

CÍNTIA MARIA CHAGAS

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE ASPECTOS
TOXICOLÓGICOS DE ANTOCIANINA EM COELHOS NOVA ZELÂNDIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de '*Doctor Scientiae*'.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2002

CÍNTIA MARIA CHAGAS

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E DE ASPECTOS
TOXICOLÓGICOS DE ANTOCIANINA EM COELHOS NOVA ZELÂNDIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de '*Doctor Scientiae*'.

APROVADA: 09 de abril de 2002

Prof^a. Tânia Toledo de Oliveira
(Conselheira)

Prof. Sérgio Luís Pinto da Matta
(Conselheiro)

Prof^a. Nilda de Fátima F. Soares

Prof. Tanus Jorge Nagem

Prof. Paulo César Stringheta
(Orientador)

Aos meus pais Almiro e Eunice, com saudades.

Aos meus filhos Leonardo e Camila.

Ao meu marido Laerte.

Aos meus Irmãos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por estar presente em todos os momentos da minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar o Curso de Doutorado.

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

Ao meu orientador Prof. Paulo César Stringheta, por acreditar em minha capacidade, pela orientação, pela dedicação, pela amizade e pelo suporte financeiro.

À Prof^a Tânia Toledo de Oliveira, pela co-orientação, pela realização da tese em seu laboratório avaliando todos os parâmetros bioquímicos, pelas sugestões, pelo esclarecimento, pela amizade e pelas correções sugeridas.

Ao conselheiro Prof. Sérgio Luís Pinto da Matta pela co-orientação na parte histológica, pelas sugestões, pelos esclarecimentos, pela amizade e pelas correções sugeridas.

Ao Prof. Tanus Jorge Nagem e a Prof^a Nilda de Fátima Ferreira Soares, pela participação na banca de defesa de tese, pelas sugestões e correções e pelo apoio incondicional.

À Prof^a Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado pela contribuição na parte histológica.

Ao José Francisco da Silva (Juquinha), pelo fornecimento dos coelhos, pela dedicação e boa vontade durante os experimentos.

Aos demais professores do curso de pós-graduação do DTA/UFV, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários da UFV, pelo apoio e pelo auxílio, em especial às Sras. Lígia Santana Pontes Fialho e Cléa Venceslau Ataliba Domingos, ao José Geraldo Pinto e Valério Antônio Poletto.

A aluna de doutorado Eliana Carla Gomes de Souza e ao aluno de mestrado Renato Matos Lopes, pela amizade, apoio e grande ajuda nas realizações dos ensaios biológicos.

Aos amigos e companheiros, do laboratório de Biofármacos, pela preciosa ajuda na realização deste trabalho.

Aos estudantes do laboratório de Pigmentos e Secagem, pela amizade e imprescindível ajuda.

A secretaria da pós-graduação, Maria Geralda Campos da Costa, pelo carinho e pela amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho.

BIOGRAFIA

CÍNTIA MARIA CHAGAS, filha de Almiro Irineu Chagas e Eunice Leão Chagas, nasceu em Viçosa, Minas Gerais.

Em 1993, gradou-se em Bacharel em Química pela Universidade Federal de Viçosa, e no mesmo ano iniciou o curso de mestrado em Agroquímica na UFV, concluindo-o em dezembro de 1996.

Em março de 1998, iniciou o curso de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa.

CONTEÚDO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Flavonóides	3
2.2. Antocianinas	5
2.2.1. Estrutura Química	6
2.2.2. Estabilidade	7
2.2.3. Fontes	9
2.2.4. Biossíntese das antocianinas	11
2.3. Transporte de colesterol	14
2.3.1. Lipoproteínas	14
2.3.2. Transporte de lipídeos exógenos	14
2.3.3. Transporte de lipídeos endógenos	15
2.3.4. Transporte reverso de colesterol – Metabolismo de HDL	16
2.4. Aterosclerose	17
2.5. Atividades biológicas das antocianinas	20
2.6. Avaliação toxicológicas das antocianinas	29
2.7. Histologia	32
2.7.1. Características gerais do fígado	32
2.7.2. Circulação do fígado	34
2.7.3. Esteatose	35
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Origem dos animais	39
3.2. Especificação da ração da marca Guabi	40
3.2.1. Composição básica do produto	40
3.2.2. Enriquecimento por Kg de produto	40
3.2.3. Níveis de garantia	41
3.3. Corantes naturais testados	41
3.4. Quantificação de antocianina	41
3.5. Modelo experimental do primeiro ensaio biológico	42

3.5.1. Hiperlipidemia induzida por colesterol mais ácido cólico	42
3.5.2. Análise estatística	43
3.6. Modelo experimental do segundo ensaio biológico	43
3.6.1. Toxicologia aguda (doses repetidas)	44
3.6.2. Análise estatística	45
3.7. Dosagens dos parâmetros bioquímicos	45
3.7.1. Albumina.....	45
3.7.2. Cálcio	46
3.7.3. Colesterol	46
3.7.4. Colesterol-HDL	46
3.7.5. Creatinina	47
3.7.6. Fósforo	47
3.7.7. Glicose	47
3.7.8. Proteínas totais	48
3.7.9 Triacilgliceróis	48
3.7.10 Cloreto	49
3.8. Análise histológica	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1. Modelo experimental do primeiro ensaio biológico – Hiperlipidemia induzida	50
4.1.1. Efeito dos corantes da antocianina do repolho roxo e uva roxa nos níveis de colesterol total sérico	50
4.1.2. Efeito dos corantes antocianina do repolho roxo e uva roxa nos níveis de colesterol-HDL sérico	55
4.1.3. Efeito dos corantes antocianina do repolho roxo e uva roxa nos níveis de triacilgliceróis sérico	58
4.1.4. Avaliação dos pesos dos animais na hipercolesterolemia	62
4.2. Modelo experimental do segundo ensaio biológico – Toxicologia aguda (doses repetidas)	65
4.2.1. Colesterol total	65
4.2.2. Colesterol-HDL	69
4.2.3. Triacilglicerol	73
4.2.4. Glicose	77
4.2.5. Creatinina	81
4.2.6. Albumina	85
4.2.7. Proteína	88
4.2.8. Cálcio	92
4.2.9 Fósforo	96
4.2.10. Cloro	100
4.2.11. Avaliação dos pesos dos animais na toxicologia	103
4.3. Avaliação morfológica do fígado	107
4.3.1. Atividade hepatoprotetora da antocianina de uva roxa	107

5. RESUMO E CONCLUSÕES	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
APÊNDICE	128

RESUMO

CHAGAS, Cíntia Maria, D.S. Universidade Federal de Viçosa, abril de 2002.
Avaliação de Parâmetros Bioquímicos e de Aspectos Toxicológicos de Antocianina em Coelhos Nova Zelândia. Orientador: Paulo César Stringheta. Conselheiros : Tânia Toledo de Oliveira e Sérgio Luís Pinto da Matta.

Com o objetivo de se avaliar o efeito da antocianina do repolho roxo e uva roxa no metabolismo lipídico e na toxicologia, foram realizados dois ensaios experimentais com coelhos, da raça Nova Zelândia. No primeiro ensaio experimental induziu-se a hipercolesterolemia em coelhos machos utilizando 1% de colesterol mais 0,1% de ácido cólico e avaliou-se o efeito das duas substâncias-teste nas doses diária de 50, 100 e 150 mg durante 30 dias, onde foram dosados os níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis. No segundo ensaio experimental utilizou-se coelhos fêmeas e machos que foram alimentados somente com ração comercial e avaliou-se o efeito toxicológico dessas substâncias-teste no metabolismo protéico, lipídico, nos minerais e nos níveis de glicose durante um período de 30 dias em doses diária de 50, 100 e 150 mg de antocianina do repolho roxo e uva roxa. No final de cada ensaio experimental os animais foram sacrificados e foi feita uma avaliação morfológica hepática. Pelos resultados obtidos no primeiro ensaio experimental observou-se que 50 mg de antocianina de repolho roxo aos 15 e 30 dias e 100 mg de antocianina de uva roxa aos 15 dias de tratamento

reduziram os níveis sanguíneos de colesterol total, quando comparado ao controle. Em relação ao colesterol-HDL, houve um aumento desta lipoproteína para a antocianina do repolho roxo na dose de 100 mg e para a antocianina de uva roxa na dose de 50 mg em um período de 30 dias. A antocianina de repolho roxo e uva roxa mostraram um efeito de redução mais intensificado no nível de triacilglicerol na dose de 100 mg aos 15 e 30 dias de tratamento. Pelos resultados obtidos no segundo ensaio experimental observou-se, quanto a antocianina do repolho roxo, um efeito hipolipidêmico na dose de 150 mg para fêmeas e 100 mg para machos (15 e 30 dias), uma elevação de colesterol-HDL para machos e fêmeas na dose de 50 mg (30 dias), um efeito hipolipidêmico sobre triacilglicerol, aos 30 dias, para machos na dose de 50 mg e fêmeas 150 mg, apresentando um aumento de glicemia para os machos durante todo período experimental e para as fêmeas com 15 dias de tratamento. Para o metabolismo protéico, observou-se uma redução na concentração de creatinina e proteína em relação ao controle para ambos os sexos e uma redução na concentração de albumina, aos 30 dias, nos machos na dose de 100 mg e 150 mg para as fêmeas. Observou-se uma tendência em diminuir o nível sanguíneo de cálcio para machos e aumentar para as fêmeas na dose 100 mg (30 dias), um aumento na concentração de fósforo para machos e diminuição para fêmeas e uma redução no nível sérico de cloro aos 30 dias de tratamento em relação ao controle. Quanto a antocianina da uva roxa, observou-se um efeito hipolipidêmico, aos 15 e 30 dias, na dose de 100 mg para fêmeas e 150 mg para machos, uma elevação de colesterol-HDL somente para machos na dose de 50 mg (15 e 30 dias), um efeito hipotrigliceridêmico somente para machos na dose de 150 mg (15 dias) e um efeito hipoglicemiante para ambos os sexos. Em relação ao metabolismo protéico, observou-se uma redução na concentração de creatinina, albumina na dose de 150 mg para ambos sexos e alterações não relevantes quanto aos níveis séricos de proteínas, em relação ao grupo controle. Houve uma tendência em diminuir o nível de cálcio para machos e fêmeas, exceto na dose de 50 mg para os machos, aos 30 dias. Foi observado uma tendência em diminuir o nível de fósforo para os machos, exceto na dose de 50 mg (30 dias) e uma redução no nível de cloro aos 30 dias, em relação ao grupo controle. Com relação ao peso corporal, os resultados evidenciaram que a antocianina do repolho roxo e uva roxa

proporcionou ganho de peso no metabolismo lipídico e na toxicologia. A avaliação morfológica hepática foi feita somente em animais que receberam antocianina de uva roxa não sendo possível uma interpretação segura das lâminas obtidas da antocianina do repolho roxo devido as alterações nos tecidos, resultantes do processo de fixação. Os resultados obtidos mostraram que o grupo que recebeu 150 mg de antocianina de uva roxa, colesterol e ácido cólico apresentou maior proteção hepática efetiva em relação ao grupo tratado com 50 e 100 mg. Os animais que receberam apenas ração + antocianina da uva roxa nas diferentes doses (50, 100 e 150mg) exibiram morfologia hepática semelhante aos animais do grupo padrão (ração) sem processos degenerativos e modificações na arquitetura dos lóbulos. Pode-se concluir que a antocianina do repolho roxo e uva roxa apresentaram efeito hipolipidêmico sobre o colesterol total, um aumento no nível sérico de colesterol-HDL e um efeito hipotrigliceridêmico. Pode-se concluir ainda que as substâncias testadas não foram tóxicas, nas doses empregadas para o metabolismo de proteínas, minerais, lipídeos e carboidratos, não havendo alterações tóxicas no tecido hepático nas doses utilizadas e na duração do experimento.

ABSTRACT

CHAGAS, Cíntia Maria, D.S. Universidade Federal de Viçosa, April 2002. **Evaluation of Anthocyanin Biochemical Parameters and Toxic Aspects on New Zealand Rabbits.** Advisor: Paulo César Stringheta. Committee members: Tânia Toledo de Oliveira and Sérgio Luis Pinto da Matta.

Two experimental essays were carried out with rabbits of the New Zealand breed, with the objective of evaluating the effect of the anthocyanin found in red cabbage and in red grape on the lipidic metabolism and in the toxicology. In the first experimental essay, the hypercholesterolemia was induced to male rabbits, using 1% of cholesterol and 0,1% of colic acid. It was evaluated the effect of the two test substances furnished in daily doses of 50, 100 and 150 mg during 30 days, in which the blood levels of total cholesterol, HDL-cholesterol and triacylglycerol were dosed. In the second experimental essay, female and male rabbits fed with only industrial ration were used and it was evaluated the toxicological effect of those test substances on the protein and lipidic metabolism, on minerals and on the glucose levels during a period of 30 days, in daily doses of 50, 100 and 150 mg of the anthocyanin found in red cabbages and red grapes. At the end of each experimental essay, the animals were slain and a hepatic morphological evaluation was performed. Through the results achieved in the first experimental essay, it was observed that 50 mg of anthocyanin of red cabbage on the 15th and 30th days of the treatment and 100 mg of anthocyanin of red grape on the 15th day of the treatment reduced the

blood levels of the total cholesterol, when compared to the control. The HDL cholesterol level increased with the 100 mg dose for the anthocyanin of the red cabbage and with the 50 mg dose for the anthocyanin of the red grape in a 30-day period. The anthocyanin of the red cabbage and red grape demonstrated a more intense reduction effect on the level of triacylglycerol with the 100 mg dose on the 15th and 30th days of treatment. Through the results obtained in the second experimental essay, it was observed, as to the anthocyanin of the red cabbage, a hypolipidemic effect with the 150 mg dose for females and 100 mg (15 and 30 days) for males, an elevation of HDL-cholesterol for males and females with the dose of 50 mg (30 days), an hypolipidemic effect on the triacylglycerol, on the 30th day, with a 50 mg dose for the males and a 150 mg dose for the females, with an increase of glycemia for the males during all the experimental period and for the males and females, on the 15th day of treatment. As to the protein metabolism, it was observed a reduction in the creatinin and protein concentration, in comparison to the control for both sexes, as well as a reduction in the albumin concentration, on the 30th day, with a 100 mg dose for males and a 150 mg dose for females. It was observed the tendency for a decreasing calcium blood level for the males and an increasing calcium blood level for the females with the 100 mg dose (30 days), an increase in the phosphor concentration for the males and a decrease of phosphor concentration for the females, as well as a reduction in the chlorine blood level on the 30th day of treatment, compared to the control. As to the anthocyanin of the red grape, a hypolipidemic effect was noticed, on the 15th and 30th days, with a 100mg dose for the females and 150 mg dose for the males. Besides, it was observed a HDL- cholesterol elevation only for the males with a 50 mg dose (15 and 30 days), a hypotriglyceridemic effect only for the males with a 150 mg dose (15 days) and a hypoglycemiante effect for both sexes. As to the protein metabolism, it was observed a reduced concentration of creatinin, albumin with the 150 mg dose for both sexes and an irrelevant alteration in the protein blood levels, compared to the control group. The calcium level tended to decrease for the males and females, except when the dose was 50 mg for the males on the 30th day. It was observed a trend for the phosphor level to decrease for the males, except with the use of a 50 mg dose (30 days), and a chlorine level reduction on the 30th day, compared to the control group. With

relationship to the corporal weight, the results evidenced that the anthocyanin of the red cabbage and red grape provided weight earnings in the lipidic metabolism and in the toxicology. The hepatic morphological evaluation was only performed in animals which received red grape anthocyanin and it is not possible to have a safe interpretation of the sheets obtained from the red cabbage anthocyanin, due to the alterations on the tissues, resulting from the fixation process. The results obtained demonstrated that the group which received 150 mg of red grape anthocyanin, cholesterol and colic acid presented better hepatic protection than the group treated with 50 mg and 100 mg. The animals which received only ration + red grape anthocyanin with different doses (50, 100 and 150 mg) achieved a hepatic morphology similar to the animals in the pattern group (ration), without decaying processes or modification in the lobe architecture. It is possible to conclude that the red cabbage anthocyanin and the red grape anthocyanin present a hypolipidemic effect on the total cholesterol, an increase in the blood level of the HDL cholesterol and an hypotriglyceridemic effect. It is also possible to conclude that the substances tested were not toxic at the doses employed for the metabolism of proteins, minerals, lipids and carbohydrates, since no toxic alterations were found in the hepatic tissue for the doses used and for the time length of the experiment

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, as doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por 12 milhões de óbitos, anualmente, em todo o mundo. Nas nações em desenvolvimento e nos países desenvolvidos a DCV, é responsável pela maioria dos óbitos entre a população adulta. Além disso, sabe-se que as DCV podem afetar, significativamente, a habilidade funcional, dos indivíduos apesar deste dado ser de difícil mensuração. Nas Américas, estima-se em 800 mil o número de óbitos/ano, com aproximadamente a mesma proporção de homens e mulheres. Por outro lado, vem se demonstrando, nas últimas décadas, uma diminuição na mortalidade por DCV, de maneira geral, apesar desse declínio não ser uniforme (NICOLAU et al., 1998).

No Brasil, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morbidade em ambos os sexos. Comparando-se os coeficientes de mortalidade por doenças cardiovasculares de algumas cidades brasileiras com a de outros países, encontramos taxas proporcionalmente mais elevadas no sexo feminino. Além disso, ocorre taxa de mortalidade por doença cérebro-vascular relativamente mais elevada nas mulheres brasileiras. A origem dessas observações poderia ser explicada pela alta prevalência e a um mau controle dos fatores de risco na população feminina brasileira. Dentre os principais fatores, podemos citar a hipertensão arterial sistêmica, o tabagismo, a obesidade e, por fim, a hipercolesterolemia (SANTOS e MARANHÃO, 1998).

Já é bem estabelecido que quanto mais elevada a fração lipoprotéica de baixa densidade (LDL), tanto mais freqüente a doença ateroscleróticas do coração (DAC) e quanto mais elevada a lipoproteína de alta densidade (HDL), tanto menor o risco para essa doença. Isso ocorre em ambos os sexos, todas raças e grupos étnicos e todas as idades adultas (LESSA, et al., 1997).

Os agentes fenólicos são a maiores classes de antioxidantes encontrados em plantas, e freqüentemente em concentrações muito altas em legumes e frutas. O principal grupo de agentes fenólicos com propriedades antioxidantes incluem os polifenóis, ácidos fenólicos e os flavonóides (WANG e GOODMAN, 1999).

As antocianinas têm sido usadas ao longo do tempo na alimentação humana, aparentemente sem causar danos. Existem evidências indicando que as antocianinas, além de não serem tóxicas e não-mutagênicas, apresentam propriedades terapêuticas benéficas, particularmente em oftalmologia e para o tratamento de vários problemas de circulação sangüínea (TIMBERLAKE, 1988).

Estudos experimentais em animais têm demonstrado, entretanto, que além de conferirem cor aos alimentos, muitos dos corantes naturais não se apresentam como substâncias inócuas ao organismo, dependendo da dose utilizada.

A tendência no uso de ingredientes naturais nos alimentos é uma realidade e evidencia a preferência do consumidor pelos produtos e aditivos naturais e, a legislações, que excluem total ou parcialmente as cores artificiais dos alimentos (Francis, 1992 citado por MANSILLA E GUEDES, 1999).

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito hipolipidêmico das antocianinas da uva roxa e repolho roxo, sobre os níveis sangüíneos de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis e avaliar o efeito toxicológico deste corante sobre o metabolismo de proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais em coelhos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – Flavonóides

Os vegetais superiores sintetizam e acumulam uma grande diversidade de compostos fenólicos, cujo papel no metabolismo da planta não está inteiramente elucidado. Este grupo de compostos secundários se destaca por ser regularmente avaliado em muitos estudos de interação planta/herbívoro. Tais compostos parecem também estar envolvidos em, praticamente, qualquer interação da planta com o ambiente abiótico. Fatores abióticos naturais como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano influenciam no metabolismo e na produção desses compostos. Além disso, tem-se demonstrado que fatores artificiais como poluentes, podem interferir também nesse mecanismo (SANTOS e BLATT, 1998).

Os flavonóides são heterosídeos com 15 carbonos e têm sua estrutura baseada em 2-fenil-benzopirano ($-C_6-C_3-C_6-$) sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos. O termo flavonóides deriva do latim *flavus*, que significa amarelo, em virtude da cor que conferem às flores. Os flavonóides, antocianinas, são corantes vegetais com ampla distribuição nas plantas. Os flavonóides concentram-se mais na parte aérea das plantas, ocorrendo em menor proporção nas raízes e nos rizomas. São os metabólitos secundários mais difundidos no reino vegetal, encontrando-se em maior quantidade nas famílias leguminosae e compositae (MARTINS et al., 1994).

Cada tipo de flavonóide pode apresentar modificações, como hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação ou ramnosilação, resultando em vários compostos flavonóides (BATLOUNI, 1997).

Numerosas atividades fisiológicas têm sido atribuídas a eles. Pequenas quantidades de flavonóides podem agir como estimulantes cardíacos; algumas flavonas, como hesperidina, fortalecem vasos sangüíneos; flavonas altamente hidroxiladas agem como diurético e antioxidante (IKAN, 1991).

In vitro, os flavonóides inibem a oxidação da LDL (lipoproteína de baixa densidade) e reduzem a tendência trombótica, mas seus efeitos nas complicações ateroscleróticas presentes em humano ainda são desconhecidas (HERTOG et al., 1993). Entretanto, a habilidade dos flavonóides em proteger a LDL da modificação oxidativa *in vivo* depende da sua absorção, metabolismo e em particular da associação de flavonóides com lipoproteínas (COOK e SAMMAN, 1996).

Os flavonóides, por serem compostos fenólicos, agem como potentes antioxidantes e formam quelatos com os metais. Eles agem contra vírus, bactérias, fungos e têm efeitos na reprodução e desenvolvimento animal. Podem também interferir na germinação de sementes e reprodução de mudas. Estudos recentes revelaram que a quercetina inibe o crescimento e proliferação de células malignas e desenvolvimento de tumores (OLIVEIRA et al., 1999). Considera-se que os elevados números de substituintes hidroxila nos flavonóides resultam em uma alta atividade antioxidante (HEIJNEN et al., 2001).

