

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel



Dissertação

**COLESTEROL EM RATOS ALIMENTADOS COM
FARINHAS SUPLEMENTADAS COM VITAMINAS B₃ E B₆**

Magna da Gloria Silva Lameiro

Pelotas, 2008



Colesterol em Ratos Alimentados com Farinhas Suplementadas com Vitaminas B₃ e B₆

Magna da Gloria Silva Lameiro

2008

Magna da Gloria Silva Lameiro

**COLESTEROL EM RATOS ALIMENTADOS COM FARINHAS
SUPLEMENTADAS COM VITAMINAS B₃ E B₆**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Renato Guerra Dias

Co-Orientador (es): Prof^a. Dr^a. Elizabete Helbig

Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

Pelotas, 2008

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Álvaro Renato Guerra Dias

Prof^a. Dr^a. Leonor Almeida de Souza Soares

Prof^a. Dr^a. Márcia Rúbia Duarte Buchweitz

FOLHA DE APROVAÇÃO

Prof. Dr. Álvaro Renato Guerra Dias
Orientador

Prof^a. Dr^a. Leonor Almeida de Souza Soares

Prof^a. Dr^a. Márcia Rúbia Duarte Buchweitz

**DEDICO ESSE TRABALHO AS PESSOAS QUE FORAM
IMPRESINDÍVEIS PARA ESSA CONQUISTA.**

Em primeiro lugar a minha família, aos meus pais Maria e João que mesmo em memória estiveram comigo nesta jornada e sua lembrança viva permanecerá em mim.

Ao meu filho Pablo e minha irmã Ana que estiveram sempre ao meu lado, me apoiando e cuidando de mim, cada um a sua maneira.

Muito obrigada pelo amor e companheirismo, amarei vocês sempre...

Em segundo lugar aos meus amigos, por acreditarem em mim até nas horas em que eu mesma desacreditei, cada um de uma forma desempenhando um papel ímpar na minha caminhada e sem os quais talvez não tivesse conseguido.

Muito obrigada a vocês que sempre estarão no meu coração, pois são pessoas muito especiais para mim.

**Armando Laranjeira,
Elizabete Helbig,
Fátima Annunziato,
Marilda Douglas e
Rita Reis.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, essa força maior que nos conduz, por não me deixar vencer pelo cansaço, e fazer a vontade de aquisição de conhecimento ser mais forte que qualquer obstáculo.

Ao meu orientador, Prof. Dr Álvaro Renato Guerra Dias , pela amizade e extrema competência, pelo seu olhar crítico e preciso; sua praticidade e rapidez de raciocínio lógico que me obrigou a aprender muito, e principalmente me fez crescer. Por ter me ensinado que para fazer ciência é necessário sermos em primeiro lugar seres pensantes analiticamente. O meu muito obrigado pela confiança.

À luz divina que conduziu o meu comitê de orientação, com uma bagagem ímpar em conhecimento, que me proporcionou um novo olhar científico, e um redescobrir profissional. Obrigada pela confiança, entusiasmo e valiosa experiência dos meus Co-orientadores Prof.Dr. Moacir Cardoso Elias, Prof^a. Dr^a. Elizabete Helbig, que me orientou no ensaio biológico, com horas infindáveis de explicações. Com seu desprendimento por ensinar, torna-se imprescindível cita-lá como um exemplo profissional.

Ao Prof. Dr. Jorge Silva, coordenador do PPGCTA, pelo incentivo em todas as atividades relacionadas no transcorrer do curso que contribuiram muito para meu crescimento profissional, principalmente pelo apoio em recomeçar.

Aos Professores do Departamento de Ciências e Tecnologia Agroindustrial (PPGCTA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPeI), em especial ao Prof Dr. César Rombaldi, Prof Dr. Manoel Schirmer, Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias, Prof. Dr. Pedro Antunes, Prof Phd. Ruy Zambiasi, Prof. Dr. Valdecir Ferri que no decorrer destes anos contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

À secretária do curso de Pós-Graduação, Ângela, pela atenção, orientação, amizade boa vontade e simpatia com que sempre me recebeu.

Aos colegas pós-graduandos Ana Paula, Cátia, Elessandra, Jander, Jéferson, Leandro, Mariângela, Maurício, Pablo, Rose e Vanessa pela convivência, guloseimas, chimarrão, brincadeiras, ou pelas sugestões e ajudas e por terem contribuído para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos estagiários de iniciação científica do laboratório de Grãos, em especial, André e Juliane pela valiosa cooperação, meu muito obrigado.

Aos funcionários do Biotério UFPeI, em especial ao Prof. Milton Amado e a Prof^a. Dr^a. Leonor Almeida de Souza Soares, aos funcionários Arlei, João Carlos, Vera e ao graduando de Medicina Veterinária Rafael, por cuidarem dos animais, pela dedicação, amizade e apoio técnico imprescindível durante toda realização do ensaio biológico.

À empresa Moinhos Sul, por meio de seu representante Roberto Michaello, e à padaria Luada, na pessoa de Sandra Alburque, pelo fornecimento da farinha de trigo.

Ao Bioquímico, Flávio Zaneti, da Farmácia de Manipulação Uso Indicado, pelo apoio na formulação dos nutrientes necessários.

Às graduandas de nutrição Débora, Fernanda e Sheila, pelo apoio, companheirismo, brincadeiras, que tornaram o ensaio biológico mais fácil.

Pelo apoio recebido pelos funcionários da vigilância da UFPel, quando tínhamos que permanecer no campus nos finais de semana.

À faculdade de Nutrição da UFPel, em especial a prof^a. Dr^a. Márcia Rúbia Duarte Buchweitz, por possibilitar a realização do ensaio biológico.

Às queridas amiguinhas DarK e Sabrina, pela companhia de horas incontáveis no computador, pelo simples fato da companhia.

Aos meus amigos Paulo e Rita que estiveram comigo na fase final da escrita que sempre estavam disponíveis, nas suas correções de Português, e até no envio de mensagens que afastavam o estresse, e tornavam a escrita mais leve.

A todos os colegas professores e funcionários, das Escolas Cassiano do Nascimento, Instituto de Educação Assis Brasil e Colégio Albert Einstein, em especial as Prof^{as}. Anaelise, Francisca, Márcia, Nara e aos funcionários Alexandre e Flávio, pelo apoio nesta jornada.

A todos os meus alunos, por não deixarem de sonhar comigo, e acreditarem que o saber pode ser belo, e idade é mero detalhe, e o tempo se faz, em especial a Maria Helena, Gislaine, Mariana, Tuane, Jorge e tantos os quais poderia citar aqui.

Às amigas, Ciane, Cíntia, Cleonice, Iara, Kathiene, que mesmo pelo “OI” de cada dia, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, que contribuíram para o aprimoramento do trabalho através das correções e sugestões.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

“O homem se torna muitas vezes o que ele próprio acredita que é. Se insisto em repetir para mim mesmo que não posso fazer uma determinada coisa, é possível que acabe me tornando realmente incapaz de fazê-la. Ao contrário, se tenho a convicção de que posso fazê-la, certamente adquirirei a capacidade de realizá-la, mesmo que não a tenha no começo.”

MAHATMA GANDHI

RESUMO

LAMEIRO, Magna da Gloria Silva. **Colesterol em Ratos Alimentados com Farinhas Suplementadas com Vitaminas B₃ e B₆**. 2008. 87f Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial–DCTA.Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da farinha de trigo suplementada com niacina (B₃) e piridoxina (B₆) no perfil lipídico hepático e sérico de ratos *Wistar*, machos, adultos, alimentados com uma dieta hiperlipídica. Utilizaram-se sessenta e seis animais com peso médio de 308,15 ± 26,00g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pelotas, RS. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3X3, com suplementação da dieta com três concentrações de niacina (3g, 4g e 5g) e três de piridoxina (6mg, 12mg e 18mg), acrescido de um tratamento controle sem suplementação vitamínica. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em onze grupos experimentais, com seis animais por grupo, sendo que nove grupos receberam a dieta hiperlipídica com suplementação vitamínica, um grupo somente dieta hiperlipídica e outro grupo, a dieta padrão AIN-93M, sem modificações, para controle geral do experimento. Avaliou-se o ganho de peso, consumo de dieta, volume fecal, lipídeos fecais e hepáticos, perfil lipídico hepático e sérico e o peso do fígado. Assim dietas com concentrações de 5g.Kg⁻¹ de niacina e 18mg.Kg⁻¹ de piridoxina promoveram a redução no consumo de dieta, ganho de peso, nos níveis de colesterol sérico total, LDL-c, VLDL- c, e na concentração dos triacilgliceróis sérico e hepático. A adição de baixas concentrações de niacina associadas à piridoxina promoveram aumento no teor de lipídios hepáticos e menor excreção de lipídios fecais. A concentração de

18mg de piridoxina apresentou efeitos dependentes da concentração de niacina para a dosagem sérica de triacilgliceróis.

Palavras-chave: vitaminas, niacina, piridoxina, colesterol, rato, perfil-lipídico, fígado

ABSTRACT

LAMEIRO, Magna da Gloria Silva. Cholesterol in Rats Fed with Supplemented Vitamin Flours B₃ and B₆. 2008. 87f Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial - DCTA. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The objective of this work was to evaluate the effect of the supplemented wheat flour with niacin (B₃) and pyridoxine (B₆) in the lipid profile hepatic and serum of the Wistar rats, males, adults, fed with a hyperlipids diet. It was done with sixty-six animals from Biotério of the Federal University of Pelotas(RS), with an average weight of $308,15 \pm 26,00\text{g}$. The used experimental delineation was entirely distributed in factorial project 3X3, with supplementation of the diet plus three concentrations of niacin (3g, 4g and 5g) and three of pyridoxine.(6mg, 12mg and 18mg), increased of a control treatment without vitamin supplementation. For a major control of the experiment, the animals were distributed randomly in eleven experimental groups, with six animals per group, from those, nine groups had received the hiperlipídica diet with vitamin supplementation, one group had received only hyperlipids diet and another group the standard diet, AIN-93M, without modifications. The gain in weight, consumption of the diet, fecal volume, fecals lipids and hepatic, lipid profile hepatic and serum were evaluated in the total serum cholesterol levels, LDL-c, VLDL-c, and in the concentration of serum triacylglycerols Thus diets with concentrations of 5g.Kg^{-1} of niacin and 18mg. Kg^{-1} of pyridoxine had promoted the reduction like: diet consumption, weight profit, levels of all serum cholesterol, LDL-c, VLDL-c, and in the concentration of the serum triacylglycerols and hepatic. The addition of low concentrations of niacin associate to the pyridoxine had promoted an increase in the content of lipid hepatics in the liver and less excretion of fecal lipids. The

concentration of 18mg of pyridoxine had presented dependent effects of the concentration of niacin to the serum dosage of triacylglycerols..

Keywords: Niacin, Cholesterol, Rat, Vitamin, pyridoxine, lipid profile, liver.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fórmula Estrutural da molecular do colesterol.....	6
Figura 2	Metabolismo da homocisteína e possível mecanismo de doença aterotrombótica. MTHFR = metileno-tetraidrofolato redutase; C β S = cistationina β -sintetase.....	11
Figura 3	Fórmulas Estruturais do ácido nicotínico e nicotinamida.....	12
Figura 4	Reações de síntese e degradação em que participam as vitaminas do grupo B.....	15
Figura 5	Fórmula estrutural da piridoxina, piridoxal e piridoxamina.....	17
Figura 6	Fluxograma representativo das etapas experimentais do ensaio biológico.....	25
Figura 7	Peso inicial, final (g) e ganho de peso(g) dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel alimentados durante 30 dias com dietas suplementadas com vitaminas B ₃ e B ₆	32
Figura 8	Consumo da dieta(g) dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	32

Figura 9	Massa e volume fecal dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	35
Figura 10	Lipídios totais hepáticos e fecais dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	37
Figura 11	Fígado dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	39
Figura 12	Peso dos fígados dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	41
Figura 13	Colesterol total hepático dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	44
Figura 14	Triacilgliceról hepático dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	44
Figura 15	Colesterol total do plasma dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	49
Figura 16	Frações de colesterol sérico (mg.dL^{-1}) dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	49
Figura 17	Triacilgliceróis séricos (mg.dL^{-1}) dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Delineamento experimental para estudar o efeito da suplementação da farinha de trigo com vitaminas. B ₃ e B ₆ em ratos <i>Wistar</i> submetidos a dieta hiperlipídica.....	23
Tabela 2	Composição centesimal da farinha de trigo, da dieta hiperlipídica e da dieta modificada com farinha de trigo e suplementada com vitaminas.....	26
Tabela 3	Dietas experimentais utilizadas durante trinta dias no ensaio biológico com ratos adultos machos, linhagem <i>Wistar/UFPeI</i>	27
Tabela 4	Peso inicial e final (g), ganho de peso(g) e consumo da dieta(g) dos ratos machos, <i>Wistar/UFPeI</i> , alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	30
Tabela 5	Massa e Volume Fecal dos ratos machos <i>Wistar/UFPeI</i> , alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	33
Tabela 6	Lipídios hepáticos e fecais dos ratos machos <i>Wistar/UFPeI</i> alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	36
Tabela 7	Peso dos fígados e relação percentual entre a massa hepática e o	

	peso final dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	41
Tabela 8	Colesterol total e triacilgliceróis (mg.dL ⁻¹) hepáticos dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.....	43
Tabela 9	Dosagem sorológica de colesterol total e frações (mg.dL ⁻¹) dos ratos machos <i>Wistar</i> /UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ácidos Graxos – AG

Cistationina- β -sintase – C β S

Colesterol Total – CT

Departamento de Ciências e Tecnologia Agroindustrial – DCTA

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – FAEM

Hiper-homocisteinemia – HHe

Homocisteína – He

Lipoproteína de Alta Densidade – HDL

Lipoproteína de Baixa Densidade – LDL

Lipoproteínas de Muita Baixa Densidade – VLDL

Marca Registrada – ®

Miligramas – mg

Ácidos Graxos Monoinsaturados – MUFAs

Niacina – N

Piridoxina – P

Ácidos Graxos Polinsaturados – PUFAs

Quilocaloria – kcal

Triacilgliceróis – TAG

Universidade Federal de Pelotas – UFPel

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1 Lipídios na Alimentação	3
2.2 Colesterol.....	6
2.3 Homocisteína.....	9
2.4 Niacina	12
2.4.1 Absorção e Excreção.....	14
2.4.2 Fontes Alimentares	14
2.4.3 Deficiência e Toxicidade	16
2.5 Piridoxina	17
2.5.1 Absorção e Excreção	18
2.5.2 Fontes Alimentares	18
2.5.3 <i>Deficiência e Toxicidade</i>	19
3. Objetivo	20
4. Materiais e Métodos	21
4.1 Materiais	21
4.1.1 Farinha	21
4.1.2 Vitaminas	21
4.1.3 Fontes Lipídicas.....	21
4.1.4 Animais para Experimentação	21
4.2 Métodos	22
4.2.1 Delineamento Experimental: Ensaio Biológico	22
4.2.2 Procedimento e Avaliações	22
4.2.2.1 Animais e Condições Experimentais	22
4.2.2.2 Dietas Experimentais	24
4.2.2.2.1 Dietas do Período de Indução Hiperlipídica	24

4.2.2.2 Dietas do Período de Suplementação Vitamínica.....	24
4.2.3 Determinação de Composição Centesimal	26
4.2.4 Determinação do Consumo de Dieta	26
4.2.5 Determinação de Ganho de Peso.....	27
4.2.6 Determinação do Peso e Volume Fecal.....	27
4.2.7 Determinação do Peso Hepático	28
4.2.8 Determinação de Lipídios Totais Hepáticos	28
4.2.9 Determinação de Lipídios Totais Fecais	28
4.2.10 Determinação de Colesterol Total Sérico e Hepático	28
4.2.11 Determinação do Colesterol HDL Sérico	28
4.2.12 Determinação do Colesterol LDL Sérico	29
4.2.13 Determinação do Colesterol VLDL Sérico	29
4.2.14 Determinação de Triacilgliceróis Sérico e Hepático	29
4.2.15 Tratamento Estatístico	29
5. Resultados e Discussão.....	30
5.1 Peso Inicial e Final, Ganho de Peso e Consumo de Dieta.....	30
5.2 Massa e Volume Fecal.....	33
5.3 Lipídios Totais: Hepáticos e Fecais.....	35
5.4 Massa Hepática	40
5.5 Colesterol Total e Triacilgliceról Hepático.....	42
5.6 Dosagens Sorológicas.....	45
6. Conclusões.....	51
7. Referências Bibliográficas.....	52
8. Anexos.....	65

1 INTRODUÇÃO

Os hábitos alimentares têm assumido um fator determinante no contexto dieta-saúde, o que significa que o tipo de alimentação ingerida influencia o metabolismo, quer no sentido da sua melhoria, quer no desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas como a obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras, fator este muitas vezes negligenciado ou relegado para segundo plano.

Até o início do século XX, tinha-se restrito conhecimento sobre nutrição, principalmente pelo desconhecimento das funções e as interações entre os diversos componentes dos alimentos. Acreditava-se que os lipídeos, os carboidratos e as proteínas, associados a alguns sais minerais como o cálcio e o ferro, eram suficientes. Apesar disso, algumas doenças causadas pela falta de vitaminas eram conhecidas. Em situações de alimentação monótona, como em cidades sitiadas pela guerra ou em navios das primeiras explorações marítimas, foram identificadas doenças como o escorbuto, pela deficiência de vitamina C. Estudos constataram que além dos nutrientes básicos, as vitaminas também são essenciais, e em trinta anos de pesquisas, cerca de 50 substâncias foram identificadas como "Fatores Complementares do Alimento", e necessários para o bom desenvolvimento e manutenção da vida humana.

O conceito de vitaminas e de seu papel no organismo modificou-se muito nas últimas décadas. Atualmente sabe-se que as vitaminas constituem nutrientes orgânicos, requeridos em pequenas quantidades, e com uma série de funções bioquímicas. Geralmente não podem ser sintetizadas pelo organismo, devendo, portanto, serem fornecidas pela alimentação. A ausência ou deficiência relativa de vitaminas na alimentação resulta em estados deficitários característicos e em patologias. A deficiência de uma única vitamina do complexo B é rara, pois a alimentação pobre está frequentemente associada a estados múltiplos de deficiências. Entretanto, síndromes definidas são características de deficiência de

vitaminas específicas. As vitaminas do complexo B são importantes para a saúde estando associadas a condições como alcoolismo, depressão, diabetes, problemas cardiovasculares, lupus, esclerose múltipla e estresse.

Estudos de nutrição têm demonstrado que cada vez mais as pessoas recorrem a suplementos vitamínicos. Uma vez que, a alimentação da vida moderna, muitas vezes não fornece os elementos nutricionais necessários para manter um nível adequado, o sistema imune, torna-se incapaz de combater doenças, principalmente as cardiovasculares, consideradas uma das principais causas de mortalidade do século XXI; busca-se então esses elementos nos suplementos.

A hipercolesterolemia é o principal fator de risco para as doenças cardiovasculares. Estudos indicam que suplementos das vitaminas niacina (B₃) e piridoxina (B₆) promovem a redução do colesterol total sérico, com o aumento da fração HDL-colesterol. Assim, para investigar a relação entre as disfunções do metabolismo do colesterol e a aterogênese, diversos modelos animais têm sido utilizados. Esses modelos têm sido de grande importância para a compreensão da etiologia da aterosclerose e para a descoberta de novos agentes terapêuticos.

O presente estudo foi realizado para investigar o efeito da suplementação da farinha de trigo com as vitaminas niacina e piridoxina, no perfil lipídico de ratos *Wistar* alimentados com uma dieta hiperlipídica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Lipídios na Alimentação

A ingestão de gordura animal, associada a doenças cardiovasculares e cancerígenas, tem demonstrado que o seu consumo moderado pode prevenir o desenvolvimento dessas mesmas doenças. Alguns ácidos graxos, particularmente os polinsaturados, servem como matéria-prima para substâncias que regulam a imunidade, a coagulação sanguínea, a contração dos vasos e a pressão arterial (SIMOPOULOS, 1999).

