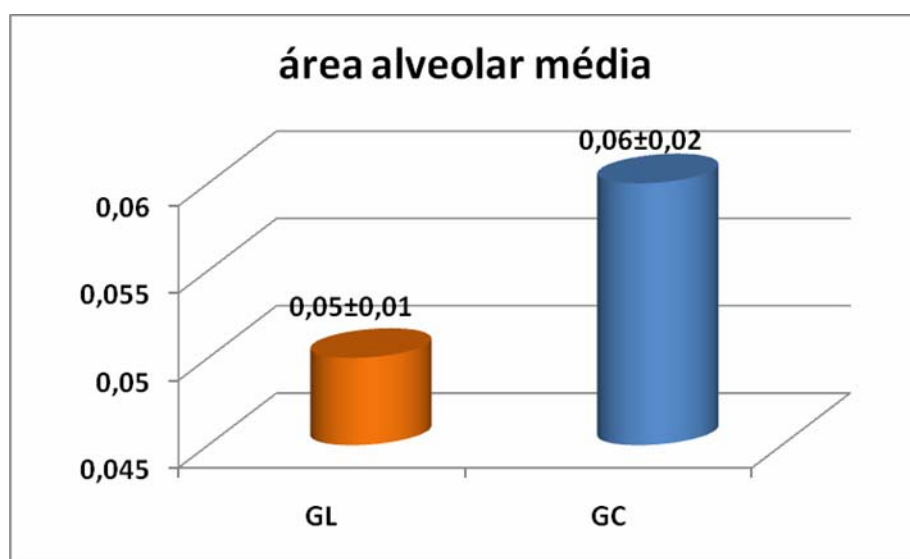
Grupo	GC n=8	GL n=8
17 β-estradiol (pg/mL)	34,00±7,46	28,33±2,66
Testosterona (ng/dL)	150.67±18,79	154.33±16,69

Resultados foram expressos em média e desvio padrão. * Denota diferença estatística.

Análise morfológica da próstata

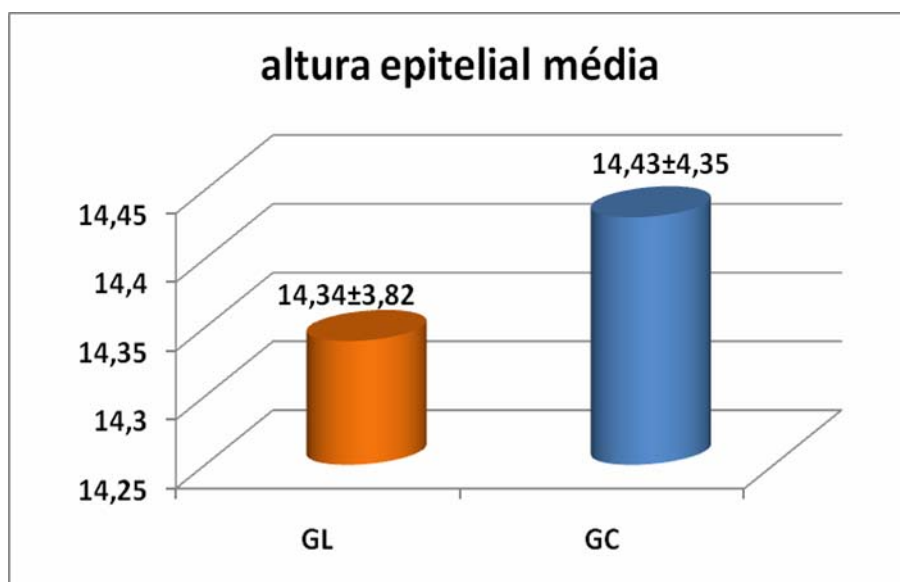
Os animais do GL e GC não apresentaram alterações na morfologia da próstata, pois não houve diferença na área alveolar média (GL=0.05±0,01; GC=0.06±0,02; gráfico 12) e na área total nos dois grupos analisados. Não foram observadas diferenças na altura epitelial média (GL=14,34±3,82; comparado ao GC=14,43±4,35; gráfico 13).

Gráfico 12 - Área alveolar média (mm) da próstata dos animais aos 170 dias.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

Gráfico 13 – Altura epitelial média (µm) da próstata dos animais aos 170 dias.



Sendo GC- grupo controle, GL – grupo linhaça.* Denota significância estatística.

6 DISCUSSÃO

Ao se trabalhar com rações experimentais torna-se importante o conhecimento da composição das mesmas, para tal realizou-se a composição centesimal da dieta do GL e do GC, que foram balanceadas segundo as recomendações do *American Institute of Nutrition*. As rações utilizadas podem ser consideradas como isocalóricas e isoprotéicas. O perfil de ácidos graxos das rações experimentais foi analisado anteriormente no LabNE, no qual foi demonstrado maior teor de ALA, seguido de ácido graxo monoinsaturado (ômega-9) e menor valor de AL na ração contendo linhaça; já na ração a base de caseína foi encontrado maior quantidade de ácido alfa-linoléico, depois de ômega-9 e menor teor de ALA (ALMEIDA, 2007). Visentainer (2003) relata que é possível direcionar o perfil de ácidos graxos do produto final de acordo com a fonte lipídica empregada. Desse modo, a utilização da semente de linhaça pode promover um alto teor de ALA no produto final. Este autor encontrou resultado semelhante ao de Almeida (2007), onde a ração preparada com óleo de linhaça também apresentou concentrações superiores de ALA, quando comparadas a rações sem a presença da semente (VISENTAINER, 2003).

O consumo de alimentos ricos em fitoestrógenos tem aumentado devido aos seus efeitos quimioprotetores especialmente relacionados ao câncer de próstata e mama. Estudo realizado por Tarpila et al. em 2002 recomendou o uso de 20% de linhaça em relação ao valor energético diário para obtenção dos benefícios da oleaginosa, reforçando o crescente consumo pela população. Este fato tem levantado questionamentos em relação aos possíveis efeitos destes componentes na saúde reprodutiva masculina (SPRANDO et al., 2000). De acordo com a literatura deve-se ter cautela no consumo de linhaça em períodos críticos, como a lactação, devido ao fato desta oleaginosa conter substâncias que podem interferir no

desenvolvimento do sistema reprodutor masculino, podendo exercer tanto efeitos protetores quanto adversos dependendo da dose, tempo de exposição e fase da vida em que for administrado (TOU et al., 1999). Os efeitos adversos podem ocorrer pelo contato direto da lignana que é transferida pela mãe, gerando mudanças no desenvolvimento que podem resultar em alterações na função endócrina da prole. Algumas destas mudanças não são completamente expressas até que a prole atinja a idade adulta (STOKER et al, 1999).

Não foram verificadas diferenças na variação de peso, no consumo protéico e no consumo de ração das mães que receberam dietas experimentais durante a lactação. Este consumo foi analisado para garantir que qualquer alteração ocorrida na prole possa ser atribuída à presença da semente. Rice e Corwin (2002) demonstraram que o perfil de ácidos graxos da dieta não influencia na ingestão alimentar quando comparou em ratos o consumo de uma dieta rica em n-3 com outra rica em n-6.

A adequação da proteína da linhaça para o aleitamento foi comprovada através do valor de lactância, visto que o resultado foi semelhante aos valores encontrados para o grupo alimentado apenas com a caseína. A caseína é uma proteína de origem animal recomendada para ser utilizada como proteína padrão em ensaios experimentais que utilizem animais de laboratório (REEVES, 1993). A qualidade de uma proteína implica na sua potencialidade para fins de síntese protéica. A proteína sintetizada pelo organismo destina-se ao crescimento, manutenção, reparação e reprodução (TAGLE, 1981b).

O consumo de dietas ricas em ômega 6 aumentou no último século, com implicações desconhecidas para o conteúdo de n-3 e n-6 no cérebro. Este elevado consumo duplicou as concentrações do n-6 no leite humano e conseqüentemente nas fórmulas infantis, visto que possuem composição semelhante a do leite humano (INNIS e JACOBSON, 2007; BRENNAN et al., 2007; INNIS, 1992).

No presente trabalho a quantidade de gordura do leite foi semelhante entre o grupo linhaça e o controle. Porém, o consumo de linhaça durante o período de lactação no perfil de ácidos graxos do leite foi avaliado em experimento realizado por Almeida (2007) no LabNE, onde foi encontrado aumento significativo de ácido alfa-linolênico (C18:3 n-3), EPA (C20:5 n-3) e de DHA (C22:6 n-3) no GL quando comparado ao GC no 21º dia de lactação, fato que mostrou a eficiência da conversão do ALA em DHA. Demonstrando que a mudança ocorre na qualidade dos

ácidos graxos no leite e não na quantidade de lipídeos. O autor também verificou a diminuição da relação n6:n3 no leite do mesmo grupo.

Francois et al. (2003) determinaram o efeito da suplementação materna com óleo de linhaça sobre o leite em sete mulheres, onde encontrou aumento nos teores de ALA, EPA e ácido docosapentaenóico. O autor não observou alterações nos teores de DHA.

A exposição materna a uma dieta contendo 25% linhaça não alterou o ganho de peso corporal no período de 21 dias, mas promoveu redução no peso corporal da prole ao desmame. Resultado semelhante foi observado por Collins et al. (2003) ao ofertar dieta contendo linhaça ou linhaça desengordurada em várias dosagens. De acordo com Rickard et al. (2000), 5% de linhaça ou 1,5mg/dia de SDG reduz as concentrações plasmáticas de fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I), que age como mediador do hormônio do crescimento (GH), visto que as ações do GH na promoção do ganho de massa corporal são mediadas pelo IGF-I (LEUNG et al., 2004). Apesar do GH e do IGF-I não terem sido dosados no presente estudo este fato poderia justificar o menor peso ao desmame que os filhotes apresentaram.