Sua função é eminentemente protetora, por serem constituintes do sistema redox celular. São muito importantes como proteção aos raios solares e na proteção contra a formação de radicais livres. Os flavonóides atuam principalmente nos seguintes fatores: proteção da radiação solares; captação de radicais livres; proteção da membranas celulares; reguladores da permeabilidade e impede a fragilidade capilar e antiinflamatórios (FETT, 2000).

2.2 – Antocianinas

O termo antocianina, derivado das palavras gregas “Anthos” (flor) e “Kuanos” (azul), refere-se ao grupo de pigmentos solúvel em água, responsáveis pelas colorações vermelha, rosa, púrpura, azul e violeta de muitas flores e frutos (BRUNETON, 1999). Pertence à classe de compostos contendo uma estrutura básica de 15 carbonos, conhecidos coletivamente como flavonóides (STRINGHETA, 1992) e estão presentes em duas formas químicas: glicosídeo e acilglicosídeo de antocianidinas (TEDESCO et al., 2001).

Uma das mais importantes funções das antocianinas na área da percepção visível é a atração de animais, principalmente insetos e pássaros, com propósito de polinização e dispersão de sementes, sendo, por esta razão, de considerável valor na co-evolução das interações entre plantas e animais (Harborne, 1976 citado por OBI et al. (1998) .

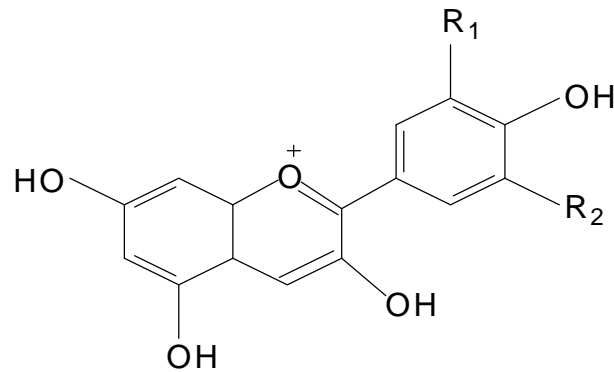
As espécies vegetais, uma vez que não podem se locomover, utilizam-se de artifícios para atrair animais para efetuarem a polinização. A forma, o aroma, o sabor e a coloração de substâncias presentes nas flores são utilizadas para chamar a atenção de mamíferos, insetos e aves. Esta coloração é causada pela presença de pigmentos que absorvem radiação luminosa na região do ultra-violeta e do visível. Estes pigmentos localizam-se nos vacúolos, nos quais o pH varia entre 3,70 - 4,15 e 4,40 - 4,50. Várias classes de substâncias podem colaborar para a coloração das flores, frutos e folhas dos vegetais, destacando-se as porfirinas, os carotenóides e os flavonóides (COUTO et al., 1998).

Vários grupos de pesquisa têm se preocupado em aproveitar as colorações das flores no ensino de Química, tendo em vista que estes pigmentos apresentam mudanças de cor em função do pH de meio (COUTO et al., 1998).

2.2.1- Estrutura química

As antocianinas, são os principais agentes cromóforos encontrados em tecidos vegetais de cor vermelha, azul e púrpura. Quando extraídas do meio natural, apresentam-se na forma de sais de flavílium, normalmente glicosiladas, ou seja, ligadas às moléculas de açúcares, sendo os mais comuns a β -D-

glucose, a β -D-galactose e a α -D-ramnose. Quando livres dos açúcares são chamadas antocianidinas. As estruturas mais comuns apresentadas pelas antocianidinas são representados na Figura 1 (RAMOS et al., 2000).



Compostos	R ₁	R ₂
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃
Pelargonidina	H	H

Figura 1 - Estruturas das antocianidinas comumente encontradas em tecidos vegetais (RAMOS et al., 2000).

As antocianidinas diferem através do número de grupos hidroxilas presentes nas moléculas e no grau de metilação desses grupos, na natureza e no número de açúcares ligados às moléculas, e na posição dessas ligações, bem como na natureza e no número de ácidos alifáticos, e/ou, aromáticos, ligados ao açúcares na molécula de antocianina (TIMBERLAKE e BRIDLE, 1975).

2.2.2- Estabilidade

As antocianinas são anfóteras e em pH baixos, quando colocadas em campo elétrico migram para o cátodo, fato já demonstrado para algumas antocianinas. Em diferentes pHs esses pigmentos se encontram em diferentes formas e apresentam cores diversas. Em meio ácido as antocianinas se encontram na forma de sais de oxônio e são geralmente de cor vermelha brilhante. Com a elevação do pH das soluções, as antocianinas passam a ter uma estrutura quinoidal, púrpura, e em meio alcalino a cor muda para azul (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

Apresentam uma absorção máxima na região de 510-550 nm, sendo que esta faixa está distante da faixa de absorção de outros compostos fenólicos, como exemplo, os flavonóides que apresentam um máximo de absorção na região de 350-380 nm (FULEKI e FRANCIS, 1968).

Vários fatores físicos e químicos possuem efeito negativo na estabilidade das antocianinas sendo os dois mais importantes o calor e a luz (DYRBY et al., 2001).

Uma das principais características das antocianinas é a mudança de coloração de suas soluções em função do pH do meio. Esta variação de cores foi extensamente estudada e discutida por Brouillard citado por RAMOS et al. (2000). Segundo estes autores, equilíbrios químicos ocorrem quando se eleva o pH de uma solução ácida contendo uma antocianidina (RAMOS et al., 2000).

Em uma solução aquosa ácida podem existir quatro formas estruturais de antocianinas em equilíbrio entre si: a base quinoidal A, o cátion flavílium AH^+ e as espécies descoloridas B e chalcona C (STRINGHETA, 1992) (Figura 2), sendo que a cor vermelha AH^+ é a mais importante porque é a mais estável (VON ELBE e SCHWARTZ, 1996).

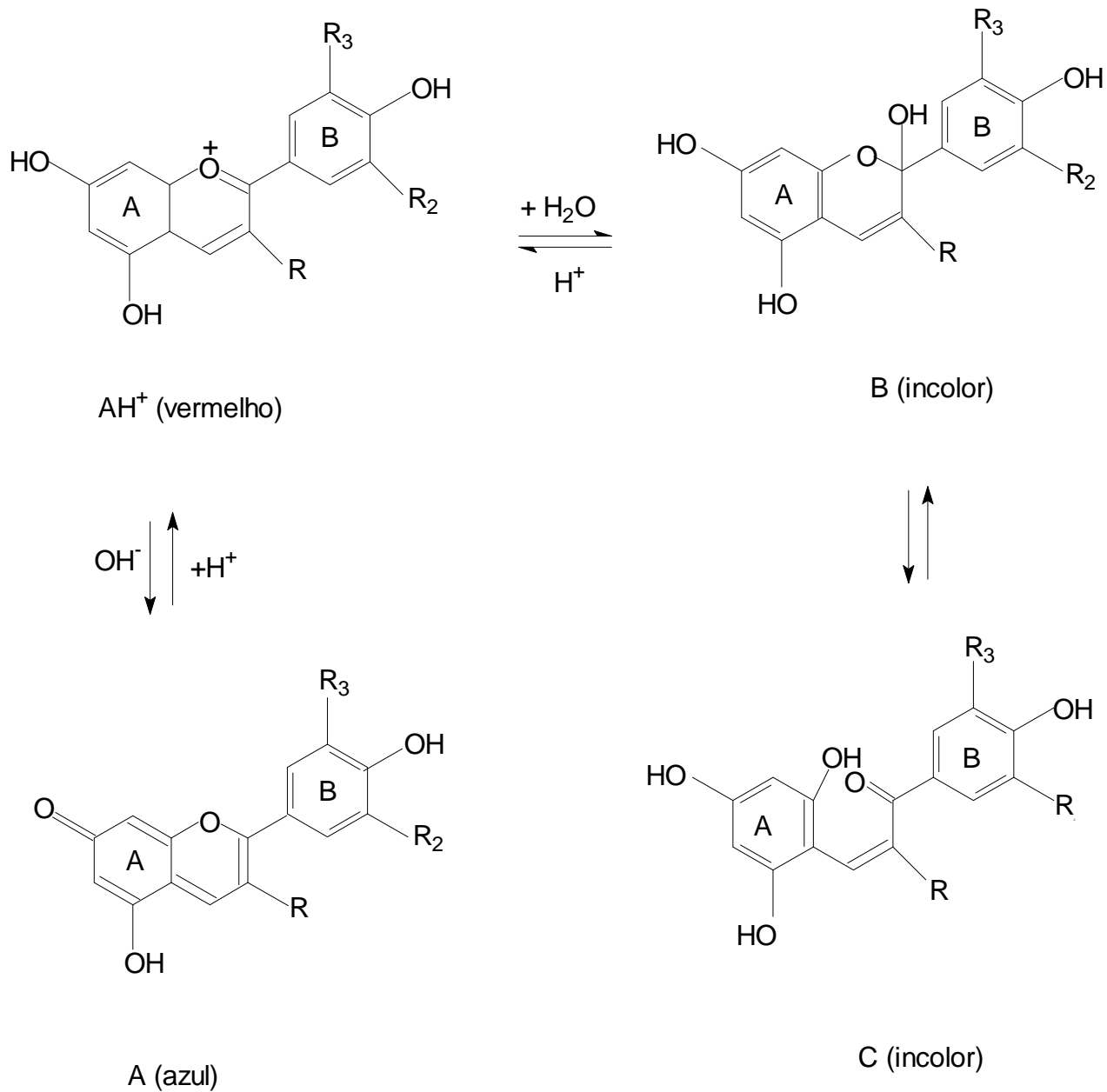


Figura 2 - Transformações estruturais das antocianinas em função do pH (STRINGHETA, 1992).

2.2.3 - Fontes

As antocianinas estão presentes em uvas, morangos, amoras pretas, jaboticabas, cerejas, casca da batata doce, cebola roxa, repolho roxo, pétalas de flores e frutos (FREUND et al., 1988). Podem ocorrer ainda em raízes acumulando-se nos vacuolos da células de epiderme e podendo ser confinadas no mesófilo de plantas. As antocianinas dos vacúolos podem ser localizadas em organelas esféricas conhecidas como antocianoplastos (WAGNER, 1982).

O repolho roxo (*Brassica oleracea* L.) é uma fonte promissora de antocianinas para coloração dos alimentos. A composição da antocianina do repolho roxo é muito complexa, devido a glicosilação da antocianidina (cianidina) com dois diferentes açúcares e acilação com vários ácidos aromáticos. Entretanto, as estruturas dominantes são cianidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo acilada com ácido sinápico, ácido ferúlico, ácido p-coumárico, ácido cafeico ou ácido malônico (DYRBY et al., 2001)

A *Tradescantia pallida*, planta ornamental, conhecida popularmente como coração-roxo ou trapoeraba (MACHADO, 1996), possui como estrutura principal a cianidina-3,7,3'-triglicosídeo com três moléculas de ácido ferúlico, uma molécula de ácido cafeico e uma de glicose terminal (SHI et al., 1993).

As antocianinas são comercialmente usadas em soluções ácidas como refrigerantes (pH entre 2,5 e 3,8, em que se apresentam na cor vermelha). São ainda usadas em refrescos, geleias, compotas, coberturas para bolos, sorvetes e iogurtes (GUIMARÃES, 1996), podendo ser usadas também em produtos farmacêuticos, cosméticos, têxteis, papel e couro (TAKEOKA et al., 1997).

No quadro 1 estão representadas algumas antocianinas encontradas com freqüências na natureza (BOBBIO e BOBBIO, 1992). No quadro 2 observa-se as principais fontes de antocianinas e o teor de pigmentos (Kuhnau, 1976 citado por TIMBERLAKE, 1988).

Quadro1- Antocianinas encontradas com freqüências em alimentos.

Antocianina	Fontes
Cianidina-3-glucosídeo	Cerejas, jambolão, uvas, vinho, morangos, amoras vermelhas
Peonidina -3-glucosídeo	Cerejas, jabuticabas, uvas, vinho
Malvidina-3-glucosídeo	Uvas, vinho
Pelargonidina-3-glucosídeo	Morangos
Delfinidina-3,5-diglucosídeo	Berinjelas
Petunidina-3-glucosídeo	Uvas, vinho
Delfinidina-3,5-diglucosídeo	Berinjelas
Delfinidina-3-cafeoilglucosídeo-5-glucosídeo	Berinjelas
Campferol-3-glucosídeo	Morangos, uvas, vinhos
Quercetina-3-glucosídeo	Uvas, vinho, morangos

Fonte: BOBBIO e BOBBIO (1992)

Quadro2- Principais fontes de antocianinas e teor de pigmento

Fontes (produto)	Teor de antocianinas (mg/100g)
Cranberry (arando)	60 a 200
Blueberry (amora roxa)	130 a 250
Cherry (cereja)	45
Cowberry (mirtilo vermelho escuro)	100
Black currant (groselha)	130 a 400
Red grape (uva vermelha)	65 a 140
Plum (ameixa)	2 a 25
Black raspberry (amora preta)	300 a 400
Red raspberry (amora vermelha)	30 a 35
Strawberry (morango)	15 a 35
Red cabbage (repolho vermelho)	25
Red onion (cebola vermelha)	25
Rhubarb (ruibarbo)	200
Beans (feijões)	1 a 1000

Fonte: Kuhnau (1976) citado por TIMBERLAKE (1988).

2.2.4 – Biossíntese das antocianinas

A síntese das antocianinas envolve a enzima chalcona sintase (CS) com a condensação de três unidades de malonil-CoA com p-coumaroil-CoA produzindo tetrahidroxichalcona (Figura 3). A chalcona isomerase (CI) catalisa a isomerização estereoespecífica da coloração amarelada (tetrahidroxichalcona) para a forma incolor (flavanona - naringenina). As flavanonas agem como intermediário para a síntese de flavonas, isoflavonas e 3-OH-flavanonas (dihidroflavonols). Naringenina é convertida para dihidrokaempferol (DHK) ou 3-OH-flavanonas pela flavanona-3- hidroxilase (F3H) (COOPER-DRIVER, 2001).

O próximo estágio é a conversão da dihidroflavonol para antocianina (Figura 4). A dihidrokaempferol (DHK) pode ser hidroxilada pela enzima microsomal citocromo P450, flavonóides-3'-hidroxilase (F3'H) produz dihidroquercetina (DHQ) ou flavonóides-3',5'-hidroxilase (F3'5'H) produz dihidromirecetina (DHM). O número preciso de enzimas e sua seqüência de operações do estágio dihidroflavonol para a antocianina, ainda não está inteiramente claro mas parece que três ou mais enzimas estão envolvidas. Durante o primeiro estágio, os dihidroflavonols são reduzidos para flavan-3,4-cis-diols (leucoantocianidinas) pela dihidroflavonol-4-redutase (DFR). Além disso a oxidação, desidratação e glicosilação das diferentes leucoantocianidina pela antocianidina sintase (ANS) e antocianina glucosiltransferase (3GT) produz glicosídeo de pelargonidina (vermelho tijolo), cianidina (vermelho) e delphinidina (azul) (COOPER-DRIVER, 2001).

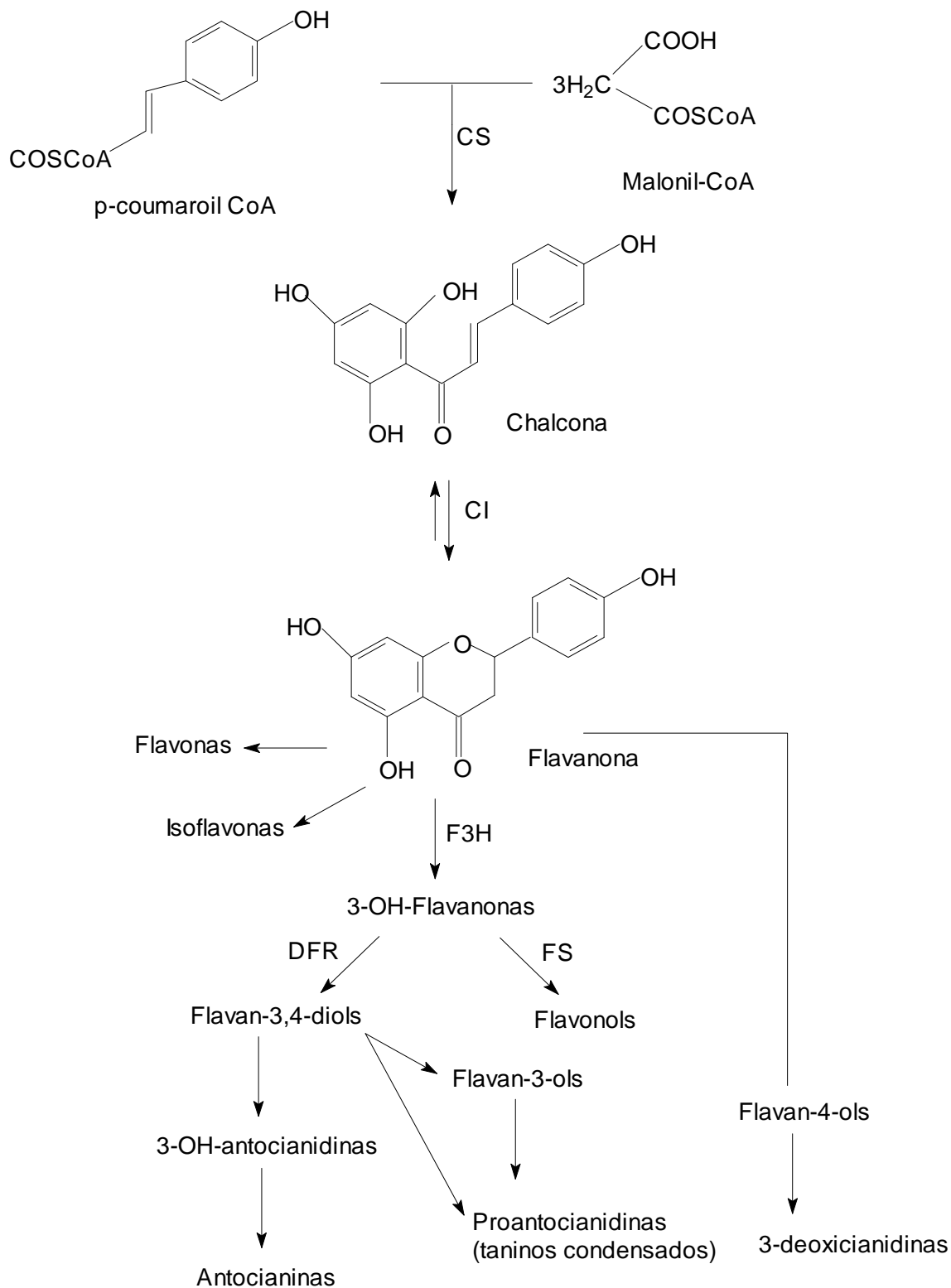


Figura 3 - Esquema da biossíntese dos compostos fenólicos (COOPER-DRIVER, 2001).

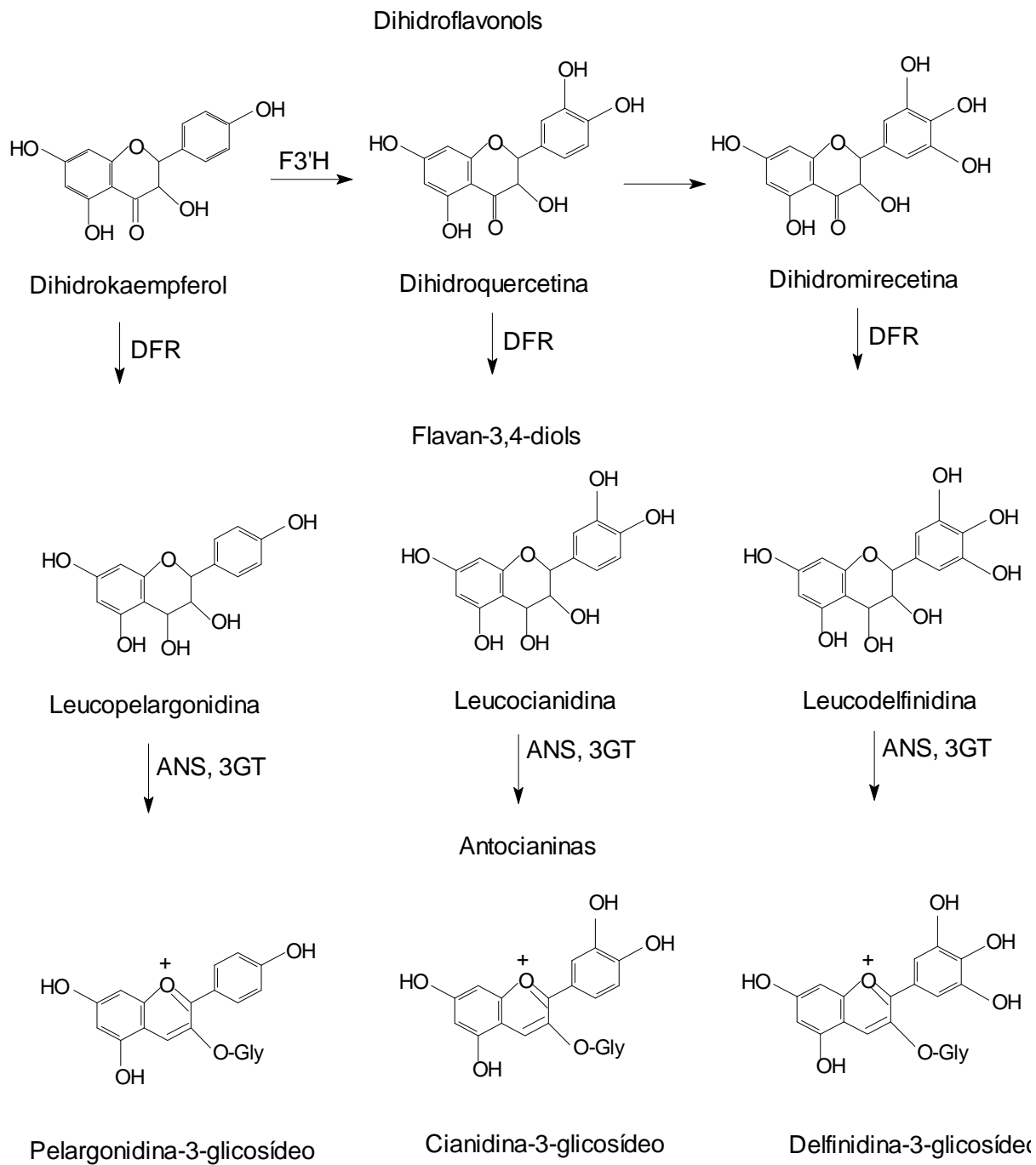


Figura 4 – Conversão biossintética de dihidroflavonols para antocianinas (COOPER-DRIVER, 2001).