Os ácidos graxos podem ser classificados como saturados (sem duplas ligações entre seus átomos de carbono), mono ou polinsaturados de acordo com o número de ligações duplas na sua cadeia. Os ácidos graxos saturados mais frequentemente presentes em nossa alimentação são: láurico, mirístico, palmítico e esteárico (que variam de 12 a 18 átomos de carbono). Entre os monoinsaturados, o mais freqüente é o ácido oléico que contém 18 átomos de carbono. Quanto aos polinsaturados, é destacado o ômega-3 (Ω -3), eicosapentaenóico, linolênico e docosahexaenóico, ou ômega-6 (Ω -6), linoléico (SBC, 2007).

Os ácidos graxos comportam-se de maneira distinta, em sua biossíntese por exemplo, os ácidos palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0) elevam os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol) em maior proporção que o ácido esteárico (C18:0). O ácido láurico (C12:0) promove hipercolesterolemia, sendo em menor quantidade que os ácidos palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0). Acredita-se que os ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs - *Monounsaturated Fatty Acids*), como por exemplo, o ácido oléico, não influenciam nos níveis de colesterol. Com relação ao ácido elaídico (C18:1), resultante dos processos de hidrogenação de óleos vegetais, existem indícios de que poderia induzir hipercolesterolemia. Por sua vez os polinsaturados (PUFAs - *Polyunsaturated Fatty Acids*), como o ácido linoléico (C18:2), reduzem os níveis séricos de LDL-colesterol (FUENTES, 1998).

A quantidade e a natureza da gordura ingerida diariamente influenciam a concentração do colesterol plasmático. Níveis elevados de colesterol no sangue estão relacionados com a incidência de doenças vasculares aterosclerótica, especialmente doenças coronarianas (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998) (CHAMPE; HARVEY, 2000).

Os ácidos graxos da família ômega têm essa denominação devido à posição metila na molécula do ácidos graxos (AG), correspondendo à distância entre o radical metila terminal e a primeira dupla ligação da molécula (ligação ômega). Os principais representantes desse grupo são o Ω -3 (ácido α linolênico), o Ω -6 (ácido linoléico e ácido araquidônico) e o ômega-9 (ácido oléico) (MATAIX, 2002).

Os ácidos graxos (AG) ômega-3 (Ω -3), obtidos através da dieta alimentar, são essenciais à saúde humana e não podem ser sintetizados em tecidos de mamíferos. Estudos sugerem que o consumo adequado desses AG esteja relacionado à prevenção de doenças cardiovasculares, sendo proposto que possam melhorar o perfil lipídico plasmático (SOCCOL; OETTERER, 2003), beneficiar pacientes com arritmias cardíacas, diminuir processos inflamatórios, apresentar propriedades antitrombóticas (KRIS-ETHERTON et al., 2000; COVINGTON, 2004) e efeitos antiateroscleróticos (MIDDAUGH, 1990; ERISTLAND et al., 1994; DE CATARINA; ZAMPOLLI, 2001).

Os AG essenciais do tipo ômega-3 (Ω -3) e ômega-6 (Ω -6) compõem a formação de estruturas de membranas e da matriz estrutural de todas as células, podendo influenciar várias funções relacionadas à membrana, como a ligação de hormônios associada aos transportadores e enzimas, e participar no crescimento e desenvolvimento da estrutura de neurônios e na síntese da bainha de mielina (BURR, 1930; INNIS, 1991; HOLMAN, 1998).

Os AG Ω -3 e Ω -6, por fazerem parte de estruturas de membranas, competem pela incorporação dos AG nos fosfolipídios de membrana. A afinidade de incorporação obedece à seguinte ordem: ácido linolênico (Ω -3), ácido linoléico (Ω -6) e ácido oléico (Ω -9). O ácido eicosapentanóico (EPA) e o ácido araquidônico (AA) também podem ser incorporados aos fosfolipídios, mas os AG EPA têm maior afinidade para tal, melhorando a permeabilidade e a fluidez da membrana celular (MURPHY, 1990).

Inúmeros estudos têm demonstrado efeitos benéficos do Ω -3 por diminuírem a sintomatologia ou até a progressão de várias doenças, como as cardiovasculares (FAN; RAMOS; CHAPKIN, 2001; LEMAITRE et al., 2003), as dislipidemias (MORVAN et al., 2002; PARK; HARRIS, 2003; PAN et al. 2004), as doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatóide (VENKATRAMAN; CHU, 1999), a colite ulcerativa (CAMPOS et al., 2002) e a depressão (PEET; HORROBIN, 2002), entre outras conforme Venkatraman et al. (1998).

Os ácidos graxos insaturados podem, ainda, passar por transformações químicas como a hidrogenação, e apresentar átomos de hidrogênio ligados aos carbonos da insaturação, em lados opostos, tornando-se com configuração trans, segundo Martin et al. (2004). Tem

sido demonstrado que um maior consumo de ácidos graxos trans através dos alimentos ocasiona malefícios à saúde humana, entre os quais se destaca o aumento nas concentrações plasmáticas de LDL-colesterol (MENSINK, 1990) e (LICHTENSTEIN et al., 1999).

Os ácidos graxos trans competem com os ácidos graxos essenciais inibindo as enzimas $\beta 5$ e $\beta 6$ desaturase, envolvidas na síntese dos ácidos graxos essenciais, segundo Kirtein et al (1983). Quantidades adequadas de ácidos graxos essenciais na dieta minimizam este efeito. No entanto, pouco se conhece da ação dos isômeros trans, sob condições de restrição ou deficiência dietética dos ácidos graxos essenciais, sobre o percentual de deposição tanto dos próprios isômeros trans, como dos ácidos graxos polinsaturados nos lipídios dos tecidos.

O rato é a espécie mais adequada para fornecer informações da lipogênese, a via é bem representada no tecido adiposo e no fígado. Nos pássaros, a lipogênese, conversão da glicose para ácidos graxos, é apenas confinada ao fígado, onde é particularidade importante no fornecimento de lipídios para formação do ovo. Na maioria dos mamíferos, a glicose é o principal substrato para lipogênese, mas, nos ruminantes, o acetato é a principal molécula energética produzida pela dieta (Mayes, 1994).

2.2 Colesterol

O colesterol, demonstrado na figura 1, é derivado do ciclopentano peridro fenantreno, contém 27 átomos de carbono, ligação dupla entre os carbonos 5 e 6, hidroxila no carbono 3 e cadeia alifática de oito carbonos no C-17 (MOTTA, 2003).

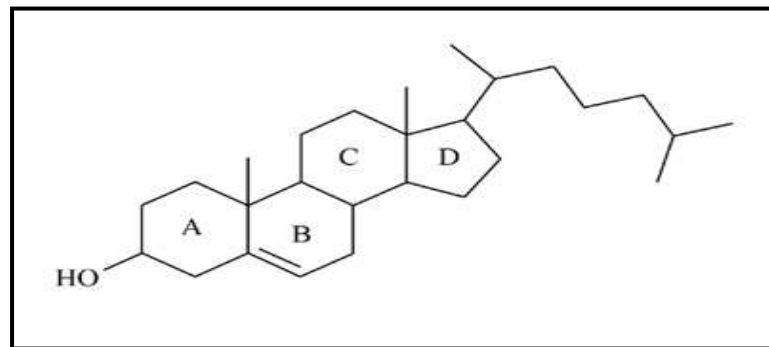


Figura 1 – Fórmula Estrutural da molecular do colesterol

O colesterol apresenta-se como um sólido cristalino, branco, insípido e inodoro (VILELA, 2007). É um esteróide característico dos tecidos animais. O colesterol desempenha várias funções essenciais no organismo, é componente de todas as membranas celulares, é precursor de sais biliares, hormônios esteróides e da vitamina D. Um complexo sistema de transporte, biossíntese e mecanismos regulatórios estão envolvidos na manutenção de um suplemento contínuo de colesterol (CHAMPE et al., 2006).

O colesterol é uma molécula planar, insolúvel em água, presente nas membranas entre a porção de hidrocarbonetos dos fosfolipídios; e a sua presença afeta a mobilidade de membrana. É sintetizado no fígado e excretado na circulação como componente das lipoproteínas de baixa densidade. Os lipídeos que circulam na corrente sanguínea (triacilgliceróis e fosfolipídios) e o colesterol livre ou esterificado estão associados a proteínas na forma de macromoléculas complexas que fazem o transporte dos lipídeos dos locais de degradação para os locais de utilização e eliminação (ARAÚJO, 2004).

Mais da metade do colesterol do organismo origina-se de sua síntese (cerca de 700 mg.dL⁻¹), e o restante é fornecido pela dieta (ROBERT, 1998). O principal local de síntese do colesterol no homem ocorre no fígado e, também poderá ser sintetizado no seu intestino.

Além de ser sintetizado no fígado, o colesterol também é parte da dieta, tanto na forma livre quanto na forma esterificada com ácidos graxos. Por não ser considerado um nutriente essencial, não há nenhum requerimento de sua ingestão, pois o organismo é capaz de sintetizá-lo em quantidade suficiente. O seu nível no plasma, em muitas pessoas, mantém-se inalterado mesmo após ingerido. Este mecanismo de controle diminui a quantidade sintetizada de colesterol quando aumentada a ingestão (ARAÚJO, 2004).

No homem, sob dieta ocidental, o colesterol plasmático total é cerca de 5,2 mmol.L⁻¹, aumentando com a idade, embora ocorram amplas variações entre indivíduos. A maior parte

encontra-se na forma esterificada. Ele é transportado pelas lipoproteínas plasmáticas e a maior proporção de colesterol ocorre na lipoproteína de baixa densidade (ROBERT, 1998).

As lipoproteínas plasmáticas incluem quilomícrons, lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a lipoproteínas de alta densidade (HDL). A função das lipoproteínas é manter os lipídeos em solução (triacilgliceróis e ésteres de colesterol) durante seu transporte entre sangue e os tecidos. As lipoproteínas são compostas de um núcleo de lipídeos neutros (contendo triacilgliceróis, ésteres de colesterol, ou ambos) circundados por um envoltório anfipático de apolipoproteínas, fosfolipídios e colesterol livre (não esterificados). Os quilomícrons são produzidos nas células da mucosa intestinal a partir de lipídeos da dieta (principalmente triacilgliceróis) e de lipídeos sintetizados nessas células (CHAMPE et al., 2006).

O HDL é responsável por transportar o colesterol endógeno de volta para o fígado, retirando-o das paredes das artérias. Desta forma, um nível elevado de HDL indica baixa probabilidade do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (VILELA, 2007).

O LDL, por sua vez, transporta cerca de 70% de todo o colesterol que circula no sangue, do fígado para os tecidos. São moléculas pequenas e densas que se ligam à membrana do endotélio. Concentrações plasmáticas elevadas de LDL estão associadas com doenças arteriais coronarianas, como a aterosclerose, tal patologia ocorre quando o LDL-colesterol permanece no sangue, acumulando-se nas paredes das artérias (SILVERTHORN, 2003).

O consumo máximo diário de colesterol equivale a 300mg, recomendado para adultos de altura e peso médio. O colesterol está presente em alimentos de origem animal, como fígado e outras vísceras, gema de ovo e gordura de alimentos derivados de leite. Quanto mais elevada à concentração de colesterol no sangue, maior será seu acúmulo nas paredes das artérias, provocando a aterosclerose, responsável pelo infarto e derrame cerebral (SIZER; WHITHEY, 2003).

A quantidade e a composição da gordura da dieta interferem nos níveis de lipídeos plasmáticos. Dietas ricas em gorduras insaturadas (óleos vegetais e peixes) reduzem o colesterol circulante, enquanto as gorduras saturadas (gorduras animais, gorduras trans e colesterol) elevam a colesterolemia. Dietas ricas em vegetais reduzem os lipídeos e as lipoproteínas circulantes (MOTTA, 2003).

Segundo Champe e Harvey (2000), o nível de colesterol no plasma é moderadamente reduzido quando dietas pobres em colesterol são consumidas, sendo importante identificar e limitar os alimentos ricos em colesterol. Segundo os mesmos autores, as gorduras monoinsaturadas presentes no azeite de oliva são tão efetivas quanto às gorduras

polinsaturadas em reduzir o colesterol no sangue, quando substituem os ácidos graxos saturados.

O colesterol sanguíneo total e a fração LDL podem ser aumentados pela ingestão excessiva de calorias, gorduras saturadas e colesterol dietético e, possivelmente, por proteína animal. Inversamente, podem ser reduzidos por diminuição do peso corporal, substituição dietética dos ácidos graxos saturados por ácidos graxos polinsaturados, fibra alimentar solúvel (ANDERSON, 1987) e pelo consumo de alguns alimentos com propriedade de diminuir o colesterol, como frutas e leguminosas (SHUTLER; LOW, 1988).

A regulação dos níveis de colesterol plasmático envolve fatores que influenciam o metabolismo intracelular e extracelular do colesterol. As duas enzimas chaves envolvidas são a hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase e a acil CoA colesterol-O-aciltransferase. Os inibidores da enzima HMG-CoA redutase são muito efetivos em reduzir o colesterol plasmático em muitas espécies animais, incluindo humanos (BOK et al., 1999).

2.3 Homocisteína

O Brasil vive uma transição nutricional, que diz respeito a mudanças seculares em padrões nutricionais que resultam de modificações na estrutura da dieta dos indivíduos e que se relacionam com mudanças econômicas, sociais demográficas e relacionadas à saúde (HELBIG, 2007).

Os alimentos que compõem a dieta humana são em geral de origem vegetal e animal. Alimentos como as carnes, os peixes, os derivados lácteos, os grãos e as farinhas de leguminosas, são particularmente ricos em proteínas e considerados as principais fontes desse nutriente indispensável. Com raras exceções, as proteínas de origem animal apresentam um melhor equilíbrio de seus aminoácidos indispensáveis e um maior índice de digestibilidade do que as de origem vegetal (SGARBIERI, 1987).

A urbanização, a industrialização e a globalização exerceram uma grande influência sobre o estilo de vida, a dieta e, conseqüentemente, o estado nutricional dos latino-americanos. Ao mesmo tempo em que ocorreu uma diminuição da subnutrição nas regiões

metropolitanas, houve uma alteração no estilo de vida, com a adoção de dietas inadequadas e redução da atividade física. Como resultado, doenças decorrentes tanto da deficiência, quanto do excesso de nutrientes, tornaram-se importantes problemas de saúde pública. Este quadro, chamado de "transição nutricional" (LAJOLO, 2002), sobrecarrega o sistema de saúde com uma demanda crescente de atendimento a doenças crônicas relacionadas à má alimentação. No Brasil, verificou-se, ainda, um aumento no número de óbitos decorrentes de doenças crônico-degenerativas (CARVALHO et al., 2006).

Embora remonte às origens da civilização, a relação entre alimentação e saúde nunca foi tão estreita quanto nos dias atuais. Dietas ricas em gordura, sal e açúcar e pobres em carboidratos complexos, vitaminas e minerais, aliadas a um estilo de vida mais sedentário, são responsáveis pelo aumento de doenças relacionadas a obesidade, diabetes, problemas cardiovasculares, hipertensão, osteoporose e câncer (CARVALHO et al., 2006).

Assim, o papel da nutrição hoje vai além da ênfase sobre a importância de uma dieta balanceada. Ela deve almejar a otimização da nutrição, com o objetivo de maximizar as funções fisiológicas e garantir o aumento da saúde e bem-estar e a redução do risco de doenças (ROBERFROID, 2002).

Níveis elevados de homocisteína plasmática estão associados com um maior risco de problemas cardiovasculares. Embora os níveis de homocisteína possam ser reduzidos com suplementação dietética de ácido fólico (1mg por dia) em combinação com as vitaminas B₆ e B₁₂, ainda não está claro se este tratamento reduz problemas clínicos em pacientes com doença arterial coronariana (NEVES, et al., 2004).

A homocisteína, formada a partir da metionina hepática, é metabolizada nas vias de desmetilação e de transulfuração, sendo que seus valores plasmáticos e urinários refletem a síntese celular. Sua determinação, realizada em jejum e após sobrecarga de metionina, caracteriza as diferenças dessas vias metabólicas, principalmente quando de natureza genética. A hiper-homocisteinemia tem sido associada a maior risco de eventos aterotrombóticos, e a literatura sugere associação causal, independente de outros fatores de risco para doença arterial. Diminuição da homocisteína plasmática para valores normais é seguida de redução significativa na incidência de doença aterotrombótica. A relação entre homocisteína e o fígado vem adquirindo importância, uma vez que alterações das lipoproteínas e da depuração de metionina são comuns em pacientes com doença hepática crônica (hepatocelular e canalicular). O tratamento da hiper-homocisteinemia fundamenta-se na suplementação alimentar e medicamentosa de ácido fólico e vitaminas B₆ e B₁₂ (Neves et

al., 2004). A figura 2 mostra o metabolismo da homocisteína e possível mecanismo de doença aterotrombótica (HANKEY; EIKELBOOM, 2000).

Nas dietas ricas em proteínas animais contendo metionina, 70% da homocisteína é catabolizada pela enzima cistationina β -sintetase (C β S) via transulfuração; enquanto naqueles com dieta aprotéica ou em jejum a via da remetilação é favorecida e apenas 10% é catabolizada pela C β S. Isso explica porque o excesso de metionina não leva a grande aumento da homocisteína. Entretanto, com o estoque de folato e/ou cobalamina normal ou alteração da via da transulfuração (deficiência de piridoxina ou parcial de C β S), a sobrecarga de metionina causa hiper-homocisteinemia (SILBERG, et al., 1997). Existe a hipótese ainda não comprovada de que a saturação da via de transulfuração ocorra pela ingestão prolongada de metionina acompanhada de inibição da desmetilação e elevação da homocisteína plasmática (UELAND; REFSUM, 1989).