Com relação à avaliação do valor biológico das rações não foram verificadas diferenças no PER e tampouco no CEA visto que durante os 28 dias pós desmame todos os animais receberam dieta comercial, não interferindo no ganho de peso, consumo protéico e de ração. Nos parâmetros analisados durante este período não foram observados efeitos da programação com a semente de linhaça. Friedman (1996) relaciona valores de PER acima de 2 com proteína de boa ou alta qualidade; valores entre 2 e 1,5 de qualidade intermediária e abaixo de 1,5 com proteína de baixa qualidade. Soares et al. (2009) ofertou uma dieta contendo 10% de linhaça como fonte exclusiva de proteína durante esta fase e encontrou valores de PER de 0,8 para o GL e 2,3 para o GC, demonstrando que a linhaça possui baixa qualidade protéica e interferiu de forma negativa no crescimento dos ratos.

Não foram observadas alterações no percentual de hematócrito, porém houve redução nos valores de hemoglobina. Resultado diferente foi relatado por Babu et al. (2000) ao ofertar 10% de semente de linhaça a ratos por 56 dias, onde o autor encontrou aumento no percentual de hematócrito e valores inalterados de hemoglobina. Para Harkness e Wagner (1993), os valores médios de Hb para roedores variam de 11g/dL a 18g/dL. Considerando esta referência, os dois grupos apresentaram valor de Hb dentro deste intervalo.

O estrogênio e a testosterona são responsáveis pelas características sexuais no adulto e podem influenciar no desenvolvimento de processos cancerígenos. Estudo realizado com 6 homens jovens e saudáveis que consumiram 13,5g/dia de farinha de linhaça por 6 semanas demonstrou que a linhaça parece não interferir nas concentrações plasmáticas de testosterona a curto prazo (SHULTZ et al., 1991). De acordo com Tou et al. (1999), a administração de 10% de linhaça na dieta aumentou os níveis séricos de estradiol e testosterona na prole macho em contraste com nossos resultados onde não foram verificadas diferenças entre os grupos nas concentrações hormonais nos animais na idade adulta, quando a semente foi oferecida apenas na lactação. Tais autores demonstraram que esta concentração de linhaça durante o período de gestação e lactação promoveu menor ganho de peso pós natal, menor distância anogenital, alterações na morfologia da próstata, com aumento do seu peso relativo, bem como aumento do peso da vesícula semínifera e testículo, sugerindo efeitos estrogênicos (TOU et al., 1998; TOU et al., 1999). Já 5% de linhaça promoveu efeitos anti-estrogênicos, como diminuição no peso relativo de todos os lóbulos da próstata (TOU et al., 1999).

No presente trabalho foi verificado que a área alveolar média, a área total e a altura epitelial da próstata foram semelhantes entre o GL e GC, sugerindo que a exposição materna a linhaça durante a lactação não afeta a glândula aos 170 dias; o que pode ser explicado pelas concentrações de testosterona e estradiol que não foram afetadas pelo consumo desta oleaginosa. Tais resultados corroboram com Ward et al. (2001) em que 10% de linhaça exclusivamente durante a lactação também não promoveu alterações na morfologia da próstata da prole aos 132 dias.

Koralek et al. (2006) analisaram através de um estudo prospectivo a relação entre o consumo de ALA e o risco do desenvolvimento de câncer de próstata. Foram selecionados anualmente homens (idade 55-74 anos), predominantemente caucasianos, num total de 29.592 participantes para verificar a incidência de câncer de próstata. Todos foram acompanhados por 5 anos através de questionários alimentares, teste de antígeno prostático específico (PSA) e exame de toque retal. Os autores observaram que o consumo total de ALA e o consumo de ALA de acordo com a fonte alimentar não foram relacionados ao risco de câncer de próstata.

Embora existam alguns estudos sugerindo uma associação positiva entre o ALA e o câncer de próstata (DE STEFANI et al., 2000; RAMON et al., 2000), deve-se lembrar que existe uma literatura extensiva sobre o papel do ALA, EPA e do DHA na

proteção contra a DCV. A DCV é a principal causa de mortes em populações ocidentais e a doença parece ser a principal causa de morte em homens com câncer de próstata diagnosticado (MOYAD, 2002). Seria controverso que o ALA, um importante nutriente associado com o risco diminuído de doença cardiovascular, estivesse associado com um risco aumentado de câncer de próstata. Foram necessários muitos anos para demonstrar que o ALA é eficaz em diminuir o impacto da doença cardiovascular, e um esforço similar precisaria ser exercido para estabelecer o relacionamento, eventualmente, entre ALA e o câncer de próstata (ATTAR-BASHI et al., 2004).

Freeman et al. (2000) examinaram as concentrações de ácidos graxos no tecido prostático, relacionando os mesmos com a prevalência das características histopatológicas associadas ao risco do câncer invasivo e sua progressão. Foram avaliados 49 homens submetidos à prostatectomia radical para o câncer de próstata localizado. Altas concentrações de PUFAs foram relacionadas com uma histopatologia da doença menos agressiva e invasiva. Os resultados encontrados pelos autores sugerem que os ácidos graxos essenciais auxiliam na regulação da carcinogênese da próstata nos seres humanos. Um mecanismo biológico plausível pelo qual os ácidos graxos essenciais podem promover ou inibir o fenótipo metastático seria através do metabolismo dos eicosanóides.

Dentre os benefícios associados ao consumo de linhaça, a diminuição do risco cardiovascular é bem reconhecida em mulheres (PATADE et al., 2008). Mas atualmente estudos relatam este papel protetor também em homens e animais do sexo masculino (VIJAIMOHAN et al., 2006, CINTRA et al., 2006). O efeito protetor tem sido associado não só ao consumo de toda semente, mas também ao uso do óleo, do SDG e da proteína. O uso de 20g de linhaça em pacientes hiperlipidêmicos por 60 dias mostrou modificação nos fatores de risco cardiovascular, com diminuição significativa de colesterol, LDL e triglicérido (MANDASESCU et al., 2005).

Riediger et al. (2008) ofertou óleo de linhaça, junto a uma dieta rica em gordura saturada, para camundongos machos e verificou redução nos níveis de triglicéridos e colesterol plasmáticos, atribuindo o resultado encontrado a menor relação n6:n3. Em outro estudo o uso de 3g de ALA por doze semanas através do óleo de linhaça, quando comparado ao azeite de oliva, elevou em 70% a concentração plasmática de ALA, em 60% o EPA e em 34% o DPA. Não houve mudanças importantes no grupo que recebeu azeite de oliva (HARPER et al., 2006).

Os ácidos graxos n-3, especialmente o EPA e o DHA, estão relacionados com uma importante participação na prevenção das DCV (WANG et al., 2006). Diversos mecanismos foram propostos para explicar os efeitos cardioprotetores do EPA e DHA (CONNOR, 2000). Estes mecanismos incluem: prevenção de arritmias (LEAF et al., 2003), diminuição dos triglicerídeos plasmáticos (HARRIS, 1997), diminuição da pressão sanguínea (GELEIJNSE et al., 2002), diminuição da agregação plaquetária (KNAPP, 1997), diminuição do colesterol nas arteriais (SEO et al., 2005), melhora do relaxamento vascular (GOODFELLOW et al., 2000) e diminuição da resposta inflamatória arterial (CALDER, 2001).

Prasad, em 2005, mostrou que 40mg/Kg peso/dia de SDG em coelhos associado a uma dieta rica em colesterol reduziu o colesterol total, LDL e promoveu elevação do HDL. Já em 2008 o autor verificou que 20mg/ kg peso/dia do mesmo composto não diminuiu os teores de lipídeos séricos, porém nos dois trabalhos o SDG preveniu a progressão da aterosclerose, através da redução do estresse oxidativo.

O consumo apenas da proteína da linhaça na dieta reduziu tanto o colesterol plasmático quanto o triglicerídeo em ratos com perfil lipídico normal (BHATHENA et al., 2002). Verificamos resultado semelhante no presente estudo com redução nos teores de colesterol e triglicerídeos no GL, sugerindo que a linhaça programa para proteção cardiovascular em machos na idade adulta. A semente demonstrou ser eficiente na redução do colesterol mesmo em ratos com valores dentro da faixa de normalidade e esta redução não influenciou nas concentrações de testosterona, visto que o hormônio é derivado do colesterol.

O tipo e a quantidade de lipídeos consumidos contribuem com o início e a progressão das doenças crônicas, como o diabetes e a aterosclerose. O fígado tem um papel fundamental no metabolismo dos lipídeos e responde de forma rápida a mudanças na composição da dieta. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) são importantes na composição e função da membrana, metabolismo e controle da expressão gênica. Determinados PUFAs, tal como o ALA, aumentam a oxidação hepática, inibem a síntese de ácidos graxos e a secreção de VLDL, em parte através da regulação da expressão gênica (JUMP et al., 2008). No presente trabalho foi observada redução no VLDL, já o LDL e o HDL não sofreram mudanças. O tratamento com ácidos graxos n-3 demonstrou aumentar ou não influenciar nas concentrações de HDL e LDL (BAYS e STEIN, 2003; HARPER e JACOBSON,

2006). Uma pesquisa realizada por Bloedon et al. (2008) mostrou efeito negativo do alto consumo de linhaça sobre os teores de HDL, quando ofertada numa dose de 40g/dia.

Dietas ricas em frutas e vegetais previnem contra diversas patologias e, particularmente, a DCV (PÉREZ-RODRIGO et al., 2006). Substâncias antioxidantes presentes na dieta, bem como a presença de fibras alimentares são, provavelmente, os responsáveis por esse efeito protetor (ROSS e KASUM, 2002). Estudos epidemiológicos têm evidenciado a relação inversa entre a ingestão habitual de fibras alimentares e o risco de DCV (ANDERSON e HANNA, 1999). A linhaça contém 28% de fibras solúveis e insolúveis (WARRAND et al., 2005), sabe-se que as fibras solúveis reduzem de forma efetiva os níveis plasmáticos de colesterol, o que pode contribuir de maneira direta na proteção contra a DCV (FERNANDEZ, 2001).

Apesar de não terem sido observadas diferenças na ingestão alimentar, no peso corporal e na massa de gordura visceral (MGV) aos 170 dias, verificou-se uma redução de 21,43% na MGV. A nutrição materna durante a lactação já foi comprovada como sendo um fator determinante na programação do peso da prole na idade adulta (PASSOS et al., 2000) e de acordo com o resultado obtido neste trabalho parece programar a composição corpórea também.

Poucos estudos avaliaram os efeitos da programação nutricional apenas durante a lactação e demonstraram que este parece ser o período mais crítico para o estabelecimento da programação (PASSOS et al., 2000; RAMOS et al., 2000).