2.3 - Transporte de colesterol

2.3.1 - Lipoproteínas

Os lípideos, por serem parcialmente insolúveis no meio aquoso, são transportados no organismo sob a forma de partículas denominadas lipoproteínas, que são formadas por uma capa hidrofílica constituída por fosfolípidos, colesterol livre e proteínas, envolvendo um núcleo hidrofóbico que contém triglicérides e colesterol esterificado. As proteínas são denominadas apolipoproteínas ou apoproteínas (apo). Estas, além da sua função estrutural, interagem com receptores da membrana celular e/ou atuam como cofatores enzimáticos (SOCIEDADE....., 1996).

2.3.2 – Transporte de lipídeos exógenos

Tem início com a absorção de material lipídico proveniente da alimentação e sua incorporação nos quilomícrons (Qm) sintetizados pelas células intestinais. Caracterizam-se por transportar o colesterol da dieta e serem ricos em triglicérides (TG), tendo como apo fundamental a B-48. Os Qm entram na circulação linfática e ganham a corrente sangüínea pelo ducto torácico, podendo receber diferentes apos (A, C e E) de outras lipoproteínas. Nos capilares, os Qm entram em contato com a enzima lipase lipoprotéica (LLP) que, ativada pela apo C-II, hidrolisa os TG, retira os ácidos graxos e torna-os partículas de menor tamanho (remanescentes de quilomícrons: R-Qm). Os R-Qm são removidas da circulação pelos receptores localizados nas células hepáticas, sendo então metabolizados (SOCIEDADE....., 1996).

Uma certa quantidade de colesterol que chega ao fígado é convertida em ácidos biliares, que são excretados no intestino para agirem como detergentes e facilitarem a absorção da gordura da dieta. Além disso, uma certa quantidade de colesterol é excretada na bile sem que haja metabolismo a ácidos biliares (PETERSDORF et al., 1984).

2.3.3- Transporte de lipídeos endógenos

Tem início com a síntese hepática das VLDL (very low density lipoproteins ou lipoproteínas de muito baixa densidade), as quais contêm principalmente TG e as apolipoproteínas B-100, E e C. Na circulação capilar, as VLDL entram em contato com a LLP, dando origem aos remanescentes de VLDL (R-VLDL) ou IDL (intermediate density lipoproteins ou lipoproteínas de densidade intermediárias). Essas partículas seguem dois caminhos: cerca de dois terços das IDL podem ser captados no fígado, pelos receptores de apolipoproteína B/E e degradados em seus componentes. O terço restante sofre ação da lipase hepática, principalmente no fígado, formando as LDL. Tanto as LDL como as IDL são retiradas da circulação pelos receptores celulares B/E, existentes principalmente no fígado. Vale salientar que as LDL são os principais transportadores de colesterol para os tecidos periféricos. Uma vez no interior das células, essas lipoproteínas são fragmentadas, liberando colesterol e aminoácidos. A síntese de colesterol e dos receptores B/E pela célula varia na razão inversa da concentração de colesterol livre intracelular (SOCIETÀ..., 1996).

A síntese da VLDL ocorre no intestino e no fígado. Cerca de 20% do total circulante de VLDL são provenientes do intestino e 80% do fígado (PLUMP et al., 1992).

A síntese dos receptores de LDL ocorre no retículo endoplasmático rugoso das células do fígado, processados no complexo de Golgi e serão exportados da célula. Os receptores de LDL são mediados por endocitose em células de mamíferos (VOET e VOET, 1995).

Parte do material liberado pela ação da LLP sobre os Qm e as VLDL é utilizado na fabricação de outra lipoproteína: HDL (high density lipoproteins ou lipoproteínas de alta densidade). As partículas de HDL (sintetizadas no intestino e no fígado) têm como componentes principais a apolipoproteína A-I (adquirida principalmente no fígado) e os fosfolípidos. Essas partículas, na sua forma inicial, apresentam formato de disco, sendo chamadas de HDL nascentes. As HDL têm grande importância no transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado (transporte reverso de colesterol) (SOCIETÀ..., 1996).

2.3.4-Transporte reverso de colesterol – Metabolismo de HDL

As HDL nascentes captam colesterol não esterificado dos tecidos periféricos pela ação da enzima lecitina-colesterol-acil-transferase (LCAT), formando as HDL maduras. Estas levam o colesterol para o fígado por duas vias: 1) diretamente e 2) transferindo os ésteres de colesterol para outras lipoproteínas (principalmente as VLDL), pela ação de uma proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP – cholesterol ester transfer protein). Uma vez no fígado, o colesterol proveniente dos tecidos pode ser reaproveitado, participando de outras vias metabólicas, ou excretado na bile (principal via de eliminação), com reabsorção de cerca de dois terços do mesmo (ciclo entero-hepático) (SOCIEDADE....., 1996).

O processo de transporte reverso de colesterol, permitindo que o excesso de colesterol dos tecidos periféricos seja levado ao fígado, onde ele pode ser metabolizado, segundo MARINETTI (1990), poderia explicar porque níveis elevados de colesterol-HDL conferem proteção à aterosclerose e à doença arterial coronariana.

Na Figura 5 é mostrado o resumo de metabolismo de colesterol, em que a circulação entero-hepática e as células espumosas são representadas por CEH e CE, respectivamente (ROSA, 1996).

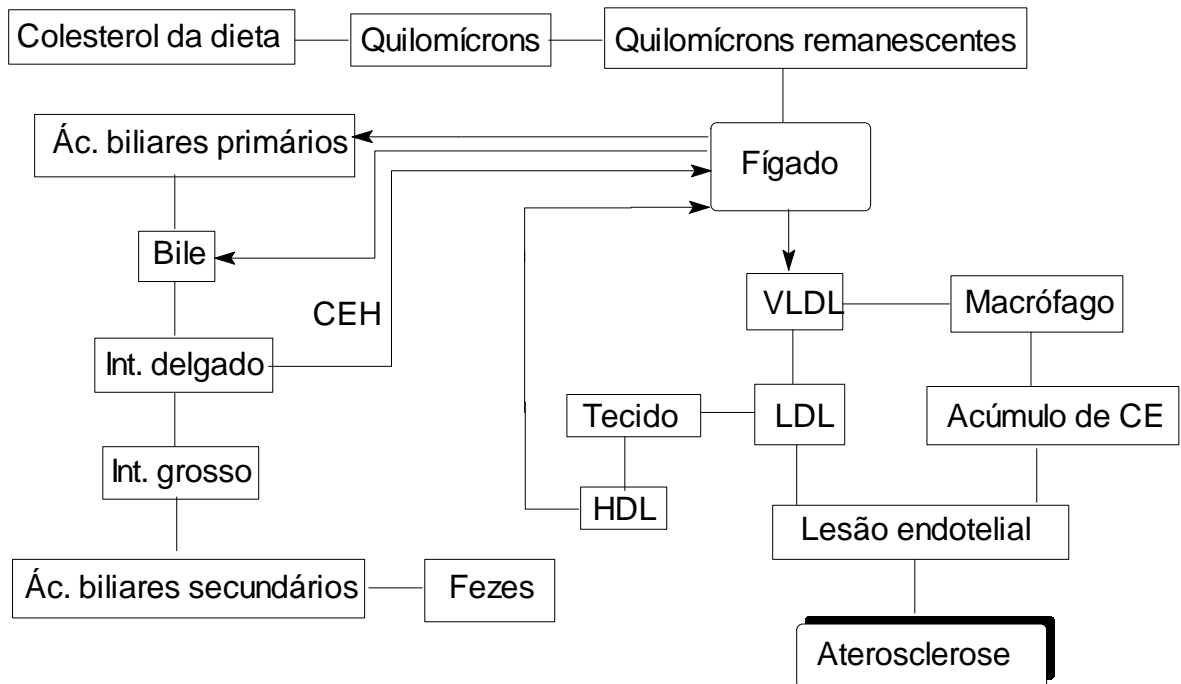


Figura 5 – Metabolismo de colesterol (ROSA, 1996)

2.4 – Aterosclerose

Os triglicerídeos na dieta e o colesterol têm uma influência direta no desenvolvimento da aterosclerose. Os ácidos graxos saturados aumentam a produção de lipoproteínas e quilomícrons remanescentes. Estes são retirados da circulação pelo fígado e produzem posteriormente o VLDL, que conjuntamente com o LDL e colesterol, aumentam a chance de desenvolvimento de aterosclerose. O HDL faz o efeito inverso, que é o de limpeza das artérias. Esta lipoproteína é desenvolvida principalmente pelo fígado e a atividade física aumenta os seus níveis (FETT, 2000).

As partículas de LDL em altos níveis na circulação podem se aderir à parede do endotélio das artérias, atraindo células fagocitárias da corrente sanguínea para o local o que provocaria acúmulo excessivo de colesterol esterificado no citoplasma desses macrófagos, caracterizando assim as *células espumosas*, principais responsáveis pelo acúmulo de colesterol e

consequentemente da formação da placa de ateroma nas artérias (SOCIEDADE....., 1996).

Uma forte evidência indica que os radicais livres e outros oxidantes causam danos oxidativos em lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Esses oxidantes podem ser um importante fator para o desenvolvimento de inúmeras doenças incluindo o câncer e aterosclerose (TAKEOKA et al., 1997).

O causador da aterosclerose, o colesterol LDL, não age sozinho na formação das placas ateroscleróticas. O tecido intacto das artérias não é afetado diretamente pela ação do colesterol. Mas quando o colesterol é atacado pelos radicais livres, passa ser potencialmente lesivo para as artérias. As artérias podem ser também danificadas diretamente pela ação dos radicais livres. Quando isso ocorre, há a formação da placa aterosclerótica. A visão atual é que isso ocorre somente após a ação lesiva dos radicais livres (FETT, 2000).

Em estágio mais avançado, a placa aterosclerótica pode manifestar calcificação, hemorragia e fissura e, como consequência, trombose local, obstrução da luz do vaso sanguíneo e aparecimento de isquemia e posterior necrose do tecido irrigado por tais artérias (BELLIZI et al., 1994).

A patogenia mais encontrada das doenças cardiovasculares é, indiscutivelmente, a aterosclerose coronária, que pode acometer, inclusive, pacientes jovens. Monckberg, citado por Cresanta citado por GERBER e ZIELINSKY (1997), examinou aortas de crianças que faleceram durante a primeira guerra mundial e, em 1921, relatou que 36% de jovens com menos de 20 anos e 76% dos que tinham entre 20 e 25 anos, por ocasião do óbito, apresentavam aterosclerose da íntima da aorta. Anos após, Zeek, em 1930, citou que a aterosclerose ocorre em qualquer idade (GERBER e ZIELINSKY, 1997).

A hipótese de que a peroxidação lipídica desempenha importante papel na patogênese da aterosclerose despertou crescente entusiasmo sobre o uso de antioxidantes como agentes antiaterogênicos (BATLOUNI, 1997).

O alto consumo de frutas e vegetais vem sendo associado à proteção contra várias doenças, incluindo câncer e doenças cardíacas e cerebrovasculares. Esta associação é freqüentemente atribuída aos antioxidantes das frutas e vegetais tais como a vitamina C, vitamina E, carotenóides, licopenos e

flavonóides, que previnem os danos causados pelos radicais livres (TOIL et al., 2001).

Estudos laboratoriais demonstraram que a vitamina E é um antioxidante extremamente potente, que captura os radicais peroxila, interrompendo a cadeia de peroxidação lipídica. Protege os lipídeos poliinsaturados da lesão pelos radicais livres e parece essencial à proteção das lipoproteínas circulantes e ao funcionamento adequado das membranas celulares. Adicionada ao plasma, a vitamina E aumenta a resistência das LDL à oxidação (BATLOUNI, 1997).

Estudos têm mostrado que a vitamina C possui efeitos protetores contra a aterosclerose, sendo um essencial cofator e um importante agente biológico redutor. O mecanismo pelo qual a vitamina C poderá proteger contra a aterosclerose pode ser atribuída a sua habilidade de prevenir a oxidação de LDL. Há também alguns dados que indicam que a vitamina C protege o DNA de danos oxidativos (GACKOWSKI et al., 2001).

Os flavonóides são compostos com potente atividade antioxidante, atribuída aos radicais fenólicos. São encontrados em diversos alimentos de origem vegetal, como maçã, uva, cebola, repolho, brócolis, chicórea, aipo e bebidas como chá e vinho tinto. A quercetina, principal flavonóide, é removedora dos radicais superóxido, oxigênio simpleto e peróxidos lipídicos e inibe a oxidação das LDL e os efeitos citotóxicos das LDL-oxidadas. O vinho tinto, que tem alto teor de flavonóides, reduz a oxidação de LDL in vitro; ademais, a ingestão de vinho tinto aumenta a atividade antioxidante do soro (BATLOUNI, 1997).

2.5 - Atividades biológicas das antocianinas

A hipercolesterolemia e sua relação com a doença coronária aterosclerótica tem sido demonstrada em muitos ensaios clínicos. De outro lado, a redução do número de eventos e mortalidade ou doença coronária, a interrupção ou mesmo a regressão da doença aterosclerótica através de drogas redutoras do colesterol plasmático, também tem sido referida por inúmeros estudos. Os mecanismos envolvidos na redução dos eventos e na mortalidade por doença coronária, quando ocorre diminuição do colesterol plasmático, parecem estar relacionados à reversão da disfunção endotelial e estabilidade da placa de aterosclerose, uma vez que não se observa aumento significativo do diâmetro vascular na região da placa de aterosclerose. Mais recentemente, tem-se verificado que as substâncias antioxidantes são capazes de reverter a disfunção endotelial provocada pela hipercolesterolemia e também reduzir a número de eventos coronários (JORGE et al., 1998).

O metabolismo aeróbico do organismo vivo constantemente produz espécies de oxigênio reativo, tais como peróxido de hidrogênio, peróxido orgânico, ânion superóxido e radical hidroxila os quais, particularmente, recebem bastante atenção devido ao seu possível envolvimento com várias doenças incluindo certa anemia hemolítica. A proteção contra a espécie de oxigênio reativo provêm dos diferentes compostos contidos na dieta humana e pelos antioxidantes enzimáticos, tais como catalase e glutathione peroxidase (TEDESCO et al., 2001).

Produção excessiva da espécie de oxigênio ativo, tais como $\cdot\text{OH}$ (radicais hidroxil) e O_2^- (radicais ânion superóxido) e outros radicais são causas de danos em células. Acredita-se que estes danos podem estar fortemente associados com carcinogêneses, mutagêneses, envelhecimento e aterosclerose. Antioxidantes endógenos são utilizados para proteger as funções biológicas das células. Há maior interesse na função bioquímica protetora dos antioxidantes naturais contido em plantas, os quais são candidatos para prevenção de danos oxidativos causado pelos radicais livres (TSUDA et al., 1996).

Os radicais são metabólitos altamente reativos que oxidam os constituintes das células, em particular a membrana. O excesso de radicais

livres acelera o envelhecimento, as lesões dos tecidos, interrompendo o equilíbrio do organismo e levando à doenças cardiovasculares, inflamações e problemas de pele induzidos pela radiação solar, etc. A ação nociva dos radicais livres pode, entretanto, ser bloqueada pelas substâncias conhecidas como “limpadoras” de radicais livres, que detoxicam o organismo. Pesquisas confirmam que os alimentos, ricos em antioxidantes, desempenham um papel essencial na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas (doenças de Parkinson’s e Alzheimer’s), inflamações e danos causados nas células. Os flavonóides e as antocianinas, conhecidos como complexadores com radicais livres, são eficientes na prevenção das desordens degenerativas (GAULEJAC et al., 1999).

As seguintes características são consideradas para avaliar o potencial terapêutico de um determinado antioxidante (BAGCHI, 2000):

- 1- Absorção e biodisponibilidade,
- 2- Dose efetiva, segurança e toxicidade,
- 3- Distribuição em células, tecidos e fluidos extracelulares,
- 4- Habilidade de limpeza dos radicais livres,
- 5- Atividade quelante de metais,
- 6- Efeitos na expressão de gene,
- 7- Interação com antioxidantes celular/enzimas antioxidantes,
- 8- Detoxicação de metabólitos carcinogênico,

Muitos produtos polifenólicos da biossíntese de fenilpropanóides em plantas possuem atividades antioxidantes *in vitro*. Isto é devido ao átomo de hidrogênio do grupo hidroxila aromático dos polifenóis que pode ser doado para o radical livre e a habilidade do grupo aromático em suportar o elétron desemparelhado via deslocamento ao redor do sistema elétron π (RAMIREZ-TORTOSA et al., 2001).

Durante as últimas duas décadas, um número crescente de estudos investigou os efeitos protetores diversos dos polifenóis (flavonóides) presentes em várias frutas e legumes. Alguns exemplos da potência biológica desses polifenóis incluem proteção contra a incidência e taxas de mortalidade de câncer, proteção contra isquemia, demonstração na propriedade antitumorigênica, propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, antialérgica e antimutagênica (YOUDIM e MARTIN, 2000).

A ingestão de frutas, vegetais, ou seus constituintes fitoquímicos são recomendados como parte de uma dieta na prevenção de câncer. Mais de 200 estudos na literatura epidemiológica questionam uma associação entre baixo consumo de frutas e vegetais com a incidência de câncer. Acredita-se que as propriedades antioxidantes destes alimentos protejam as células da espécie de oxigênio reativo que danifica o DNA e pode resultar numa mutação e subsequente carcinogênese. Além de α -tocoferol, ascorbato e β -caroteno há inúmeros fitoquímicos com atividade antioxidante comumente usados em pesquisa e protocolos clínicos, incluindo o licopeno (tomates), quercetina (cebola), kaempferol (chá preto), proantocianidina (uvas), alicina (alho), catequina (chá verde), luteolina (alcachofra) e resveratrol (uvas, vinho tinto) (LOPACZYNSKI e ZEISEL, 2001).

O chá, particularmente o verde, é uma fonte rica de flavan-3-ol da classe de flavonóides, também conhecido como catequina (PEARSON et al., 1998). Entretanto, a catequina e epicatequina podem também serem encontradas em chocolate, uvas pretas, vinho tinto e maçãs. A quercetina, kaempferol e rutina são os mais importantes flavonols do chá. O chá pode agir em muitas funções celulares e ter um impacto positivo na prevenção e controle do câncer e doenças cardiovasculares. Além disso, pode melhorar a função gastrointestinal, o metabolismo de etanol e proteger contra injúrias hepáticas, pancreáticas, estomacais, protegendo a pele e olhos, prevenindo infecções, cáries dentárias, alergias, diabetes. O efeito benéfico do chá em doenças neurológicas e psicológicas também tem sido reportado (DUFRESNE e FARNWORTH, 2001).

Estudo epidemiológico sugere que o consumo moderado de vinho tinto protege contra o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O resveratrol (trans-3,4',5-trihidroxiestilbeno) é um dos compostos polifenólicos de ocorrência natural encontrado em uma variedade de fontes, incluindo vinho tinto. Possui vários efeitos benéficos em doenças cardiovasculares, prevenindo danos oxidativos, agregação das plaquetas e promovendo a vasodilatação (LADEN e PORTER, 2001).

Segundo TSUDA (1999), as antocianinas são os maiores grupos de pigmentos solúveis em água no reino vegetal. Eles são distribuídos amplamente na dieta humana através das frutas, feijão, outros vegetais e vinho

tinto. Este autor sugere acrescentar fontes de antocianinas na dieta, sendo que a ingestão média de flavonóides por humano varia de 25mg/dia a 1g/dia.

Diante destas evidências, o interesse dos pesquisadores nos pigmentos de antocianinas tem aumentado muito nos últimos anos. As antocianinas têm sido usadas para fins farmacológicos, tais como tratamento de problemas microcirculatórios, prevenção da fragilidade capilar e trombozes (MORAZZONI e MAGISTRETTI, 1986). Possuem também alguns efeitos terapêuticos, como no tratamento de retinopatia diabética, doença fibrocística do coração e na visão. Possuem ainda efeito fisiológico como agentes antineoplásico, agente protetor de radiação, vasotônico, quimioprotetor contra toxicidade de platina em terapia anticâncer, hepatoprotetor contra danos causados por tetracloreto de carbono e outros efeitos devido suas diversas ações em várias enzimas e processos metabólicos (WANG et. al., 1997).

As antocianinas de uvas aplicadas via intravenosa, intramuscular ou por via oral reduzem a permeabilidade e a fragilidade capilar. Têm atividade antiinflamatória e ação sobre microangiopatia em diabéticos, possuem atividade anti-úlceras e protegem da radiação UV (MAZZA, 1998).

FRANKEL et al. (1995), ao estudarem a atividade de vinte marcas comerciais de vinho na inibição da oxidação de LDL *in vitro*, avaliaram a atividade antioxidante, levando em consideração os principais compostos fenólicos de vinho (ácido gálico, catequina, ácido cafeíco, epicatequina, cianidina, 3-glicosil malvidina, miricetina e quercetina) na inibição da oxidação em humanos. Este estudo mostrou que a atividade de diferentes vinhos comerciais na oxidação da LDL não se deve a um único composto fenólico, mas a grande número de constituintes fenólicos presentes no vinho.

Segundo TSUDA (1996; 1999) o vinho tinto possui grande quantidade de antocianinas, tais como a D3G (delfinidina 3-O-β-D-glicosil), Pt3G (petunidina 3-O-β-D-glicosil), M3G (malvidina 3-O-β-D-glicosil) e C3G (cianidina 3-O-β-D-glicosil) indicando que estes pigmentos antociânicos contribuem como efeito inibidor na oxidação da LDL.

O potencial papel das vitaminas antioxidantes (vitamina C e E), β-caroteno e proantocianidinas, minerais antioxidantes (zinco e selênio), e enzimas antioxidantes (glutathione, superóxido dismutase e catalase) foram

estudadas extensivamente na prevenção de numerosas doenças degenerativas inclusive crescimento de tumor e carcinogêneses. Além da atividade antioxidante, a proantocianidina exibe atividade vasodilatadora, anticarcinogênica, anti-alérgica, anti-inflamatória, antibacteriana, cardioprotetora, anti-viral e atividade estrogênica, bem como inibidora das enzimas fosfolipase A₂, ciclooxigenases e lipooxigenases (BAGCHI et al., 2000).