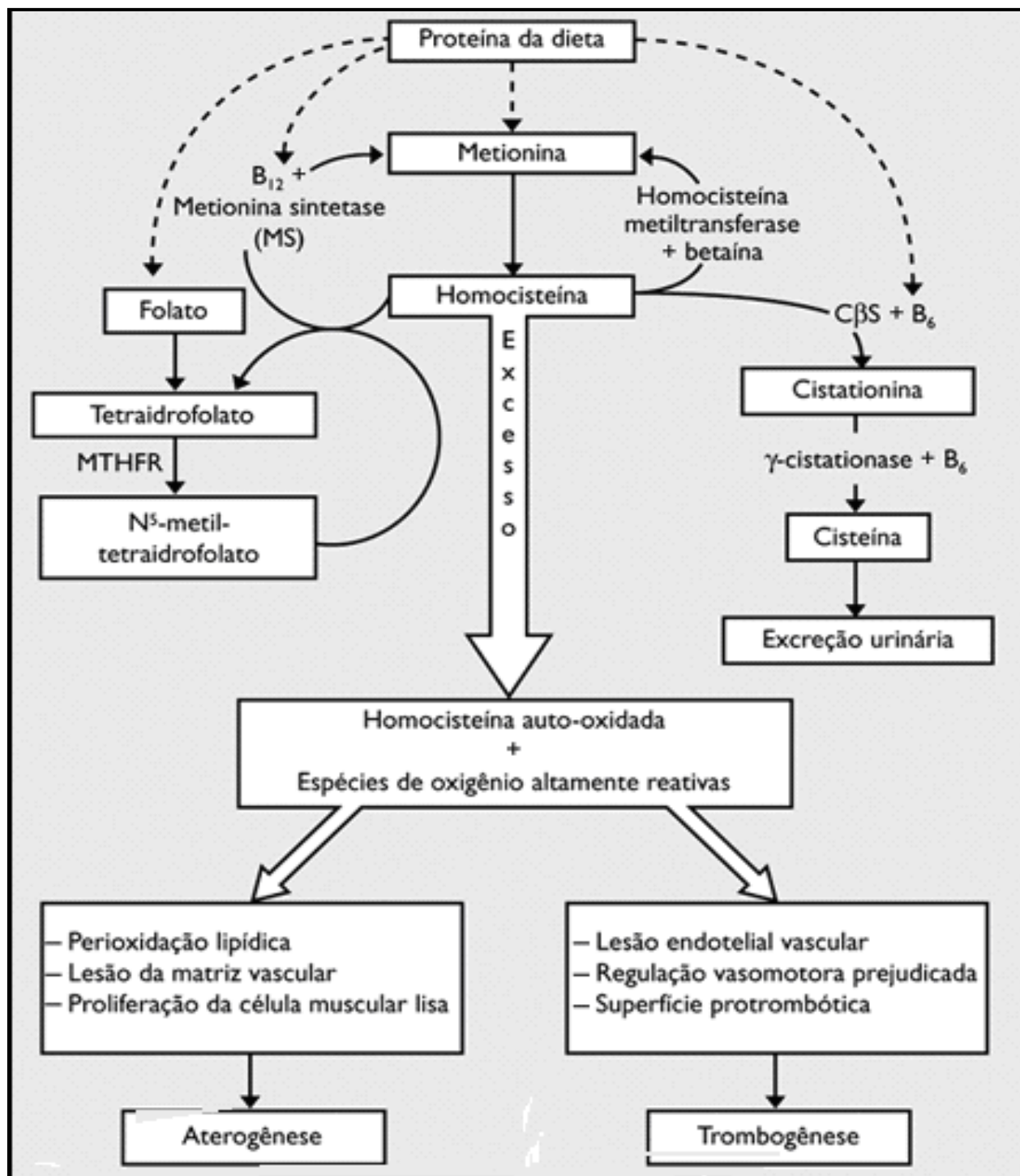
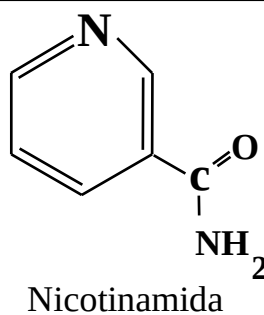
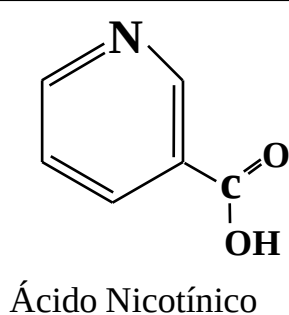


Figura 2 – Metabolismo da homocisteína e possível mecanismo de doença aterotrombótica. MTHFR = metileno-tetraidrofolato redutase; CβS = cistationina β-sintetase.

2.4 Niacina

A



Niacina é o

nome genérico do ácido nicotínico e nicotinamida, cujas as fórmulas estruturais estão representadas na figura 3, cada um dos quais pode atuar como fonte de vitamina na alimentação. O ácido nicotínico é derivado ácido monocarboxílico da piridina.

Figura 3 – Fórmulas Estruturais do ácido nicotínico e nicotinamida

O ácido nicotínico ou niacina é uma vitamina hidrossolúvel, possuindo como derivados ([NAD⁺](#), NADH, [NADP⁺](#) e NADPH) com ação não totalmente conhecida. Existe evidência que atue sobre receptores específicos diminuindo a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo (KARPE; FRAYN, 2004). As formas biologicamente ativas da coenzima são nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD⁺) e seu derivado fosforilado, nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato (NADP). A nicotiamida, um derivado do ácido nicotínico, que contém uma amida substituindo a hidroxila do grupo carboxílico, também ocorre na dieta. A nicotinamida é rapidamente desaminada no organismo e, dessa forma, é nutricionalmente equivalente ao ácido nicotínico. O NAD⁺ e o NADP⁺ servem como coenzimas nas reações de oxidação-redução nas quais a coenzima sofre redução do anel piridina, pela incorporação do íon hidreto (CHAMPE, 2000).

Nicotinato é a forma da niacina requerida às sínteses de NAD⁺ e NADP⁺ por enzimas presentes no cortisol da maioria das células. Portanto, qualquer nicotinamida alimentar deve inicialmente sofrer desamidação a nicotinato (ROBERT, 1998).

O ácido nicotínico (mas não como nicotinamida) tem sido utilizado terapêuticamente para reduzir o colesterol plasmático. Isto se deve à inibição do fluxo de ácidos graxos livres a partir do tecido adiposo, que resulta em menor formação das lipoproteínas portadoras de colesterol, VLDL, IDL, LDL (ROBERT et al. 1998).

A niacina reduz os níveis de triacilgliceróis (20-50%) e de LDL colesterol (5-25%), segundo Santos et al. (2001). É uma das drogas hipolipemiantes que mais aumenta o HDL colesterol (15-35%).

Atualmente existem três formulações do ácido nicotínico: liberação imediata ou cristalina, liberação intermediária, liberação prolongada também conhecida como extendida na literatura de língua inglesa e a forma de liberação lenta (MCKENNEY, 2004).

A niacina é metabolizada por duas vias metabólicas: a via na qual é conjugada com a glicina para formação do ácido nicotinúrico e a via que abrange uma série de reações de óxido-redução que formam a nicotinamida e derivados pirimidínicos.

Ácido nicotínico (niacina) é uma terapia efetiva para regulação lipoprotéica e redução de risco cardiovascular (CAPUZZI, 1998), e já foi considerada a droga de escolha para a terapia de hipercolesterolemia severa (CLEMENTZ, 1987). A niacina se mostra como um importante agente que reduz o nível de colesterol total, lipídios de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos. Também se apresenta como um agente que aumenta os níveis dos lipídios de alta densidade (HDL). Estimula a síntese e a secreção de apolipoproteína A1 e aumenta o catabolismo da lipoproteína (a) (FORTI, 2000). A niacina tem se mostrado uma droga eficaz na redução de eventos coronários e na mortalidade (PIPER, 2002). A modificação dos lipídios é chave na prevenção da doença coronariana (CLARK, 2003). O mecanismo de ação é conhecido pela inibição da lipólise no tecido adiposo, reduzindo a esterificação dos triacilgliceróis no fígado e aumentando a atividade das lipases lipoprotéicas. A figura 4 mostra, de forma esquemática e simplificada, o conjunto das reações de síntese e degradação em que participam as vitaminas do grupo B.

Ácido nicotínico (B_3) é uma vitamina hidrossolúvel, e se converte a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) (GILMAN, 1995). O ácido nicotínico é um importante agente hipolipidêmico e indutor de rubor facial. O efeito vasodilatador do ácido nicotínico é bem descrito na musculatura lisa e esquelética e é mediada pela geração de prostaglandinas vasodilatadoras (GADEGBEKU et al. 2003).

As vitaminas desempenham funções essenciais no metabolismo fisiológico dos animais, e elas podem ficar comprometidas quando houver insuficiência (BELL, 1989). Quase todas as espécies animais parecem ter capacidade, em diferentes graus, para sintetizar o ácido nicotínico e seus principais produtos, o NADH e o NADPH, a partir do aminoácido essencial triptofano, no entanto, em geral, essa conversão é um processo pouco eficiente (COMBS, 1992).

Segundo TAPAN e SARABJIT (1997), niacina em grandes níveis interfere no metabolismo da metionina por afetar a vitamina B₆. Há evidências que o tratamento de doenças cardiovasculares com simultânea administração de niacina e piridoxina pode dar melhor resultado do que o tratamento com niacina apenas.

2.4.1 Absorção e Excreção

O ácido nicotínico pode ser sintetizado pelos seres humanos a partir do triptofano, mas numa velocidade que é inadequada para a manutenção da boa saúde. Parte da niacina necessária ao organismo é suprida pela dieta. A absorção ocorre no intestino delgado e um pequeno armazenamento ocorre no organismo e os excessos são eliminados pela via urinária na forma metilada da nicotinamida (N'-metil-nicotinamida). As coenzimas NAD e NADP não são absorvidas pelo organismo (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

2.4.2 Fontes Alimentícias

A niacina está amplamente distribuída em alimentos animais e vegetais. Entretanto, na determinação de niacina de um alimento deve ser levada em conta o fato que o aminoácido essencial triptofano pode ser convertido em NAD⁺. Para cada 60mg de triptofano pode ser gerado 1mg equivalente de niacina (ROBERT, 1998). Carnes magras, vísceras, levedura de cerveja, amendoim, aves e peixes são boas fontes de niacina. Vegetais e frutas não são boas fontes de niacina. Leites e ovos não são boas fontes de niacina, mas são fontes excelentes de triptofano. A niacina pode ser sintetizada por bactérias que habitam o trato intestinal, embora a contribuição dessa fonte não seja devidamente conhecida (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

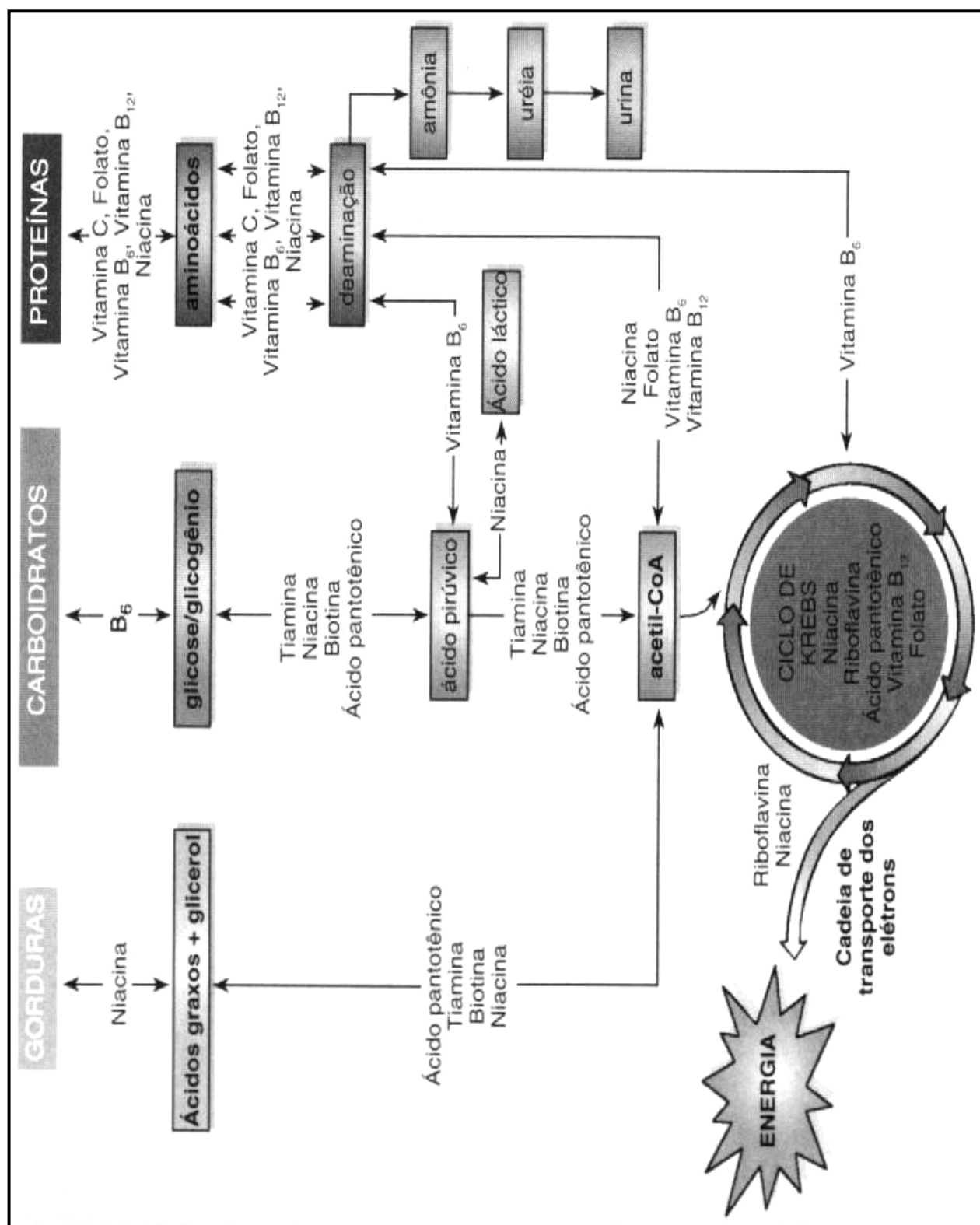


Figura 4 – Reações de síntese e degradação em que participam as vitaminas do grupo B.

2.4.3 Deficiência e Toxicidade

Entre os vários sintomas de deficiência de niacina cita-se: fraqueza muscular, anorexia, indigestão e erupção cutânea. A deficiência grave de niacina leva à pelagra (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

Terapia com niacina é geralmente iniciada com simples doses de 100mg/dia a 250mg/dia. A frequência da dose e a dose diária total são gradualmente aumentadas, sendo alcançada 1,5g/dia a 2g/dia (RADER, 1992). A dose é aumentada para 3g/dia (1g três vezes ao dia) se o LDL-colesterol não baixar significamente com doses de 1,5g/dia a 2g/dia (RADER, 1992). Esta droga é indicada para um longo tempo de tratamento da hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia.

O principal efeito colateral da niacina é o "flushing", ou seja, calor e rubor, causado pela liberação de prostaglandinas durante a formação do ácido nicotínico. Já a hepatotoxicidade associa-se a metabólitos da via da nicotinamida. A niacina de liberação imediata rapidamente satura a via da nicotinamida sendo preferencialmente metabolizada pela via do ácido nicotínico, fato que leva à alta prevalência de "flushing" e ausência de hepatotoxicidade. Já a formulação de ação lenta raramente causa rubor devido a sua preferência pela via da nicotinamida. Por outro lado, essa formulação associa-se ao alto risco de hepatotoxicidade dose dependente. A formulação de liberação intermediária, apresenta cerca de 60% menos rubor que a formulação de liberação imediata e raramente apresenta toxicidade hepática em doses de até 2 g/dia (MCKENNEY , 2004).

Grandes doses de niacina podem levar a sensação de formigamento e enrubescimento da pele e ao latejamento devido a ação vasodilatadora. Administração de niacina prolongadamente e em grandes doses para animais pode aumentar a concentração lipídica no fígado e decrescer a quantidade de colina nesse órgão, podendo afetar a função hepática. Altas doses de niacina podem interferir no metabolismo da metionina (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

2.5. Piridoxina

A vitamina B₆ é um termo coletivo para piridoxina, piridoxal e piridoxamina, cuja fórmulas estruturais, estão representadas na figura 5, são derivadas da piridina. Elas diferem

apenas na natureza do grupo funcional ligado ao anel. A piridoxina ocorre principalmente nas plantas enquanto o piridoxal e piridoxamina são encontradas em alimentos obtidos de animais. Todos os três compostos podem servir como precursores da coenzima ativa, o piridoxal-fosfato (CHAMPE, 2000).

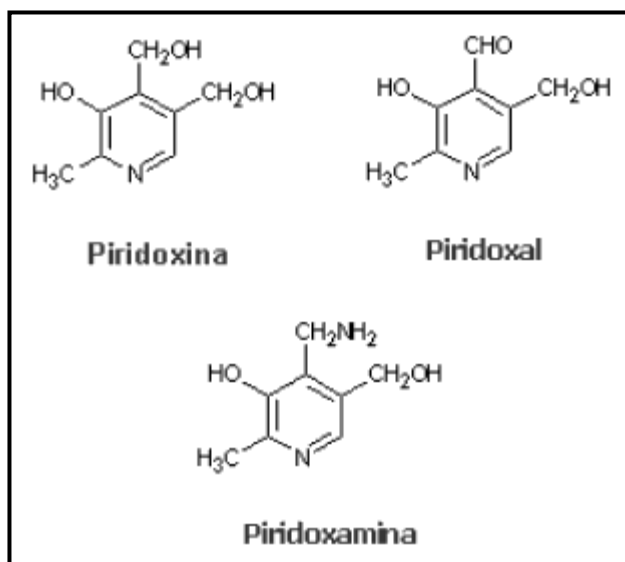


Figura 5 – Fórmula estrutural da piridoxina, piridoxal e piridoxamina

A piridoxina é solúvel na água, estável aos álcalis e aos ácidos, resistente ao calor, mas decompõe-se rapidamente à luz ultravioleta. Encontra-se, na natureza, livre ou combinada com substâncias protéicas.

A piridoxina é necessária para a síntese de neurotransmissores como serotonina e noradrenalina, bem como a síntese da esfingosina.

A vitamina B_6 é importante para a formação da serotonina a partir do triptofano; ainda para a conversão do triptofano em vitamina B_3 e do ácido araquidônico em prostaglandina E_2 . A deficiência de vitamina B_6 reduz a produção e a atividade de neurotransmissores (especialmente acetilcolina e noradrenalina), podendo causar depressão, insônia, irritabilidade e ansiedade. As deficiências marginais de vitamina B_6 são comuns (especialmente nas mulheres), é possível que milhares de pessoas usuárias de antidepressivos

fossem beneficiadas com a sua reposição (50 mg duas vezes ao dia) e a conseqüente normalização de rotas bioquímicas (MOURA, 1998).

A forma ativa da vitamina B₆ é o piridoxal-fosfato (PLP) e circula ligada a proteínas plasmáticas (albumina e hemoglobina). Coenzima essencial a numerosas reações do metabolismo de aminoácidos, carboidratos e lipídeos, ativa enzimas principalmente envolvidas nos processos de transaminação (transaminases e aminotransferases). Mantém a integridade funcional do cérebro, sendo essencial às reações enzimáticas de síntese e metabolização dos neurotransmissores (dopamina, norepinefrina, serotonina, tiramina, taurina, histamina e ácido aminobutírico).

2.5.1 Absorção e Excreção

Absorção da vitamina B₆ se dá no jejuno e no íleo por difusão passiva. Tanto o piridoxal quanto piridoxal-5-fosfato são transportados no plasma e nas células vermelhas, e podem ser ligados à albumina. A vitamina B₆ é excretada no organismo principalmente como ácido 4-piridóxico (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

Todas as formas da vitamina B₆ são absorvidas no intestino, mas alguma hidrólise dos ésteres fosfato ocorre durante a digestão. O piridoxal fosfato é a principal forma transportada no plasma. A maioria dos tecidos contém a enzima piridoxal quinase, que é capaz de catalisar a fosforilação pelo ATP das formas não-fosforiladas da vitamina a seus respectivos ésteres fosfatos. Enquanto o piridoxal fosfato é a principal coenzima que expressa a atividade de vitamina B₆, a piridoxamina fosfato também atua como uma coenzima ativa, segundo Robert et al. (1998).

2.5.2 Fontes Alimentícias

A piridoxina é encontrada principalmente ligada à porção protéica dos alimentos, sendo as principais fontes as leveduras, germe de trigo, vísceras e cereais integrais. Geralmente frutas e vegetais são fontes pobres em piridoxina. Bactérias presentes no cólon podem sintetizar a piridoxina, mas aparentemente essa fonte não contribui de modo significativo (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

Segundo Robert et al. (1998), fígado, abacate, bananas, carne, vegetais e ovos constituem boas fontes da vitamina.

2.5.3 Deficiência e Toxidade

Estudos experimentais em ratos têm demonstrado que a deficiência de vitamina B₆ leva a dermatite, diminuição do crescimento, esteatose hepática, anemia, decréscimo da resposta imune, entre outras patologias. Os efeitos da deficiência de B₆ são muito parecidos com aqueles provocados pela deficiência de riboflavina e de niacina. A deficiência de vitamina B₆ também leva a maior excreção urinária de oxalato, o que pode levar a uma ocorrência de cálculos renais (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

A deficiência devida à ausência isolada de vitamina B₆ é rara, e qualquer deficiência faz usualmente parte de uma deficiência geral de vitaminas do complexo B. A possibilidade da deficiência é reconhecida em lactentes cujas mães estão depletadas da vitamina, devido ao uso prolongado de contraceptivos orais. Alcoólicos também podem ser deficientes devido ao metabolismo de etanol a acetaldeído, que estimula a hidrólise do fosfato da coenzima. Uma droga usada contra a tuberculose, a isoniazida, pode induzir deficiência de B₆ através da formação de uma hidrazona com o piridoxal (ROBERT et al., 1998).