Entretanto, o mecanismo pelo qual ocorre tal programação ainda precisa ser elucidado, sendo necessários mais estudos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- De acordo com a composição centesimal foi demonstrado que as rações experimentais eram isoprotéicas e isocalóricas;
- O consumo da semente de linhaça, durante o período de lactação, não interferiu no consumo alimentar tampouco no ganho de peso materno;
- O consumo materno da semente promoveu menor peso apenas ao desmame nos filhotes do GL;
- A linhaça reduziu os teores de hemoglobina nos animais na idade adulta;
- O consumo materno da semente de linhaça programou para uma proteção cardiovascular na idade adulta através da redução do colesterol, triglicérides e VLDL;
- Foi demonstrada uma influencia positiva na redução da massa de gordura visceral na idade adulta;
- A administração de semente de linhaça durante a lactação não promoveu alterações hormonais e nem histológicas nos alvéolos prostáticos até a idade estudada, parecendo ser seguro o consumo materno durante esta fase;
- Mais estudos continuam sendo necessários devido à controvérsia existente entre os trabalhos publicados a cerca dos efeitos que variam com a dose, a duração e fase da vida em que a oleaginosa for consumida.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEITES E GRASAS. Lino, una oleagionosa con historia. Aceites e Grasas. 38, 59-72, 2000. Apud: Turatti JM. Óleos vegetais como fonte de alimentos funcionais. *Óleos e Grãos*. São Caetano do Sul, 56: 20-7, 2000.

ADLERCREUTZ, H; MOUSAVI, Y; CLARK, J; et al. Dietary phytoestrogens and cancer: in vitro and in vivo studies. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 41: 331–337, 1997.

ADLERCREUTZ, H; HOCKERSTEDT, K; BANNWART, C; et al. Association between dietary fiber, urinary excretion of lignans and isoflavonic phytoestrogens and plasma non-protein bound sex hormone in relation to breast cancer. In: BRESCIANI, F; KING, RJB; LIPPMAN, ME; et al.(Eds), *Progress in cancer research and therapy: Hormones and cancer*, third edition, raven Press, New York, p.412, 1988.

ADLERCREUTZ, H. Phytoestrogens: epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ. Health Perspect*. 103 (suppl 7): 103-112, 1995.

ADLERCREUTZ, H. Western diet and Western diseases: some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scand. J. Clin. Lab. Investig*. 50 (suppl. 20): 13–23, 1990.

ADLERCREUTZ, H. Phyto-oestrogens and cancer. *Lancet Oncology*. 3(6), 364–373, 2002.

ALMEIDA, KCL. *A incorporação de ácidos graxos ômega-3, oriundos da semente de linhaça (Linum usitatissimum), influenciando o desenvolvimento cerebral de ratos filhotes*. Niterói, Rio de Janeiro, 2007. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Departamento de patologia, Universidade Federal Fluminense, 2007.

ANDERSON, JW; HANNA, TJ. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. *J Nutr*. 129: 1457-66, 1999.

ANDERSSON, SO; WOLK, A; BERGSTROM, R; et al: Energy, nutrition intake and prostate cancer risk: a population-based case-control study in Sweden. *Int J Cancer*. 68: 716, 1996.

ANGELIS, RC. Valor nutricional das proteínas: métodos e avaliação. *Cad. Nutr.* 10:8-29, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis; 14^aed.; p.249; 1984.

ATTAR-BASHI, NM; FRAUMAN, AG; SINCLAIR, AJ. Alpha-linolenic acid and the risk of prostate cancer. What is the evidence?? *J Urol.* 171:1402–1407, 2004.

ANTHONY, MS. Phytoestrogens and cardiovascular disease: Where's the meat? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 22(8), 1245–1247, 2002.

BABU, US; MITCHELL, GV; WIESENFELD, P; et al. Nutritional and hematological impact of dietary flaxseed and defatted flaxseed meal in rats. *International Journal of Food sciences and nutrition.* 51: 109-117, 2000.

BANCROFT, JD; COOK, HC. *Manual of Histological Techniques and their Diagnostic Application.* Edinburgh: Churchill Livingstone. 35-67, 1994.

BAYS, H; STEIN, EA. Pharmacotherapy for dyslipidaemia-current therapies and future agents. *Expert Opin Pharmacother.* 4:1901-38,2003.

BARAC, A; CAMPIA, U; PANZA, JA. Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertension.* 49: 748-760, 2007.

BATELLO, CF. Os poderes do óleo de linhaça. 2005. Disponível em: <[HTTP://www.performancenutrition.com.br/](http://www.performancenutrition.com.br/)>. Acesso em 1/12/2005.

BEGUM, AN; NICOLLE, C; MILA, I; et al. Dietary Lignins Are Precursors of Mammalian Lignans in Rats. *J. Nutr.* 134:120–127, 2004.

BHATHENA, SL; ALI, A. A; MOHAMED, A.I.; et al. Differential effects of dietary flaxseed protein and soy protein on plasma triglyceride and uric acid levels in animal models. *J. nut.r Bioch.* 13, 684-689, 2002.

Bloedon, LT; Balikai, S; Chittams, J, et al. Flaxseed and Cardiovascular Risk Factors: Results from a Double Blind, Randomized, Controlled Clinical Trial. *Journal of the Am. Coll. of Nutr.* Vol. 27, No. 1, 65–74, 2008.

BRENNAN CS. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Mol. Nutr. Food Res.* 49: 560-570, 2005.

BRENNAN, JT; VARAMINI, B; JENSEN, RG; et al. Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast Milk worldwide. *Am. J. Clin. Nutr.* 85, 1457–1464, 2007.

BRUM, IS; SPRITZER, PM; BRENTANI, MM. Biologia Molecular das Neoplasias de Próstata. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 49/5:797-804, 2005.

BRZEZINSKI, A; DEBI, A. Phytoestrogens: the “natural” selective estrogen receptor modulators? *European Journal of Obstetrics & gynecological and Reproductive Biology.* 85(1), p.47-51, 1999.

CALABRESI, L; VILLA, N; CANAVESI, M; et al. An omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrate increases plasma highdensity lipoprotein 2 cholesterol and paraoxonase levels in patients with familial combined hyperlipidemia. *Metabolism* 53:153–158, 2004.

CALDER, PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids.* 36:1007–24, 2001.

CANADIAN GRAINS COMMISSION. Canada Western flaxseed and yellow flaxseed samples., Winnipeg, MB, 2001.

CARTER, JF. Potential of Flaxseed and Flaxseed oil in Baked Goods and Other Products in Human Nutrition. *American Association of Cereal Chemists,inc.* v.38, nº10, p.753-759, 1993.

CHUNG, MWY. *Isolation and characterization of the major fraction of flaxseed proteins.* MSc thesis, The University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada. 2001.

CINTRA, DEC; COSTA, AGV; PELUZIO, MCG; et al. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. *Nutr.* 22: 197–205, 2006.

CLARK, WF; KORTAS, C; HEIDENHEIM, AP; et al. Flaxseed in Lupus nephritis: a two-year nonplacebo-controlled crossover study. *J. Am. Coll. of Nutr.* 20(2): 143-148, 2001.

CLINTON, SK; GIOVANNUCCI. E. Diet, nutrition and prostate cancer. *Annual Review of Nutrition.* Vol. 18: 413-440, 1998.

CONNOR, WE. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am J Clin nutr.* 71 (suppl): S171-5, 2000.

CORTI, R; FUSTER, V; BADIMON, JJ. Pathogenic concepts of acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 41: 7S-14S, 2003.

COSKUNER, Y; KARABABA, E. Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering*. 78: 1067–1073, 2007.

COLLINS, TFX; SPRANDO, RL; BLACK, TN; et al. Effects os flaxseed and defatted meal on reproduction and development in rats. *Food and Chemical Toxicology* 41:819-834, 2003.

CORDAIN, L; EATON, SB; SEBASTIAN, A; et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 341-354, 2005.

CURY MTF. Aleitamento Materno. In: *Nutrição em obstetrícia e pediatria*. P.287-313, 2003.

DAUNCEY, MJ; WHITE, P; BURTON, KA; et al. Nutrition-hormone receptor-gene interactions: implications for development and disease. *Proc. Nutr. Soc.* 60:63–72, 2001.

DE STEFANI, E; DENEIO-PELLEGRINI, H; BOFFETTA, P; et al. Alpha-linolenic acid and risk of prostate cancer: a case-control study in Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9: 335, 2000.

DIVISI, D; DI TOMMASO, S; SALVEMINI, S; et al. Diet and cancer. *Acta Biomed.* 77: 118-123, 2006.

DJOUSSE, L; PANKOW, JS; ECKFELDT, JH; et al. Relation between dietary linolenic acid and coronary artery disease in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Clin Nutr* 74:612– 619, 2001.

DUARTE-ALMEIDA, JM; et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 2, p. 446-452, abr./jun, 2006.

DUNSTAN, JA; SIMMER, K; DIXON, G; et al. Cognitive assessment at 2 1/2 years following fish oil supplementation in pregnancy: a randomized controlled trial. *Arch. Dis. Child Fetal Neonat.* ED. 93, F45–50, 2006.

EVANS, BA; GRIFFITHS, K; MORTON, MS. Inhibition of 5 alpha-reductase in genital skin fibroblasts and prostate tissue by dietary lignans and isoflavonoids. *J Endocrinol* 147: 295-302, 1995.

FAGHERAZZI, S; DIAS, RL; BORTOLON, F. Impacto do exercício físico isolado e combinado com dieta sobre os níveis séricos de HDL, LDL, colesterol total e triglicerídeos. *Rev Bras Med Esporte*. Niterói, v. 14, n. 4, ago. 2008. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517869220080004000

12&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 01 mar. 2009. doi: 10.1590/S1517-86922008000400012.

FELLOWS, WD; RASMUSSEN, KM. Comparison of methods for obtaining milk samples from well-nourished and malnourished rats. *Physiol Behav.* v.33, n.5, p.761-763, 1984.

FERNANDEZ, ML. Soluble fiber and nondigestible carbohydrate effects on plasma lipids and cardiovascular risk. *Curr Opin Lipid.* 12:35-40, 2001.