Uma das maiores ações de flavonóides, no entanto, está relacionado à formação de ácidos graxos pela ação de fosfolipase A₂, responsável pela hidrólise de fosfolipídeos presentes nas membranas celulares, com a liberação do ácido araquidônico. Lee et al., 1982 citado por PEREIRA, 1999, demonstraram que quercetina inibe esta enzima. Outros autores (Hope, 1983 e Meyers, 1984 citados por PEREIRA, 1999) demonstraram também que alguns flavonóides podem inibir a ciclooxigenase e lipooxigenase, impedindo a formação das prostaglandinas e leucotrienos diminuindo com isto a formação de processos inflamatórios.

Vários mecanismos têm sido propostos para avaliar a habilidade antioxidante das antocianinas, os quais incluem a habilidade de limpeza dos radicais livres, propriedades de quelar metal e habilidade de doar hidrogênio. Segundo Brouillard (1983) citado por SARMA e SHARMA (1999), as antocianinas podem complexar com outras moléculas (copigmentação), e tal complexação pode proteger contra danos oxidativos. SARMA e SHARMA (1999) sugerem que a copigmentação de cianidina-DNA pode ser um possível mecanismo contra danos oxidativos causado no DNA, podendo ter função fisiológica *in vivo* atribuída à habilidade antioxidante das antocianinas (Figura 6). GAULEJAC et al. (1999) propõem diferentes hipóteses de contribuição da estrutura molecular da antocianina para limpeza dos radicais livres (Figura 7) e mostram que o ataque do cátion flavilium (anel C) seja a hipótese mais provável.

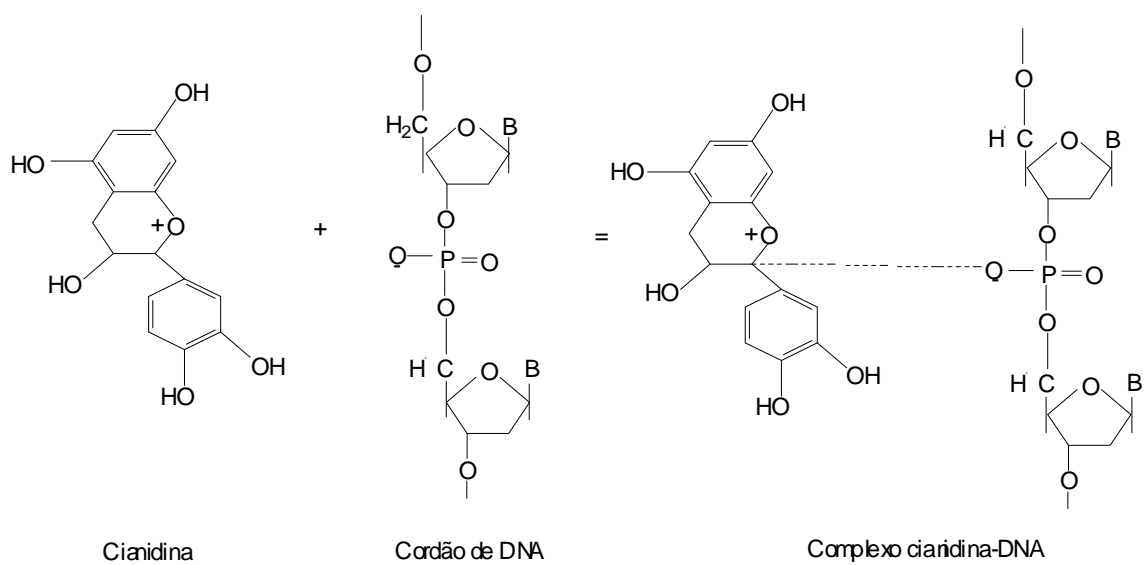
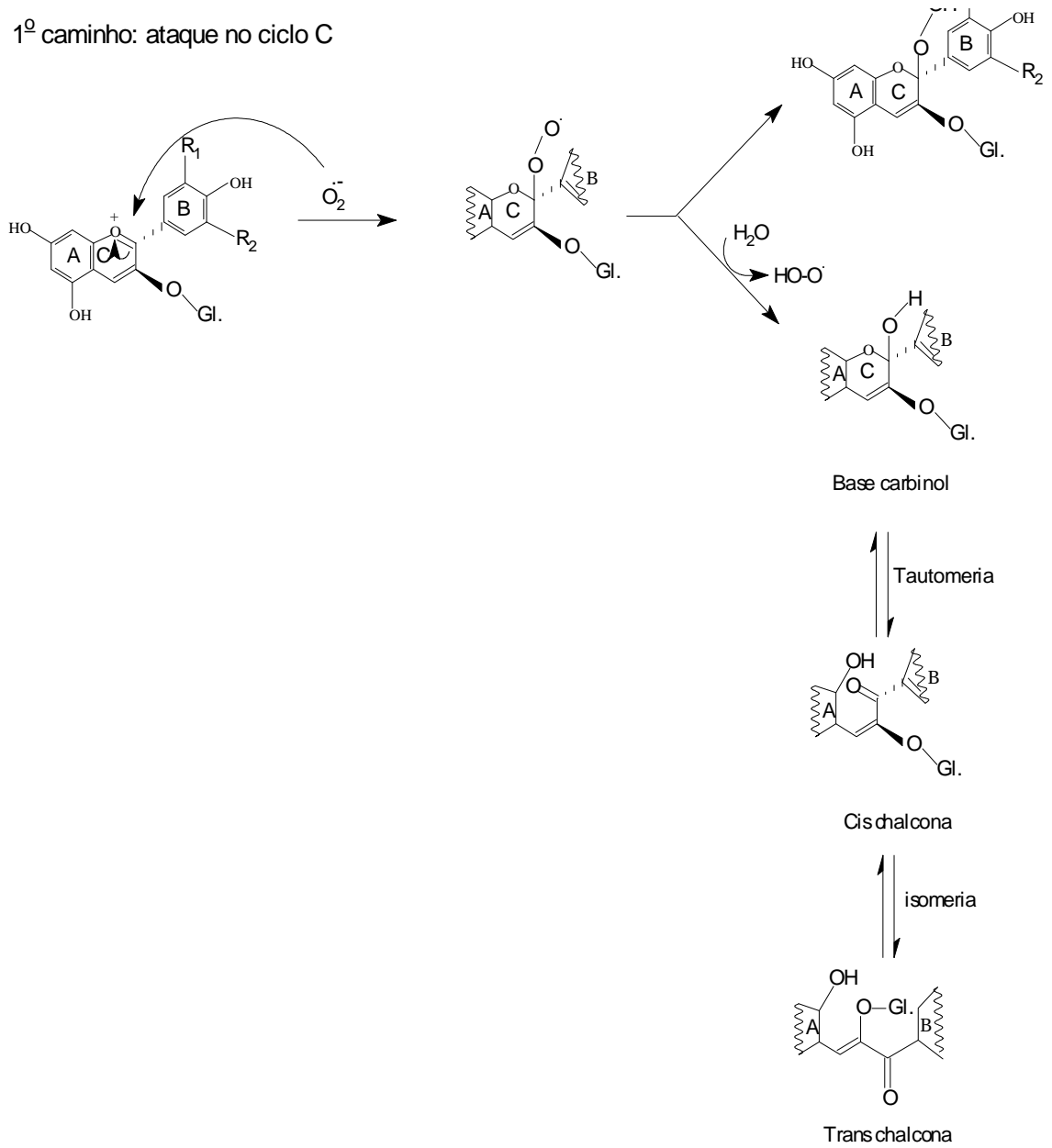


Figura 6 – Mecanismo proposto para interação cianidina-DNA que conduz à formação do complexo de copigmentação cianidina-DNA (SARMA e SHARMA, 1999).

1º caminho: ataque no ciclo C



2º caminho: ataque no ciclo B

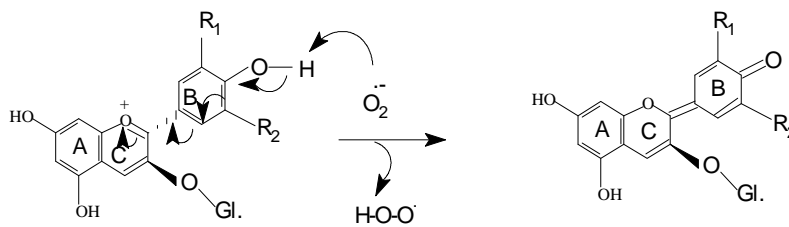


Figura 7- Diagrama das diferentes hipóteses de oxidação das antocianinas pelo radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (GAULEJAC et al., 1999).

As antocianinas possuem a propriedade de complexar-se com alguns íons como ferro, magnésio, cobre, alumínio, cálcio, dentre outros. Essas substâncias possuem atividades antioxidantes sobre os radicais livres, exercendo papel na limpeza destas substâncias no organismo e habilidade de complexar-se com outras moléculas, incluindo macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (HASLAM, 1996).

VALENTE (1998) pesquisou o efeito dos corantes naturais cúrcuma, antocianina (cascas da uva), carmim e monascus, nas doses de 40 e 80 mg/kg de peso, nos níveis de colesterol e triacilgliceróis sanguíneos, em ratos hipercolesterolêmicos induzidos por Triton. Os resultados mostraram que os corantes naturais diminuíram, significativamente, os níveis de colesterol total sérico, nas duas doses testadas, verificando-se maior efeito de redução com a dose de 80 mg. Os níveis de colesterol-HDL também foram reduzidos significativamente com a administração dos quatro corantes, nas doses testadas. Para os triacilgliceróis, os corantes naturais, cúrcuma, antocianina e monascus, reduziram os níveis séricos desse parâmetro, não se observando, entretanto, diferença significativa, quanto a esse efeito, entre as doses de 40 e 80 mg. Já o corante carmim não apresentou significância na redução dos níveis de triacilgliceróis séricos.

NAGEM et al. (1999), ao avaliarem o efeito hipolipidêmico de naringina, antocianina e carmim isoladamente e em associação em ratos hiperlipidêmicos, mostraram que a associação naringina + antocianina e naringina + carmim apresentaram os melhores resultados para colesterol e triacilglicerol enquanto que naringina e naringina associada à antocianina apresentaram os melhores resultados para colesterol-HDL.

JORGE et al. (1998), ao estudarem o efeito do suco da berinjela sobre os lípides plasmáticos, o colesterol tecidual, a peroxidação lipídica das LDL nativas, oxidadas e da parede arterial e o relaxamento dependente do endotélio em coelhos hipercolesterolêmicos, concluíram que o suco de berinjela administrado a esses animais reduziu significamente o peso corpóreo, o colesterol total, as LDL plasmáticas, os triglicérides, o colesterol tecidual, a peroxidação lipídica das LDL nativas, oxidadas e da parede arterial, assim como aumentou o relaxamento dependente do endotélio.

KAYAMORI e IGARASHI (1994) observaram em ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol que ao administrar a nasunina (3-p-cumaroilrutinosil-5-glicosil delphinidina), uma antocianina isolada da casca de berinjela, houve uma redução nos níveis de colesterol total e aumento nos níveis de colesterol-HDL.

2.6 – Avaliação toxicológica das antocianinas

A toxicologia é um ramo da ciência que estuda as substâncias nocivas à saúde, suas ações, seus sintomas, seus efeitos e seus contravenenos (BRITO FILHO, 1988).

Estudo realizado por OLIVEIRA et al. (1999c) teve como objetivo a avaliação dos níveis dos minerais cálcio, potássio, ferro, sódio e magnésio e dos metais pesados alumínio, chumbo, cobalto, cádmio, cobre, níquel, zinco e manganês, mais comumente presentes como contaminantes em alguns corantes naturais como norbixina, carmim, clorofila, curcumina, monascus, antocianina e betalaína, uma vez que, quando estes níveis se encontram acima dos limites permitidos pela legislação podem causar danos à saúde. Os resultados obtidos na análise destes produtos fornecidos por algumas Indústrias Brasileiras indicaram para os minerais e metais pesados analisados níveis abaixo dos permitidos pela legislação. Sugere-se entretanto, maior rigor no controle de qualidade do corante clorofila por conter cobre em sua molécula e carmim por conter alumínio. Avaliações periódicas sobre corantes naturais e embalagens plásticas utilizadas em alimentos também devem ser consideradas, devido a utilização constante de agentes químicos em seus processamento e fabricações.

A distribuição de antocianinas derivadas de *Vaccinium myrtillus* nos tecidos foi examinada em ratos, por injeção intraperitoneal ou intravenosamente. Esses pigmentos foram rapidamente distribuídos dentro dos tecidos, acumulando-se primariamente nos rins, na pele, no fígado, no coração e no pulmão. A eliminação desses compostos ocorreu inicialmente via renal (25% a 29%/24h) e biliar (15% a 18%/24h). Dada a alta taxa de excreção urinária, as antocianinas são consideravelmente eliminadas pela filtração glomerular e excreção tubular renal (FAO/WHO, 1982 citado por AZEVEDO, 2000). Segundo MARTIN (1999) e MAURI (2000) *V. myrtillus* é caracterizada pela presença de antocianinas e suas agliconas (antocianidinas) que possuem várias atividades farmacológicas como vasoprotetora, antiinflamatória, antiúlcera e antiaterosclerose, podendo também serem usadas na oftalmologia e no processo de cicatrização.

HALLAGAN et al. (1995), ao estudarem o efeito toxicológico da antocianina da uva em pó utilizando-se cães como cobaias durante 13 semanas, observaram que não houve efeitos tóxicos significativos, não havendo também efeitos adversos na reprodução ou efeitos mutagênicos em ratos que receberam 15% desse corante em dietas.

OBI et al. (1998), ao induzirem um processo de peroxidação lipídica em rato utilizando CCl₄ (tetracloreto de carbono), uma hepatotoxina, mostraram claramente que a antocianina extraída de *H. rosasinensis* é um excelente agente preventivo para os danos causados ao fígado, induzidos por CCl₄.

WANG et al. (2000) usaram tert-butilhidroperóxido (t-BHP) para induzir a toxicidade hepática em ratos e estudaram a bioatividade antioxidante da antocianina extraída da flores de *Hibiscus sabdariffa L.*(*Malvaceae*). A avaliação histopatológica do fígado revelou que os pigmentos de hibisco reduziram a incidência de lesões no fígado inclusive o processo inflamatório, infiltração de leucócitos e necrose induzida pelo t-BHP em ratos. Segundo estes autores, esse pigmento pode ser usado efetivamente na medicina contra hipertensão, piroxia e desordem no fígado.

Pourrat et al. (1967) citados por AZEVEDO (2000) isolaram antocianinas de *Vaccinium murtillus L.* e investigaram a sua toxicidade em diferentes modelos experimentais, encontrando, para toxicidade aguda, crônica e teratogenicidade, os resultados que são apresentados a seguir (Quadro 3).

Quadro 3 - DL₅₀ das antocianinas obtidas por diferentes vias de administração em camundongos e ratos

Animal	Via de administração	DL ₅₀ (g/Kg peso corporal)
Camundongos	i.p	4,11
	i.v	0,84
	oral	25
Ratos	i.p	2,35
	i.v	0,24
	oral	20

Fonte: Pourrat et al. (1967) citado por AZEVEDO (2000)

Para avaliação de toxicidade crônica em estudo de 90 dias, foram utilizados ratos de linhagem Wistar, de ambos os sexos, com seis semanas de idades e doses de antocianinas de 1,2 a 3 g/dia. Não foram observadas alterações hematológicas ou lesões anatomopatológicas acentuadas e o comportamento e crescimento dos animais apresentaram-se normais. Em cobaias, doses de antocianinas 3 g/dia, durante quinze dias, foram perfeitamente toleradas (FAO/WHO, 1982).

2.7 – Histologia

2.7.1- Características gerais do fígado

Embriologicamente, a formação do fígado no ser humano inicia-se a partir de espessamento do epitélio endodérmico da porção ventral do intestino anterior no décimo oitavo dia. Nesta fase precoce há expressão do RNA mensageiro da

α -fetoproteína indicando o desenvolvimento de linhagem de células hepáticas, denominadas hepatoblastos. Ocorre rápida proliferação celular e conseqüente formação do divertículo hepático. A porção distal deste divertículo produz cordões celulares que invadem o septo transversal, folheto de mesênquima que separa o coração (em desenvolvimento) do saco vitelino, enquanto na porção proximal inicia-se a formação de ducto biliar comum, vesícula biliar e ducto cístico. Mais tarde, cordões epiteliais hepáticos mesclam-se com os seios sangüíneos das veias vitelinas e umbilicais no septo transversal, estabelecendo assim a arquitetura básica do parênquima hepático. A filogênese e a ontogênese do fígado refletem os princípios estruturais e funcionais do órgão (SILVA et al., 1999).

Interposto entre o sistema digestório e o restante do organismo como um guardião, o fígado recebe grande variedade de agentes endobióticos e xenobióticos, incluindo nutrientes e substâncias tóxicas. O fígado é responsável pela captação de aminoácidos, carboidratos, lipídios e vitaminas. Armazena, converte metabolicamente e libera esses elementos ou seus produtos para o sangue ou bile. Igualmente importante é o processo de biotransformação que torna substâncias hidrofóbicas em hidrossolúveis, possibilitando a excreção das mesmas por meio da urina ou bile. Além disso, o fígado integra o sistema de defesa do organismo contra macromoléculas estranhas, como toxinas bacterianas e partículas, vírus e bactérias. Função hepática pode ser definida como a capacidade do fígado controlar a concentração de solutos nas veias hepáticas e na bile. O fígado é, portanto, um dos principais órgãos mantenedores do meio interno, apresentando arquitetura altamente especializada que otimiza os mecanismo de troca entre sangue e células hepáticas (SILVA et al., 1999).

O fígado situa-se na parte mais cranial do abdome, imediatamente atrás do diafragma. É a maior glândula do corpo que desempenha muitas funções essenciais à vida. Recebe uma irrigação sangüínea muito abundante através da artéria hepática, um ramo da artéria celíaca, e pela veia porta (OLIVEIRA et al., 1999b). Os componentes estruturais do fígado incluem (ROSS et al, 1995):

- hepatócitos, organizados como placas celulares;
- estroma de tecido conjuntivo;
- vasos sangüíneos, nervos, vasos linfáticos, e ducto biliar que passa pelo estroma;
- capilares sinusóides entre as placas de hepatócitos.

A unidade funcional básica do fígado é o lóbulo hepático, uma estrutura cilíndrica de vários milímetros de comprimento e 0,8 a 2mm de diâmetro. É construído em torno de uma veia central que deságua nas veias hepáticas e, a seguir, na veia cava (GUYTON & HALL, 1997).

Os hepatócitos constituindo placas hepatocelulares que se irradiam da veia central em direção centrífuga, como os raios de uma roda, estão organizados de forma a facilitar a troca de substâncias com o sangue e a eliminação de bile no duodeno, através de um sistema de canalículos e ductos (ROSS E ROMRELL, 1995).

Um aspecto de particular interesse do fígado é sua capacidade regenerativa e de reserva funcional, tornando-o um órgão ímpar na economia orgânica nos mamíferos em geral. Possui enorme capacidade de crescimento por hipertrofia e hiperplasia compensatórias após perda de tecido funcional. No animal jovem, o fígado cresce até que a relação peso do fígado/peso corporal atinja um platô variável de acordo com a espécie animal. No rato adulto, somente um hepatócito entre 10 a 20.000 apresenta atividade mitótica (KALIL, 1998).

O fígado, o mais importante centro de metabolismo lipídico, é amplamente responsável pela regulação dos níveis de lipídeo no organismo. Entre as suas importantes funções estão (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 1998):

- 1- Síntese de triglicerídeos a partir de ácidos graxos, carboidratos ou proteínas;
- 2- Síntese de outros lipídeos, assim como fosfolipídeos e colesterol;

- 3- Dessaturação de ácidos graxos (o ácido oléico monoinsaturado é o ácido predominante em tecido humano adiposo);
- 4- Catabolismo de triglicerídeos para ser usado como energia.

2.7.2- Circulação do fígado

Em 1666, Malpighi descreveu pela primeira vez microscopicamente, a circulação hepática. Suas observações somadas aos estudos de Harvey, publicados em 1651, formaram conceito sobre a estrutura e microcirculação hepáticas que, dois séculos mais tarde, ainda seria aceito. Em 1844, Johannes Müller, o pai da fisiologia moderna, aplica este conceito em seu “Textbook of Physiology”. Onze anos antes, em 1833, Kiernan havia descrito o que conhecemos hoje como lóbulo hepático clássico, estrutura hexagonal demarcada por espaços-porta. Em 1925, Löffler iniciou o estudo *in vivo* da microcirculação hepática, método que nas décadas seguintes passou a ser aplicado por vários pesquisadores. O conceito de lóbulo hepático clássico, descrito por Kiernan como a unidade hepática, não se adequa às observações destes pesquisadores, pois desrespeita princípios básicos de fisiologia circulatória. Em 1973, Rappaport descreveu a unidade hepática microcirculatória, fundamentando o conceito de ácino hepático como unidade hepática funcional (SILVA et al., 1999).

A maior parte do sangue que entra no sinusóide provém de vênulas portais. Esta entrada é geralmente guardada por esfíncter aferente, ou de entrada, composto por células sinusóides de revestimento. O sangue arterial entra no sinusóide principalmente através de ramos de arteríola hepática, denominados derivações artério-sinusóideais (*arteriosinus twigs*), que terminam no sinusóide, próximo da origem deste na vênula portal (SILVA et al., 1999).

A veia porta, que traz sangue que já passou através dos leitos capilares do trato alimentar, do baço e do pâncreas, contribui com aproximadamente 75% do volume sanguíneo que chega ao fígado. Este sangue é rico em substâncias nutritivas e outras igualmente absorvidas, mas é relativamente pobre em oxigênio. A artéria hepática, ramo do tronco celíaco, traz sangue bem

oxigenado e supre o fígado com os 25% restantes de sangue (WEISS ET AL., 1981).

Os sinusóides venosos são revestidos por dois outros tipos de células: (1) células endoteliais típicas e (2) grandes células de *Kupffer* (também denominadas células fagocitárias) que constituem um tipo de macrófago capaz de fagocitar bactérias e outras substâncias estranhas presentes no sangue dos seios hepáticos (GUYTON & HALL, 1997).