Deficiências graves de piridoxina podem levar a anormalidades no sistema nervoso central, com a redução do número de sinapses. Doses de piridoxina em torno de 100mg podem causar efeitos colaterais como a falta de sono. Megadoses entre 2 a 3g/dia de piridoxina podem resultar em alguns tipos de neuropatia (OLIVEIRA; MARCHINI, 2000).

3 OBJETIVO

Esse estudo teve como objetivo avaliar o efeito da farinha de trigo suplementada com niacina (B₃) e piridoxina (B₆) no perfil lipídico hepático e sérico de ratos *Wistar*, machos, adultos, alimentados com uma dieta hiperlipídica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Farinha

A farinha de trigo foi cedida pelo Moinho Sul (Rio Grande – RS); produzida especificamente para o experimento, com ausência da suplementação de ácido fólico e ferro.

4.1.2 Vitaminas

- Vitamina B₃ (niacina), da marca Sigma. C: N3376
- Vitamina B₆ (Piridoxina), da marca Sigma. C: P5669

4.1.3 Fontes Lipídicas

As fontes lipídicas (FL), foram adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas.

- Gordura Vegetal da marca Mesa Culinária
- Óleo de Soja da marca Soya
- Gordura Suína da marca Alibem

4.1.4 Animais para Experimentação

Para a realização deste estudo foram utilizados sessenta e seis ratos machos adultos, da linhagem *Wistar*. Provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, RS.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Delineamento Experimental: Ensaio Biológico

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3X3, com suplementação da dieta com três concentrações de niacina (3g, 4g e 5g) e três de piridoxina (6mg, 12mg e 18mg), acrescido de um tratamento controle sem suplementação vitamínica. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em onze grupos experimentais, com seis animais por grupo, sendo que nove grupos receberam a dieta hiperlipídica com suplementação vitamínica, um grupo somente dieta hiperlipídica e outro grupo, a dieta padrão AIN-93M, sem modificações, para controle geral do experimento.

O Ensaio Biológico foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel, seguindo o método proposto por Pellet e Young (1980), enquanto a parte analítica foi realizada no Laboratório de Pós-colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos da Faculdade de Agronomia Eliseu Marciel.

O planejamento completo e as variáveis analisadas são apresentados na Tabela 1.

4.2.2 Procedimentos e Avaliações

4.2.2.1 Animais e Condições Experimentais

Este trabalho teve a aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA – UFPel), em reunião realizada no dia 27 de Julho de 2007, ata 04/2007(Anexo 1).

A temperatura do laboratório de ensaios biológicos foi mantida a $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ambiente na faixa de 50 a 60%, com alternância automática de ciclo claro-escuro em períodos de 12 horas. Os animais acondicionados em gaiolas metabólicas, receberam dieta e água *ad libitum*. O ensaio teve duração de 84 dias.

Para a realização deste estudo foram utilizados 66 ratos machos da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, RS. Os animais tinham em média 33 dias e permaneceram em caixas coletivas por 15 dias, sob condições ambientais

controladas, até adquirir peso e idade que possibilitasse o início do experimento (Anexos 2 e 3).

Tabela 1 – Delineamento experimental para estudar o efeito da suplementação da farinha de trigo com vitaminas, B₃ e B₆ em ratos *Wistar* submetidos a dieta hiperlipídica.

		Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes
		B₃ (g.Kg⁻¹)	B₆ (mg.Kg⁻¹)	
1	Controle : Dieta AIN modificada + FL	-	-	- Consumo de dieta
		3	6	- Ganho de peso
2	Dieta AIN modificada + FL	3	12	- Volume Fecal
3		3	18	- Perfil lipídico sérico
4		4	6	a) Colesterol total
		4	12	b) HDL-c
5	Dieta AIN modificada + FL	4	12	c) LDL-c
6		4	18	d) VLDL-c
7		5	6	e) Triacilgliceróis
		5	12	-Perfil lipídico hepático
8	Dieta AIN modificada + FL	5	12	a) Colesterol total
9		5	18	b) Triacilgliceróis
10				- Peso hepático
				- Lipídios Hepáticos
11	Padrão: (AIN)	-	-	- Lipídios Fecais

O planejamento consta de 11 tratamentos x 6 repetições = 66 amostras x 10 avaliações = 660 x 3 repetições = 1980 + 2 x (66 pesos; 66 consumos) + 66 (Peso hepático) = 2310 determinações.

- FL. Fontes lipídicas

Após trinta dias de tratamento com vitaminas, os ratos em jejum de 12 a 15 horas foram anestesiados em câmara isolada contendo éter etílico, sendo realizada a punção cardíaca e posteriormente procedeu-se a eutanásia com aprofundamento do plano anestésico. Foram retirados os fígados, os quais foram pesados, fotografados, identificados e congelados em embalagens de polietileno. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos em centrífuga modelo-Eppendorf / Centrifuge 5415, para se obter o soro. As amostras foram mantidas a -20°C até o momento das análises de colesterol total, HDL-colesterol e triacilgliceróis no soro sangüíneo.

4.2.2.2 Dietas Experimentais

4.2.2.2.1 Dietas do Período de Indução Hiperlipídica

Para a fase de dieta hiperlipídica, utilizou-se ração comercial Bio-Tec para roedores adicionada de fontes lipídicas.

A ração foi triturada homogeneamente, acrescida de 5g de óleo de soja, 15g de gordura hidrogenada e 20g de gordura suína por kg de dieta. As dietas foram preparadas previamente e armazenadas sob congelamento a -20°C em embalagens de polietileno.

4.2.2.2.2 Dietas do Período de Suplementação Vitamínica

Todas as dietas do período de suplementação vitamínica, foram preparadas no Laboratório de Nutrição Experimental – UFPel. O padrão dietético se baseia no Instituto Americano de Nutrição de 1993 (AIN-93M) segundo Reeves et al.(1993), com modificações nas fontes e quantidade de gorduras, e fonte protéica, proveniente em 50% da farinha de trigo e 50% da caseína. As dietas foram preparadas previamente e armazenadas sob congelamento a -20°C em embalagens de polietileno (Anexo 4).

O valor energético das dietas experimentais foi calculado pelos equivalentes calóricos por gramas, sendo 4,0 Kcal para proteínas e carboidratos e 9,0 Kcal para lipídios.

O fluxograma representativo das etapas experimentais do ensaio biológico está apresentado na figura 6.

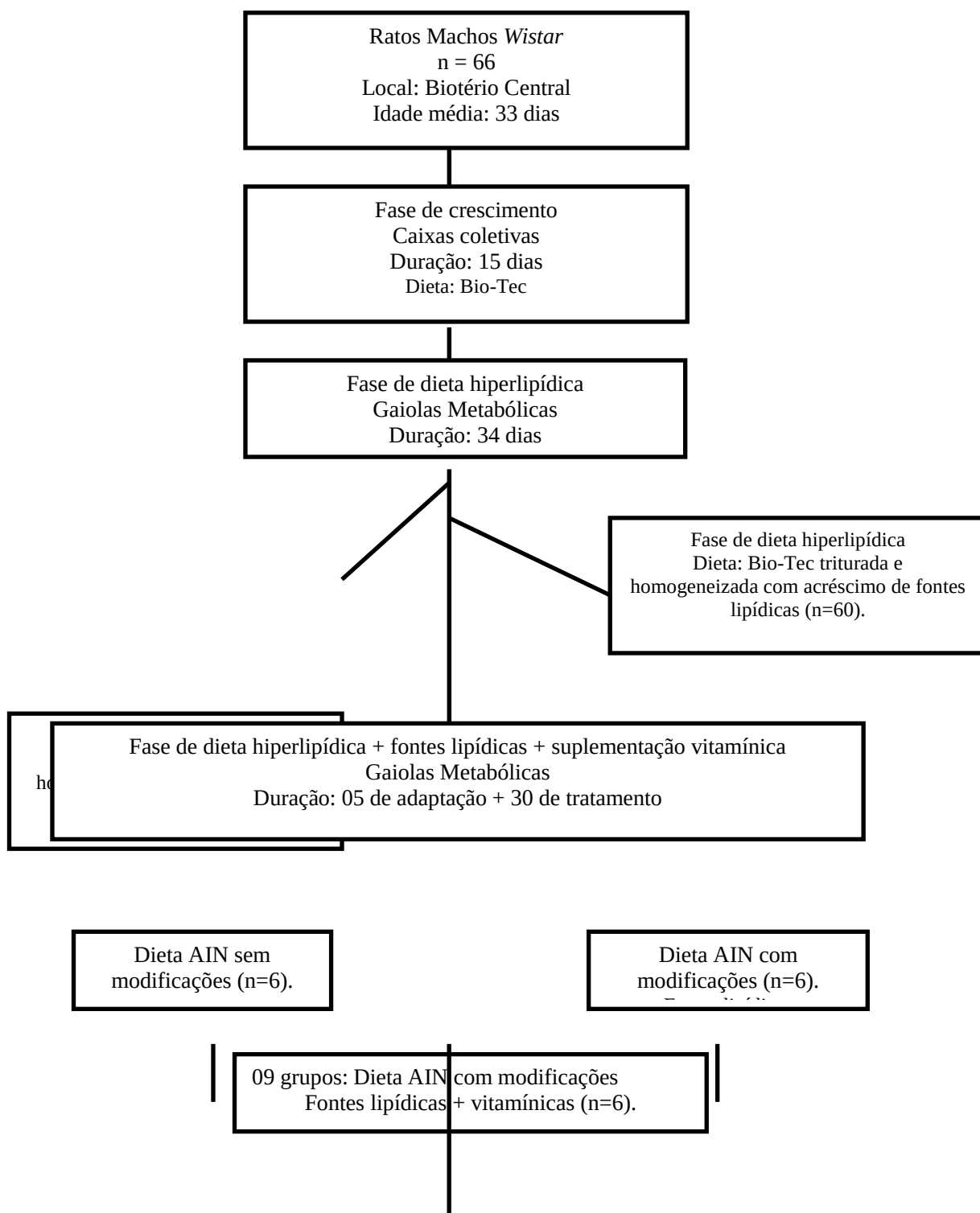


Figura 6 – Fluxograma representativo das etapas experimentais do ensaio biológico

4.2.3 Determinação de Composição Centesimal

A composição centesimal da farinha de trigo e das dietas e suas respectivas formulações são apresentadas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 – Composição centesimal da farinha de trigo, da dieta hiperlipídica e da dieta modificada com farinha de trigo e suplementada com vitaminas.

Constituintes	Farinha de trigo	D. Hiperlipídica	D. Suplementada
Proteína Bruta	9,70*	21,50	13,48
Lipídeos	1,35	9,12	6,25
Fibras	2,34	4,79	1,62
Carboidratos	86,61	64,59	78,72
Cinzas	0,81	6,52	2,92
Conteúdo calórico	397,74	426,44	425,06

*Valores expressos em g/100g matéria seca

¹ Fatores de conversão para o nitrogênio = 5,70 para farinha de trigo e D. Suplementada; D. Hiperlipídica = 6,25

² Teores calculados por diferença

A determinação da composição centesimal, de todas as dietas e farinhas utilizada no experimento, seguiu os respectivos procedimentos:

Umidade: Pearson (1976); Cinzas: Lees (1979), Proteínas: manual da AOAC,1995; utilizando 5,70 como fator de conversão de nitrogênio para proteína; Lipídios totais foram determinados pelo método descrito por Bligh & Dyer (1959); Fibra bruta: Angelucci et al. (1987) e o conteúdo de Carboidratos foi calculado por diferença usando a fórmula: **100 – (proteína bruta + lipídios totais + fibra bruta + cinzas).**

4.2.4 Determinação do Consumo de Dieta

O consumo alimentar foi monitorado diariamente durante quatro semanas por balança eletrônica e anotado em planilhas.

O consumo alimentar foi calculado através da diferença de peso entre a dieta oferecida e as sobras diárias.

Tabela 3 – Dietas experimentais utilizadas durante trinta dias no ensaio biológico com ratos adultos machos, linhagem *Wistar*/UFPeI.

Componente (g)	Tratamentos									
	contrle1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
*Caseína	73,750	73,538	73,537	73,537	73,467	73,467	73,466	73,397	73,396	73,396
*Maltodextrina	5,606	5,590	5,590	5,590	5,584	5,584	5,584	5,579	5,579	5,579
*Sacarose	96,154	95,877	95,876	95,876	95,785	95,785	95,784	95,693	95,693	95,692
Óleo de Soja	34,750	34,650	34,650	34,650	34,617	34,617	34,616	34,584	34,583	34,583
G.Hidrogenada	19,231	19,175	19,175	19,175	19,157	19,157	19,157	19,139	19,139	19,138
G.Suína	14,423	14,382	14,381	14,381	14,368	14,368	14,368	14,354	14,354	14,354
*Fibra de trigo	77,462	77,238	77,238	77,238	77,164	77,164	77,164	77,091	77,090	77,090
*Mistura										
Mineral	33,654	33,557	33,557	33,557	33,525	33,525	33,524	33,493	33,493	33,492
*Mistura										
Vitamínico	9,615	9,588	9,588	9,588	9,579	9,578	9,578	9,569	9,569	9,569
Niacina	0,000	2,876	2,876	2,876	3,831	3,831	3,831	4,785	4,785	4,785
Piridoxina	0,000	0,006	0,012	0,017	0,006	0,011	0,017	0,006	0,011	0,017
*L-cisteína	1,731	1,726	1,726	1,726	1,724	1,724	1,724	1,722	1,722	1,722
* Colina	2,404	2,397	2,397	2,397	2,395	2,395	2,395	2,392	2,392	2,392
*TBHQ	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
F. de trigo	631,213	629,394	629,390	629,386	628,791	628,787	628,784	628,189	628,186	628,183

*Segundo formulações da AIN-93M; Valores em g. Kg⁻¹

*TBHQ – Terc-butil hidroquinona

*Colina – Bitartarato de colina

4.2.5 Determinação do Ganho de Peso

Os animais experimentais foram pesados, em balança eletrônica, no início do tratamento e, no final do experimento.

4.2.6 Determinação do Peso e Volume Fecal

As fezes foram coletadas nos últimos dez dias com o auxílio de placas de Petri, seca em estufa a 50°C, por 4 horas. As fezes secas foram pesadas, determinado o volume em proveta graduada de 100 mL e armazenadas em embalagens de polietileno, para posterior realização de análises.

4.2.7 Determinação do Peso Hepático

Ao término do experimento, após a eutanásia, foi realizada a remoção e a pesagem dos fígados dos animais, sendo armazenados em papel alumínio, congelados a -20°C, para posterior realização de análises.

4.2.8 Determinação de Lipídios Totais Hepáticos

Para a análise dos lipídios hepáticos as amostras dos fígados dos animais foram maceradas, homogeneizadas, utilizando-se uma alíquota por grupo. A análise foi realizada seguindo o método de Bligh & Dyer (1959) para extração dos lipídios totais.

4.2.9 Determinação de Lipídios Totais Fecais

Na determinação de lipídios totais fecais, as fezes foram maceradas, homogeneizadas e desumidificadas em estufa a 50°C por 4 horas, utilizando-se alíquota por grupo. A análise foi realizada seguindo o método de Bligh & Dyer (1959) para extração dos lipídios totais.

4.2.10 Determinação de Colesterol Total Sérico e Hepático

Os colesterolis totais sérico (mg.dL^{-1}) e hepático (mg.g^{-1}) foram determinados segundo o método proposto por Haug & Hostimark (1987) e quantificado por sistema

enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 76-2/100).

4.2.11 Determinação do Colesterol HDL Sérico

O colesterol HDL foi determinado através da precipitação das lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (c-LDL e c-VLDL), utilizando-se o sistema enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase Labtest Diagnóstica® colesterol cat. 13).

4.2.12 Determinação do Colesterol LDL Sérico

O LDL-c foi estimado pela fórmula de Friedewald.

$$\text{LDL} = \text{CT} - \text{HDL} - \text{VLDL}$$

4.2.13 Determinação do Colesterol VLDL Sérico

A concentração de VLDL-c foi calculada pela equação de Friedewald.

$$\text{VLDL} = \text{TG}/5$$

4.2.14 Determinação de Triacilgliceróis Sérico e Hepático

Os triacilgliceróis séricos (mg.dL^{-1}) e hepáticos (mg.g^{-1}) foram determinados segundo métodos descrito por Haug & Hostimark (1987) e quantificados por sistema enzimático (lípase, glicerolquinase, glicerol-3-fosfato oxidase e peroxidase Labest Diagnóstica® GPO – ANA cat. 59-4/50).

4.2.15 Tratamento Estatístico

Os dados experimentais foram dispostos em Tabelas e Figuras, com respectivos tratamentos estatísticos. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguida do teste Tukey, considerado como nível de significância estatística, o limite de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Peso Inicial, Peso Final, Ganho de Peso e Consumo de Dieta

O peso inicial e final, ganho de peso e consumo da dieta dos ratos machos *Wistar/UFPel*, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Peso inicial e final (g), ganho de peso (g) e consumo da dieta (g) dos ratos machos, *Wistar/UFPel*, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

Tratamentos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de Peso (g)	Consumo de Dieta (g)
1- Controle (C)	312,32 ± 34,70 ^a	352,96 ± 34,70 ^a	40,64 ± 5,44 ^a , b, c	10,64 ± 1,14 ^a , b, c
2 -Trigo 6mgP)	305,00 ± 35,86 ^a	348,28 ± 35,86 ^a	43,28 ± 5,07 ^a , b	11,28 ± 1,28 ^a , b

3	-Trigo	322,08	370,98	48,90
	+12mgP)	±	±	±
		34,77 ^a	34,77 ^a	6,73 ^a
4	-Trigo	325,74	372,08	46,33
	18mgP)	±	±	±
		35,64 ^a	35,64 ^a	8,65 ^a , b
5	-Trigo	326,05	361,10	35,04 ± 5,52 ^{b, c, d}
	6mgP)	±	±	
		16,34 ^a	16,34 ^a	
6	-Trigo	316,95	342,58	25,62
	12mgP)	±	±	±
		17,83 ^a	17,83 ^a	6,12 ^d
7	-Trigo	315,42	355,00	39,57
	18mgP)	±	±	±
		17,88 ^a	17,88 ^a	3,98 ^a , b, c
8	-Trigo	329,50	359,03	29,53
	6mgP)	±	±	±
		35,35 ^a	35,35 ^a	6,54 ^c , d
9	-Trigo	325,17	365,73	40,56
	12mgP)	±	±	±
		19,92 ^a	19,92 ^a	6,17 ^a , b, c
10	-Trigo	308,15	314,58	6,43 ±
	18mgP)	±	±	1,50^e
		25,24^a	25,24^a	

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey (n= 6/grupo).

Dieta Padrão: AIN-93M, peso inicial (g): $300,61 \pm 16,47$, peso final (g): $327,43 \pm 16,16$, ganho de peso (g): $26,82 \pm 3,28$, consumo de dieta (g): $19,29 \pm 1,42$

A nutrição de animais de laboratório desempenha um papel importante na manutenção dos processos biológicos. Os compostos vitamínicos são necessários, em pequenas quantidades, para crescimento, manutenção, reprodução e lactação. Como componentes de certas enzimas são essenciais para a manutenção dos processos vitais.

As vitaminas hidrossolúveis, grupo do complexo B e vitamina C, são armazenados em quantidades muito limitantes e por isso devem ser parte obrigatória da alimentação diária, porém deve-se observar as quantidades necessárias, sem excesso ou deficiência, pois ambos podem comprometer os processos metabólicos. Os dados apresentados na Tabela 4 permitem observar as variações ocorridas nos grupos para o ganho de peso e consumo alimentar das dietas com suplementação vitamínica de niacina e piridoxina.