FERRIER, LK; CASTON, LJ; LEESON, S; et al. α -Linolenic acid- and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 81-86, 1995.

FISHBECK, KL; Rasmussen, KM. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rats. *J Nutr.* V.117, p.1967-1975, 1987.

FRANCOIS, CA; CONNOR, SL; BOLEWICZ, LC; et al. Supplementing lactating women with flaxseed oil does not increase docosahexaenoic acid in their Milk. *AM J Clin Nutr.* 77:226-33, 2003.

FRANKEL, S; GUNNELL, DJ; PETERS, TJ; et al. Childhood energy intake and adult mortality from cancer: the Boyd Orr Cohort Study. *BMJ.* 316(7130):499, 1998.

FREEMAN, TP. Structure of flaxseed. In: *Flaxseed in human nutrition*, eds Cunnane SC, Thompson LU, AOCS Press Champaign, IL, 11-21, 1995.

FREEMAN, VL; MEYDANI, M; YONG, S; et al. Prostatic levels of fatty acids and the histopathology of localized prostate cancer. *The Journal of Urology.* Vol. 164, 2168-2172, December 2000.

FRIEDMAN, M. Nutritional value of proteins from different food sources. A Review. *J. Agr. Food Chem.* 44: 6-29, 1996.

FRIEDEWALD, WT; LEVY, RI; FREDRICKSON, DS. Estimation of the concentration of lowdensity lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 18: 499-502, 1972.

GEBARA, OCE; VIEIRA, NW; MEYER, JW; et al. Efeitos Cardiovasculares da Testosterona. *Arq Bras Cardiol*, vol 79 (nº 6), 644-9, 2002.

GELEIJNSE, JM; GILTAY, EJ; GROBBEE, DE; et al. Blood pressure response to fish oil supplementation: meta-regression analysis of randomized trial. *J Hypertens* 20:1493–1499, 2002.

GOODFELLOW, J; BELLAMY, MF; RAMSEY, MW; et al. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 35:265–70, 2000.

GRIEL, A. E; KRIS-ETHERTON, P. M; HILPERT, K. F., et al. An increase in dietary n-3 fatty acids decreases a marker of bone resorption in humans. *Nutrition Journal.* 6, 2–10, 2007.

HARKNESS, JE; WAGNER, JE. *Biologia e clínica de coelhos e roedores.* 3.ed. São Paulo: Roca; 1993.

HARRIS, WS. n–3 Fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 65(suppl):S1645–54, 1997.

HARPER, CR; EDWARDS, MJ; DEFILIPIS, AP; et al. Flaxseed oil increases the plasma concentrations of cardioprotective (n-3) fatty acids in humans. *The Journal of Nutrition.* 136 (1), 83–87, 2006.

HARPER, C; JACOBSON, T. Na evidence-based approach to the use of combination drug therapy for mixed dyslipidemia. *J Clin Outcomes Manage.* 13: 57-68, 2006.

HASLER, CM; KUNDRAT, S; WOOL, D. Functional foods and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports.* 2, p.467-475, 2000.

HEDELIN, M; KLINT, A; CHANG, ET; et al. Dietary phytoestrogen, serum enterolactona and risk of prostate cancer: the cancer prostate Sweden study. *Cancer Causes and Control.* 17: 169-180, 2000.

HILPERT, KF; WEST, SG; KRIS-ETHERTON, PM; et al. Postprandial effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on apolipoprotein B-containing lipoproteins and vascular reactivity in type 2 diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* 85(2), 369–376, 2007.

HU, FB; BRONNER, L; WILLETT, WC; et al. Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA* 287:1815–1821, 2002.

HUTCHINS, AM; SLAVIN, JL. *Effects of flaxseed on sex hormone metabolism.* In: *Flaxseed in Human Nutrition.* eds Thompson LU and Cunnane SC, 2nd ed, AOCS Press, Champaign, IL, p 126-149, 2003.

INNIS, SM. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. *Brain Research* 1237: 35 – 43, 2008.

_____. Human milk and formula fatty acids. *J. Pediatr.* 120, S56–S61, 1992.

INNIS, S.M., FRIESEN, R.W. Essential n-3 fatty acids among pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 548–557, 2008.

INNIS, SM; JACOBSON, K. Dietary lipids in early development and intestinal inflammatory disease. *Nutr. Rev.* 65, S188–193, 2007.

INSTITUTE OF MEDICINE. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. National Academies Press, Washington, DC, p 7-1— 7-69 (dietary fiber), 8-1— 8-97 (fat and fatty acids), 2002.

JACOBS, MN; NOLAN, GT; HOOD, SR. Lignans, bacteriocides and organochlorine compounds activate the human pregnane X receptor (PXR). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 209: 123-133, 2005.

JENSEN, CL; VOIG, RG; PRAGER, TC; et al. Effects of maternal docosahexaenoic acid intake on visual function and neurodevelopment in breastfed term infants. *Am J Clin Nutr.* 82:125–32, 2005.

JUMP, B; BOTOLIN, D; WANG, Y; et al. Docosahexaenoic acid (DHA) and hepatic gene transcription. *Chemistry and Physics of Lipids.* 153: 3–13, 2008.

KEEN, CL; LÖNNERDAL, B; CLEGG, M; et al. Developmental changes in composition of rat milk: trace elements, minerals, protein, carbohydrate and fat. *J. Nutr.* v.111, p.226-230, 1981.

KNAPP, HR. Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis. *Am J Clin Nutr.* 65(suppl):S1687–98, 1997.

KNOBIL, E; NEILL, J. The physiology of reproduction. New York: Raven Press. 975-98, 1988. In: Gebara, OCE; Vieira, NW; Meyer, JW; et al. Efeitos Cardiovasculares da Testosterona. *Arq Bras Cardiol.* vol 79 (nº 6), 644-9, 2002.

KORALEK, DO; PETERS, U; ANDRIOLE, GA. Prospective study of dietary alpha-linolenic acid and the risk of prostate cancer (United States). *Cancer Causes Control.* 17:783–791, 2006.

KRABBENDAM, L; BAKKER, E; HORNSTRA, G; et al. Relationship between DHA status at birth and child problem behaviour at 7 years of age. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 76: 29–34, 2007.

KRIS-ETHERTON, PM; HARRIS, WS; APPEL, LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*.106:2747–57, 2002.

KUIJSTEN, A; ARTS, ICW; VREE, TB; et al. Pharmacokinetics of enterolignans in healthy men and women consuming a single dose of secoisolariciresinol diglucoside. *J. Nutr.* 135: 795-801, 2005.

KURZER, MS; XU, X. Dietary phytoestrogens. *Annual Reviews of Nutrition*. 17, p. 353-381, 1997.

LEAF, A; KANG, JX; XIAO, YF; et al. Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of prevention of arrhythmias by n-3 fish oils. *Circulation*. 107: 2646-52, 2003.

LEITE, M. S.; AZEVEDO, V. B.; CARMO, M. G. T.; BOAVENTURA, G. T. Utilização da multimistura durante a lactação e seus efeitos na produção e composição do leite materno de ratas. *Rev. Nutr.*, Campinas: v. 15, n. 2, p. 211-221, maio/ago.2002.

LE MARCHAND, L; KOLONEL, LN; WILKENS, LR; et al. Animal fat consumption and prostate cancer—a prospective study in Hawaii. *Epidemiology*. 5: 276–282, 1994.

LEON, DA. Fetal growth and adult disease. *Eur J Clin Nutr*. 52(S1):S72, 1998.

LEUNG, KC; JOHANNSSON, G; LEONG, GM; et al. Estrogen Regulation of Growth Hormone Action. *Endocrine Reviews*. 25: 693–721, 2004.

LIMA, AO; SOARES, JB; GRECO, JB; et al. *Métodos de Laboratório aplicado à clínica*. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. In: *The Childhood Environment and Adult Disease*. CIBA Foundation Symposium- 156. Wiley, Chichester, U.K; p. 38–55, 1991.

MADRUGA, M.S.; SANTOS, H.B.; BION, F.M.; et al. Avaliação Nutricional de uma dieta suplementada com Multimistura: Estudo em ratos; *Ciência e Tecnologia de Alimentos*; Campinas; v.24; n.1; p. 129-133; jan/mar; 2004.

MAGEE, PJ ; ROWLAND, IR. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *British Journal of Nutrition*, 91: 513–531, 2004.

MANDASESCU, S; MOCANU, V; DASCALITA, AM; et al. Flaxseed supplementation in hyperlipidemic patients. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. Jul-Sep;109(3):502-6, 2005.

MANSON, JM; KANG, YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: *Principles and Methods of Toxicology* (Hayes, A. W., ed.), 2nd ed., pp. 311–359. Raven Press Ltd., New York, NY, 1989.

MARQUES, RFSV; LOPEZ, FA; BRAGA, JAP. O crescimento de crianças alimentadas com leite materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida. *Jornal de Pediatria, RJ*; 80(2):99-105, 2004.

MIKSICEK, RJ. Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 49:153–160, 1994.

MOYAD, MA. Complementary therapies for reducing the risk of osteoporosis in patients receiving luteinizing hormone-releasing hormone treatment/orchiectomy for prostate cancer: a review and assessment of the need for more research. *Urology*, 59: 34, 2002.

MOREIRA, AVB; MANCINI FILHO, J. Efeito dos compostos fenólicos de especiarias sobre lípidos polinsaturados. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v. 39, n. 3, p. 130-133, 2003.

MOREIRA, AVB. Avaliação da atividade antioxidante de sementes de mostarda (*Brassica alba* L.). São Paulo, 1999. Dissertação - (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Departamento de Nutrição, Universidade de São Paulo.

MORRIS, DH. Flax – a Health and nutrition primer. Flax Council of Canadá, Winnipeg. 2003.

_____. *Flax- A health and nutrition primer*. 4^a ed, 2007. Disponível em:<<http://www.flaxcouncil.ca/english/index.jsp?p=primer&mp=nutrition>>. Acesso: 21 janeiro, 2009.

MUELLER, BA; TALBERT, RL. Biological mechanisms and cardiovascular effects of omega-3 fatty acids. *Clinical Pharmacology*, 7(11), 795–807, 1988.