Como o sangue percorre os sinusóides da periferia para o centro dos lóbulos, as células hepáticas estão submetidas a um gradiente de composição sangüínea. As mais periféricas recebem primeiro tanto os nutrientes e oxigênio, como eventuais substâncias tóxicas trazidas pela veia porta e pela artéria hepática. Este fato explica as diferenças do comportamento entre as células centrolobulares e perilobulares, tanto em condições normais como em condições patológicas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995).

2.7.3- Esteatose

Esteatose é a deposição de glicérides (mono, di ou triglicérides, também chamados de gorduras neutras) no citoplasma de células que normalmente não os armazenam. É conhecida também como degeneração, infiltração ou metamorfose gordurosa, ou ainda como esteatose de gorduras neutras. A lesão é comum no fígado, no epitélio tubular renal e no miocárdio, mas pode ser observada também nos músculo esqueléticos e pâncreas. Os órgãos com esteatose apresentam aspectos morfológicos variáveis. O fígado aumenta de volume e peso (pode atingir 3 a 5 Kg) e tem consistência diminuída, bordas arredondadas e coloração amarelada. A esteatose é um processo reversível. Em etilistas crônicos, a lesão se reduz ou desaparece em poucos dias após a abstinência (BRASILEIRO-FILHO, 2000).

Muitas são as agressões capazes de produzir esteatose. A lesão aparece todas as vezes que um agente interfere no metabolismo lipídico da célula, aumentando sua síntese ou dificultando sua utilização, transporte ou excreção. Raramente o acúmulo lipídico decorre da captação de triglicérides do meio extracelular, como ocorre na nefrose lipoídica acompanhada de

lipidúria intensa. A esteatose é causada por agentes tóxicos, hipóxia, alterações na dieta e distúrbios metabólicos de origem genética (BRASILEIRO-FILHO, 2000).

A biópsia hepática e os procedimentos de imageamento, como a ultrasonografia e tomografia computadorizada, têm permitido a identificação de números crescentes de pacientes com gordura em excesso no fígado. Teoricamente, a esteatose hepática pode advir da gordura alimentar, transportada até o fígado como triglicerídios de cadeia média ou por meio de quilomícrons e lipólise de tecido adiposo (Figura 8). Ácidos graxos acumulam-se no fígado em razão de maior síntese mitocondrial ou de oxidação reduzida. Por fim, a exportação de triglicerídios do hepatócito requer acondicionamento com uma apoproteína, fosfolipídio e colesterol para formar lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL). O fígado também é responsável pela degradação de lipoproteínas. Portanto, a esteatose hepática pode decorrer de maior aporte de ácidos graxos para o fígado, aumento ou redução da oxidação de ácidos graxos ou defeito na remoção de triglicerídio como lipoproteínas de densidade muito baixa (SHERLOCK, 1991).

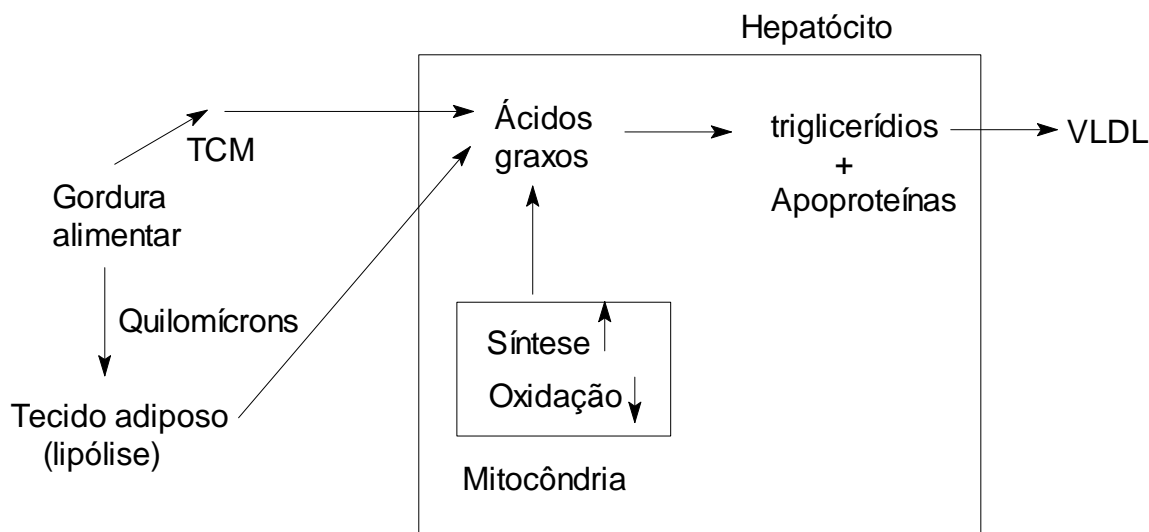


Figura 8 - Fatores envolvidos na esteatose hepática (SHERLOCK, 1991).

Nos estados de hipóxia (anemia, insuficiência cardíaca ou respiratória etc.), há redução da síntese de ATP. Nesse caso, a esteatose decorre em boa parte do aumento da síntese de ácidos graxos a partir do excesso de acetil CoA, cuja a oxidação no ciclo de Krebs está diminuída. Esses ácidos graxos encontram grande quantidade de α -glicerofosfato (originado da glicólise acelerada pela redução da síntese de ATP) e formam os triglicerídeos que se acumulam no citoplasma. A redução do ATP também dificulta a síntese de lipídeos complexos e diminui a utilização de ácidos graxos e triglicerídeos, favorecendo assim o acúmulo dos últimos (BRASILEIRO-FILHO, 2000).

Agentes tóxicos (p. ex. CCl_4) lesam o retículo endoplasmático granular e reduzem a síntese de proteínas, levando à esteatose por afetar a síntese de lipoproteínas. Embora síntese proteica deficiente possa resultar em esteatose, isso não é regra geral. Desnutrição proteica no adulto não induz esteatose semelhante à que se observa na infância, além de inibidores da síntese proteica nem sempre induzirem esteatose hepática. Por outro lado, inibidores da síntese proteica (p. ex., ácido orótico e puromicina) podem provocar esteatose através do bloqueio na utilização de triglicerídeos, sem que a síntese proteica tenha sido reduzida. É possível, portanto, que a esteatose na

carência de proteínas (desnutrição) ou síntese deficiente das mesmas (agentes tóxicos) tenha mecanismos mais complexos envolvendo os processos de conjugação dos lipídeos com as apoproteínas e sua posterior excreção (BRASILEIRO-FILHO, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com objetivo de testar o efeito da antocianina de uva e de repolho roxo no controle do metabolismo lipídico e sua toxicidade em coelhos da raça Nova Zelândia.

Os ensaios biológicos e as dosagens bioquímicas deste trabalho foram realizados no laboratório de Biofármacos, localizado na Vila Gianetti, pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa.

A análise histológica foi realizada no laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa e a quantificação das antocianinas foi feita no laboratório de Pigmentos e Secagem do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa.

3.1- Origem dos animais

Foram utilizados coelhos da raça Nova Zelândia, pesando em média 1400g, idade média de 8 semanas, fornecidos pela Cunicultura da Universidade Federal de Viçosa. No período de adaptação (cinco dias) e

durante todo período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo 120 gramas por dia de ração comercial da marca Guabi e água à vontade.

3.2 – Especificações da ração da marca Guabi

3.2.1 – Composição básica do produto

Farelo de fenos de gramíneas, milho, farelo de arroz, solvente, sorgo, farelo de arroz cru, farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, carbonato de cálcio, melaço líquido, sal, premix vitamínico e mineral e fosfato bicálcico.

3.2.2 – Enriquecimento por Kg de produto

Vitamina A	6.000 UI
Vitamina D ₃	700 UI
Vitamina E	30 UI
Tiamina	1,50 mg
Riboflavina	3 mg
Pantotenato de cálcio	15 mg
Niacina	35 mg
Colina	350 mg
Ácido fólico	1,4 mg
Vitamina B ₁₂	2 mcg
Antioxidantes (etoxiquim)	125 mg
Antibiótico	50 mg
Agente anticoccidiano	30 mg
Cobre	5 mg
Iodo	0,3 mg
Manganês	10 mg
Zinco	60 mg
Cobalto	0,1 mg
Ferro	35 mg

3.2.3 – Níveis de garantia

Nutrientes	%
Umidade (máx.)	13,00
Proteína bruta (mín.)	13,00
Extrato etéreo (mín.)	1,50
Matéria fibrosa (máx.)	17,00
Matéria mineral (máx.)	16,00
Cálcio (máx.)	2,00
Fósforo (mín.)	0,45

3.3- Corantes naturais testados

Os corantes utilizados neste trabalho foram cedidos pela Christian Hansen Ind. e Comércio Ltda.

Os corantes em pó hidrossolúveis foram produzidos a partir da extração aquosa da casca de uva e do repolho roxo e os extratos resultantes, foram concentrados sob vácuo. Em valores de pH abaixo de 5,0, as tonalidades variam de vermelho framboesa ao roxo. Em valores de pH maiores que 5,0, variam de vermelho azulada a azul.

Registro no MS Prot. nº 25004.1201133/99.

Autorização de Uso DIPOA/MAARA nº 361/98

3.4 – Quantificação de antocianina

O procedimento para quantificação de antocianina da uva e do repolho roxo foi o mesmo descrito por FULEKI e FRANCIS (1968). As leituras de absorvância foram realizadas em um espectrofotômetro (U-2001 Spectrophotometer Hitachi), no comprimento de onda de máxima absorção (545 nm). Para o cálculo do conteúdo de antocianinas totais foi utilizado um

coeficiente de extinção médio ($E^{1\%}$) de varias antocianinas, sendo este igual a 982, cujo o teor de antocianina da uva roxa foi de 34,76 mg/100g e do repolho roxo 57,49 mg/100g.

3.5 – Modelo experimental do primeiro ensaio biológico

3.5.1- Hiperlipidemia induzida por colesterol mais ácido cólico

Para os ensaios biológicos, realizados com o objetivo de testar o efeito da antocianina de uva e de repolho roxo, em três doses (50mg, 100mg e 150mg), foram utilizados coelhos machos. Os animais foram distribuídos ao acaso em 5 grupos experimentais, contendo 6 animais cada um, sendo que os animais receberam os seguintes tratamentos para cada substância teste:

Grupo 1 - Ração

Grupo 2 - Ração + Colesterol (1%) + Ácido cólico (0,1%)

Grupo 3 - Ração + Colesterol (1%) + Ácido cólico (0,1%) + Antocianina 50 mg

Grupo 4 - Ração + Colesterol (1%) + Ácido cólico (0,1%) + Antocianina 100 mg

Grupo 5 - Ração + Colesterol (1%) + Ácido cólico (0,1%) + Antocianina 150 mg

Para induzir a hiperlipidemia, foi administrado diariamente, juntamente com a ração, 1% de colesterol + 0,1% de ácido cólico em relação ao peso da ração diária, num período de 30 dias.

As doses de antocianinas foram fornecidas em cápsulas, diariamente, por via oral, durante 30 dias.

No tempo zero e após o décimo quinto e trigésimo dias foram monitorados os pesos dos animais e coletadas amostras de sangue efetuada pelo plexo venoso retro orbital utilizando-se capilar. Os animais encontravam-se em jejum de doze horas. Em seguida, foram centrifugadas à 7100 x G, durante 15 minutos, para obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparametrico Bioquímica (Alizé), utilizando-se os Kits Biolab e os resultados expressos em mg/dL de colesterol, colesterol-HDL e triacilgliceróis.

3.5.2 – Análise estatística

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, no esquema em parcela subdividida, em que as parcelas foram constituídas pelas dietas (G1= ração; G2= ração + colesterol + ácido cólico (RCAC); G3, G4 e G5= RCAC + 50, 100 e 150 mg de antocianina, respectivamente, em seis repetições. As parcelas foram constituídas pelo tempo de avaliação (0, 15 e 30 dias).

A comparação das dietas com a dieta-controle (G2) foi feita por meio do teste de Dunnet, a 5% de probabilidade.

As médias de colesterol total, colesterol-HDL e triacilglicerol em função do tempo, para animais tratados em diferentes doses de antocianina de repolho roxo e uva roxa foram apresentadas em gráficos, na forma descritiva, onde as barras significam erro padrão.

3.6- Modelo experimental do segundo ensaio biológico

A toxicidade aguda (doses repetidas) é uma avaliação estimativa e preliminar das propriedades tóxicas de uma substância, fornecendo informações acerca dos riscos para a saúde, resultantes de uma exposição de doses repetidas, pela via selecionada, mas de curta duração. Serve também de base para o estabelecimento de um regime de doses para as pesquisas sobre a toxicidade subcrônica e outros estudos, fornecendo informações iniciais do modo de ação tóxico da substância-teste. O nível de dose deve ser estabelecido para pelo menos três doses suficientemente espaçadas para mostrar diferenças na gradação dos efeitos tóxicos. Exceção feita à exposição da droga-teste, o grupo-controle, tendo o mesmo número de animais de cada uma das doses, deve ser tratado de maneira idêntica aos demais grupos de ensaio (BRITO, 1994).

A substância-teste é administrada diariamente, em diferentes doses, pela via escolhida, a vários grupos de animais de experiência, a razão de uma dose por grupo, durante um período de 14 ou 28 dias. Os efeitos são diariamente observados, anotando-se qualquer manifestação tóxica ocorrida em cada uma das doses. Os animais que morrem no decorrer da experiência

são autopsiados para a determinação da causa mortis; aqueles que sobrevivem são sacrificados e autopsiados, se necessário (BRITO, 1994).

3.6.1- Toxicologia aguda (Doses repetidas)

O segundo ensaio biológico foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito toxicológico das três doses estabelecidas (50 mg, 100 mg e 150 mg de antocianinas da uva e do repolho roxo) em coelhos da raça Nova Zelândia no período de 30 dias.

Os animais foram distribuídos ao acaso, em quatro grupos experimentais, contendo seis animais cada um, sendo três fêmeas e três machos, sendo que os animais receberam os seguintes tratamentos para cada substância teste:

Grupo 1= Ração

Grupo 2 = Ração + antocianina 50 mg

Grupo 3= Ração + antocianina 100 mg

Grupo 4= Ração + antocianina 150 mg

As doses de antocianina foram fornecidas em cápsulas, diariamente, por via oral, durante 30 dias.

Após décimo quinto e trigésimo dias foram coletadas amostras de sangue dos animais efetuada pelo plexo venoso retro orbital utilizando-se capilar. Os animais encontravam-se em jejum de doze horas. Em seguida, foram centrifugadas à 7100 x G, durante 15 minutos, para obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparamétrico Bioquímica (Alizé), utilizando-se os Kits Biolab. Os animais foram pesados no primeiro dia do experimento, no décimo sexto e trigésimo primeiro.

Foram dosados os níveis séricos de colesterol total (mg/dL), colesterol-HDL (mg/dL), triacilgliceróis (mg/dL), cloro (mmol/L), creatinina (mg/dL), proteínas (g/L), cálcio (mg/dL), fósforo (mg/dL), glicose (mg/dL) e albumina (g/dL).

3.6.2- Análise estatística

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, no esquema em parcela subdividida, em que as parcelas foram constituídas por dois sexos e pelas dietas (G1= ração e G2, G3 e G4= ração + 50, 100 e 150 mg de antocianina extraída de uva e repolho roxo, respectivamente), em três repetições. As parcelas foram constituídas pelo tempo de avaliação (15 e 30 dias).

Os dados de colesterol total, colesterol-HDL, triacilgliceróis, glicose, creatinina, albumina, proteínas, cálcio, fósforo e cloro foram submetidos à análise de variância e teste F ($P < 0,05$ e $P < 0,01$).

A comparação das dietas com a dieta-controle (G1) foi feita por meio do teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

As médias de colesterol total, colesterol-HDL, triacilglicerol, glicose, creatinina, albumina, proteínas, cálcio, fósforo e cloro em função das doses de antocianina de repolho roxo e uva roxa/tempo, para diferentes sexos, foram apresentadas em gráficos, na forma descritiva, onde as barras significam erro padrão.

3.7- Dosagens dos parâmetros bioquímicos

3.7.1- Albumina

A albumina sérica foi dosada colorimetricamente com verde de bromo cresol como indicador à pH igual a 4,2.

Foi colocado no equipamento uma solução contendo o verde de bromo cresol a 0,14g/L, tampão succinato a 75 mmol/L, Brij 35 a 7ml/L e mertiolate de sódio a 0,01% e separadamente os soros dos animais a serem analisados em um comprimento de onda de 628 nm, sendo o resultado expresso em mg/dL de albumina no soro sanguíneo.

3.7.2- Cálcio

A dosagem colorimétrica do cálcio sérico sem desproteinização é determinada pelo indicador azul de metiltimol. Esta análise é feita com adição do 8-hidroxiquinoleína para que se possa evitar a interferência dos íons magnésio até uma concentração de 10 mg/dL.

Foi colocada no equipamento separadamente, uma solução alcalina contendo 8-hidroxiquinoleína, outra solução do indicador azul de metiltimol e soros a serem analisados em um comprimento de onda de 612 nm em mg/dL de cálcio no soro sanguíneo.

3.7.3- Colesterol

Análise colorimétrica do colesterol baseia-se na transformação do colesterol esterificado em colesterol e ácidos graxos, mediado pela colesterol esterase. O colesterol formado é oxidado pela colesterol oxidase em colesten-4-on-3, liberando água oxigenada, que juntamente com o fenol e amino-4-antipirina, pela ação da peroxidase, são transformados em cromogênio (que absorve em 500 nm) e em água, sendo as equações:

Colesterol esterificado $\xrightarrow{\text{colesterol esterase}}$ colesterol + ácido graxo

Colesterol $\xrightarrow{\text{colesterol oxidase}}$ colesterol-4-ona-3 + H₂O₂

2 H₂O₂ + fenol + amino-4-antipirina $\xrightarrow{\text{peroxidase}}$ cromogênio + 4 H₂O

Foi colocada no equipamento uma solução tampão fosfato, pH 7,00 a 0,01 mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros a serem analisados em um comprimento de onda de 500 nm em mg/dL de colesterol no soro sanguíneo.

3.7.4- Colesterol-HDL

O método de dosagem baseia-se na precipitação dos quilomícrons e das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de baixa densidade (LDL) contidos no soro a ser analisado, pela adição do ácido fosfotúngstico em presença do íon magnésio. O sobrenadante obtido por centrifugação contém as lipoproteínas de alta densidade (HDL), e o colesterol presente nesta

lipoproteína foi determinado pelo mesmo processo já descrito na dosagem de colesterol.

3.7.5- Creatinina

A determinação cinética da creatinina sem a desproteinização, consiste em medir o composto formado durante um minuto da reação entre a creatinina e o ácido pícrico, em meio alcalino. O composto formado por esta reação absorve em um comprimento de onda de 492 nm.

Foi colocada no equipamento uma solução alcalina contendo 0,4 mol/L de hidróxido de sódio com 50 mmol/L de fosfato de sódio, misturado com igual volume a uma solução 8,8 mmol/L de ácido pícrico e separadamente os soros a serem analisados em um comprimento de onda de 492 nm em mg/dL de creatinina no soro sangüíneo.

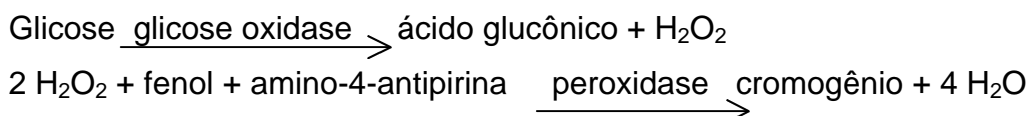
3.7.6- Fósforo

Os íons fosfato em meio ácido formam com o molibdato amônio um complexo fosfomolibdico cuja absorvância a 340 nm é proporcional à concentração dos íons fosfatos da amostra.

Foi colocada no equipamento uma solução contendo ácido sulfúrico a 200 mmol/L, hepta-molibdato amônio detergente a 0,8 mmol/L e separadamente os soros a serem analisados em um comprimento de onda de 340 nm em mg/dL de fósforo no soro sangüíneo.

3.7.7- Glicose

A glicose presente na amostra é dosada segundo o esquema seguinte:



Foi colocada no equipamento uma solução contendo as enzimas hidratadas com a solução tampão e separadamente os soros a serem analisados em um comprimento de onda de 505 nm em mg/dL de glicose no soro sangüíneo.

3.7.8- Proteínas totais

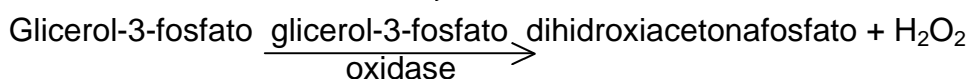
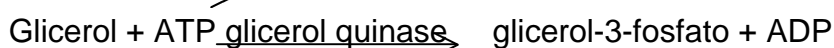
As proteínas totais do soro foram dosadas colorimetricamente pelo método de Biureto, que consiste em complexar a proteína com sais de cobre em meio alcalino, formando um complexo de coordenação entre o íon cúprico e quatro grupos NH das cadeias peptídicas. Este complexo absorve em um comprimento de onda de 545 nm.

Foi colocada no equipamento uma solução alcalina a 245 mL contendo 0,2 mol/L de hidróxido de sódio, 5 g/L de iodeto de potássio e 9g/L de tartarato de sódio e potássio, misturado com 5 mL de uma solução de 150g/L de sulfato de cobre e separadamente os soros a serem analisados em um comprimento de onda de 545 nm em mg/dL de proteínas totais no soro sanguíneo.

3.7.9- Triacilgliceróis

A dosagem dos triacilgliceróis (TAG) séricos foi feita por via inteiramente enzimática. A lipase degrada os triacilgliceróis em glicerol mais ácidos graxos. O glicerol obtido reage com ATP, em presença da glicerolquinase, obtendo glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3-fosfato é oxidado a dihidroxiacetonafosfato, pela glicerol-3-fosfato oxidase, liberando água oxigenada. A água oxigenada, juntamente com paraclorofenol e amino-4-antipirina, em presença da peroxidase, transforma-se no cromogênio (que absorve em 505 nm), liberando água.

As equações foram as seguintes:



Foi colocada no equipamento uma solução tampão, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros a serem analisados em um comprimento de onda de 505 nm em mg/dL de triacilgliceróis no soro sanguíneo.