Para peso inicial e peso final dos ratos machos *Wistar*, não houve diferença em comparação à dieta controle, e nem entre os tratamentos.

Os dados de ganho de peso observados na Tabela 4, permitem verificar que o tratamento 10 (maior concentração de niacina e piridoxina) apresentou o menor valor para o ganho de peso (6,43g), indicando diferença significativa em relação ao controle e aos demais tratamentos. Observa-se que o tratamento 3, obteve a maior média no ganho de peso (48,90g), não apresentando diferença significativa em relação ao controle ($p > 0,05$), e aos tratamentos 2, 4, 7 e 9.

Quanto ao consumo de dieta foi observada diferença significativa para o tratamento 10, que apresentou o menor valor (17,23g).

Esse comportamento para o ganho de peso e consumo de dieta para o tratamento 10, pode ser explicado, em função da maior concentração de suplementação com as vitaminas niacina e piridoxina (B_3 e B_6), que podem ter ocasionado uma leve aceleração do metabolismo, destacando a sua função como coenzima nas rotas metabólicas. De acordo com Mahan e Escott-Stump (2005) e Cuppari et al. (2005), a niacina é essencial para o metabolismo dos carboidratos, dos aminoácidos e lipídios, enquanto a piridoxina atua como coenzima para mais de 100 enzimas envolvidas no metabolismo de aminoácidos.

Na literatura pesquisada não há referência sobre o efeito da niacina e piridoxina na redução do peso corpóreo. Estudo realizado por Orge et al (1998) em coelhos hipercolesterolêmicos tratados com berinjela, planta da família das solanáceas, rica em vitaminas A, B1, riboflavina, niacina e ácido ascórbico, observou que o peso dos animais

hipercolesterolêmicos tratados com berinjela foi menor. Para os autores, a redução do peso corpóreo nos animais tratados com o suco de berinjela foi interpretada, como consequência do elevado teor de fibras encontrado na berinjela.

O peso inicial e final, ganho de peso e consumo da dieta (g) dos ratos machos *Wistar*/UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais estão apresentados nas figuras 7 e 8.

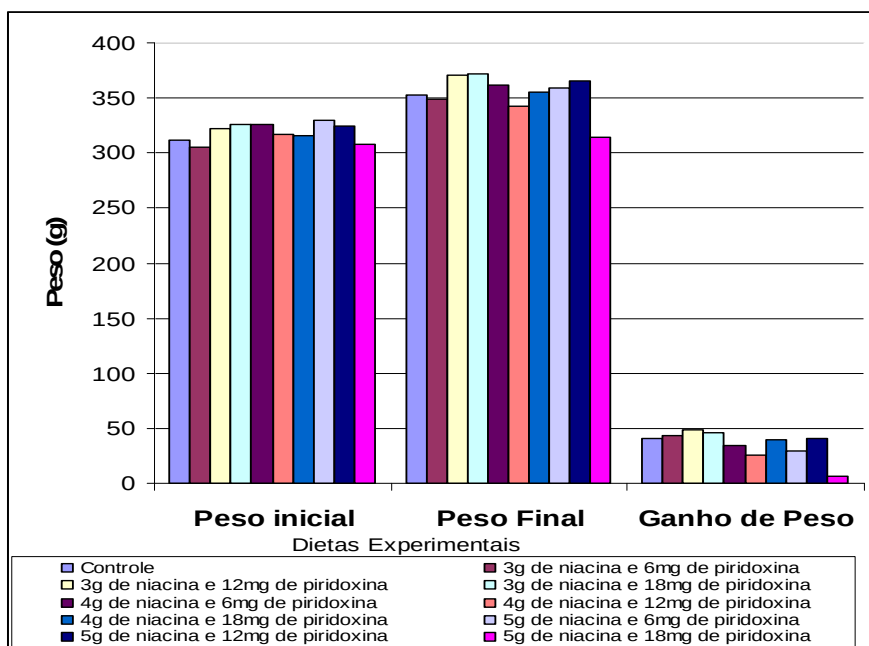


Figura 7 – Peso inicial, final (g) e ganho de peso (g) dos ratos machos *Wistar*/UFPel alimentados durante 30 dias com dietas suplementadas com vitaminas B₃ e B₆ (n= 6 ratos/grupo).

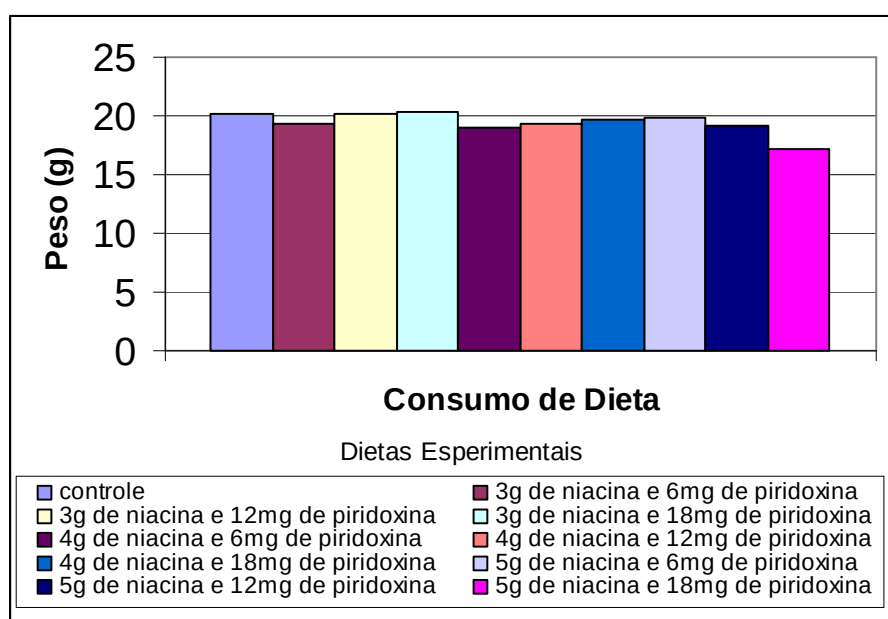


Figura 8 – Consumo da dieta (g) dos ratos machos *Wistar*/UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais (n= 6 ratos/grupo).

5. 2 Massa e Volume Fecal

A massa e o volume fecal dos ratos machos *Wistar*/UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais estão apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 – Massa e Volume Fecal dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

Tratamentos	Massa Fecal (g)	Volume Fecal (mL)
1- Controle (Trigo)	7,42 $\pm 2,25^{a,b}$	29,00 $\pm$ 0,28^b
2 -Trigo (3gN + 1gM)	9,29 $\pm 2,85^{a,b}$	25,50 $\pm$ 0,04^{b,c,d}
3 -Trigo (3gN + 2gM)	9,24 $\pm 2,45^{a,b}$	26,66 $\pm$ 0,28^{b,c}
4 -Trigo (3gN + 3gM)	10,61 $\pm 2,23^{a,b}$	22,16 $\pm$ 0,28^{d,e,f}
5 -Trigo (4gN + 1gM)	11,35 $\pm 2,15^a$	33,83 $\pm$ 0,34^a
6 -Trigo (4gN + 2gM)	8,29 $\pm 1,64^{a,b}$	23,66 $\pm$ 0,38^{c,d,e}
7 -Trigo (4gN + 3gM)	8,12 $\pm 1,07^{a,b}$	21,00 $\pm$ 0,41^{e,f}
8 -Trigo (5gN + 1gM)	7,76 $\pm 1,86^{a,b}$	15,33 $\pm$ 0,27^g
9 -Trigo (5gN + 2gM)	8,66 $\pm 0,46^{a,b}$	28,50 $\pm$ 0,32^b
10 -Trigo (5gN + 3gM)	6,97 $\pm 1,96^b$	19,16 $\pm$ 0,26^{f,g}

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

Dieta Padrão: AIN-93M, massa fecal (g): $9,38 \pm 2,78$, volume fecal (mL): $31,00 \pm 0,03$

O aumento da massa fecal leva a um aumento do peso das fezes e favorece o peristaltismo intestinal. O crescimento do número de bifidobactérias leva a uma maior retenção de umidade nas fezes, pois o conteúdo de água nas bactérias é alto. O aumento do conteúdo de água nas fezes melhora a consistência e plasticidade destas, facilitando a excreção e a frequência do hábito intestinal. As bifidobactérias sintetizam vitaminas, principalmente vitaminas do grupo B, e enzimas proteolíticas que agem entre outros, sobre a caseína e lisozima (KAWASE et al., 1982). As bactérias têm importante papel na alteração do peso fecal, devido à sua habilidade de resistir à desidratação (apesar de serem compostas por quase 80% de água), competindo com as forças absorptivas da mucosa colônica na retenção da água presente no trato gastrintestinal. As bactérias são, portanto, um importante componente das fezes humanas (SIERRA, 2000).

Em pesquisa com ratos, Fernandez et al (2006) utilizou como um dos parâmetros de avaliação do trânsito intestinal o peso das fezes. A pesquisa teve por objetivo principal comprovar experimentalmente a hipótese de que dietas ricas em fibras apresentam efeitos deletérios sobre a absorção intestinal de nutrientes e conseqüentemente sobre o crescimento. Com este objetivo, utilizou animais de experimentação com acelerado ritmo de crescimento. O rato atende a esta especificação, pois ao nascimento pesa em torno de 5 gramas e com 48 dias seu peso atinge aproximadamente 200 gramas.

Verificou-se através dos dados na Tabela 5 que não houve diferença significativa, entre os grupos do estudo e o controle, quanto ao peso total de fezes excretadas. Porém houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo a maior média de massa fecal (11,35g) apresentada pelo tratamento 5, diferindo significativamente do menor valor encontrado no tratamento 10 (6,97g).

Em estudos com bagaço de mandioca constituído de alta proporção de fibra alimentar insolúvel, (RAUPP, 1994), também demonstrou que ratos alimentados com dieta contendo a fonte de fibra insolúvel produziram fezes de maior peso, maior volume, menor densidade, bem como, maior número de defecações, do que os ratos que receberam a dieta isenta da adição de fibra.

Segundo estudo realizado por Raupp et al (2000), a ingestão de fibra insolúvel produz, tanto em animais como em humanos, aumento de peso, de volume, de frequência das

defecações, com diminuição da densidade das fezes. Estes achados estão relacionados com a regulação das funções digestivas bem como com a prevenção e o tratamento de doenças do trato gastrointestinal, como constipação, diverticulite e câncer do cólon.

Os volumes fecais produzidos pelos ratos durante o ensaio biológico apresentaram diferenças significativas entre si, diferindo, do controle (29,00 mL) os tratamentos 4, 5, 6, 7, 8 e 10. O maior valor foi observado no tratamento 5 (33,83 mL).

A massa e volume fecal dos ratos machos *Wistar*/UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais estão apresentados na figura 9.

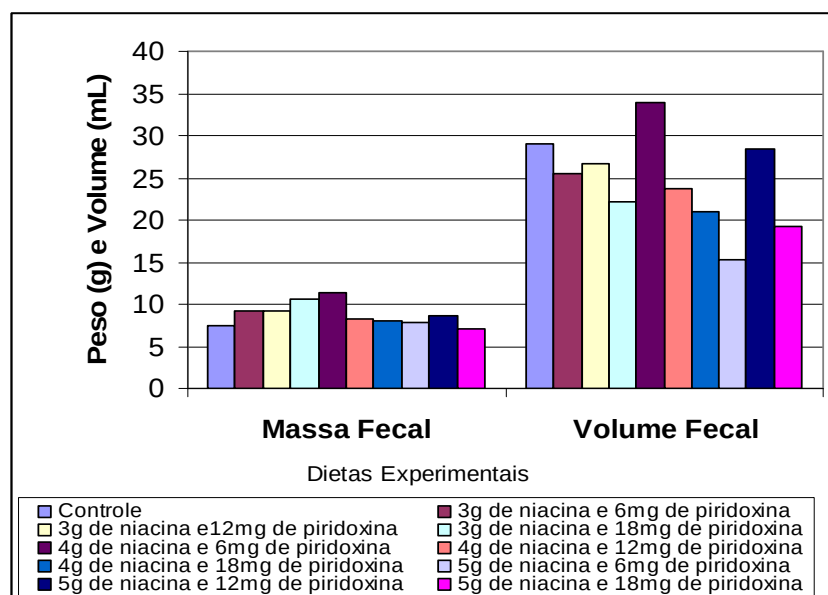


Figura 9 – Massa e volume fecal dos ratos machos *Wistar*/UFPeI alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

5.3 Lipídios Totais: Hepáticos e Fecais

O fígado é o órgão no qual os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para utilização por outros órgãos. É o segundo maior órgão do organismo e também a maior glândula. Está situado na cavidade abdominal abaixo do diafragma. A posição do fígado no sistema circulatório é ideal para captar, transformar e acumular metabólitos e para a neutralização e eliminação de substâncias tóxicas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). O fígado é essencial na regulação do metabolismo, na síntese de certas proteínas, servindo como local de armazenagem para vitaminas e ferro,

degradando certos hormônios, inativando e excretando certos medicamentos e toxinas (ROBERT & MATTHEW, 2000).

Na Tabela 6, estão representados os valores do conteúdo de lipídios hepáticos e fecais de ratos *Wistar* alimentados com dietas suplementadas com vitaminas B₃ e B₆.

Tabela 6 – Lipídios hepáticos e fecais dos ratos machos *Wistar*/UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

• • Grupo	• • Lipídios Hepáticos (g.100g ⁻¹)	• • Lipídios Fecais • (g.100g ⁻¹)
1-Controle (Trigo)	5,05 ± 0,01 ^a	7,45 ± 0,24 ^{b,c}
2 -Trigo (3gN + 6mgP)	4,63 ± 0,01 ^{a,b}	5,80 ± 0,24 ^d
3 -Trigo (3gN + 12mgP)	4,36 ± 0,01 ^{b,c}	6,70 ± 0,33 ^{c,d}
4 -Trigo (3gN + 18mgP)	5,10 ± 0,02 ^a	6,97 ± 0,35 ^{c,d}
5 -Trigo (4gN + 6mgP)	3,78 ± 0,01 ^d	7,57 ± 0,30 ^{b,c}
6 -Trigo (4gN + 12mgP)	4,18 ± 0,01 ^{b,c,d}	7,07 ± 0,27 ^{b,c,d}
7 -Trigo (4gN + 18mgP)	4,11 ± 0,01 ^{c,d}	8,41 ± 0,32 ^{a,b}
8 -Trigo (5gN + 6mgP)	4,65 ± 0,02 ^{a,b}	9,05 ± 0,24 ^a
9 -Trigo (5gN + 12mgP)	4,42 ± 0,01 ^{b,c}	7,37 ± 0,31 ^{b,c}
10 -Trigo (5gN + 18mgP)	4,06 ± 0,02 ^{c,d}	7,60 ± 0,35 ^{b,c}

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey (n=6/grupo).

Dieta Padrão: AIN-93M, lipídios hepáticos (g.100g⁻¹): 3,24±0,01, lipídios fecais (g.100g⁻¹): 7,86 ±0,10

Observa-se que o tratamento 4 apresentou maior conteúdo lipídio hepático (5,10g), não diferindo dos tratamentos 2 (4,63g), 8 (4,65g), e do controle (5,05g). O tratamento 5 apresentou a menor média (3,78g). Um importante composto que interfere na oxidação de ácidos graxos é a L-carnitina, uma amina quaternária (3-hidroxi-4-N-trimetilamino-butilato), sintetizada, principalmente, no fígado, rins e cérebro a partir de dois aminoácidos essenciais:

lisina e metionina. Atualmente, a L-carnitina é considerada vitamina, por apresentar estrutura química semelhante às vitaminas do complexo B, em particular a colina (LUBECK; WOLF, 2000).

Segundo Coelho et al. (2005), a L-carnitina é um composto endógeno com funções bem estabelecidas no metabolismo celular. É sintetizada no organismo a partir de dois aminoácidos essenciais, lisina e metionina, exigindo para sua síntese a presença de ferro, ácido ascórbico, niacina e vitamina B₆.

A concentração orgânica de carnitina é resultante de vários processos metabólicos, tais como ingestão, biossíntese, transporte dentro e fora dos tecidos e excreção. Doenças que comprometem algum desses processos, e que têm como características o aumento do metabolismo e estado nutricional debilitado, geram um estado de carência de carnitina. As consequências são relacionadas principalmente ao metabolismo de lipídeos, de acordo com Coelho et al. (2005).

Segundo Nestel et al. (1978), o aumento na concentração de colesterol no sangue de ratos que consumiram dietas com suplementação de lipídeos deve-se a um aumento na síntese intestinal de colesterol necessário para a absorção e transporte de elevados teores de lipídeos circulantes provindos da dieta e também a uma redução na excreção fecal de ácidos biliares.

Quanto aos lipídeos fecais, apenas os tratamentos 2 (5,80g) e 8 (9,05g), diferiram significativamente do controle (7,45g).

Segundo Helbig (2007), a importância da excreção fecal de lipídeos e colesterol não está somente na contribuição da regulação dos níveis séricos de colesterol e frações, mas também na prevenção de determinadas patologias. Alguns dos fatores dietéticos mais importantes que parecem predispor a grande incidência de câncer colo-retal são os baixos conteúdos de fibras alimentares não absorvíveis e os altos teores de gordura, de acordo com Tseng et al. (1996) e Forman et al. (2004).

A figura 10 apresenta os lipídios totais hepático e fecal dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

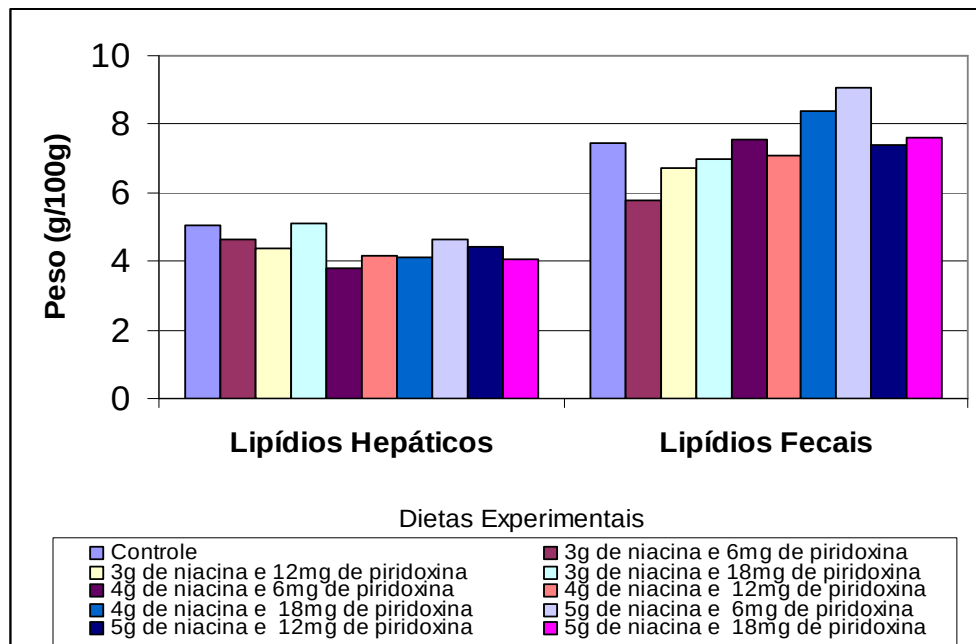


Figura 10 – Lipídios totais hepáticos e fecais dos ratos machos *Wistar*/UFPEL, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

Pelo gráfico observa-se que ocorreu uma pequena redução nos lipídeos hepáticos com a suplementação de vitaminas B₃ e B₆ a partir dos níveis 5g de vitamina B₃ e 12mg de B₆.

Já para os lipídios fecais, a suplementação vitamínica apresentou um efeito complexo, com comportamento bastante heterogêneo.