NEVEN, L. Lignans from flax. A solution for men's health only? *Nutraceuticals Now*. (Summer):10–13, 2003.

NEVILLE MC, PICCIANO MF. Regulation of milk lipid secretion and composition. *Annual Review of Nutrition* 17, p.159-189, 1997.

OLIVEIRA, S. R. P.; BION, F. M.; LOPES, S. M. L.; METRI, A. C. M. Uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas efeito sobre a gestação, a lactação e o crescimento de ratos. *Arch. Latinoam. Nutr.*, Carajás: v. 51, n. 1, jan. 2001.

OOMAH, BD; MAZZA, G, KENASCHUK, EO. Cyanogenic compounds in flaxseed. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 40:1346-1348, 1992.

OOMAH, BD; MAZZA, G. Bioactive components of flaxseed: occurrence and health benefits. In: SHAHIDI F, HO CT., *Phytochemicals and phytopharmaceuticals* (p. 105-120). Champaign: AOCS Press, 2000.

_____. Flaxseed proteins- a review. *Food Chemister*.V.48.p.109-114. 1993.

OOMAH, BD; KENASCHUK, EO; MAZZA, G. Phenolic acids in flaxseed. *J. Agric. Food Chem*. 43: 2016-2019, 1995.

OWEN, CG; MARTIN, RM; WHINCUP, PH; et al. Effect of infant feeding on the risk of obesity across the life course: A quantitative review of published evidence. *Pediatrics*. 115, 1367–1377, 2005.

PASSOS, MCF; RAMOS, CF; AND MOURA, EG. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutr. Res*. 20:1603–1612, 2000.

PATADE, A; DEVAREDDY, L; LUCAS, EA; et al. Flaxseed Reduces Total and LDL Cholesterol Concentrations in Native American Postmenopausal Women. *Journal of Women's Health*. Volume 17, Number 3, 2008.

PATIN RV, VÍTOLO MR, VALVERDE MA, et al. The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk. *J Pediatr (RJ)*;82:63-9, 2006.

PÉREZ-RODRIGO, C; ARANCETA BARTRINA J; SERRA MAJEM L; et al. Epidemiology of obesity in Spain. Dietary guidelines and strategies for prevention. *Int J Vitam Nutr Res*. Jul; 76(4):163-71, 2006.

PINE, AP; JESSOP, NS; OLDHAM, JD. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats: the effects of dietary protein restriction and stage of lactation on milk composition. *Br J Nutr*, v.72, p.815-830, 1994.

PRASAD, K. Hydroxyl radical-scavenging property of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flax-seed. *Molecular Cell Biochemistry*. 168:117-123, 1997a.

_____. Dietary flax seed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 132: 69–76, 1997b.

_____. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of flax lignan complex isolated from flaxseed. *Atherosclerosis*. 179: 269–275, 2005.

_____. Regression of hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside isolated from flaxseed. *Atherosclerosis*. 197: 34–42, 2008.

PRATICÒ, D. Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*. 181: 215-224, 2005.

RAMON, JM; BOU, R; ROMEA, S; et al. Dietary intake and prostate cancer risk: a case-control study in Spain. *Cancer Causes Control*. 11: 679, 2000.

RAMOS, CF; TEIXEIRA, CV; PASSOS, MCF; et al. Low-Protein Diet changes Thyroid Function in Lactating Rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 224:256–263, 2000.

REEVES, PG; NIELSEN, FH; FAHEY, JR GCF. AIN-93 purified diet of laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodents diet. *J. Nutr.* 123: 1939-51, 1993.

REMACLE, C; BIESWAL, F; REUSENS, B. Programming of obesity and cardiovascular disease. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28 Suppl 3:S46–53.

RASMUSSEN KM. The “fetal origins” hypothesis: challenges and opportunities for maternal and child nutrition. *Annu Rev Nutr*. 21:73, 2001.

RICE, HB; CORWIN, RL. Food intake in rats is unaffected by the profile of dietary essential fatty acids. *Physiology & Behavior*. 75: 611 – 619, 2002.

RICKARD, SE; YUANA, YV; THOMPSON, LU. Plasma insulin-like growth factor I levels in rats are reduced by dietary supplementation of faxseed or its lignan secoisolariciresinol diglycoside. *Cancer Letters*. 161: 47-55, 2000.

RIEDIGER, ND; OTHMAN, R; FITZ, E; et al. Low n-6:n-3 fatty acid ratio, with fish- or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *Eur J Nutr*. 47:153–160, 2008.

ROSAMOND, W; FLEGAL, K; FURIE, K; et al; AMERICAN HEART ASSOCIATION STATISTICS COMMITTEE AND STROKE STATISTICS SUBCOMMITTEE. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 117, e25-146, 2008.

ROSS, JA; KASUM, CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr.* v. 22, p. 19-34, 2002.

ROCHE, HM; GIBNEY, MJ. Effects of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on fasting and postprandial triacylglycerol metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(Suppl.): 232Se7S, 2000.

SEO, T; QI, K; CHANG, C; WORGALL, TS; et al. Saturated fat-rich diet enhances selective uptake of LDL cholesteryl esters in the arterial wall. *J Clin Invest.* 115:2214–22, 2005.

SETCHELL, K; ADLERCREUTZ, H. Mammalian lignans and phytoestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In Rowland IR (eds) *Role of the Gut Flora, Toxicity and Cancer*, pp 315-345. London: Academic Press, 1988.

SEVERSON, RK; NOMURA, AMY; GROVE, ET; et al. A prospective study of demographics and prostate cancer among men of Japanese ancestry in Hawaii. *Cancer Res.* 49: 1857–1860, 1989.

SHULTZ, TD; BONORDEN, WR; SEAMAN, WR. Effect of short-term flaxseed consumption on lignan and sex hormone metabolism in men. *Nutr. Res.* 11: 1089-1100, 1991.

SILVA, SMCS; MURA, JDP. *Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia*. 1ª edição, Editora Roca Ltda, São Paulo, 2007.

SIMOPOULOS, AP; LEAF, A; SALEM, NJr. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 63(3), 119–121, 2000.

SIMOPOULOS, AP. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 70 (suppl): 560S-569S, 1999.

_____. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56:365–379, 2002.

_____. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 60, 502–507, 2006.

SOARES, LL; PACHECO, JT; Brito CM; et al. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte de proteína nas fases de crescimento e manutenção em ratos. *Revista de Nutrição da PUCAMP*, 2009. In Press.

SPRANDO, RL; COLLINS, TFX; BLACK, TN; et al. The effect of maternal exposure to flaxseed on spermatogenesis in F1 generation rats. *Food and chemical toxicology*, 38: 325-334, 2000.

STAMPFER, MJ; KRAUSS, RM; MA, J; et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 276:882e8, 1996.

STOKER, TE; ROBINETTE, CL; COOPER, RL. Maternal exposure to atrazine during lactation suppresses suckling-induced prolactin release and results in prostatitis in the adult offspring. *Toxicol. Sci.* 52:68–79, 1999.

SUGANO, M; IKEDA, I. Metabolic interactions between essential and transfatty acids. *Current Opinion in Lipidology*. 7(1), 38–42, 1996.

TAGLE, MA. Dieta, prenhez e lactação. In: TAGLE, MA. Nutrição. São Paulo: Artes Médicas, 234p, 1981a.

_____. Proteína: qualidade química e biológica. In:_____. Nutrição. São Paulo: Artes Médicas, 234p., 1981 b.

TARPILA, S; ARO, A; SALMINEN, I; et al. The effect of flaxseed supplementation in processed foods on serum fatty acids and enterolactone *European Journal of Clinical Nutrition*. 56, 157–165, 2002.

THOMASSET, SC; BERRY, DP; GARCEA, G; et al. Dietary polyphenolic phytochemicals – promising cancer chemopreventive agents in humans? A review of their clinical properties. *Int. J. Cancer* 120: 451-458, 2006.

THOMPSON, LU; ROBB, P; SERRAINO, M; et al. Mammalian lignan production from various foods. *Nutr Cancer* 16, 43–52, 1991.

THOMPSON, LU. Potential Health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Research International*, 26, p.131-149, 1993.

TOMASZEWSKI, M; CHARCHAR, FJ; MARIC, C; et al. Association between lipid profile and circulating concentrations of estrogens in young men. *Atherosclerosis*, Vol 203, Issue 1, Pages 257-262, 2008.

TOU, JCL; CHEN, J; THOMPSON, LU. Flaxseed and its lignin precursor, secoisolariciresinol diglycoside, affect pregnancy outcome and reproductive development in rats. *J. Nutr.* 128 (11), 1861–1868, 1998.

_____. Dose, timing and duration of flaxseed exposure alter reproductive indices and sex hormones in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. Part A 56 (8), 555–570, 1999.

TOUILLAUD, MS; THIEBAUT, ACM; FOURNIER, A; et al. Dietary lignan intake and postmenopausal breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status. *Journal of the National Cancer Institute*, 99, 475–486, 2007.

TURATTI, JM. A importância dos ovos numa dieta saudável. *Óleos e grãos*. 59: 22-24. 2001.

TZANG, B-S; YANG, S-F; FU, S-G; et al. Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, pp. 2291–2295, 2008.

UAUY, R; SOLOMONS, N. 2005. Diet, nutrition, and the life-course approach to cancer prevention. *J. Nutr.* 135: 2934S-2945S, 2005.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food Safety and Applied Nutrition-[cited 15 May 2005] Available from: www.cfsan.fda.gov. (In: Charles R. Harper, Megan J. Edwards, et al. Flaxseed Oil Increases the Plasma Concentrations of cardioprotective (n-3) Fatty Acids in Humans. *J. Nutr.* 136: 83–87, 2006.

VERHEUS, M; GILS, CHV; KEINAN-BOKER, L; et al. Plasma Phytoestrogens and Subsequent Breast Cancer Risk. *J Clin Oncol*. 25:648-655, 2007.

VIJAIMOHAN, K; JAINU, M; SABITHA, KE; et al. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sciences*. 79:448–454, 2006.

VISENTAINER, JV; GOMES, STM; HAYASHI, C; et al. Efeito do tempo de fornecimento de ração suplementada com óleo de linhaça sobre a composição físico-química e de ácidos graxos em cabeças de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 23: 478-484, 2003.