3.7.10 – Cloreto

Os íons cloreto reagem com tiocianato de mercúrio formando cloreto de mercúrio e íons tiocianato, que reagem com os íons férrico formando tiocianato férrico, de cor amarela (que absorve em 470 nm), proporcional à concentração de cloretos na amostra de soro. Para esta dosagem, utilizaram-se, também, o “Kit” da marca BIOLAB e o aparelho Alizé.

3.8- Análise Histológica

Os animais utilizados no experimento de hiperlipidemia induzida e toxicologia foram sacrificados ao final dos ensaios biológicos, quando um fragmento de fígado de cada animal foi removido, lavado rapidamente em solução de cloreto de sódio 0,9% e imediatamente fixado por imersão em glutaraldeído 2% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4. Após vinte e quatro horas descartou-se o fixador e adicionou-se somente tampão fosfato 0,1M, pH7,4 até cobrir todo o fragmento hepático.

Para as análises em microscopia de luz realizou-se a desidratação dos fragmentos, de aproximadamente 3mm de espessura, em série crescente de álcoois (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, absoluto I e II), ficando por trinta minutos em cada álcool. Em seguida esses fragmentos sofreram inclusão em resina plástica glicol metacrilato (Historesin, Leica) . Os cortes de 4µm obtidos em micrótomo (Reichert-Jung 2045) com navalha de vidro, foram coletadas individualmente em uma lâmina e corados com azul de toluidina 0,5% - borato de sódio 1%. As preparações histológicas foram montadas em Entellan (Merck) e analisadas em microscópio Olympus BX50.

As micrografias foram feitas em Fotomicroscópio Olympus AX-70, utilizando filme Kodacolor Gold 100 asa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Modelo experimental do primeiro ensaio biológico – Hiperlipidemia induzida

4.1.1 – Efeito dos corantes da antocianina do repolho roxo e uva roxa nos níveis de colesterol total séricos

As médias das concentrações de colesterol total sanguíneo de coelhos machos, obtidos durante o período experimental de 30 dias para a antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 1.

A indução da hipercolesterolemia foi observada durante as dosagens referentes aos 15 dias e 30 dias de tratamento. Estes resultados foram confirmado a partir da análise do grupo 2 onde foi utilizado ração, colesterol 1% e ácido cólico 0,1%. Observa-se que durante os 30 dias de experimento, os animais apresentaram hipercolesterolemia, no qual o colesterol do grupo 2 variou de 137,02 (tempo 0) para 689,52 (tempo 30) para antocianina do repolho roxo. Para a antocianina da uva roxa essa variação foi de 140,64 (tempo 0) para 1040,12 (tempo 30) (Quadro 1).

Quadro 1 – Valores médios de colesterol total, em mg/dL, de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	n	Dietas	Colesterol total	% variação	Colesterol total	% variação
				(mg/dL)	(RCAC)	(mg/dL)	(RCAC)
				Repolho roxo	Repolho roxo	Uva roxa	Uva roxa
0	G ₁	6	Ração (R)	114,06	-	125,12	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	137,02	-	140,64	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	125,30	- 8,55	172,44	+ 22,61
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	124,83	- 8,90	115,77	- 17,68
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	143,41	+ 4,66	101,26	- 28,00
15	G ₁	6	Ração (R)	117,52	-	115,45	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	444,07	-	520,77	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	264,76	- 40,38*	396,22	-23,92
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	274,75	-38,13*	163,92	- 68,52*
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	268,14	- 39,62*	286,06	- 45,07*
30	G ₁	6	Ração (R)	111,85	-	93,92	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	689,52	-	1040,12	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	322,80	- 53,18*	422,02	- 59,42*
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	524,88	- 23,88*	555,25	- 46,62*
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	416,30	-39,62*	252,97	- 75,68*

* Estatisticamente diferente do grupo 2 (controle) pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.
n = nº de repetições

Esse aumento observado para a antocianina de uva roxa pode ter sido devido ao maior ganho de peso desses animais e portanto com maior consumo da ração adicionada colesterol e ácido cólico o que levou a um maior índice de colesterol nesse grupo (RCAC), ou seja, aos 30 dias os coelhos apresentaram colesterol total de 1040,12. Este mesmo grupo teve um ganho de peso de 783g enquanto o grupo RCAC da antocianina do repolho roxo apresentou, ganho de peso de 699g.

Estudos feitos por Costa (1992) citado por ROSA (1996) demonstraram que 1% de colesterol mais 0,1% de ácido cólico adicionado à dieta foram eficazes em induzir hipercolesterolemia moderada em ratos.

MELLO (2001) demonstrou que 0,5% de colesterol mais 0,1% de ácido cólico foram eficientes para induzir a hipercolesterolemia em coelhos.

Segundo Radcliffe e Liebsch (1985) citado por SILVA (2000) o ácido cólico da dieta tem mostrado atuar sinergicamente com o colesterol dietético para induzir o aumento dos níveis de colesterol plasmático. O ácido cólico atua aumentando absorção de colesterol e inibe a conversão de colesterol a ácidos biliares, o que resulta no aumento nos níveis de colesterol sangüíneo.

Fekete (1991) citado por LOPES (2001) comprovou a propensão de alta colesterolemia promovida em coelhos, a partir de uma dieta rica em colesterol e que esses roedores são úteis como modelos de estudo do metabolismo de colesterol.

Verifica-se pelo Quadro 1, quanto a antocianina do repolho roxo, que na dosagem de 15 dias, os níveis séricos de colesterol total do grupo 3, 4 e 5 tiveram uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade, com valores percentuais de 40,38%, 38,13% e 39,62%, respectivamente, quando comparados ao grupo 2. Aos 30 dias essa redução foi mais acentuada para o grupo 3 (53,18%) e nos grupos 4 e 5 com valores de 23,88% e 39,62%, respectivamente, sendo estatisticamente significativo pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Para a antocianina da uva roxa, verifica-se pelo Quadro citado, uma percentagem de redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% probabilidade para o grupo 4 de 68,52% e grupo 5 de 45,07%, aos

15 dias de tratamento, quando comparado com o grupo 2 (controle). Aos 30 dias essa redução foi significativa pelo teste Dunnett, ao nível de probabilidade, para os grupos 3, 4 e 5 com valores percentuais de 59,42%, 46,62% e 75,68%, respectivamente.

As Figuras 1 e 2 mostram as médias dos níveis de colesterol total em função do tempo, para animais tratados com diferentes dose de antocianina do repolho roxo e uva roxa, respectivamente.

Pode-se observar pela Figura 1 e 2 que as dose de 50, 100 e 150mg de antocianina do repolho roxo e uva roxa reduziram a concentração de colesterol total em relação ao grupo controle (RCAC) no tempo de 15 e 30 dias, sendo que, a dose de 50 mg de antocianina do repolho roxo aos 15 e 30 dias (Figura 1) e a dose de 100 mg de antocianina de uva roxa em 15 dias de tratamento (Figura 2) apresentaram uma menor concentração de colesterol total.

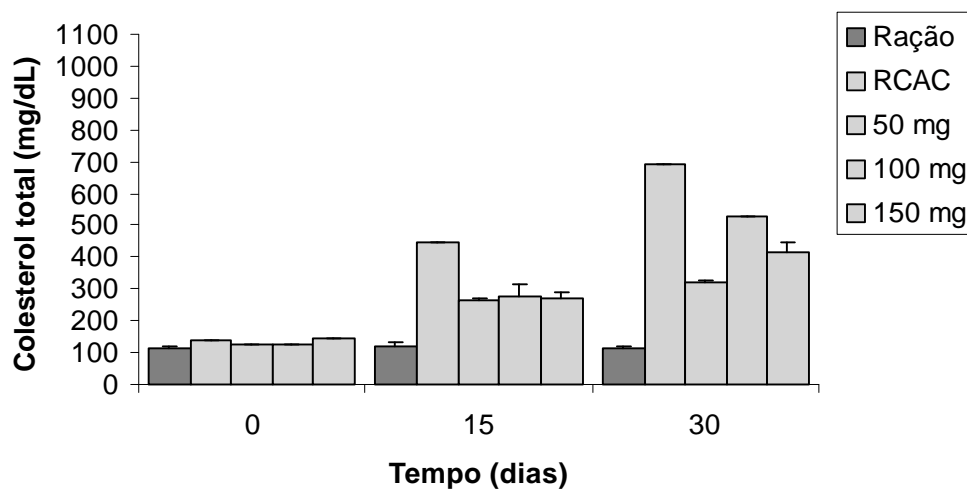


Figura 1 – Médias de colesterol total de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de repolho roxo, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

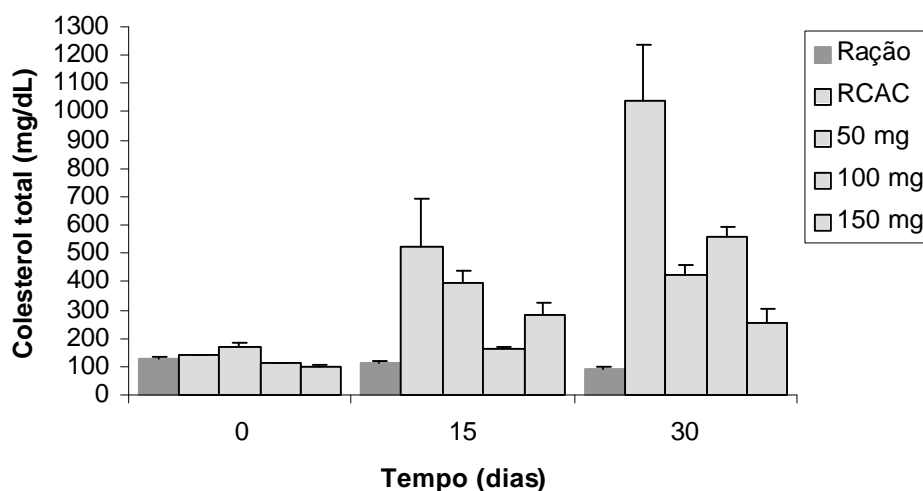


Figura 2 – Médias de colesterol total de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de uva roxa, em função do tempo. As barras significam erro padrão

Os resultados evidenciam o efeito hipolipidêmico das substâncias testadas em coelhos machos hiperlipidêmicos, induzidos por colesterol e ácido cólico.

O efeito de redução dos níveis elevados de colesterol sanguíneo é considerado de extrema importância no organismo humano, devido a já estabelecida relação entre níveis elevados de colesterol e aterosclerose, levando ao surgimento de doenças vasculares cardíacas encefálicas e periféricas, de grande incidência em nossa população.

O mecanismo de ação proposto para justificar estes efeitos passa pelos fatos já comprovados que flavonóides podem aumentar a excreção de sais biliares nas fezes. Por outro lado, eles também podem promover o aumento da atividade do sistema microsomal hepático, conseqüentemente aumentando o metabolismo lipídico (MACDONALD, 1983).

KIRK et al. (1998), por sua vez, sugerem que o aumento da atividade dos receptores de LDL, provocada pelos flavonóides, seja um dos responsáveis pela redução dos níveis de colesterol.

KAYAMORI e IGARASHI (1994) observaram em ratos alimentados com dieta rica em colesterol que ao administrar a nasunina (Delfinidina-3-(p-

coumaroilrutinasídeo)-5glicosídeo), uma antocianina isolada da casca de berinjela, houve uma redução nos níveis de colesterol total.

Igarashi et al. (1998) citado por FRINHANI (1998), ao estudarem a antocianina de Atsumi-Kabu (*Brassica campestris L.*) e seus efeitos no nível de colesterol de ratos, indicaram uma redução do colesterol total em ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol e ácido cólico.

4.1.2 – Efeito dos corantes de antocianina do repolho roxo e uva roxa nos níveis de colesterol-HDL séricos

As médias das concentrações de colesterol-HDL sanguíneo de coelhos machos, obtidos durante o período experimental de 30 dias para a antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostos no Quadro 2.

O nível plasmático de colesterol-HDL do grupo 4 e 5 no período de 30 dias de tratamento com antocianina do repolho roxo teve um aumento estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade com valores percentuais de 711,98% e 374,87%, respectivamente, quando comparado com o grupo 2. Para a antocianina da uva roxa foi observado uma redução aos 15 dias de tratamento para os grupos 4 e 5 com valores percentuais de 24,28% e 39,38%, respectivamente, sendo estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

As Figuras 3 e 4 mostram as médias dos níveis de colesterol-HDL em função do tempo, para animais tratados com diferentes doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa, respectivamente.

Pela Figura 3, observa-se que aos 15 dias de tratamento não houve alterações relevantes no nível sérico de colesterol-HDL para as três doses estudadas em relação ao grupo controle (RCAC). Somente foi verificado uma alteração deste constituinte aos 30 dias de tratamento para a dose de 100 mg e 150 mg, sendo que, a dose de 100 mg de antocianina de repolho roxo apresentou um maior aumento no nível de colesterol-HDL.

Quadro 2 – Valores médios de colesterol-HDL, em mg/dL, de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	n	Dietas	Colesterol-HDL	% variação	Colesterol-HDL	% variação
				(mg/dL)	(RCAC)	(mg/dL)	(RCAC)
				Repolho roxo	Repolho roxo	Uva roxa	Uva roxa
0	G ₁	6	Ração (R)	45,02	-	45,46	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	37,79	-	45,85	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	36,67	- 2,96	54,30	+ 18, 43
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	63,99	+ 69,33	51,29	+ 11,86
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	41,69	+ 10,32	49,85	+ 8,72
15	G ₁	6	Ração (R)	29,62	-	46,82	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	50,83	-	73,03	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	42,60	- 16,19	63,25	- 13,39
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	45,24	- 10,99	55,30	- 24,28*
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	41,58	- 18,20	44,27	- 39,38*
30	G ₁	6	Ração (R)	36,82	-	40,86	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	54,92	-	54,66	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	55,38	+ 0,84	62,47	+ 14,29
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	445,94	+ 711,98*	51,32	- 6,11
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	260,80	+ 374,87*	48,29	- 11,65

* Estatisticamente diferente do grupo 2 (controle) pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

n = nº de repetições

Em relação à Figura 4, quanto a antocianina da uva roxa, certifica-se aos 15 dias uma diminuição da concentração do colesterol-HDL à medida que aumentavam as doses, quando comparado ao grupo controle (RCAC). Aos 30 dias verifica-se que o grupo que recebeu 50 mg de antocianina de uva roxa apresentou um aumento deste constituinte em relação ao controle (RCAC)

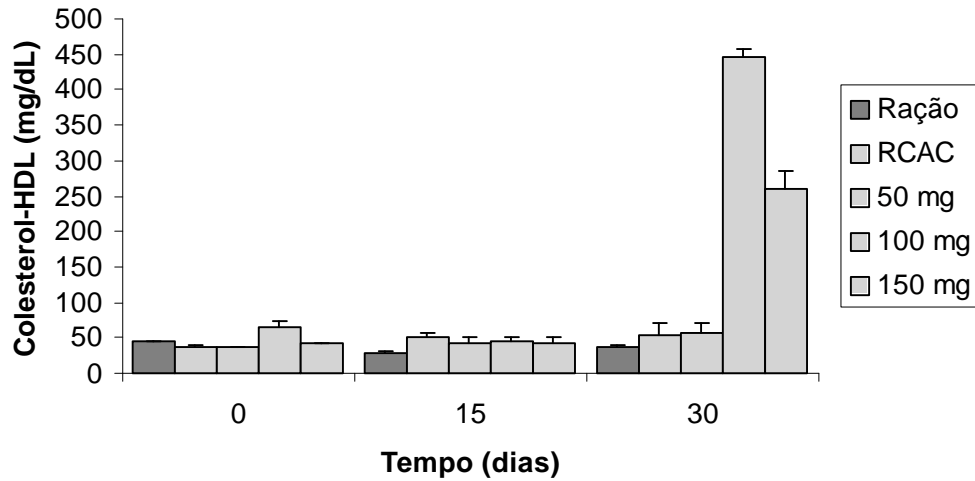


Figura 3 – Médias de colesterol-HDL de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de repolho roxo, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

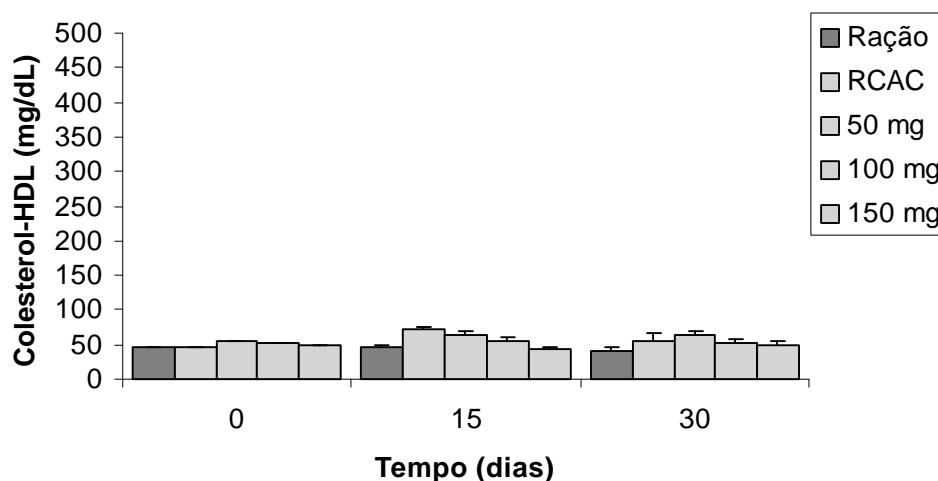


Figura 4 – Médias de colesterol-HDL de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de uva roxa, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

A elevação dos níveis de HDL no organismo humano é considerado um fator preventivo no processo de acumulação de colesterol na corrente sangüínea, visto que as lipoproteínas de alta densidade são responsáveis pelo transporte reverso de colesterol, ou seja, transportam o colesterol das células periféricas para o fígado, onde o seu excesso pode ser metabolizado (MARINETTI, 1990).

KAYAMORI e IGARASHI (1994) observaram um aumento nos níveis de colesterol-HDL ao administrar uma antocianina isolada da casca de berinjela.

Igarashi et al (1990) citado por FRINHANI (1998) que ao estudarem a antocianina de Atsumi-Kabu (*Brassica campestris L.*) verificaram um aumento no nível de colesterol-HDL em ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol e ácido cólico.

4.1.3 – Efeito dos corantes de antocianina do repolho roxo e uva roxa nos níveis de triacilgliceróis séricos.

As médias das concentrações de triacilglicerol sangüíneo de coelhos machos, obtidos durante o período experimental de 30 dias para a antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostos no Quadro 3, respectivamente.

Quadro 3 – Valores médios de triacilglicerol, em mg/dL, de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	n	Dietas	Triacilglicerol	% variação	Triacilglicerol	% variação
				(mg/dL)	(RCAC)	(mg/dL)	(RCAC)
				Repolho roxo	Repolho roxo	Uva roxa	Uva roxa
0	G ₁	6	Ração (R)	196,84	-	155,51	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	311,58	-	151,40	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	270,10	- 13,31	153,38	+ 1,31
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	419,45	+ 34,62*	188,27	+ 24,35
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	161,57	- 48,14*	115,52	- 23,70
15	G ₁	6	Ração (R)	132,13	-	93,65	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	97,69	-	164,75	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	81,92	- 16,14	158,78	- 3,62
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	73,32	- 24,95	108,70	- 34,02*
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	86,20	- 11,76	108,96	- 33,86*
30	G ₁	6	Ração (R)	94,87	-	84,98	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	90,83	-	99,43	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	61,33	-32,48	89,69	- 9,79
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	60,02	-33,92	72,18	- 27,41
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	59,25	-34,77	84,77	- 14,74

* Estatisticamente diferente do grupo 2 (controle) pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.
n = nº de repetições

Pelos resultados apresentados, observa-se pelo Quadro 3, em relação a antocianina do repolho roxo, que o grupo 4 quando comparado ao grupo 2 teve um aumento de 34,62% e o grupo 5 uma redução de 48,14% no tempo 0, sendo estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Apesar de haver uma redução de 34,77% do nível plasmático de triacilglicerol do grupo 5 (30 dias), em relação ao grupo 2, esta redução não foi estatisticamente significativa. O efeito de redução nos níveis séricos de triacilgliceróis foi também verificado no decorrer de 30 dias de tratamento. Observa-se pelo Quadro 3, que no tempo zero o valor médio de triacilglicerol para o grupo 4 é igual 419,45 passando para 60,02 aos 30 dias de tratamento.

Verifica-se para a antocianina de uva roxa (Quadro 3) uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade para o grupo 4 de 34,02% e o grupo 5 de 33,86%, aos 15 dias. Verifica-se também que ao decorrer de 30 dias, o grupo 4 apresentou valor médio de triacilglicerol de 188,27 (tempo 0) sendo que no final do experimento o valor médio apresentado é de 72,18 (tempo 30).

As Figuras 5 e 6 mostram as médias dos níveis de triacilgliceróis em função do tempo, para animais tratados com diferentes doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa, respectivamente.

Observa-se que o nível plasmático de triacilglicerol para os grupos que receberam 50, 100 e 150 mg de antocianina de repolho roxo e uva roxa no período de 15 e 30 dias apresentaram uma redução, quando comparados com o grupo controle (RCAC). Sendo que, o efeito de redução é mais intensificado no grupo que recebeu 100 mg de antocianina de repolho roxo e uva roxa, aos 15 e 30 dias de tratamento (Figura 5 e 6).

O efeito de redução de níveis elevados de triacilgliceróis séricos foi também verificado por VALENTE (1998) que pesquisou o efeito dos corantes naturais cúrcuma, antocianina, carmim e monascus nos níveis de triacilgliceróis sanguíneos em ratos hipercolesterolêmicos nas doses de 40 e 80 mg/kg de peso, observando uma redução nos níveis sérico desse parâmetro para os corantes naturais cúrcuma, antocianina e monascus não se observando, entretanto, diferença significativa, quanto a esse efeito entre as doses de 40 e 80 mg.

NAGEM et al. (1999), estudando os efeitos de alguns flavonóides, entre eles a antocianina, no metabolismo lipídico de ratos com hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia induzida por triton, verificaram redução estatisticamente significativa dos níveis de triacilgliceróis e colesterol.

BOK et al. (1999), estudando os efeitos da mistura de dois flavonóides (naringina + hesperidina) em ratos machos, verificaram redução considerável no nível de triacilgliceróis do fígado.