Segundo os autores Portman & Bruno (1960) o acúmulo de lipídios no fígado promove o chamado "fígado gorduroso" (esteatose hepática) nos animais.

A figura 11 apresenta os fígados dos ratos machos *Wistar*/UFPEL, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

Observam-se diferenças na coloração dos fígados dos ratos. Os animais do grupo controle, que apresentaram a maior média de lipídios hepáticos, e os tratamentos que não diferiram significativamente do mesmo (tratamentos 2, 4 e 8) apresentaram o órgão com uma coloração vermelho amarelado; porém os grupos que diferiram significativamente das maiores médias mantiveram o órgão com a coloração normal (vermelho intenso - tratamentos 5, 9 e 10). Observa-se que o tratamento 5 (4g de Niacina e 6mg de piridoxina) que apresentou a menor média de lipídios hepáticos (3,78g), apresentou a coloração vermelha mais intensa.

O fígado, principal órgão no metabolismo de aminoácidos, secreta enzimas envolvidas no ciclo da metionina (via transulfuração) (FABRE et al., 2001). A sobrecarga de metionina pode reduzir a homocisteína (He) pelo favorecimento de seu catabolismo através da

C β S (MILLER, et al., 1994). Entretanto, com a alteração da via da transulfuração (deficiência de piridoxina ou parcial de C β S), a sobrecarga de metionina causa hiper-homocisteinemia (HHe) (SPORN L. A. et al., 1985). A hiper-homocisteinemia (HHe) severa, por deficiência de cistationina- β -sintase (C β S), leva a uma série de manifestações clínicas como aterosclerose, trombose, retardo mental, osteoporose, e esteatose hepática (GAULL; SCHAFFRER, 1974).

Camundongos homozigotos portadores de deficiência de C β S apresentam HHe severa e desenvolvem esteatose hepática (WILCKEN; 1976). O mecanismo fisiopatológico da esteatose hepática na HHe pode ser explicado da seguinte maneira: o retículo endoplasmático sob estresse induzido pela homocisteína (He) ativa a transcrição de genes responsáveis pela lipogênese e contribui para o aparecimento dessa lesão hepática. Entretanto, não se sabe até que ponto a He altera a expressão de genes envolvidos na biossíntese de colesterol e triacilgliceróis, ou influencia, *in vivo*, o metabolismo dos lipídeos (GEOFF et al., 2001).



Controle



T2 -3g de niacina e 6mg de piridoxina



T3 -3g de niacina e 12mg de piridoxina



T4 -3g de niacina e 18mg de piridoxina



T5 -4g de niacina e 6mg de piridoxina



T6 -4g de niacina e 12mg de piridoxina



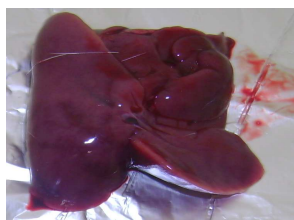
T7-4g de niacina e 18mg de piridoxina



T8 -5g de niacina e 6mg de piridoxina



T9 -5g de niacina e 12mg de piridoxina



T10-5g de niacina e 18mg de piridoxina

AIN – 93M

Figura 11 – Fígado dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

5.4 Massa Hepática

Na Tabela 7 são apresentados os valores para o peso do fígado e o percentual de massa hepática dos animais experimentais. Observa-se que para o peso dos fígados, o maior valor foi 11,95g no tratamento 4 e o menor 8,66g, no tratamento 10, sendo que ambos não diferiram significativamente do controle nem dos demais tratamentos. O percentual de massa hepática não apresentou diferença significativa, haja vista que apesar do tratamento 10 apresentar a menor massa hepática 8,66g, também apresentou a menor massa corpórea total (tabela 4).

Os resultados para massa hepática obtidos nesse trabalho estão de acordo com Hossne et al. (1986/87), onde a média da massa hepática para ratos *Wistar* adultos foi de 13,85g.

Considerando-se que o peso corporal dos ratos do tratamento 10 no final do experimento foi menor em relação aos demais tratamentos de estudo, tal fato pode indicar uma tendência a redução de peso corporal, em maiores concentrações de niacina e piridoxina ou uma possível toxicidade que compromete o ganho de peso, ocorrendo necessidade de maiores estudos para elucidar tal comportamento.

De acordo com Beynen et al. (1986) e Yamamoto et al. (1999) o aumento da massa hepática ocasionaria maior deposição de lipídeos, água, proteína e glicogênio no fígado.

A figura 12 apresenta os valores de peso dos fígados dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

Tabela 7 – Peso dos fígados e relação percentual entre a massa hepática e o peso final dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

Dieta Padrão: AIN-93M, peso do fígado (g): $13,84 \pm 2,03$, %massa hepática: $4,63 \pm 0,71$

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey (n= 6/grupo).

Grupo	Massa Hepática (g)	% Massa Hepática
1- Controle (Trigo)	$11,63 \pm 1,63^{a,b}$	$3,28 \pm 0,18^a$
2 -Trigo (3gN + 6mgP)	$10,44 \pm 1,50^{a,b}$	$2,99 \pm 0,27^a$
3 -Trigo (3gN +12mgP)	$11,17 \pm 2,03^{a,b}$	$2,99 \pm 0,32^a$
4 -Trigo (3gN + 18mgP)	$11,95 \pm 2,02^a$	$3,19 \pm 0,33^a$
5 -Trigo (4gN + 6mgP)	$10,88 \pm 1,42^{a,b}$	$3,01 \pm 0,39^a$
6 -Trigo (4gN + 12mgP)	$9,46 \pm 2,10^{a,b}$	$2,75 \pm 0,56^a$
7 -Trigo (4gN + 18mgP)	$10,65 \pm 1,93^{a,b}$	$2,99 \pm 0,45^a$
8 -Trigo (5gN + 6mgP)	$10,29 \pm 1,93^{a,b}$	$2,85 \pm 0,31^a$
9 -Trigo (5gN + 12mgP)	$10,69 \pm 0,70^{a,b}$	$2,92 \pm 0,16^a$
10 -Trigo (5gN + 18mgP)	$8,66 \pm 1,25^b$	$2,76 \pm 0,37^a$

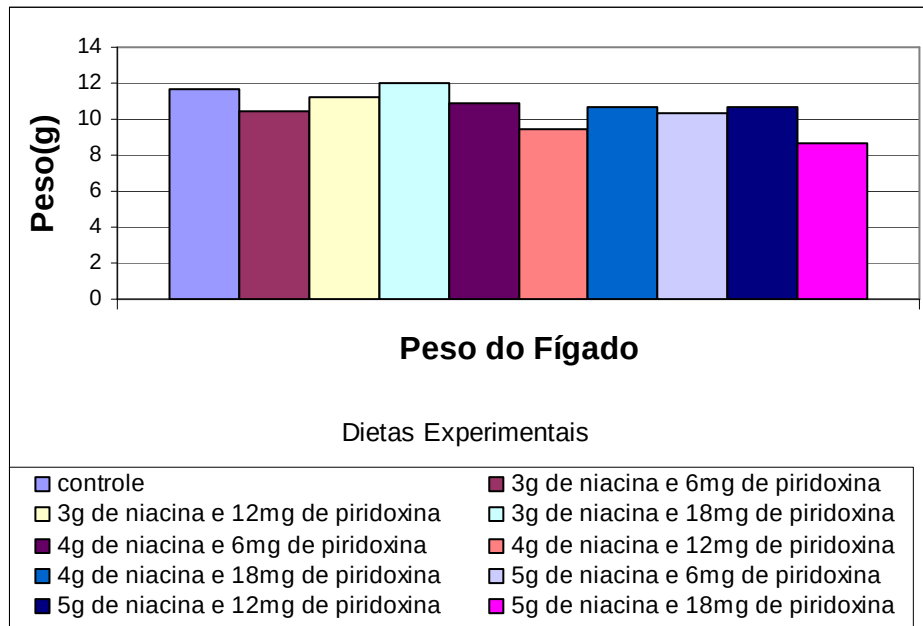


Figura 12 – Peso dos fígados dos ratos machos *Wistar*/UFPEL alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

5.5 Colesterol Total e Triacilgliceról Hepático

Na tabela 8 estão apresentados colesterol total e triacilgliceróis hepáticos, dos ratos machos *Wistar*, alimentados durante 30 dias com dietas experimentais.

A toxicidade hepática é um efeito potencialmente sério da terapia com niacina. Em casos severos, observa-se elevação de bilirrubina sérica, de amônia e um aumento no tempo de protrombina. A maior parte dos casos severos resulta em hepatite fulminante e hepatite encefalopática (RADER, 1992). Existe uma alteração nas transaminases hepáticas, na fosfatase alcalina, na bilirrubina direta, na glicose, na amilase e no ácido úrico, segundo Capuzzi (1998).

A niacina não produz alteração na excreção fecal do colesterol (esteróides neutros) e nem do ácido biliar. Entretanto, ela produz um pequeno, mas significativo, incremento na secreção hepática do colesterol biliar (GRUNDY, 1981). A disfunção hepática associada com a administração exclusiva da niacina é observada após 1 a 18 meses de administração do fármaco (RADER, 1992). A hepatotoxicidade foi observada em pacientes que receberam doses de 4g a 5g diárias de ácido nicotínico por muitos meses. As elevações dos níveis séricos das aminotransferases são resolvidos com a cessação da droga durante um mês. Um caso de falência hepática fulminante induzida por ácido nicotínico foi reportado. O mecanismo de ação pelo qual o ácido nicotínico produz hepatotoxicidade celular ainda não foi bem definido (MULLIN, 1989).

O estudo, realizado por Lunardelli (2004), sobre a curva de mortalidade de ratos adultos machos *Wistar* submetidos à administração intraperitoneal de ácido nicotínico nas diferentes doses, constatou que a concentração de 500 mg.Kg⁻¹ não foi capaz de levar nenhum animal à morte. Em contrapartida, a dose de 1000 mg. Kg⁻¹ é suficiente para que todos os ratos evoluam ao óbito. A dose de 800 mg.Kg⁻¹ intraperitoneal de ácido nicotínico, é capaz de levar a óbito 28% dos ratos analisados. A lesão hepática descrita na literatura decorrente do uso crônico do ácido nicotínico não é reproduzida na análise aguda, sendo que o mecanismo da mortalidade dos animais não foi conhecido.

Neste experimento, as concentrações investigadas, não estavam compreendidas na faixa de toxicidade conforme o estudo anteriormente relatado.

Tabela 8 – Colesterol total e triacilgliceróis (mg.dL⁻¹) hepáticos dos ratos machos *Wistar*/UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

• Grupo	• Colesterol total (mg.dL ⁻¹)	• Triacilgliceróis (mg.dL ⁻¹)
1– Controle (Trigo)	23,87 ± 2,44 ^b	202,64 ± 4,00 ^c
2 – Trigo (3gN + 6mgP)	30,79 ± 2,44 ^a	234,16 ± 2,10 ^b
3 – Trigo (3gN + 12mgP)	19,37 ± 2,93 ^{b,c}	168,98 ± 3,47 ^{d,e}
4 – Trigo (3gN + 18mgP)	30,11 ± 3,43 ^a	251,48 ± 1,40 ^a
5 – Trigo (4gN + 6mgP)	23,52 ± 2,93 ^b	204,62 ± 4,98 ^c
6 – Trigo (4gN + 12mgP)	29,06 ± 0,97 ^a	178,55 ± 4,46 ^d
7 – Trigo (4gN + 18mgP)	33,22 ± 1,95 ^a	224,42 ± 3,18 ^b
8 – Trigo (5gN + 6mgP)	17,07 ± 1,71 ^c	159,41 ± 3,96 ^e
9 – Trigo (5gN + 12mgP)	23,53 ± 0,12 ^b	149,01 ± 3,02 ^d
10 – Trigo (5gN + 18mgP)	20,41 ± 2,45 ^{b,c}	126,41 ± 3,48 ^f

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey (n=6/grupo).

Dieta Padrão: AIN-93M, colesterol total (mg.dL⁻¹): 21,11 ± 1,46 , triacilgliceról (mg.dL⁻¹): 113,20 ± 4,46

Os dados apresentados na tabela 8, permitem verificar que a combinação de niacina e piridoxina não exerceu efeito uniforme sobre o colesterol total hepático. Observa-se que o tratamento 7 apresentou maior valor de colesterol hepático total (33,21 mg.dL⁻¹), não diferindo dos tratamentos 2 (30,79 mg.dL⁻¹), 4 (30,10 mg.dL⁻¹) e 6 (29,09 mg.dL⁻¹). O tratamento 8 apresentou a menor média (17,07 mg.dL⁻¹), diferindo significativamente do controle. Entretanto, a suplementação vitamínica exerceu efeito considerável na variação dos níveis de triacilgliceróis hepáticos. O maior valor encontrado foi observado no grupo 4 (251,48 mg.dL⁻¹), que diferiu significativamente de todos os tratamentos e do grupo controle, destaca-se que a menor concentração de triacilgliceróis hepáticos foi obtido no tratamento 10 (126,41 mg.dL⁻¹), com as maiores concentrações das vitaminas (5g de Niacina e 18mg de piridoxina), que diferiram significativamente do controle e dos demais tratamentos.

As figuras 13 e 14 apresentam o colesterol total e triacilgliceról hepático dos ratos machos *Wistar/UFPel*, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

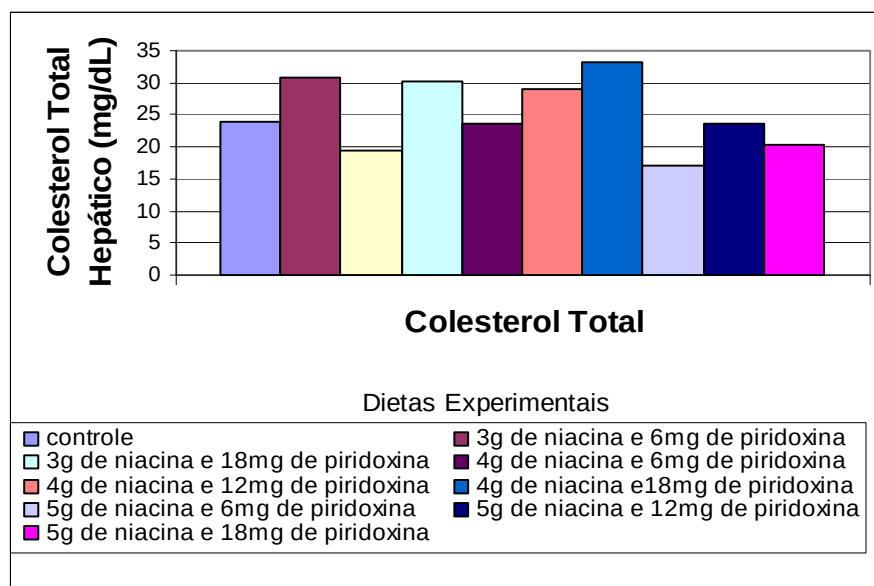


Figura 13 – Colesterol total hepático dos ratos machos *Wistar*/UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

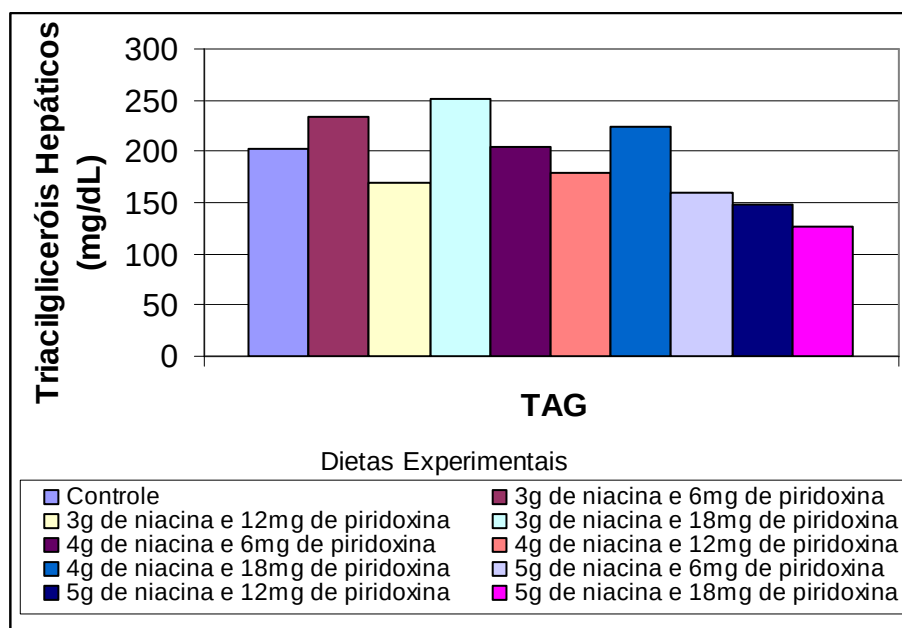


Figura 14 – Triacilgliceról hepático dos ratos machos *Wistar*/UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

5.6 Dosagens Sorológicas de Colesterol e Triacilgliceróis

Nas Tabelas 9 são apresentados as dosagens sorológicas (mg.dL^{-1}) de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triacilgliceróis dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias, com as dietas experimentais.

Tabela 9 – Dosagem sorológica de colesterol total e frações (mg.dL^{-1}) dos ratos machos *Wistar*/UFPel, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais.

G **Colesterol (mg.dL⁻¹)** **HDL - c** **LDL - c**
r
u
p
o

1-Controle (Trigo)	125,21 ± 0,37 ^{a,b}	56,88 ± 1,24 ^a	59,15 ± 1,46 ^{c,d}	9,18 ± 0,15 ^f	45,91 ± 0,77 ^f
2 -Trigo (3gN + 6mgP)	126,92 ± 1,79 ^a	52,29 ± 0,54 ^c	63,01 ± 0,88 ^{b,c}	11,62 ± 0,32 ^{c,d}	58,11 ± 1,62 ^{c,d}
3 -Trigo (3gN +12mgP)	119,23 ± 1,70 ^{d,e}	46,86 ± 1,66 ^{d,e}	60,29 ± 3,10 ^{c,d}	12,09 ± 0,24 ^c	60,44 ± 1,19 ^c
4 -Trigo (3gN + 18mgP)	118,59 ± 1,28 ^{d,e}	44,11 ± 0,99 ^e	58,50 ± 0,52 ^{c,d}	15,98 ± 0,24 ^a	79,90 ± 1,19 ^a
5 -Trigo (4gN + 6mgP)	122,65 ± 1,96 ^{b,c,d}	52,86 ± 0,67 ^{b,c}	58,84 ± 1,26 ^{c,d}	10,95 ± 0,24 ^d	54,73 ± 1,19 ^d
6 -Trigo (4gN + 12mgP)	123,93 ± 1,61 ^{a,b,c}	43,88 ± 1,66 ^e	69,99 ± 0,22 ^a	10,06 ± 0,32 ^e	50,32 ± 1,62 ^e
7 -Trigo (4gN + 18mgP)	117,95 ± 1,70 ^e	47,09 ± 0,93 ^{d,e}	55,97 ± 0,98 ^d	14,89 ± 0,39 ^b	74,45 ± 1,96 ^b
8 -Trigo (5gN + 6mgP)	124,79 ± 0,98 ^{a,b,c}	46,38 ± 1,07 ^{d,e}	66,83 ± 1,40 ^{a,b}	11,57 ± 0,32 ^{c,d}	57,85 ± 1,62 ^{c,d}
9 -Trigo (5gN + 12mgP)	116,88 ± 0,94 ^e	47,75 ± 1,03 ^d	60,05 ± 1,73 ^{c,d}	9,08 ± 0,39 ^{f,g}	45,40 ± 1,96 ^{f,g}
10 -Trigo(5gN + 18mgP)	120,94 ± 0,91 ^{c,d,e}	56,17 ± 1,37 ^{a,b}	56,47 ± 2,11 ^d	8,30 ± 0,24 ^g	41,50 ± 1,19 ^g

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey ($n=6/\text{grupo}$).