VÍTOLO MR. Fatores sociais e biológicos que interferem na composição do leite materno. In: Curso Nestlé de atualização em Pediatria, Blumenal, 1994. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pediatria, p.215-216, 1994.

VON SCHACKY, C; ANGERER, P; KOTHNY, W; et al. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 10:129–35, 2007.

WANG, C; HARRIS, WS; CHUNG, M; et al. N-3 fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not α -linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcome in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* 84: 5-17, 2006.

WANG, L-Q. Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone. *J. Chromatogr. B* 777: 289-309, 2002.

WARD, WE, CHEN, J; THOMPSON, LU. Exposure to flaxseed or its purified lignin during suckling only or continuously does not alter reproductive indices in male and female offspring. *Journal of toxicology and environmental health. Part A.* 64: 567-577, 2001.

WARRAND, J; MICHAUD, P; PICTON, L; et al. Contributions of intermolecular interactions between constitutive arabinoxylans to the flaxseeds mucilage properties. *Biomacromol.* 6: 1871-1876, 2005.

WEIHUA, Z; LATHE, R; WARNER, M; et al. An endocrine pathway in the prostate, ER β , AR, 5 α -androstane-3 β , 17 β -diol, and CYP7B1, regulates prostate growth. *PNA.*, 99:13589-13594, 2002.

WEIHUA, Z; MAKELA, S; ANDERSSON, LC; et al. A role for estrogen receptor β in the regulation of growth of the ventral prostate. *PNAS.* 98:6330-6335, 2001.

WELLER, PA; DAUNCEY, MJ; BATES, PC; et al. Regulation of porcine insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression by energy status. *Am. J. Physiol.* 266:E776–E785, 1994.

WIESENFELD, PW; BABU US; COLLINS, TRX; et al. Flaxseed increased α -linolenic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. *Food and Chemical Toxicology.* 41, 841–855, 2003.

ZHAO, G; ETHERTON, TD; MARTIN, KR; et al. Dietary α -linolenic acid inhibits proinflammatory cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in hypercholesterolemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 85, 385–391, 2007.

ZHAO, G; ETHERTON, TD; MARTIN, KR; et al. Dietary α -linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr.* 134:2991–2997, 2004.

ZHENG, Y; WEISENBORN, DP; TOSTENSON, K; et al. Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed. *Journal of Food Engineering.* 66:193-202, 2005.

OBRAS CONSULTADAS

APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS MONOGRÁFICOS DE CONCLUSÃO DE CURSO. Universidade Federal Fluminense. 9ª edição. Niterói, EdUFF, 2007.

9 APÉNDICE

Artigo submetido à Nutrição Hospitalar em: 19/01/2009

Posição da revista: Aceito em 27/04/2009.

Title Page:

Exposure to flaxseed during lactation does not alter prostate area or epithelium height but change lipid profile in rats

Authors:

Ludmila Ferreira Medeiros de França Cardozo¹, Maurício Alves Chagas², Lavínia Leal Soares¹, Aline Andrade Troina³, Gilson Teles Boaventura¹.

Institutions:

¹ Laboratory of Experimental Nutrition. Federal Fluminense University.

² Laboratory of Cellular and Extracellular Biomorphology. Federal Fluminense University.

³ Laboratory of Endocrine Physiology. Rio de Janeiro State University

Correspondence:

Ludmila Ferreira Medeiros de França Cardozo

ludmila.cardozo@gmail.com

Total number of words:2144.

Abstract

Flaxseed intake has increased owing to beneficial effects to health and prevention of diseases. Provided that it's an important source of lignan, a phytoestrogen, the present study aimed at evaluating the possible effect of the intake of this seed during lactation upon prostate, sexual hormones and lipidic profile of the offspring in adult life.

Material and methods: 16 female Wistar rats were used. After delivery, they were divided into two different groups to receive one of the following diets during lactation: Control group (CG), with a casein based diet and Flaxseed group (FG), with a flaxseed based diet containing 25% flaxseed. At weaning, male pups received commercial chow until adult life (170 days old), when they were sacrificed.

Results: No differences were perceived concerning offspring food intake and body weight at 170 days. There was a reduction in total cholesterol levels (FG=45.71±8.96 mg/dL; CG=63.43±15.69 mg/dL, $p=0.02$) and triglycerides (FG=54.29±11.10 mg/dL; CG=79.86±25.68 mg/dL, $p=0.03$). Also, no alterations were observed in prostatic morphology, testosterone or estradiol levels in the two groups analyzed.

Conclusion: Flaxseed intake during lactation did not produce histological alterations in prostatic alveolus or in sexual hormones, but programmed to a reduction in lipid profile in adult life with decreased cardiovascular risk.

Key words: Flaxseed, lactation, prostate, lipid profile, rats.

List of abbreviations:

SDG - secoisolariciresinol diglycoside

ED - enterodiol

EL - enterolactone

ER - estrogen receptors

ER β - estrogen receptor beta

LabNe/UFF - Laboratory of Experimental Nutrition

CG - control group

FG - flaxseed group

BW - body weight

UFF - Federal Fluminense University

COBEA - Brazilian College of Animal Experimentation

AIN- American Institute of Nutrition

IGF-I - insulin-like growth factor

GH - hormonal mediator of growth

Exposure to flaxseed during lactation does not alter prostate area or epithelium height but change lipid profile in rats

Flaxseed (*Linum usitatissimum*) has emerged as a healthy food owing to its beneficial effects and property of acting in the prevention of some diseases¹. Countless benefits have been associated with the use of flaxseed and its flour, such as: cardiovascular protection through the improvement in lipid profile², reduction in the risk of cancer³ and prostatic health enhancement⁴.

This seed is made up of 41% lipids (50-55% as alpha linolenic acid, and 15-18% as alpha-linoleic acid), 28% fibers, 21% protein, 4% minerals and 6% carbohydrates distributed among phenolic acids, sugars, lignan and hemicelluloses^{5,6}.

Flaxseed is a rich source of dietary lignans, presenting 100 times more of this compound than any other food⁷. The lignans are thought to exert protective effects by interfering with endogenous sex hormone metabolism⁸. The secoisolariciresinol diglycoside (SDG) is the lignan found in flaxseed, precursor of the major mammalian lignans, enterodiol (ED) and enterolactone (EL), which are produced in the presence of bacteria that are naturally present in the colon⁷. ED and EL have chemical structures that are similar to 17- β -estradiol and can bind to estrogen receptors (ER), nevertheless with less affinity than endogenous estrogen⁹.

Flaxseed can exert influence upon prostate growth because this seed acts as a weak estrogen. Prostate growth is a hormone-mediated phenomenon regulated by both androgens and estrogens. Prostate is highly dependent on androgens to grow. Moreover, estrogens can also control normal gland function and may serve to control pathological growth. It has been described that the metabolites from SDG, ED and EL can inhibit the enzyme 5 α -reductase, which converts testosterone in dihydrotestosterone, the most potent androgen¹⁰. Within the prostate, estrogen receptor beta (ER β) has been shown to be a key component in the regulation of hormone-dependent morphological alterations¹¹.

In rats, critical sexual differentiation occurs from gestation day 18 until postnatal day 10¹², being the initial period of lactation critical to prostate development. The components in flaxseed with potential hormone-like effects can be transferred to nursing offspring via mother's milk¹³, with the risk of provoking some

long term effect in many organs systems. This fact can be explained by the term “programming”, which can be defined as the process by which a determined factor acts in the beginning of life, during a sensitive or critical period, and promotes long lasting effects in adult health¹⁴. Extensive human epidemiologic data has indicated that prenatal and early postnatal nutrition influence adult susceptibility to diet related chronic diseases¹⁵. For these reasons it is important to determine whether maternal consumption of diets rich in flaxseed is safe for infants that suckle breast milk¹³.

Even though many publications focus the use of flaxseed during gestation and lactation, which are critical periods for reproductive system development, few works in the literature describe the use during the lactation exclusively¹³. Furthermore, in other studies, the results are controversial, varying according to the dose used, time of exposition and phase of life^{16,17}. Tou et al (1998) gave 10% flaxseed to rats during gestation and lactation and verified bigger relative prostate weight in the offspring, which increases the risk of cancer¹⁸. In other study, in rats that consumed 20% flaxseed during gestation and lactation and their offspring were maintained with the same diet for 70 days, a reduction in the prostate weight was found¹⁷.

The objective of this study was to evaluate if maternal consumption of flaxseed during lactation programs alterations in prostatic morphology, in sexual hormones and lipidic profile of adult male Wistar rats.

Material and methods

Experimental design

Sixteen female wistar rats, with 90 days old and nullipary from the colony kept at the Laboratory of Experimental Nutrition (LabNe) matched in a proportion of 3 females to 1 male receiving commercial chow (Nuvilab®, Nuvital Ltda, Paraná, Brazil). After delivery, mothers were randomly divided in two groups, having access during all lactation period to one of the following diets: Control group (CG), chow made up of casein and flaxseed group (FG), chow with casein and 25% flaxseed. At weaning, 8 male pups from each group (being used only one animal per mother) were weaned onto a commercial chow and this was maintained until 170 days of age, when they were sacrificed. Body weight (BW) and food consumption were recorded three times during the week. All animals were kept under controlled temperature (21-23°C) and dark/light cycle (12/12h), receiving chow *ad libitum*.

This research project was approved by the Ethics committee in research from Federal Fluminense University (UFF). All procedures were carried out in accordance with the norms from Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA).

Experimental diets

The seed was ground in the blender to obtain the flour. The experimental chow prepared at LabNE had the same amount of energy, containing 17% protein and the mix of vitamins and minerals following the recommendations of the *American Institute of Nutrition-93(AIN-G)*¹⁹. The chow that was given to FG had a concentration of 25% of flaxseed, aiming at reach all the recommendation of fibers (AIN-93G). The ingredients of the experimental chows (table 1) were weighted and homogenized in industrial blender (Hobart®, São Paulo, SP, Brazil), with heating water to amid gelatinization. The obtained mass was transformed in pellets and dried in ventilated oven (Fabbe-Primar®, São Paulo, SP, Brazil) under 60°C for 24h, and after identification, kept at refrigeration until being used.