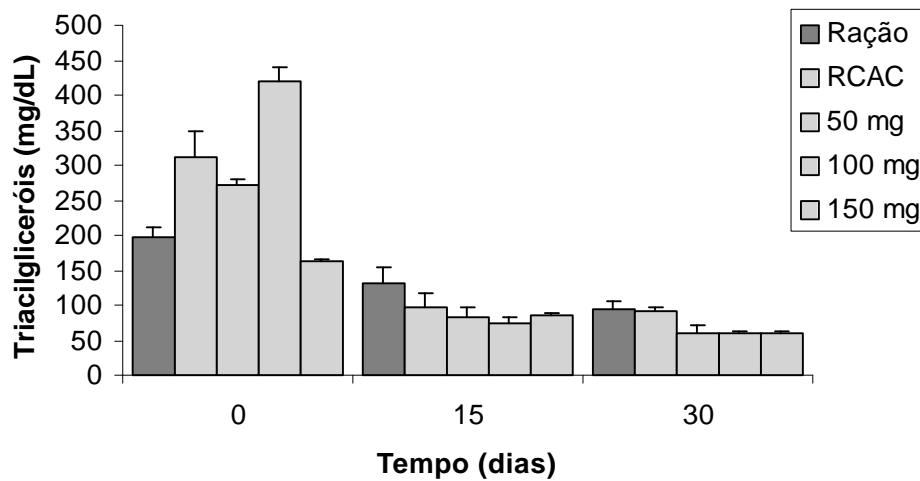


Figura 5 – Médias de triacilglicerol de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de repolho roxo, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

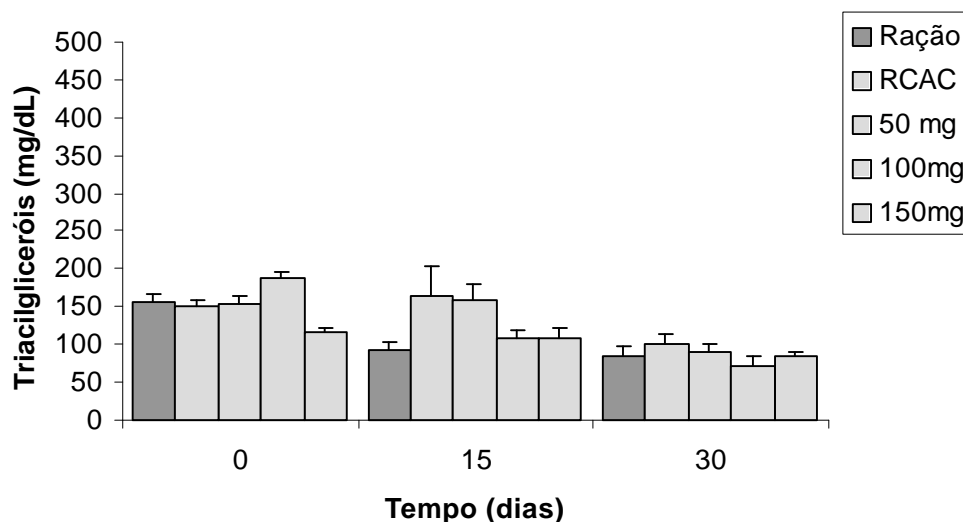


Figura 6 – Médias de triacilglicerol de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de uva roxa, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

4.1.4 – Avaliação dos pesos dos animais na hipercolesterolemia

As médias dos pesos de coelhos machos, obtidos durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no Quadro 4.

Observa-se pelo Quadro 4, um aumento não estatisticamente significativo no grupo 4 de 9,30% (15 dias) para a antocianina do repolho roxo e para antocianina de uva roxa no grupo 5 de 8,65% (0 dias), em relação ao grupo 2.

As Figuras 7 e 8 mostram as médias dos pesos em função do tempo, para animais tratados com diferentes doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa, respectivamente.

Verifica-se pelas Figuras 7 e 8 que cada grupo apresentou um ganho de peso em relação ao tempo de tratamento. Pode-se observar também pela Figura 7 que aos 15 e 30 dias de tratamento o grupo que recebeu 100 mg de antocianina do repolho roxo e o grupo que recebeu 150 mg de uva roxa (Figura 8) apresentaram um peso maior do que o grupo controle (RCAC), pode-se portanto associar tal fato à não ingestão de corante, pois os outros grupos

Quadro 4 – Pesos médios, em Kg, de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	n	Dietas	Pesos	% variação	Pesos	% variação
				(Kg) Repolho roxo	(RCAC) Repolho roxo	(Kg) Uva roxa	(RCAC) Uva roxa
0	G ₁	6	Ração (R)	1,608	-	1,395	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	1,596	-	1,457	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	1,553	- 2,69	1,395	- 4,25
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	1,733	+ 8,58	1,453	- 0,27
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	1,612	+ 1,00	1,583	+ 8,65
15	G ₁	6	Ração (R)	1,863	-	1,773	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	1,956	-	1,819	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	1,929	- 1,38	1,702	- 6,43
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	2,138	+ 9,30	1,668	- 8,30
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	1,938	- 0,92	1,876	+ 3,13
30	G ₁	6	Ração (R)	2,091	-	2,162	-
	G ₂	6	R + Colesterol + ácido cólico (RCAC)	2,295	-	2,240	-
	G ₃	6	RCAC + 50 mg de antocianina	2,201	- 4,09	2,114	- 5,62
	G ₄	6	RCAC + 100 mg de antocianina	2,459	+ 7,14	2,184	- 2,50
	G ₅	6	RCAC + 150 mg de antocianina	2,228	- 2,92	2,299	+ 2,63

* Estatisticamente diferente do grupo 2 (controle) pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.
n = nº de repetições

tratados não apresentaram aumento. Uma justificativa seria que no tempo zero estes grupos já apresentavam um peso maior do que os outros grupos, sendo que, o grupo que recebeu 100 mg de antocianina do repolho roxo (Figura 7) apresentou um peso médio de 1,733 kg (tempo zero) e o grupo que recebeu 150 mg de uva roxa (Figura 8) apresentou um peso médio de 1,583 kg (tempo zero). Chegando ao final do experimento com um peso médio de 2,459 Kg para antocianina de repolho roxo e 2,299 Kg para a antocianina de uva roxa.

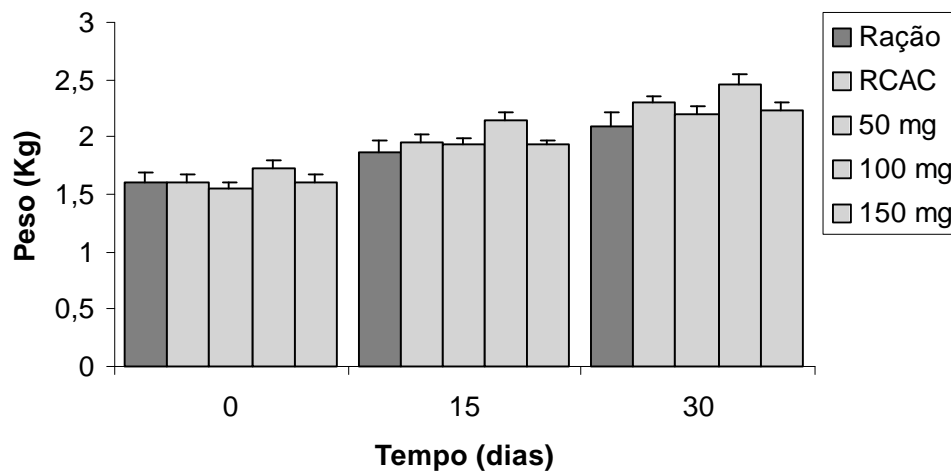


Figura 7 – Médias dos pesos de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de repolho roxo, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

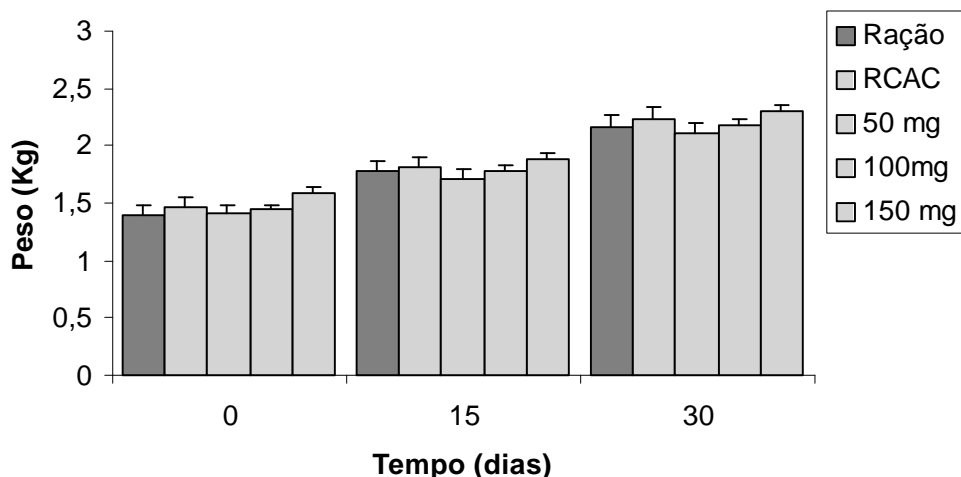


Figura 8 – Médias dos pesos de coelhos machos submetidos a diferentes dietas com antocianina de uva roxa, em função do tempo. As barras significam erro padrão.

4.2 – Modelo experimental do segundo ensaio biológico – Toxicologia aguda (doses repetidas)

4.2.1 – Colesterol total

As médias das concentrações de colesterol total sangüínea de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante o período experimental de 30 dias para a antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 5 e 6, respectivamente.

Verifica-se pelo Quadro 5, em relação ao colesterol total, que houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas no grupo 2, aos 30 dias. Aos 15 dias, observa-se para o grupo dos machos uma redução de 31,04% e 31,09% para os grupos 2 e 3, respectivamente, em relação ao grupo tratado com ração, sendo estatisticamente significativo pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Quanto as fêmeas, o grupo que mais variou foi o grupo 4, que foi uma redução de 30,23% (15 dias), apesar desta redução não ser

estatisticamente significativa pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando-se o Quadro 6, verifica-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre machos e fêmeas no nível sérico de colesterol total, aos 15 e 30 dias.

O grupo dos machos que mais variou em relação ao controle foi uma redução de 13,05% no grupo 4 (15 dias) e para as fêmeas a redução foi de 16,65% no grupo 3 (15 dias), quando comparado ao grupo 1. Apesar desta redução não ser estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade (Quadro 6).

Quadro 5 – Valores médios de colesterol total, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Colesterol total (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	126,20 A	108,83 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	87,03 A	101,57 A	- 31,04*	- 6,67
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	86,97 A	95,13 A	- 31,09*	- 12,59
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	108,40 A	75,93 A	- 14,10	- 30,23
30	G ₁	Ração (R)	110,87 A	112,83 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	90,80 B	132,50 A	- 18,10	+ 17,43
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	86,07 A	112,03 A	- 22,37	- 0,71
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	107,07 A	80,67 A	- 3,43	- 28,50

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F ($P < 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 6 – Valores médios de colesterol total, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Colesterol total (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	117,73 A	113,17 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	117,73 A	114,60 A	0,00	+ 1,26
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	116,87 A	94,33 A	- 0,73	- 16,65
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	102,37 A	109,40 A	- 13,05	- 3,33
30	G ₁	Ração (R)	92,90 A	94,93 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	99,83 A	97,60 A	+ 7,46	+ 2,81
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	92,40 A	85,97 A	- 0,54	- 9,44
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	90, 23 A	89,97 A	- 2,87	- 5,22

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As Figuras 9 e 10 mostram as médias dos níveis de colesterol total em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Observa-se pela Figura 9, que as fêmeas aos 15 e 30 dias de tratamento apresentaram uma menor concentração de colesterol total com 150 mg de antocianina do repolho roxo. Para os machos essa redução foi mais intensificada com 100 mg (15 e 30 dias), quando comparado ao grupo controle (0 mg de antocianina).

Para a antocianina da uva roxa (Figura 10) verifica-se aos 15 e 30 dias que a dose 100 mg foi a mais eficiente na redução da concentração de colesterol total para as fêmeas. Nos machos essa redução foi observada na dose de 150 mg, em relação ao grupo controle (0 mg de antocianina).

Essa redução do colesterol nos grupos das fêmeas e machos pode ser explicado pelo fato de que os flavonóides são capazes de inibir o processo oxidativo da partícula de LDL. Os flavonóides reagiriam com íons superóxido, via transferência de elétron para o radical peróxido. Portanto, essa ação dos flavonóides é explicada com uma das formas de redução do colesterol da circulação (DE WHALEY et al., 1990).

Antocianinas isoladas das raízes da planta *Brassica campestris L.*, identificadas como cianidina-3-diglicosídeo-5-monoglicosídeo (rubrobrassicina), cianidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3-monoglicosídeo, foram testadas nas doses de 0,03% de rubrobrassicina e 0,045% de uma mistura das duas outras, na proporção de 2:1, respectivamente. Quanto a seus efeitos nos níveis de colesterol sérico. Adicionadas na alimentação de ratos, juntamente com colesterol e colato de sódio, verificou-se, após três semanas, que os animais tratados com a mistura das duas antocianinas apresentaram níveis de colesterol total sérico menores que o controle, porém não em grau estatisticamente significativo, enquanto rubrobrassicina praticamente não mostrou efeito de redução (IGARASHI et al., 1990).

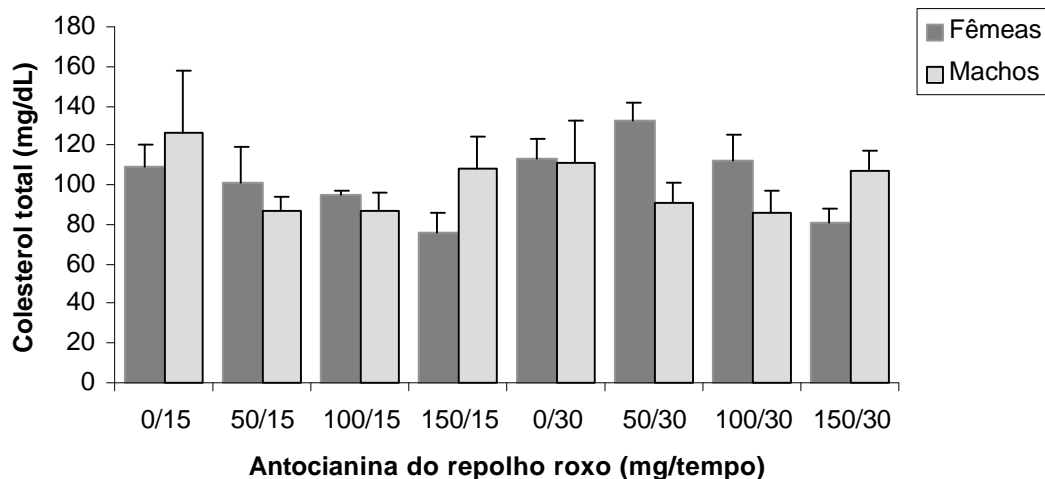


Figura 9 - Médias de colesterol total de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

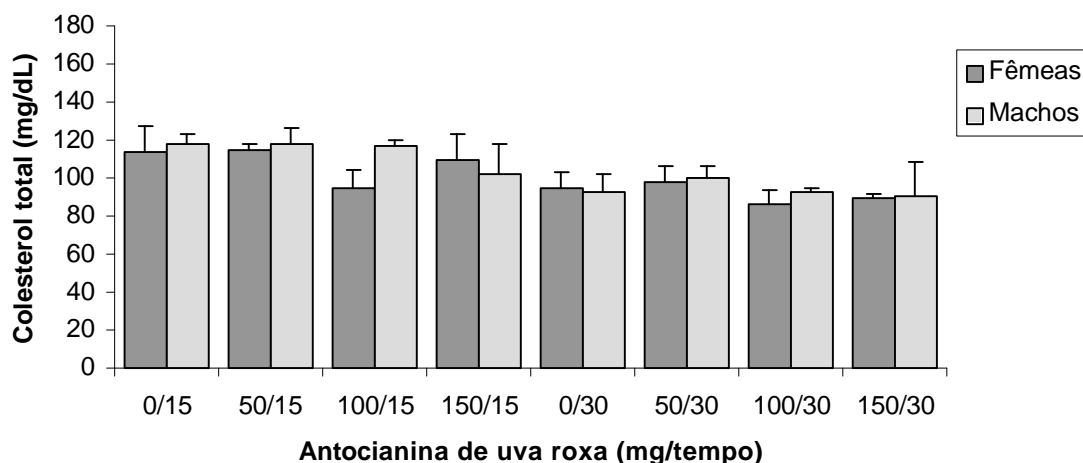


Figura 10 – Médias de colesterol total de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas de antocianina de uva roxa /tempo. As barras significam erro padrão.

BOK et al. (1999) em um estudo onde foram testados os efeitos farmacológicos do extrato de mexerica e de uma mistura de dois flavonóides de frutas cítricas sobre o colesterol sangüíneo. A hipercolesterolemia foi induzida em ratos machos com uma dieta de 1g de colesterol/100g de peso corporal, durante 42 dias, com suplemento de extrato de mexerica ou uma mistura de naringenina e hesperidina, com dosagem igual a 0,5 g/100g neste estudo observou-se que o extrato de casca de mexerica e mistura dos flavonóides reduziram significativamente os níveis plasmáticos de colesterol, colesterol hepático e triglicerídeos hepáticos dos grupos experimentais em comparação com o controle.

4.2.2 – Colesterol-HDL

As médias das concentrações de colesterol-HDL sangüíneo de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante todo período experimental de 30 dias, para a antocianina de repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 7 e 8, respectivamente.

A análise do Quadro 7 e 8, indica que não houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas nos níveis sérico de colesterol-HDL no período de 15 e 30 dias.

Aos 15 dias, verifica-se pelo Quadro 7, um aumento de colesterol-HDL de 31,50% para os machos e para as fêmeas um aumento de 14,90% no grupo 3, quando comparado com o grupo 1, sendo esse aumento não estatisticamente significativo pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Pelo quadro 8, observa-se um aumento estatisticamente significativo pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% probabilidade de 28,20% para os machos no grupo 2 (30 dias), quando comparado com o grupo 1. Quanto às fêmeas não observou nenhum aumento, mas uma redução não estatisticamente significativa de 11,33% no grupo 2 (15 dias).

Quadro 7 – Valores médios de colesterol-HDL, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Colesterol-HDL (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	27,90 A	31,33 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	35,90 A	35,43 A	+ 28,67	+ 13,09
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	36,69 A	36,00 A	+ 31,50	+ 14,90
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	34,80 A	33,30 A	+ 24,73	+ 6,29
30	G ₁	Ração (R)	36,60 A	37,03 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	38,43 A	42,23 A	+ 5,00	+14,04
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	37,63 A	36,70 A	+ 2,81	- 0,89
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	31,70 A	32,47 A	- 13,39	- 12,31

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 8 – Valores médios de colesterol-HDL, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Colesterol-HDL (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	43,50 A	50,13 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	49,57 A	44,45 A	+ 13,95	- 11,33
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	45,47 A	47,77 A	+ 4,53	- 4,71
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	46,77 A	49,70 A	+ 7,52	- 0,86
30	G ₁	Ração (R)	37,34 A	44,37 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	47,87 A	41,15 A	+ 28,20*	- 7,26
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	34,73 A	39,79 A	- 6,99	- 10,32
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	30,61 A	40,03 A	- 18,02	- 9,78

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F ($P < 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As Figuras 11 e 12 mostram as médias dos níveis de colesterol-HDL em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Pela Figura 11, observa-se que machos e fêmeas aos 15 e 30 dias apresentaram um aumento na concentração de colesterol-HDL em relação ao controle (0 mg de antocianina do repolho roxo), exceto na dose de 150 mg (30 dias). Sendo que, a dose de 50 mg apresentou maior concentração deste constituinte, tanto para os machos e fêmeas, no período de 30 dias.

Para a antocianina de uva roxa (Figura 12), verifica-se que as fêmeas apresentaram uma redução na concentração de colesterol-HDL para as três doses aos 15 e 30 dias, quando comparado ao controle (0 mg). Para os machos essa redução foi observada na dose de 100 e 150 mg (30 dias), em relação ao controle. Sendo que, a dose de 50 mg para os machos apresentou um maior aumento deste constituinte, aos 15 e 30 dias.

Os altos níveis de colesterol-HDL reduzem os riscos de cardiopatias coronárias, seu efeito é oposto ao do colesterol-LDL. Nas populações em que são altas as concentrações tanto de LDL como de colesterol-HDL, os

indivíduos com níveis menores de HDL estão mais expostos a cardiopatias coronárias. As partículas de HDL facilitam o transporte de colesterol dos tecidos periféricos ao fígado para a sua excreção (FUENTES, 1998).

NAGEM et al. (1999) ao avaliarem o efeito hipolipidêmico de naringina, antocianina e carmim isoladamente e em associação em ratos hiperlipidêmicos, mostraram que a associação naringina + antocianina e naringina + carmim apresentaram os melhores resultados para colesterol e triacilglicerol enquanto que naringina e naringina associada à antocianina apresentaram os melhores resultados para colesterol-HDL.