Dieta Padrão: AIN-93M, colesterol total (mg.dL^{-1}): $133,54 \pm 1,95$; TAG (mg.dL^{-1}): $106,09 \pm 0,90$;

HDL-c (mg.dL^{-1}): $45,69 \pm 2,09$; LDL-c (mg.dL^{-1}): $66,63 \pm 2,96$, VLDL -c (mg.dL^{-1}): $21,21 \pm 0,17$

Avaliando-se o colesterol total no soro dos animais experimentais (tabela 9), observa-se que o tratamento 2, obteve a maior média do colesterol total sérico ($126,92 \text{ mg.dL}^{-1}$), não apresentando diferença significativa em relação ao controle ($125,21 \text{ mg.dL}^{-1}$) e dos tratamentos 6 ($123,93 \text{ mg.dL}^{-1}$) e 8 ($124,79 \text{ mg.dL}^{-1}$). O tratamento 9 apresentou a menor média ($116,88 \text{ mg.dL}^{-1}$), não diferindo significativamente dos tratamentos 3 ($119,23 \text{ mg.dL}^{-1}$), 4 ($118,59 \text{ mg.dL}^{-1}$), 7 ($117,95 \text{ mg.dL}^{-1}$) e 10 ($120,94 \text{ mg.dL}^{-1}$).

Em estudos de indução de hipercolesterolemia em ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico, conduzido por Beher et al (1962), não foi constatado o aumento das concentrações de colesterol no plasma sangüíneo, porém foi observado um acúmulo no fígado.

Esse comportamento não foi evidenciado neste estudo, onde foi constatado pequenas variações nas concentrações de colesterol no plasma sangüíneo nos ratos que consumiram uma dieta hiperlipídica suplementada com dosagens diferenciadas de niacina e piridoxina, sendo os menores valores observados quando as dosagem de piridoxina foram iguais ou maiores que 12 mg.Kg^{-1} . Também foi observado um acúmulo no fígado em determinadas doses de niacina e piridoxina, conforme observado na Tabela 8, onde os grupos suplementados com niacina e piridoxina, obtiveram variações nos níveis de colesterol hepático quando comparados ao grupo controle, apresentando comportamento contrário ao descrito na literatura.

Segundo Hardman e Limbird (1996), o ácido nicotínico tem capacidade de inibir a lipase hormônio sensível, enzima responsável pela lipólise do tecido adiposo, e de aumentar a atividade da lipase lipoprotéica. Estudos conduzidos em aves mais magras têm apresentado menor atividade da lipase lipoprotéica (KESSLER & SNIZEK, 2001), e baixos níveis de lipoproteínas de densidade muito baixa, no sangue, têm sido bem correlacionados com baixo conteúdo de gordura corporal (GRIFFIN et al., 1999). Os resultados do referido estudo evidenciam que a dosagem de 0,08% de niacina suplementar na ração alterou o metabolismo lipídico na carne de peito de codornas com 49 dias de idade. Segundo Martinello (2006),

embora o rato seja comumente usado para a avaliação de agentes que afetam o metabolismo de lipídios, esta espécie é resistente à aterosclerose.

Para as variáveis analisadas no soro (HDL-colesterol, LDL+VLDL colesterol e triacilgliceról), observa-se que o controle e o tratamento 10, obtiveram as maiores média do HDL-c sérico, o tratamento 6 apresentou a menor média (43,88 mg.dL⁻¹), não diferindo significativamente dos tratamentos 3 (46,86 mg.dL⁻¹), 4 (44,11 mg.dL⁻¹), 7 (47,09 mg.dL⁻¹) e 8 (46,38 mg.dL⁻¹).

A suplementação com niacina e piridoxina em níveis intermediários podem reduzir o HDL-colesterol, sendo o efeito mais pronunciado da piridoxina. Já nos níveis máximos de niacina e de piridoxina ocorre um aumento de HDL-c.

Segundo Morais (2003), a gordura suína, quando consumida em quantidade moderada, não interfere na elevação da taxa de colesterol sérico; entretanto, ao aumentar o nível de gordura suína de 7 para 14%, constatou-se elevação da taxa do colesterol sérico. Esse fato pode ser identificado nesse experimento, pois a concentração da gordura suína foi de aproximadamente 2%.

Quanto ao LDL-c observa-se que o tratamento 6 obteve a maior média do LDL-c sérico (69,99 mg.dL⁻¹), não apresentando diferença significativa do tratamento 8 (66,84 mg.dL⁻¹). O tratamento 7 apresentou a menor média (55,97 mg.dL⁻¹), não diferindo significativamente do controle.

Os efeitos hipolipidêmicos da niacina requerem doses maiores do que as necessárias para se obterem seus efeitos como vitamina. Sua administração proporciona aumento do HDL colesterol, redução dos triacilgliceróis em 35-45% e baixa os níveis de LDL colesterol em 20-30% (GILMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2003).

A aplicação de niacina e piridoxina nas dietas, para o LDL apresentou comportamento semelhante ao colesterol total, ocorrendo uma redução dos valores de LDL-c em níveis maiores de piridoxina.

Segundo Matz (1979) no metabolismo lipídico, o ácido nicotínico aumenta o catabolismo do colesterol, diminui a síntese das LDL e provavelmente, também das VLDL, reduz a conversão das VLDL a IDL, aumenta a formação das HDL e inibe a liberação de ácido graxo livre do tecido adiposo.

Na análise sorológica VLDL-c dos animais, observa-se que o tratamento 4 apresentou a maior média (15,98 mg.dL⁻¹), diferindo significativa do controle (9,18 mg.dL⁻¹) e dos demais tratamentos. O tratamento 10 apresentou a menor média (8,30 mg.dL⁻¹), não

diferindo significativamente dos tratamentos 9 (9,08 mg.dL⁻¹), porém difere dos demais tratamentos e do controle.

Para a dosagem sérica de triacilgliceróis, a utilização máxima de piridoxina potencializa o efeito, tanto na redução de triacilgliceróis, que ocorre na concentração de 5g de niacina; quanto na elevação desse perfil lipídico, que ocorre nas concentrações de 3g a 4g de niacina. Pesquisas realizadas com o carotenóide bixina, presente no urucum, e 5 mg.Kg⁻¹ de niacina suplementadas, constataam que ambas não exerceram atividade hipolipidêmica sobre o perfil lipídico no sangue de codornas que receberam alimentação com indução de dieta hiperlipídica. Esses resultados discordam dos obtidos por Souza (2001), que encontrou redução significativa nos níveis de triglicérides no sangue de ratos que receberam, diariamente, ração com 700 mg do corante industrial com 28% de bixina, em relação ao tratamento com ração, e também não concordam com os resultados de Santos et al. (1999), que verificaram um decréscimo (104,56 mg.dL⁻¹) no valor de triacilgliceróis no sangue de ratos que receberam ração, triton e 5g de ácido nicotínico por quilograma de peso corporal em relação a ratos que receberam somente ração (162,30 mg.dL⁻¹). Neste estudo, ocorreu redução no conteúdo sérico de triacilgliceróis na concentração de 5 g.Kg⁻¹ de ração de niacina e acima de 12 mg.Kg⁻¹ de ração de piridoxina. Os menores valores de concentração de triacilgliceróis séricos foram observados nos tratamentos 9 e 10, que apresentaram médias respectivas de 45,39 mg.dL⁻¹ e 41,50 mg.dL⁻¹.

Segundo Brown et al. (2001), o ácido nicotínico age em várias etapas do metabolismo lipídico, inibindo a mobilização dos ácidos graxos do tecido adiposo, diminuindo o aporte desses ácidos graxos ao fígado e, como consequência, diminui a produção de VLDL e a formação de LDL. A niacina também inibe a degradação das partículas de HDL por mecanismos não bem conhecidos. Devido a isto, pode ser usada no tratamento de dislipidemias.

Segundo Assmann e Gotto (2004), o ácido nicotínico tem sido utilizado para aumentar a concentração sérica de HDL em humanos e também contribui para a redução de LDL e triacilgliceróis. Esse comportamento não foi verificado neste experimento.

Conforme conclusão dos estudos realizados por Oliveira et al. (2006), a niacina suplementar não reduz os níveis de triacilgliceróis e lipoproteínas de densidade muito baixa, no sangue de codornas japonesas machos. No presente estudo, a suplementação com niacina e piridoxina tem efeitos contrários, dependendo da concentração aplicada.

Robinson et al. (1998) sugerem que baixos níveis sangüíneos da vitamina hidrossolúvel B₆ (piridoxina), seja mais um fator de risco para o desenvolvimento de doenças

cardiovasculares. Segundo Maham & Escott-Stump (2005), a vitamina B₆ é essencial para a formação e metabolismo do triptofano e sua transformação em ácido nicotínico.

Segundo Tapan e Sarabjit (1997), a niacina em grandes doses apresenta um efeito negativo nas frações do colesterol plasmático. É possível que a niacina induza catabolicamente a perda de vitamina B₆ ou prejudicando em suas rotas metabólicas. O referido estudo demonstra que a hipercolesterolemia pode ser tratada com sucesso com um modesto uso diário de vitamina B₆.

Os teores de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triacilgliceróis séricos dos ratos *Wistar/Ufpel*, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais estão representados nas figuras 15, 16 e 17.

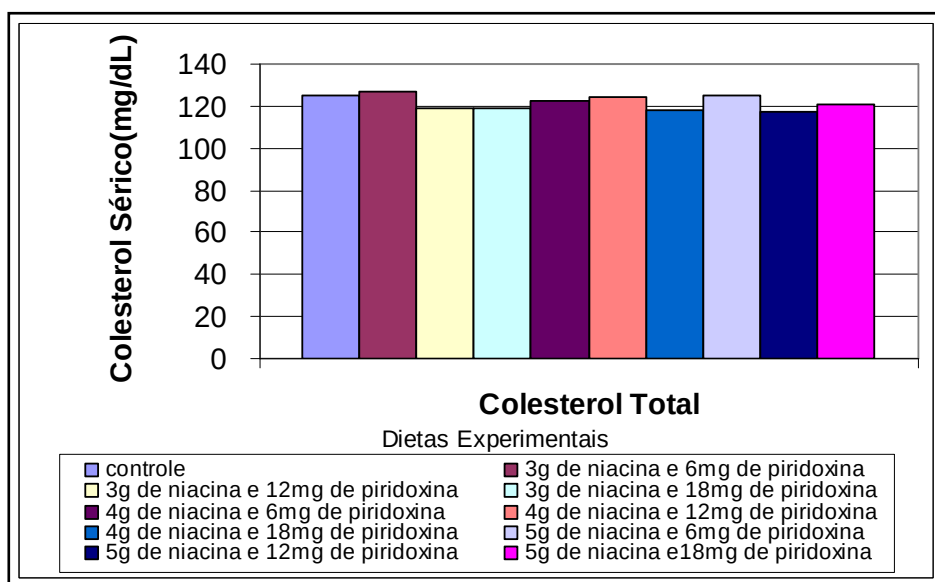


Figura 15 – Colesterol total do plasma dos ratos machos *Wistar/UFPel*, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. (n= 6 ratos/grupo)

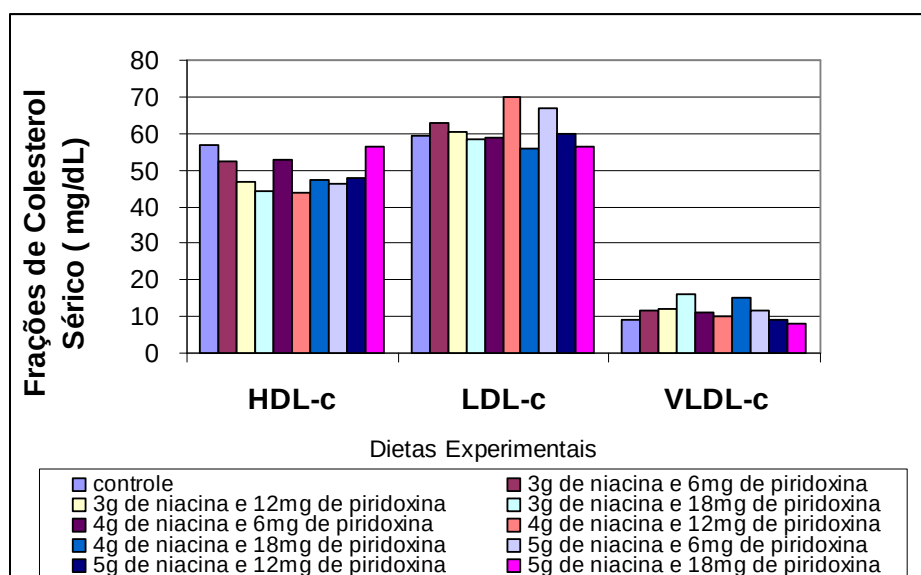


Figura 16 – Frações de colesterol sérico (mg.dL^{-1}) dos ratos machos *Wistar*/UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. ($n= 6$ ratos/grupo)

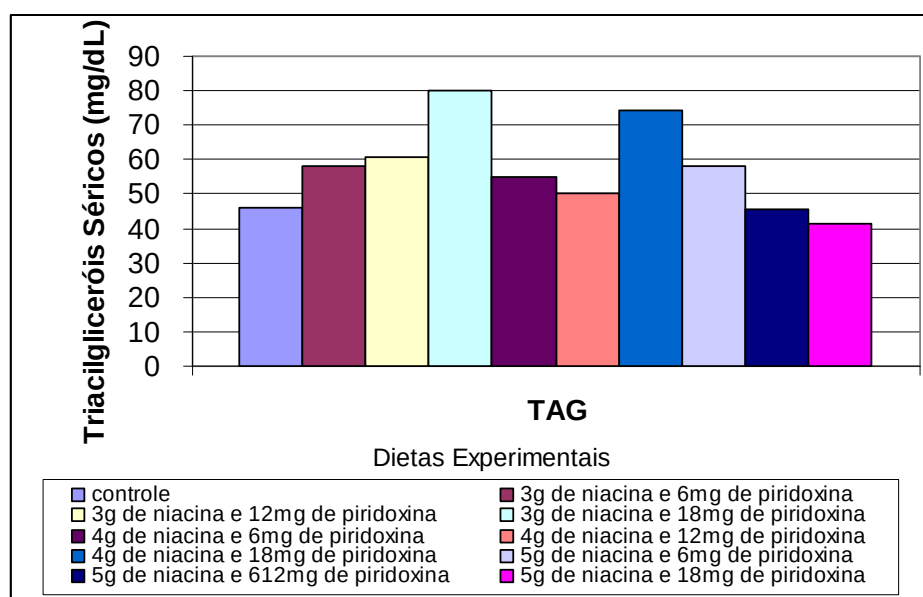


Figura 17 – Triacilgliceróis séricos (mg.dL^{-1}) dos ratos machos *Wistar*/UFPeI, alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. ($n= 6$ ratos/grupo)

6 CONCLUSÕES

A administração de dieta hiperlipídica suplementada de com 5 g.Kg⁻¹ de niacina e 18 mg.Kg⁻¹ de piridoxina reduz o ganho de peso, o consumo de dieta e volume fecal de ratos Wistar machos adultos.

O consumo de dieta com 5 g.Kg⁻¹ de niacina com concentrações crescentes de piridoxina resulta em maior redução de triacilgliceróis hepáticos.

A adição de baixas concentrações de niacina associadas à piridoxina promove aumento de lipídios hepáticos e menor excreção de lipídios fecais.

Concentrações de 5 g.Kg⁻¹ de niacina e 6 mg.Kg⁻¹ de piridoxina promovem a redução do colesterol hepático total. Concentrações de 5g.Kg⁻¹ de niacina e 18 mg.Kg⁻¹ de piridoxina promovem a redução do triacilgliceról hepático.

As concentrações de 5 g.Kg⁻¹ de niacina e 18 mg.Kg⁻¹ de piridoxina promovem a redução do colesterol sérico total, LDL-c, VLDL-c e dos triacilgliceróis.

A concentração de 18 mg.Kg⁻¹ de piridoxina apresenta efeitos dependentes da concentração de niacina para a dosagem sérica de triacilgliceróis. Concentrações de niacina até 4 g.Kg⁻¹ de dieta promovem uma elevação do nível de triacilgliceróis e concentrações de 5 g.Kg⁻¹ promovem uma redução.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, E L. et al. Pharmacokinetics of a single dose of rimantadine in young adults and children. **Antimicrob Agents Chemother.** 1987 July; 31(7): 1140–1142.

ANGELUCCI M.E.M.et al.. The effect of caffeine in animal models of learning and memory. **European Journal of Pharmacology**, 373. p135-140. 1997.

AOAC . ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 16 Edição. Washington D.C: Ed. CUNNIFF, P.A., A.O.A.C., 1995. 2v.

ARAÚJO, J.M.A; **Química de Alimentos: Teoria e pratica.** UFV, Viçosa. 3ª edição , 2004.

ASSMANN, G. and GOTTO, A. M. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. **Circulation, Dallas**, v. 109, p. SIII-8-14, 2004.

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

BEYNEN, A.C et al. Interaction of dietary cholesterol with cholate in rats: effect on serum cholesterol, liver cholesterol and liver function. **Nutrition Reports International**, v.34,n.4, p557-563,1986

BLANKENHORN D. H. et al. Beneficial effects of combined cofibrate-niacin therapy on coronary atherosclerosis and coronary venous bypass graft. **J. Am. Med. Assoc.** 1987; 275:3233-3240

BLEILER R. E., Schedl H. P. Creatinine excretion: variability and relationship to diet and body size. **J. Lab. Clin. Med.** 1962; 59:945-955

BLIGH E G & DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.** 37: 911-917, 1959.

BOK SH, et al . Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **Journal of Nutrition**, v. 129, 1999;1182-1185.

BRATTSTROM L. E. Vitamins as homocysteine-lowering agents. **J. Nutr.** 1986; 126:1276S-1280S

BROWN BG, Zhao XQ, , et al. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. **HATS. N Engl J Med.** 2001; 345: 1583-92.

BULL Wld Hlth; Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. **Org**; 43: 891-915, 1970.

BURR, G.O.; BURR, M.M. On the nature and role of the effect of the fatty acids essential in nutrition. **J Biol Chem**, v.86, p.587-621, 1930.

CAMPOS, F. G. et al Imunonutrição em colite experimental: efeitos benéficos dos ácidos graxos omega-3. Arq Gastroenterol, v.39, n.1, p.48-54, 2002.

CARVALHO, Patrícia G B de; et al. Vegetable crops as functional food. Horticultura Brasileira, 2006, vol.24, n. 4, ISSN 0102-0536.

CAPUZZI D. M., et al.. Efficacy and safety of an extended-release niacin (Niaspan): a long-term study. American Journal Cardiology 1998; 82:74U-81U.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2.ed., Porto Alegre. Artmed, 2000.376-378p; 227-230p

CLARK L.T. Treating dyslipidemia with statins: the risk-benefit profile. **American Heart Journal** 2003; 145(3):387-396

CLEMENTZ G. L., HOLMES A. W. Nicotinic acid induced fulminant hepatic failure. **Journal of Clinical Gastroenterology** 1987; 9(5):582-584.

COELHO, Christianne de Faria, et al. Aplicações clínicas da suplementação de L-carnitina. **Rev. Nutr.**, Sept./Oct. 2005, vol.18, no.5, p.651-659. ISSN 1415-5273.

COMBS Jr., G.F. **The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health** San Diego: Academic, 1992. 595p.

CONNOR SL, et al. The cholesterol-saturated fat index for coronary prevention: background, use, and a comprehensive table of food. **J Am Diet Assoc**1989;89:807-16.

COVINGTON, M. B. Omega-3 fatty acids. *Am Family Physicin*, v.70, n.1, p.133-140, 2004

CUPPARI, L. et al. **Nutrição Clínica no Adulto – Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar**. Monole, SP. 2ª edição, 2005.