The commercial chow was made up of 23% protein source, 67,7% amid, 4% mineral mix, 0,4%vitamin mix and 5% soy oil.

Biochemical analysis

The animals were anesthetized with intraperitoneal injection of 5% (0,15 ml/100g p.c., i.p.) Thiopental sodic 1G (Cristália pharmaceutical chemical products LTDA, Brazil) in order to collect blood through cardiac puncture. The blood samples were centrifuged at 3500 rpm during 15 minutes to obtain serum, which was stored at -20°C. Cholesterol and triglycerides analysis were measured by the colorimetric method with commercial kits (BIOCLIN, Química Básica Ltda/ Belo Horizonte-MG) and the determination of estradiol and testosterone were made through quimioluminescency (Immulite 2000/PPC/H2967, Siemens, Los Angeles, USA), using a specific commercial kit to each hormone (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA).

Prostate histomorphometric analysis

Prostate was immediately fixated in buffered formalin (10%) per 24 hours. Afterwards, the left lateral lobule was excised and processed following the pattern technique to inclusion in paraffin. Five micrometers thick sections were stained with

hematoxylin-eosin²⁰. In order to estimate alveolar areas, the images were captured by a stereoscopic microscopy. This procedure made it possible to capture almost the entire area of the section, facilitating the morphometric determinations. The images were binarized (fig.1) so as to identify the alveolar area in white. Then, 50 alveolos of each prostate (Fig.2) were observed, being the cells measured at four different points in each alveolo. All images were digitalized to produce tiff files. And were analyzed with the software *ImageJ* (National Institutes of Health, USA), by which data from average alveolar area, total area and epithelial height were obtained.

Statistical analysis

Data is presented as average and standard deviation. The normal distribution of the values found was tested through *Shapiro-Wilk test*. Once the normality of data was verified, it was submitted to comparison between groups using Student T test to independent data. In the results that did not follow normal distribution, non-parametric *Mann-Whitney test* was chosen. The established significance level was $p \leq 0,05$. All these analysis were made by *SPSS for Windows 10.0*.

Results

The analysis of mothers' food intake during lactation revealed that there was not difference between the groups. At weaning, it was observed reduction in offspring's body weight ($p=0,04$). At 170 days, there were no differences concerning body weight and food intake (table 2). However, it's important to highlight that there was a decrease in total cholesterol and triglycerides levels in FG ($p=0,03$). The estradiol and testosterone concentrations were similar (table 3). As for prostatic morphology, there was no difference in average alveolar area (mm^2), in total area (mm^2) and in epithelial height between the groups analyzed (table 4).

Discussion

The intake of phytoestrogens rich foods has increased since its protective effects have been extensively linked to prostatic and breast cancer prevention. A study carried out by Tarpila et al in 2002 recommended the use of 20% of flaxseed in relation to the diary energy intake so as to evaluate the benefits from this seed²¹, reinforcing the increasing use by the population. This fact has raised questions in relation to possible effects of these components in male reproductive health¹⁷. According to the literature, caution should be taken concerning the consumption of

flaxseed during critical periods such as lactation due to the fact that this contains substances that may interfere with male reproductive system development. Hence, this seed can exert protective or adverse effects, depending on the dose, time of exposure and phase of life¹⁶. The adverse effects can occur by the direct contact with the lignan that is transferred by the mother, yielding changes in the development that can result in endocrine function alterations in the offspring. Some of these changes are not completely expressed until the offspring reach adult life²².

Maternal exposure to a diet containing 25% flaxseed yielded reduction in offspring's body weight at weaning. This observation agrees with the one from Collins et al (2003) after giving flaxseed or fat free flaxseed diet with different concentrations of the seed, this author verified lower body mass in offspring at weaning when compared to control group²³. The low body mass at weaning can be explained by Rickard et al (2000), who administered 5% flaxseed or 1.5mg/day of SDG and found reduction in plasmatic concentrations of insulin-like growth factor (IGF-I)²⁴, which acts as a hormonal mediator of growth (GH), visto que the actions of GH in the promotion of body weight gain are mediated by IGF-I²⁵.

Tou et al (1999) showed that the administration of 10% flaxseed in the diet resulted in increased levels of serum estradiol and testosterone in male offspring¹⁶. Conversely, our results did not show differences concerning hormonal concentrations in adult animals. These authors demonstrated that this concentration of flaxseed during gestation and lactation periods resulted in reduced postnatal ponderal gain, smaller anogenital distance, and prostatic morphological alterations with increase in its relative weight as well as increase in seminal tubules and testicles, which suggest estrogenic effects^{18, 16}. On the other hand, 5% flaxseed provoked antiestrogenic effects, with reduction in the relative weight of the prostate¹⁶.

In the present work was verified that the average alveolar area and prostatic total area were similar between CG and FG, implying that maternal exposure to flaxseed does not alter the gland at 170 days of age. This fact can be explained by the unchanged concentrations of estradiol and testosterone after the use of the seed. These results agree with the ones from Ward et al (2001) in which 10% flaxseed during lactation exclusively did not promote alterations in prostatic morphology in the 132 days old offspring¹³. A study carried out in healthy young men revealed that the intake of 13,5g of flaxseed flour during 6 weeks did not modify plasmatic testosterone levels²⁶.

Among beneficial effects linked to flaxseed intake, the reduction in cardiovascular risk is well known in women²⁷. However, recent studies describe this protective role also in men and male animals^{28, 29}. Not only have beneficial effects been associated with the intake of the seed, but also with the use of oil, SDG or protein.

The use of 20g of flaxseed in hyperlipidemic patients for 60 days showed modification in the risk factors for cardiovascular disease, with significant decrease in total cholesterol, LDL and triglycerides³⁰. Riediger et al (2008) offered flaxseed oil together with a diet rich in saturated fatty acids to male mice and verified reduction in plasmatic cholesterol and triglycerides, which can be accounted for the smaller n6:n3 ratio³¹. Prasad, in 2008, showed that 20mg/Kg BW/day of SDG in rabbits associated with a cholesterol rich diet did not decrease serum lipid levels but prevented atherosclerosis progression through a reduction in oxidative stress³².

Flaxseed protein intake reduced plasmatic cholesterol as well as triglycerides in rats with normal lipid profile³³. Our results ensure this finding as FG showed reduced cholesterol and triglycerides levels, suggesting that flaxseed programs for cardiovascular protection in adult male. However, this programming mechanism remains to be elucidated and further studies are utterly necessary.

Conclusion

According to the results found, the consumption of 25% flaxseed in the maternal diet during lactation does not yield histological alterations in prostatic alveolus or sexual hormones. However, it may directly interfere with metabolic programming for reduction in plasmatic lipids with decrease in cardiovascular risk in adult life.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support.

We would like to thank the biomedicine's student Vivian Alves Pereira for the helping with the prostate analysis.

References

1. Prasad K. Flax lignan complex slows down the progression of atherosclerosis in hyperlipidemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2009; 14(1):38-48.
2. Riediger ND, Othman R, Fitz E, et al. Low n-6:n-3 fatty acid ratio, with fish- or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *Eur J Nutr* 2008; 47:153–160.
3. Touillaud MS, Thiebaut ACM, Fournier A, et al. Dietary lignan intake and postmenopausal breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 475–486.
4. Demark-Wahnefried W; Polascik TJ; George SL, et al. Flaxseed supplementation (not dietary fat restriction) reduces prostate cancer proliferation rates in men presurgery. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(12): 3577-87.
5. Zheng Y, Weisenborn DP, Tostenson K, et al. Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed. *J Food Eng* 2005; 66:193-202.
6. Carter JF. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World* 1993; 38(10): 753-759.
7. Thompson LU, Robb, P, Serraino, M, and Cheung, F: Mammalian lignan production from various foods. *Nutr Cancer* 1991; 16: 43–52.
8. Velentzis LS, Woodside JV, Cantwell MM, et al. Do phytoestrogens reduce the risk of breast cancer and breast cancer recurrence? What clinicians need to know. *Eur J Cancer* 2008; 44:1799–1806.
9. Miksicek RJ. Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994; 49:153–160.
10. Evans BA, Griffiths K, Morton MS. Inhibition of 5 alpha-reductase in genital skin fibroblasts and prostate tissue by dietary lignans and isoflavonoids. *J Endocrinol* 1995; 147: 295-302.
11. Weihua Z, Lathe R, Warner M, et al. An endocrine pathway in the prostate, ER β , AR, 5 α -androstane-3 β , 17 β -diol, and CYP7B1, regulates prostate growth. *PNAS* 2002; 99:13589-13594.
12. Manson JM, Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: Hayes AW, ed. *Principles and Methods of Toxicology*. 2nd ed, Raven Press Ltd., New York, 1989: 311–359.
13. Ward, WE, Chen J, Thompson LU. Exposure to flaxseed or its purified lignin during suckling only or continuously does not alter reproductive indices in male and female offspring. *J Toxicol Environ Health* 2001; Part A. 64: 567-577.

14. Lucas, A. Programming by early nutrition in man. In: *The Childhood Environment and Adult Disease*. CIBA Foundation Symposium- 156. Wiley, Chichester, U.K; 1991: 38–55.
15. Waterland RA, Michels KB. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. *Annu Rev Nutr* 2007; 27:363-88.
16. Tou JCL, Chen J, Thompson LU. Dose, timing and duration of flaxseed exposure alter reproductive indices and sex hormones in rats. *J Toxicol Environ Health* 1999; Part A 56 (8), 555–570.
17. Sprando RL, Collins TFX, Black TN, et al. The effect of maternal exposure to flaxseed on spermatogenesis in F1 generation rats. *Food Chem Toxicol* 2000; 38: 325-334.
18. Tou JCL, Chen J, Thompson LU. Flaxseed and its lignin precursor, secoisolariciresinol diglycoside, affect pregnancy outcome and reproductive development in rats. *J Nutr* 1998; 128 (11), 1861–1868.
19. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GCF. AIN-93 purified diet of laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodents diet. *J. Nutr* 1993, 123: 1939-51.
20. Bancroft JD, Cook HC. Manual of Histological Techniques and their Diagnostic Application. *Edinburgh: Churchill Livingstone* 1994; 35-67.
21. Tarpila S, Aro A, Salminen I, et al. The effect of flaxseed supplementation in processed foods on serum fatty acids and enterolactone. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56:157–165.
22. Pinheiro AR, Salvucci ID, Aguila MB, et al. Protein restriction during gestation and/or lactation causes adverse transgenerational effects on biometry and glucose metabolism in F1 and F2 progenies of rats. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(5): 381-92.
23. Collins TFX, Sprando RL, Black TN, et al. Effects of flaxseed and defatted meal on reproduction and development in rats. *Food Chem Toxicol* 2003; 41:819-834.
24. Rickard SE, Yuana YV, Thompson LU. Plasma insulin-like growth factor I levels in rats are reduced by dietary supplementation of flaxseed or its lignan secoisolariciresinol diglycoside. *Cancer Lett* 2000; 161: 47-55.
25. Meinhardt UJ, Ho KK. Modulation of growth hormone action by sex steroids. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 65(4):413-22.
26. Shultz TD, Bonorden WR, Seaman WR. Effect of short-term flaxseed consumption on lignan and sex hormone metabolism in men. *Nutr. Res* 1991; 11: 1089-1100.
27. Patade A, Devareddy L, Lucas EA, et al. Flaxseed Reduces Total and LDL Cholesterol Concentrations in Native American Postmenopausal Women. *Journal of Women's Health* 2008; 17(3): 355-366. doi:10.1089/jwh.2007.0359.

28. Zhang W, Wang X, Liu Y, et al. Dietary flaxseed lignan extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. *Br J Nutr* 2008; 99:1301–1309.
29. Tzang BS, Yang SF, Fu SG, et al. Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry* 2009; 114:1450–1455.
30. Mandasescu S, Mocanu V, Dascalita AM, et al. Flaxseed supplementation in hyperlipidemic patients. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2005; Jul-Sep;109(3):502-6.
31. Riediger ND, Othman R, Fitz E, et al. Low n-6:n-3 fatty acid ratio, with fish- or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *Eur J Nutr* 2008; 47:153–160.
32. Prasad, K. Regression of hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside isolated from flaxseed. *Atherosclerosis* 2008; 197: 34–42.
33. Bhatena SL, Ali AA, Mohamed AI; et al. Differential effects of dietary flaxseed protein and soy protein on plasma triglyceride and uric acid levels in animal models. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 684-689.

Table 1. Composition of 100g of chow used in the experiment during lactation phase (17% protein: AIN-G).

Ingredient	Control (g)	Flaxseed (g)
	g/100g diet	
Casein ¹	20	14,11
Flaxseed ²	0	25
Cornstarch ³	52.95	45.84
Sucrose ⁴	10	10
Mineral mix AIN 93G ¹	3.50	3.50
Vitamin mix AIN 93G ¹	1	1
Soybean oil ⁵	7	0
Cellulose ⁶	5	0
Choline bitartrate ¹	0.25	0.25
L-Cystine ¹	0.30	0.30
<i>Tert</i> -Butylhydroquinone ⁷	0.0014	0.0014
Total	100	100

The ingredients used in the diets were manufactured by: ¹ M. Cassab Comércio e Indústria Ltda (São Paulo, SP, Brazil). ² Arma Zen Produtos Naturais Ltda (Rio de Janeiro, RJ, Brazil); ³ Maisena, Unilever *Bestfoods* Brasil Ltda (Mogi Guaçu, SP, Brazil); ⁴ União (Rio de Janeiro, RJ, Brazil); ⁵ Liza, Cargill Agricultura Ltda (Mairinque SP, Brazil); ⁶ Microcel, Blanver Ltda (Cotia, SP, Brazil); ⁷ Vogler Ingredients (Eastman/EUA).

Table 2. Mothers' intake, offspring's weight at weaning, food intake, body weight (BW) at 170 days of age of rats whose mothers received a diet with 25% flaxseed during lactation.

Group	Control	Flaxseed
Mothers' Food intake (g)	678.40±75.95	642.81±47.60
Offspring's BW at weaning (g)	47.31±4.72	42.69± 3.06*
Offspring's food intake (g)	3096.21±281.09	3084.59±243.04
Offspring's BW at 170 days of age (g)	408.07±23.17	379.33±38.04

Results are shown as average and standard deviation. * = indicates statistical difference.

Table 3. Biochemical analysis of animals at 170 days old whose mothers received a diet with 25% flaxseed during lactation.

Group	Control	Flaxseed
Cholesterol (mg/dL)	63.43±15.69	45.71±8.96*
Tryglicerides (mg/dL)	79.86±25.68	54.29±11.10*
17 β-estradiol (pg/mL)	34.00±7.46	28.33±2.66
Testosterone (ng/dL)	150.67±18.79	154.33±16.69

Results are shown as average and standard deviation. * = indicates statistical difference.

Table 4. Prostate histomorphometric analysis of animals at 170 days old animals.

Group	Control	Flaxseed
Average alveolar area (mm ²)	0.06±0.02	0.05±0.01
Total area (mm ²)	16.50± 5.53	16.93±3.41
Epithelial height (µm)	14,43±4.35	14,34±3.82

Results are shown as average and standard deviation. * = indicates statistical difference.

Figure 1. Image of binarized area to observe alveolar area.



Figure 2. Image of prostatic epithelium where cells were measured in four different points per alveolo.



ESTA DISSERTAÇÃO GEROU OS SEGUINTE TRABALHOS PARCIAIS APRESENTADOS EM EVENTOS:

CARDOZO, L. F. M. F.; SOARES, L.L.; TROINA, A.A.; SILVA, M. G. P.; BOAVENTURA, G.T. Efeitos da linhaça utilizada durante a lactação: estudo do valor de lactância e crescimento em ratos. CONBRAN, XX Congresso Brasileiro de Nutrição, Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, M. G. P.; CARDOZO, L. F. M. F.; BOAVENTURA, G.T.. Imprinting metabólico durante a lactação utilizando o consumo da semente de linhaça (*Linum Usitatissimum*). CONBRAN, XX Congresso Brasileiro de Nutrição, Rio de Janeiro 2008.

RODRIGUES, A. N. N.; CARDOZO, L. F. M. F.; PACHECO, J. T.; Boaventura, G.T. Ácidos graxos essenciais atuam na prevenção de doenças coronarianas? XXIII Reunião Anual da FeSBE. Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Águas de Lindóia, São Paulo, 2008.

CARDOZO, L. F. M. F.; SILVA, M. G. P.; TROINA, A.A.; SOARES, L.L.; BOAVENTURA, G.T. A influência do consumo da farinha da semente de linhaça(*Linum Usitatissimum*) no valor de lactância de ratas wistar. SLACA, Simpósio Latino Americano de Ciências dos Alimentos, São Paulo, 2007.

SANTOS, J.R.; CARDOZO, L.F.M.F.; BOAVENTURA, G.T. Efeito da suplementação da farinha de linhaça no perfil glicêmico de ratos wistar. XVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PRÊMIO VASCONCELLOS TORRES DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, UFF, 2008.

CARDOZO, L. F. M. F.; FIGUEIREDO, M.S.; SOARES, L.L.; TROINA, A.A.; BOAVENTURA, G.T. Níveis Séricos de Colesterol Total, Triglicerídeos e Massa de Gordura Visceral da prole de animais com mães alimentadas com linhaça durante a lactação. In: III Congresso Latino Americano de Higienistas de Alimentos/ IX Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos/ II Encontro Nacional de Centro de Controle de Zoonoses, 2007, Porto seguro. Revista Higiene Alimentar.

SOARES, L.L.; TROINA, A.A.; FIGUEIREDO, M.S.; CARDOZO, L. F. M. F.; BOAVENTURA, G.T.; GUZMÁN-SILVA, M.A. Efeitos da linhaça utilizada em ratas durante a lactação. Estudo do crescimento e concentração sérica de proteínas totais e albumina dos filhotes. In: III Congresso Latino Americano de Higienistas de Alimentos/ IX Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos/ II Encontro Nacional de Centro de Controle de Zoonoses, 2007, Porto seguro. Revista Higiene Alimentar.

SOARES, L.L.; TROINA, A.A.; FIGUEIREDO, M.S.; CARDOZO, L. F. M. F.; BOAVENTURA, G.T.; GUZMÁN-SILVA, M.A. Efeitos da linhaça utilizada em ratas durante a lactação. Estudo do crescimento e início da puberdade dos filhotes. In: III Congresso Latino Americano de Higienistas de Alimentos/ IX Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos/ II Encontro Nacional de Centro de Controle de Zoonoses, 2007, Porto seguro. Revista Higiene Alimentar.

TRABALHOS A SEREM APRESENTADOS EM EVENTOS EM 2009:

CARDOZO, L. F. M. F.; SOARES, L.L.; BOAVENTURA, G.T. Indicadores hematológicos de ratos adultos podem ser alterados pelo consumo de linhaça durante a lactação. In: IV Congresso Latino Americano e X Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, alinhados ao III Encontro de Centros de Controle de Zoonoses e II Encontro do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, abril 2009, Florianópolis.

CARDOZO, L. F. M. F.; SOARES, L.L.; CHAGAS, M.A., PEREIRA, V.A.; BOAVENTURA, G.T. A relação entre o consumo de linhaça durante a lactação e seus efeitos na próstata do rato adulto. In: IV Congresso Latino Americano e X Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, alinhados ao III Encontro de Centros de Controle de Zoonoses e II Encontro do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, abril 2009, Florianópolis.

FEIO, C. F. A., CARDOZO, L. F. M. F., SOARES, L.L; BOAVENTURA, G.T. A semente de linhaça, durante a lactação, altera o perfil lipídico da prole na idade adulta? In: IV Congresso Latino Americano e X Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, alinhados ao III Encontro de Centros de Controle de Zoonoses e II Encontro do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, abril 2009, Florianópolis.

SOARES, L.L; FEIO, C. F. A.; CARDOZO, L. F. M. F.; GUZMÁN-SILVA, M.A; BOAVENTURA, G.T. O consumo de linhaça durante a lactação e seus efeitos sobre o peso relativo uterino e ovariano da prole na idade adulta. In: IV Congresso Latino Americano e X Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, alinhados ao III Encontro de Centros de Controle de Zoonoses e II Encontro do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, abril 2009, Florianópolis.

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](#)