DE CATARINA, R.; ZAMPOLLI, A. N-3 fatty acids: antiatherosclerotic effects. **Lipids**, v. 36, n.Suppl, p.S69-S78, 2001.

ERISTLAND, J. et al. Effect of supplementation with n-3 fatty acids on graft patency in patients undergoing coronary artery bypass operation. Results from SHOT study. **Eur Heart J**, v.15, p.29, 1994.

FABRE, E. et al. Effects of levofolinic acid on plasma homocysteine concentrations in healthy and young women in preconceptional care. **Med Clin (Barc)**, v. 117, n. 6, p. 211-5, 2001.

FAN, Y.; RAMOS, K. S.; CHAPKIN, R. S. Dietary γ -linolenic acid suppresses aortic smooth muscle cell proliferation and modifies atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. **J Nutr**, v. 131, p. 1675-1681, 2001.

FERNANDES LR. et al. Efeito da goma guar parcialmente hidrolisada no metabolismo de lipídeos e na aterogênese de camundongos. **Rev Nutr** 2006;19(5):563-71

FINKELSTEIN JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. **Eur J Pediatr** 1998;157:S40-4.

FORMAN, M. R., HURSTING, S. D., UMAR, A. and BARRET, J. C. Nutrition and cancer prevention: a multidisciplinary perspective on human trials. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 24, p.223-254, 2004.

FORTI N. Tratamento medicamentoso das dislipidemias primárias. **Revista da Sociedade de Cardiologia** de São Paulo 2000; 10(6):780-789.

FUENTES, J.A.G. **Que Alimentos Convêm Ao Coração? Higiene Alimentar**, São Paulo, V.12, N.53, P.7-11, 1998.

GADEGBEKU C. A. et al. Hemodynamic effects of nicotinic acid infusion in normotensive and hypertensive subjects. **American Journal of Hipertension** 2003; 16:67-71.

GAULL, G.; STURMAN, J. A; SCHAFFNER, F. Homocystinuria due to cystathionine β synthase deficiency: enzymatic and ultrastructural studies. **J Pediatr**, n. 84, p. 381-90, 1974.

GEOFF, H. W. et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes deregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. **J. Clin Invest**, v. 107, n. 10, 2001.

GILMAN A. G. GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

GILMAN, A.G.; HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill Interamericana, 2003.

GRIFFIN, H.D et al. Control of lean and fat deposition in birds. In: BOORMAN, K.N.; BUTTERY, P.J.; LINDSAY, D.B. (Ed.). **The control of fat and lean deposition**. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1999. p.231-248.

GRUNDY S. M., MOK H. Y. I., Zech L., BERMAN M. Influence nicotinic acid on metabolism of cholesterol and triglycerides in man. **J. Lipid Research** 1981; 22:24-3

HAILE Rwc et al. Identifying a limited number of foods important in supplying selected dietary nutrients. **J Am Diet Assoc** 1998;86:611-6.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (Ed.). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. New York: **McGraw-Hill, Health Professions**, 1996. 1905p.

HAUG A., HOSTMARK A. T. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. **J. Nutr.** 1987;117:1011-1017

HOSSNE, W.S. SPADELLA, C.T., BACCHI, C.E. Estudo biométrico de comprimento, peso corpóreo em animais de experimentação biomedical. **Revista Ciências Biomédicas**, v.7, n.8, p.1-19,1986/87.

HELBIG Elizabete, **Efeitos do teor de amilose e da parboilização do arroz na formação do Amido resistente e nos níveis glicêmico e lipêmico de ratos wistar**. 2007. Tese(Doutorado em Ciências e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

HANKEY, G. J.; EIKELBOOM, J. W. Homocysteine and vascular disease. **IHJ**, v. 52, p. S18-26, suppl., 2000.

HERMIER, D. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. **Journal of Nutrition**, v.127, p.805-808, 1997.

HOEG J M. Evaluating coronary heart disease risk. **JAMA** 1997;277:1387-90.

HOLMAN, R.T. The slow discovery of the importance of w-3 essential fatty acids in human health. **J Nutr**, v. 128, p. 472S-433S, 1998.

INNIS, S.M. Essential fatty acids in growth and development. **Prog Lipid Res**, v.30, p39-103, 1991.

JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KARPE F, FRAYN KN. The nicotinic acid receptor - **A new mechanism for an old drug**. **Lancet**. 2004; 363:1892-94.

KAWASE, K. (1982) Effects of nutrients on the intestinal microflora of infants. **Jpn. J. Dairy Food Sci**. 31: A241-A243.

KESSLER, A.M.; SNIZEK JÚNIOR, P.N. Considerações sobre a quantidade de gordura na carcaça do frango. In: MATTOS, W.R.S. (Org.). **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: Fealq, 2001. p.111-133.

KIRSTEIN, D. et al. Effect of dietary fats on the delta-6-desaturation and delta-5-desaturation of fatty acids in rat-liver microsomas. **Br J Nutr**, v.50, n.3, p.749-753, 1983.

KRIS-ETHERTON, P. M et al.. Polyunsaturated Fatty Acids In The Food Chain In The United States. **Am J Clin Nutr**, V.71, P.179s-188s, 2000.

LAJOLO FM. Functional foods: Latin American perspectives. **British Journal of Nutrition** 2002; 88: S145-S150 (Suppl. 2).

LEMAITRE, R.; et al. N-3 polyunsaturated fatty acids, fatal ischemic heart disease, nad nonfatal myocardial infarction in older adults: the cardiovascular health study. **Am J Clin Nutr**, v.77, p.319-325, 2003.

LEES, R. **Manual de análises de alimentos**. Traduzido por Andres Marcos Barrado. Zaragoza: Acribia, p.17, 124-125, 1979. (Laboratory handbook of methods of food analysis).

LICHTENSTEIN AH et al. Effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels. **N Engl J Med** 1999; 340(25): 1933-40.

LÜBECK. S, N. Rajewsky, and D. E. Wolf, **European Physical Journal B** 13, 715 (2000).

LUNARDELLI, Adroaldo et al.. Ação da frutose-1,6-bisfosfato sobre a toxicidade aguda do ácido nicotínico, **RBAC**, vol. 36(2) p87-90, 2004.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Krause – Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. **Roca**, SP. 11ª edição, 2005.

MATAIX, J. Lipídeos alimentares. In: MATAIX, J.; GIL, A. Livro branco de los Omega-3. **Instituto Omega-3**: Madrid, 2002. p. 14-32.

MATZ, B. L. - Drug management of hypercholesterolemia. **Am. H. J.** 97: 389, 1979.

MCKENNEY J. New perspectives on the use of niacin in the treatment of lipid disorders. **Arch Intern Med.** 2004;164:697-705.

MENSINK RP, KATAN MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. **N Engl J Med**1990; 323(7):439-45.

MIDDAUGH, J.P. Cardiovascular deaths among Alaskan natives 1980-1986. **Am J Public Health**, v.80, p.282-285, 1990.

MILLER, J. W. et al. Vitamin B-6 deficiency vs. folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. **Am J Clin Nutr**, n. 59, p. 1033-9, 1994

MORAIS, Cecília Sandra Nunes, **Efeitos das Fontes e Níveis de Lipídios nas Dietas de Ratos Machos da Linhagem Wistar (*rattus norvegicus*) sobre Frações Lipídicas do Sangue**. 2003. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos) DCA/UFLA, Escola Agrotécnica Federal de Colatina – Colatina, ES.

MOTTA V. T. **Bioquímica Clínica para Laboratório – Princípios e interpretações**. 4ªEd. Caxias do Sul – EDUCS – 2003. p.135-158 e 385-391

MOURA J.G.P **A Revolução dos Nutrientes** . Pelotas-RS – 2ªEdição – Editora Livraria Mundial – 1998. p.141-149

MORVAN, V. et al.. N-3 FA increase liver uptake of HDL-cholesterol in mice. **Lipids**, v. 37, n. 8, p. 767-772, 2002.

MULLIN G. E., GREENSON J. K., MITCHELL M. C. Fulminant hepatic failure after ingestion of sustained-release nicotinic acid. **Annals of Internal Medicine** 1989; 111(3):253-255.

MURPHY, M. G. Dietary fatty acids and membrane function. **J Nutr Biochem**, v.1, p.68-79, 1990.

NESTEL, P.J., et al. The effect of dietary fat supplements on cholesterol metabolism in ruminants. **J. Lipid Res.** 19:899, 1978

NEVES, L. B. et al. Homocisteína • **J Bras Patol Med Lab** • v. 40 • n. 5 • p. 311-20 • outubro 2004

OLIVEIRA. D. J. E; MARCCHINI. S. J. **Ciências Nutricionais**. 2. ed. São Paulo, Sarvier, 2000. p.196-198.

OLIVEIRA, T.T. et al. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. **Rev. Nutr.**, jan. 2002, vol.15, no.1, p.45-51. ISSN 1415-5273.

OLIVEIRA, N. T. E. et al. Triglicerídeos sanguíneos e composição química da carne de codornas alimentadas com bixina e niacina suplementar. **Pesq. agropec. bras.**, Aug. 2006, vol.41, no.8, p.1227-1233. ISSN 0100-204X.

ORGE, P. A. R., et al. Efeito da berinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arq. Bras. Cardiol.**, Feb. 1998, vol.70, no.2, p.87-91. ISSN 0066-782X.

PAN, M et al. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. **J Clin Invest**, v.113, n.9, p.1277-1287, 2004.

PARK, Y.; HARRIS, W. S. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. **J Lipid Res**, v.44, p.455- 463, 2003.

PEARSON, D. **Técnicas de laboratório para el análisis de alimentos**. Zaragoza, España: Acribia, 1976. 331p.

PEET , M.; HORROBIN, D.F. A dose-ranging study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with ongoing depression despite apparently adequate treatment with standard drugs. **Arch Gen Psychiatry**, v.59, p.913-919, 2002.

Pieper J. A. Understanding niacin formulations. **Am J Manag Care** 2002; 8(12):S308-S3014.

PORTMAN, O.W.; BRUNO, D. Various natural and modified bile acids in cholesterol metabolism. **J. Nutr.**, v.73, n.61, p. 329-336, 1960.

RADER J. I., CALVERT R. J., HATHCOCK J. N. Hepatic toxicity of unmodified and time-release preparations of niacin. **The american Journal of Medicine** 1992; 92:77-81.

RAUPP, D.S.; CARRIJO, K.C.R.; COSTA, L.L.F.; MENDES, S.D.C.; BANZATTO, D.A. Propriedades funcionais digestivas e nutricionais de polpa refinada de maçã. **Scientia Agrícola**, v.57, n.3, p.395-402, 2000

RAUPP, D. S. **Caracterização nutricional da fibra alimentar solúvel e insolúvel do feijão “carioca 80 SH” em dietas experimentais com ratos**. 1994. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

REEVES, D.W., MASK, P.L., WOOD, C.W. *et al.*, Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: influence of management practices. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.16, n.4, p.781-796, 1993.

ROBERFROID MB. 2002. Global view on functional foods: European perspectives. **British Journal of Nutrition** 88: S133-S138 (Suppl. 2)

ROBERT K. et al. **Harper Bioquímica**, 8.ed. São Paulo: Atheneu, 1998;599-613.

SANTOS, K.F.R et al. Efeitos das associações de morina-ácido nicotínico e quercetina-ácido nicotínico no controle de lipídeos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.31, p.5-7, 1999.

ROBERT M. & MATTHEW N. **Fisiologia**. Guanabara Koogan S.A. 4^a edição. 1034p, 2000

ROBINSON C, et al. 1998. Multiple pathways for the targeting of thylakoid proteins in chloroplasts. **Plant Molecular Biology** 38, 209–221

SANTOS R. D et al. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. **Arq Bras Cardiol**. 2001;77 (supl III):1-48.

SANTOS R. D., Farmacologia da niacina ou ácido nicotínico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. São Paulo. Vol. 85, Suppl. V, 2005

SBC. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol**. São Paulo vol.88 suppl.1 Apr. 2007

SGARBIERI, Valdemiro C. **Alimentação e Nutrição: Fator de Saúde e Desenvolvimento**. Campinas, Editora da UNICAMP; São Paulo: Almed, 1987.

SHUTLER, S. M., LOW, A. G. & Walker, A. F. Influence of baked beans on plasma lipids in pigs fed on a hypercholesterolaemic diet. **Proceedings of the Nutrition Society** 47, 97A, 1988.

SIERRA Salinas C. Revisión del papel de la fibra em nutrición infantil. *Pediátrika*. 2000;20:129-37.

SILBERG, J. et al. Gender differences and other determinants of the rise in plasma homocysteine after L-methionine loading. **Atherosclerosis**, n. 133, p. 105-10, 1997

SILVERTHON, A. C et al. Fisiologia Humana: uma abordagem integrada. Tradução Ivana Beatrice Mânica da Cruz. 2. ed. São Paulo, Barueri: Manole, 2003.

SIMOPOULOS, A.P. Essential Fatty Acids In Health And Chronic Disease. **American Journal Clinic And Nutrition**, V.70, Suppl., P.560–569, 1999.

SIZER, F.; WHITNEY, E. **Nutrição: Conceitos e controvérsias**. 8. ed. São Paulo, 2003.

SOCCOL, M. C. H.; OETTERER, M. Seafood As Functional Food. *Braz Arch Biol Technology*, V. 46, N.3, P. 443-454, 2003.

SOUZA, E.C.G. **Efeito da bixina sobre os parâmetros séricos em ratos**. 2001. 120p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SPORN L. A. et al. Biosynthesis of von Willebrand protein by human megakaryocytes. **J Clin Invest**, n. 76, p. 1102-6, 1985

STEAD, L. M.; BROSNAN, M. E.; BROSNAN, J. T. Characterization of homocysteine metabolism in the rat liver. **Biochem J**, n. 350, v. 3, p. 685-92, 2000

TAPAN, K. B. ; SARABJIT, M. Vitamin B-6 Normalizes the Altered Sulfur Amino Acid Status of Rats Fed Diets Containing Pharmacological Levels of Niacin without Reducing Niacin's Hypolipidemic Effects. **The Journal of Nutrition**, Vol. 127, p. 117-121, 1997.

TSENG, T. et al. Promotion of colon carcinogenesis through increasing lipid peroxidation induced in rats by a high cholesterol diet. **Cancer Letters, Amsterdam**, v. 100, p. 81-87, 1996.

UELAND, P. M.; REFSUM, H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy. **J Lab Clin Med**, n. 114, v. 5, p. 473-501, 1989.

VENKATRAMAN, J. T.; ANGKEOW, P.; SATSANGI, N.; FERNANDES, G. Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. **J Am Coll Nutr**, v.17,n.6, p. 586-594, 1998.

VENKATRAMAN, J. T.; CHU, W. Effects of dietary w-3 and w-6 lipids and vitamin E on serum cytokines, lipid mediators and anti-DNA antibodies in a mouse model for rheumatoid arthritis. **J Am Coll Nutr**, v. 18, n. 6, p. 602-613, 1999.

VILELA, A. L. M. **O colesterol. Atividade física humana**, São Paulo, v. 1, n. 1, jan./abr. 2007. Disponível em, Acesso em: 10 dez. 2007.

WILCKEN, D. E.; WILCKEN, B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. **J Clin Invest**, n. 57, p. 1079-82, 1976.

WOLF HRD - Efficacy and tolerability of etofibrate and gemfibrozil in combined hyperlipidemia. **Drugs Exptl Clin Res** 1994; 20: 109-13.

YAMAMOTO, Y.; et al. In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. New York, v. 10, n.2, p.13-18, Jan 1999.

8 ANEXOS

ANEXO 01

Aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA – UFPel), em reunião realizada no dia 27 de Julho de 2007, ata 04/2007.



ANEXO 02.

Peso inicial e final (g), ganho de peso (g) dos ratos machos, *Wistar*/UFPel, alimentados durante 34 dias com dieta hiperlipídica.

Tratamentos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de Peso (g)
AIN – 93M (Padrão)	163,37 ± 23,23 ^a	293,26 ± 24,50 ^a	129,88 ± 18,72^a
1- Controle (Trigo)	164,77 ± 30,57 ^a	301,55 ± 30,57 ^a	136,77 ± 20,54^a
2 -Trigo (3gN + 6	172,54 ± 31,61 ^a	297,98 ± 36,46 ^a	125,44 ± 24,54
3 -Trigo (3gN + 1	166,68 ± 25,03 ^a	316,66 ± 31,21 ^a	149,98 ± 21,63
4 -Trigo (3gN + 1	170,61 ± 30,92 ^a	319,82 ± 39,25 ^a	149,22 ± 21,06^a
5 -Trigo (4gN + 6	168,25 ± 27,33 ^a	315,49 ± 17,33 ^a	147,24 ± 09,25^a
6 -Trigo (4gN + 1	171,62 ± 30,92 ^a	310,92 ± 10,92 ^a	139,30 ± 24,75^a
7 -Trigo (4gN + 1	166,13 ± 26,21 ^a	302,76 ± 18,95 ^a	156,63 ± 17,06^a
8 -Trigo (5gN + 6	173,91 ± 26,13 ^a	324,11 ± 31,53 ^a	150,19 ± 17,70^a
9 -Trigo (5gN + 1	170,47 ± 30,37 ^a	317,36 ± 19,67 ^a	146,88 ± 08,53^a
10 -Trigo (5gN +	163,64 ± 33,80^a	295,52 ± 09,67^a	131,85 ± 20,57^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey (n= 6/grupo).

ANEXO 03.

. Peso inicial e final (g) e ganho de peso (g) dos ratos machos, *Wistar*/UFPel, alimentados durante 05 dias com as dietas experimentais (Fase de Adaptação).

Tratamentos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de Peso (g)
AIN – 93M (Pad	293,26 ± 24,50 ^a	300,61± 16,47 ^a	7,35 ± 2,07^a
1- Controle (	301,55 ±30,57 ^a	312,32 ± 34,70 ^a	10,77 ± 3,45^a
2 -Trigo 6mgP)	297,98 ± 36,46 ^a	305,00 ± 35,86 ^a	07,02 ± 1,79^a
3 -Trigo +12mgP)	316,66 ± 31,21 ^a	322,08 ± 34,77 ^a	05,42 ± 1,53^a

4	-Trigo	319,82 ± 39,25 ^a	325,74	05,92
	18mgP)		±	±
			35,64 ^a	1,05^a
5	-Trigo	315,49 ± 17,33 ^a	326,05	10,56 ± 3,52^a
	6mgP)		±	
			16,34 ^a	
6	-Trigo	310,92 ± 10,92 ^a	316,95	06,03
	12mgP)		±	±
			17,83 ^a	1,92^a
7	-Trigo	302,76 ± 18,95 ^a	315,42	12,70
	18mgP)		±	±
			17,88 ^a	1,59^a
8	-Trigo	324,11 ± 31,53 ^a	329,50	05,39
	6mgP)		±	±
			35,35 ^a	1,77^a
9	-Trigo	317,36 ± 19,67 ^a	325,17	07,81±
	12mgP)		±	4,43^a
			19,92 ^a	
10	-Trigo	295,52 ± 09,67 ^a	308,15	12,63
	18mgP)		±	±
			25,24 ^a	1,50^e

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística $p < 0,05$, segundo ANOVA e teste de Tukey (n= 6/grupo).

ANEXO 04.

Formulação das dietas experimentais AIN – 93M (Padrão) e Controle em g.kg⁻¹.

Ingredientes	AIN – 93M	Controle
	1	2
Amido de milho	465,69	---
Caseína	153,4	76,7
Maltodextrina	75,32	5,83
Sacarose	100	100
Óleo de soja	40	36,14
Gordura suína	---	15
Gordura hidrogenada	---	20
Fibra	116,28	80,56
Mistura mineral	35	35
Mistura vitamínico	10	10
L-cistina	1,8	1,8
Bitartarato de colina	2,5	2,5
Tetra-butil hidroquinona	0,008	0,008
Farinha de trigo	---	656,46
Niacina	---	---
Piridoxina	---	---

*Dietas: 1 – dieta padrão 2 – dieta controle