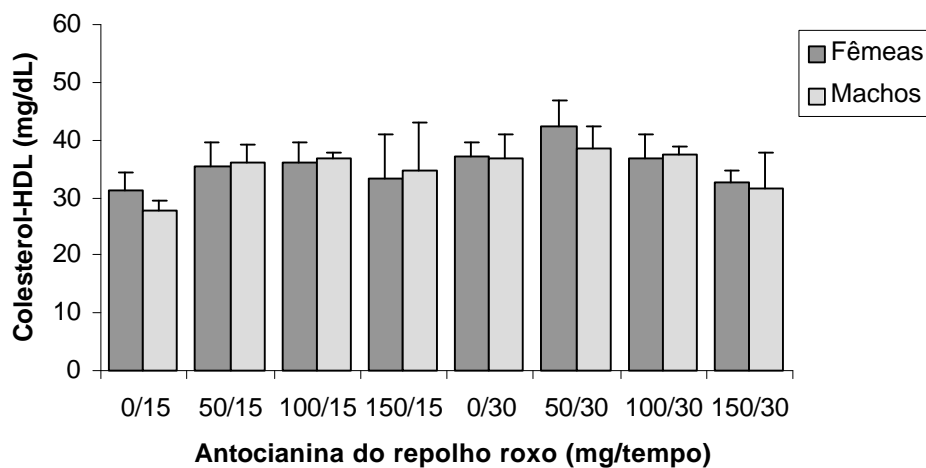


Figura 11 - Médias de colesterol-HDL de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

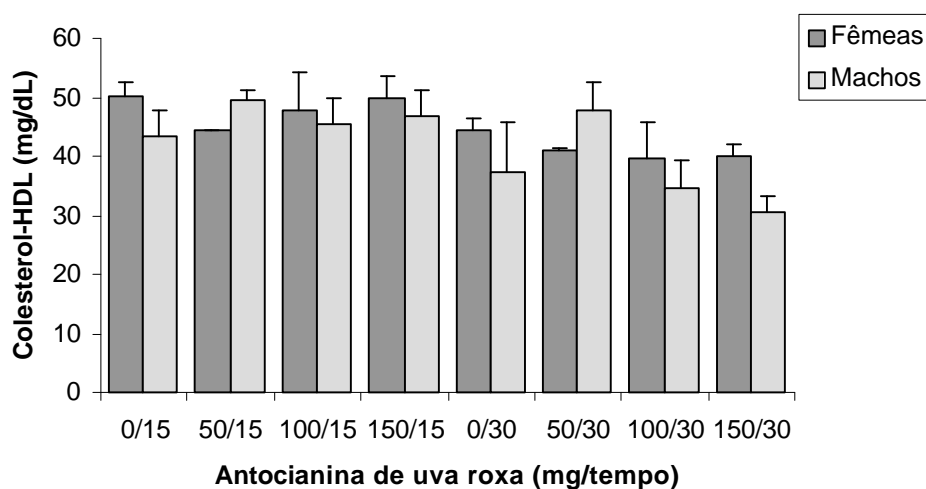


Figura 12 – Médias de colesterol-HDL de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas de antocianina de uva roxa /tempo. As barras significam erro padrão.

4.2.3.- Triacilglicerol

As médias das concentrações de triacilglicerol sangüíneo de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante o período experimental de 30 dias para a antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 9 e 10, respectivamente.

Analisando-se o Quadro 9, verifica-se em relação ao triacilglicerol, que houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas no grupo 1 (15 dias), ou seja, no grupo que recebeu somente ração. Não observou-se diferença estatisticamente significativa nos grupos que receberam antocianina do repolho roxo, podemos então concluir que a substância-teste alterou os níveis de triacilglicerol dos animais, levando a uma igualdade entre os sexos.

Em relação ao Quadro citado, pode-se observar que os machos, aos 15 dias, apresentaram uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade no grupo 2 de 43,00% e no grupo 4

de 39,14%, quando comparado com o grupo 1. Para as fêmeas essa redução foi observada, aos 30 dias, no grupo 2 de 29,69% e grupo 4 de 31,89%, quando comparado com o grupo 1, sendo estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto a antocianina de uva roxa, observa-se pelo Quadro 10, em relação ao triacilglicerol, que houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas no grupo 4 (15 dias). Em relação aos machos, verifica-se uma redução não estatisticamente significativa no grupo 4 de 50,83% e um aumento para fêmeas estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade no grupo 4 de 288,47% . Para as fêmeas observa-se que o grupo que recebeu 150 mg de antocianina de uva roxa (grupo 4) apresentou um valor médio de triacilglicerol de 306,50 mg/dL (15 dias), sendo que o valor médio de triacilglicerol foi reduzido para 93,60 mg/dL (30 dias).

Quadro 9 – Valores médios de triacilglicerol, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Triacilglicerol (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	126,03 A	88,63 B	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	71,83 A	87,03 A	- 43,00*	- 1,80
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	103,62 A	81,73 A	- 17,78	- 7,78
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	76,70 A	90,10 A	- 39,14*	+ 1,66
30	G ₁	Ração (R)	80,83 A	108,90 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	61,20 A	76,57 A	- 24,28	- 29,69*
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	71,03 A	82,40 A	- 12,12	- 24,33
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	67,97 A	74,17 A	- 15,91	- 31,89*

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 10 – Valores médios de triacilglicerol, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Triacilglicerol (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	108,40 A	78,90 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	172,93 A	113,00 A	+ 59,53	+ 43,22
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	96,77 A	102,73 A	- 10,73	+ 30,20
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	53,30 B	306,50 A	- 50,83	+ 288,47*
30	G ₁	Ração (R)	91,10 A	78,87 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	105,00 A	93,50 A	+ 15,26	+ 18,55
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	139,53 A	94,47 A	+ 53,16	+ 19,78
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	90,87 A	93,60 A	- 0,25	+ 18,68

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As Figura 13 e 14 mostram as médias dos níveis de triacilglicerol em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Observa-se pela Figura 13, quanto os machos, que as doses de 50, 100 e 150 mg de antocianina do repolho roxo reduziram a concentração de triacilglicerol em relação ao grupo controle (0 mg) no tempo de 15 e 30 dias. Sendo que, a dose de 50 mg de antocianina do repolho roxo (30 dias) apresentou menor concentração de triacilglicerol para os machos e para as fêmeas a dose 150 mg de antocianina do repolho roxo (30 dias). Aos 15 dias, as fêmeas não apresentaram grandes variações na concentração de triacilglicerol para os grupos tratados com antocianina do repolho roxo, em relação ao controle. Somente foi observado uma maior variação deste constituinte em relação ao controle aos 30 dias.

Pela Figura 14, quanto a antocianina de uva roxa, observa-se que aos 15 e 30 dias, as fêmeas apresentaram um aumento na concentração de triacilglicerol em relação ao grupo controle (0 mg), sendo que, a dose de 150

mg de antocianina de uva roxa (15 dias) apresentou um aumento mais intensificado para as fêmeas e para os machos essa dose apresentou um efeito de redução para este constituinte.

Diversos estudos tem mostrado o efeito hipolipidêmico de flavonóides sobre triacilgliceróis podendo ser explicados, em parte, pelo aumento da atividade de lipases, provocada pelos flavonóides. Esta enzima hidrolisa os triacilgliceróis ocasionando uma maior mobilização dos ácidos graxos sangüíneos para o fígado, o tecido muscular e o tecido adiposo (GOMES, 1998).

O efeito de redução dos níveis séricos elevados de triacilgliceróis é considerado um resultado positivo no organismo humano, não só na prevenção da pancreatite aguda, mas também porque há evidências de que a hipertrigliceridemia esteja relacionada ao aumento da concentração sérica de fatores da coagulação sangüínea e, também à diminuição da atividade fibronolítica do soro. Tais alterações no sistema de coagulação podem facilitar o processo de aterosclerose (NOVAZZI e MARTINEZ, 1994).

LOPES (2001) em seu trabalho com coelhos hipertrigliceridêmicos, verificou-se que associação entre naringinina (flavonóides) e chistosan foi bastante eficiente em promover a redução de triacilgliceróis no sangue desses animais.

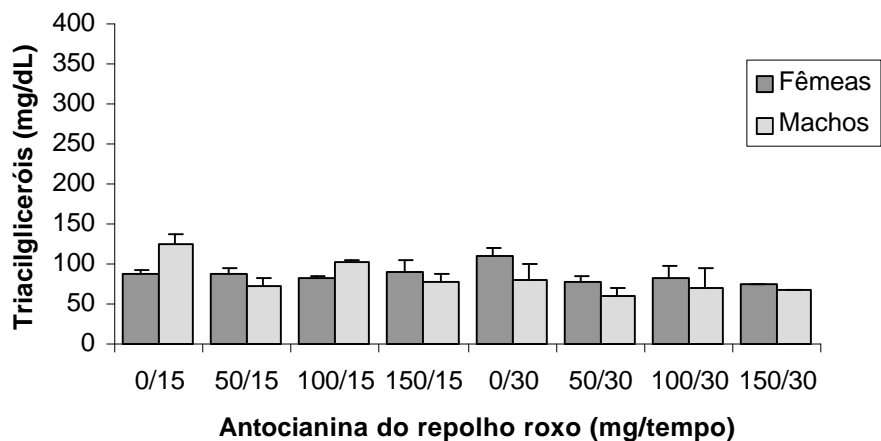


Figura 13 - Médias de triacilglicerol de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

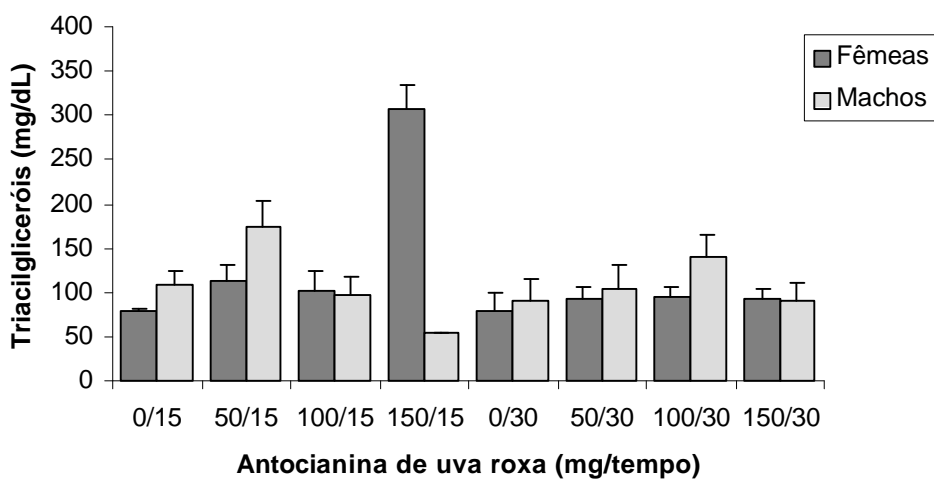


Figura 14 – Médias de triacilglicerol de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

JAHROMI et al. (1993) verificaram redução significativa nos níveis de triacilgliceróis séricos em ratos hiperlipidêmicos induzidos tanto por dieta quanto por triton WR-1339, utilizando o flavonóide pterosupina, isolado da planta *Pterocarpus marsupin*.

VALENTE (1998) observou uma redução dos níveis séricos de triacilgliceróis ao pesquisar o efeito dos corantes naturais, cúrcuma, antocianina e monascus em ratos hipercolesterolêmicos. ITAYA e IGARASHI (1992) verificaram o efeito de redução dos níveis de triacilgliceróis e ácidos graxos livres por malvina contida em uvas (*Vitis coignetiae P.*) em ratos alimentados com dieta sem colesterol.

4.2.4.- Glicose

As médias da concentração de glicose sangüínea de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante todo período experimental de 30 dias, para a antocianina de repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 11 e 12, respectivamente.

Verifica-se pelo Quadro 11, que machos e fêmeas diferiram significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, em relação aos níveis de glicose, somente no grupo 3 (30 dias). Os machos apresentaram um aumento significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade de 17,18% nos níveis séricos de glicose, no período de 30 dias. Para as fêmeas observou-se um aumento não significativo de 9,12 no grupo 2, em relação ao grupo 1, aos 15 dias.

Pela análise feita no Quadro 12, observa-se que aos 15 dias, machos e fêmeas diferiram significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, em relação aos níveis de glicose, somente no grupo 4. Observa-se para os machos uma redução de 14,86% no grupo 2 e 13,63% no grupo 4, aos 30 dias, sendo estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade e para as fêmeas uma redução não estatisticamente significativa no grupo 4 de 10,95% (30 dias).

Quadro 11 – Valores médios de glicose, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Glicose (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	141,60 A	145,00 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	148,70 A	158,23 A	+ 5,01	+ 9,12
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	147,77 A	147,10 A	+ 4,36	+ 1,45
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	150,17 A	149,77 A	+ 6,05	+ 3,29
30	G ₁	Ração (R)	121,03 A	124,13 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	135,17 A	123,13 A	+ 11,68	- 0,81
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	141,83 A	121,08 B	+ 17,18*	- 2,46
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	132,33 A	119,47 A	+ 9,34	- 3,75

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 12 – Valores médios de glicose, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Glicose (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	149,10 A	131,20 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	133,50 A	128,85 A	- 10,46	- 1,79
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	147,90 A	130,50 A	- 0,80	- 0,53
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	137,67 A	118,20 B	- 7,67	- 9,91
30	G ₁	Ração (R)	154,07 A	138,13 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	131,17 A	125,85 A	- 14,86*	- 8,89
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	138,93 A	141,10 A	- 9,83	+ 2,15
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	133,07 A	123,00 A	- 13,63*	- 10,95

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

Estadisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As Figuras 15 e 16, mostram as médias dos níveis de glicose em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Pela Figura 15, certifica-se que machos e fêmeas apresentaram um aumento na concentração de glicose nos grupos tratados com antocianina do repolho roxo no período de 15 dias, quando comparados com o controle (0 mg). Aos 30 dias, observa-se somente para os machos esse aumento de glicemia, sendo que, para as fêmeas o nível de glicose não apresentou alterações relevantes em relação ao controle.

Quanto a antocianina de uva roxa (Figura 16) certifica-se uma pequena redução da glicemia na dose de 150 mg (15 dias) para fêmeas e 50 mg (30 dias) para os machos.

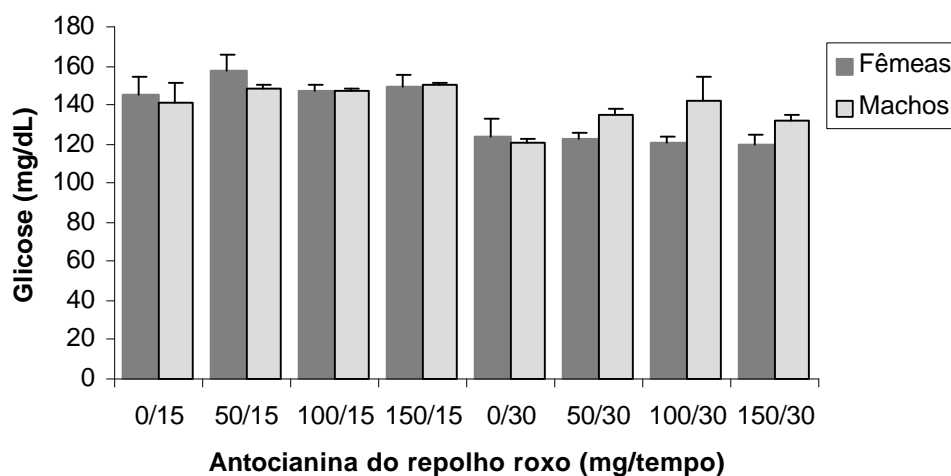


Figura 15 - Médias de glicose de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

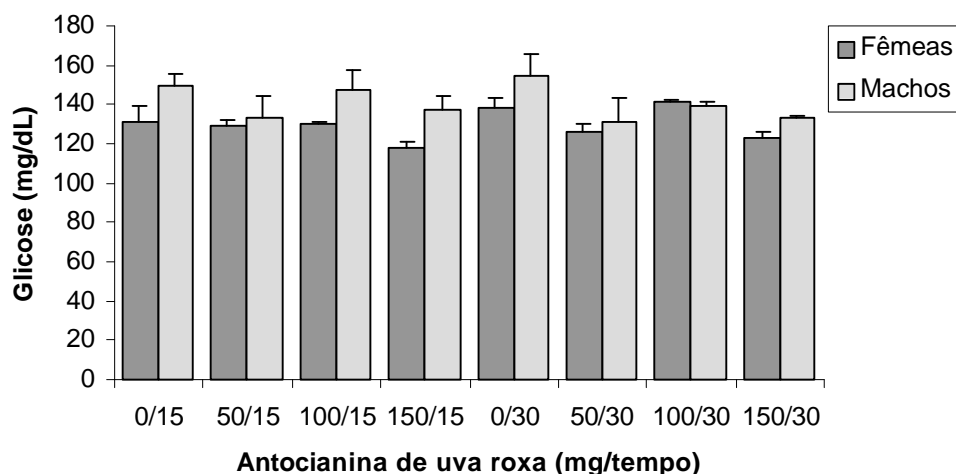


Figura 16 – Médias de glicose de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa /tempo. As barras significam erro padrão.

Como o experimento de antocianina de repolho roxo e uva roxa foram realizados em períodos experimentais e temperatura diferentes, sendo que, a temperatura é um fator que gera estresse e influência no metabolismo energético. O aumento da glicemia observado para a antocianina de repolho roxo pode estar relacionado com a presença de estresse calórico que pode levar ao aumento de cortisol e da glicemia, uma vez que não houve controle de temperatura durante os experimentos.

Segundo OLIVEIRA (1999a), os animais criados em seu meio natural ou em condições artificiais estão submetidos, constantemente, a um conjunto de forças externas que podem causar a ruptura deste equilíbrio interno, chamado homeostase. Os sintomas ou as respostas não específicas decorrentes da atuação destes fatores externos chama-se estresse, que manifesta-se na forma de uma síndrome, chamada “síndrome geral da adaptação”, através da qual o organismo animal procura reduzir os seus efeitos. Segundo Stott (1981) citado por OLIVEIRA (1999a), o estresse pode ser climático, resultante do frio ou do calor, nutricional, devido a privação da água ou alimento, social, decorrente dos problemas de organização social, ou interno, devido a algumas desordens fisiológicas, toxinas ou patógenas.

Segundo este mesmo autor, quando a temperatura ambiental ultrapassar a faixa de conforto térmico, que no coelho está compreendida entre

15 e 18°C, é ativado uma série de mecanismos destinados a manter a temperatura corporal constante, envolvendo o consumo voluntário, metabolismo protéico, energético, balanço de água e eletrólitos e secreção hormonal.

Segundo KOZMA et al., (1974), o metabolismo de carboidratos é freqüentemente mensurado através da determinação da glicose sérica. Dentre os fatores que afetam os níveis normais em coelhos estão os distúrbios hereditários, idade, hipotermia, medicamentos e dieta.

FRINHANI (1998), ao investigar os efeitos de antocianinas de uva roxa e de *Tradescantia pallida* nos níveis de glicose de ratos diabéticos, verificou-se que, num período de 21 dias de experimento, essas substâncias conseguiram reduzir, consideravelmente, os níveis de glicose desses animais do décimo quarto dia de tratamento.

Estudos feitos por ONUNKWO (1996) com extrato de folhas de *Bridelia ferruginea*, contendo rutina, um flavonóides, mostrou uma redução da glicemia de 40% em coelhos normais.

4.2.5 – Creatinina

As médias da concentração de creatinina sangüínea de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante todo período experimental de 30 dias, para a antocianina de repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 13 e 14, respectivamente.

Avaliando-se o Quadro 13, verifica-se que o mesmo mostra que machos e fêmeas diferiram significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, em relação aos níveis de creatinina, somente no grupo 1 (controle), aos 15 e 30 dias, não observando diferença significativa entre machos e fêmeas nos grupos que receberam tratamento. O que nos leva a crer que essa diferença nos níveis de creatinina é devido à uma diferença normal entre sexos, e como não houve diferença nos grupos que receberam a antocianina, podemos concluir que tal substância alterou os níveis de creatinina dos animais, levando a uma relativa equiparação.

Quadro 13 – Valores médios de creatinina, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Creatinina (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	1,94 A	1,38 B	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,25 A	1,14 A	- 35,57*	- 17,39
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,24 A	1,17 A	- 36,08*	- 15,22
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,27 A	1,28 A	- 34,54*	- 7,25
30	G ₁	Ração (R)	1,75 A	1,39 B	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,36 A	1,24 A	- 22,29*	- 10,79
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,28 A	1,30 A	- 26,86*	- 6,47
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,34 A	1,31 A	- 23,43*	- 5,76

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 14 – Valores médios de creatinina, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Creatinina (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	1,26 A	1,34 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,14 A	1,14 A	- 9,52	- 14,93*
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,15 A	1,15 A	- 8,73	- 14,18
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,15 A	1,28 A	- 8,73	- 4,48
30	G ₁	Ração (R)	1,41 A	1,41 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,19 A	1,30 A	- 15,60*	- 7,80
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,16 A	1,32 A	- 17,73*	- 6,38
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,14 B	1,36 A	- 19,15*	- 3,55

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Pela observação do Quadro citado verifica-se que houve uma redução estatisticamente significativa, pelo teste Dunnett, ao nível de 5% probabilidade para machos no grupo 2 de 35,57%, grupo 3 de 36,08% e grupo 4 de 34,54% aos 15 dias. Aos 30 dias, essa redução foi de 22,29% no grupo 2, 26,86% no grupo 3 e 23,43% no grupo 4, quando comparado com o grupo 1. Apesar de haver uma redução para as fêmeas de 17,39% no grupo 2 e 15,22% no grupo 3, em relação ao grupo 1, esta redução não foi estatisticamente significativa.

Pelo Quadro 14, observa-se que machos e fêmeas diferiram significativamente ao nível de 5% probabilidade pelo teste F, em relação aos níveis de creatinina, somente no grupo 4 (30 dias).

Pela análise feita no Quadro citado, verifica-se que machos apresentaram, uma redução no grupo 2 de 15,60%, grupo 3 de 17,73% e grupo 4 de 19,15%, aos 30 dias e as fêmeas uma redução no grupo 2 de 14,93%, quando comparados com o grupo 1 (controle), sendo estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

As Figuras 17 e 18 mostram as médias dos níveis de creatinina em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Observando as respectivas Figuras citadas acima, verifica-se que os grupos dos machos e fêmeas que receberam antocianina do repolho roxo e uva roxa no período de 15 e 30 dias, reduziram a concentração de creatinina, quando comparados com o grupo controle (0 mg), levando-nos à conclusão de que a antocianina do repolho roxo e uva roxa tem efeito sobre o metabolismo de creatinina.

Para a antocianina do repolho roxo, verifica-se aos 15 dias, uma menor concentração de creatinina para os machos na dose de 100 mg e para fêmeas de 50 mg e para a antocianina de uva roxa a dose de 50 mg, aos 15 dias, para machos e fêmeas.

Considerando-se os valores normais de creatinina, segundo LOPES (2001), para machos de 1,18 mg/dL e para fêmeas de 1,24 mg/dL e os valores normais de creatinina em humanos entre 1 a 2 mg/dL (RAGAN, 1989). Apesar de haver uma redução deste constituinte, observa-se que os grupos que receberam antocianina do repolho roxo e uva roxa (Figura 17 e 18)

apresentaram valores de creatinina próximo ao encontrado por LOPES (2001) e dentro da faixa permitida em humanos.

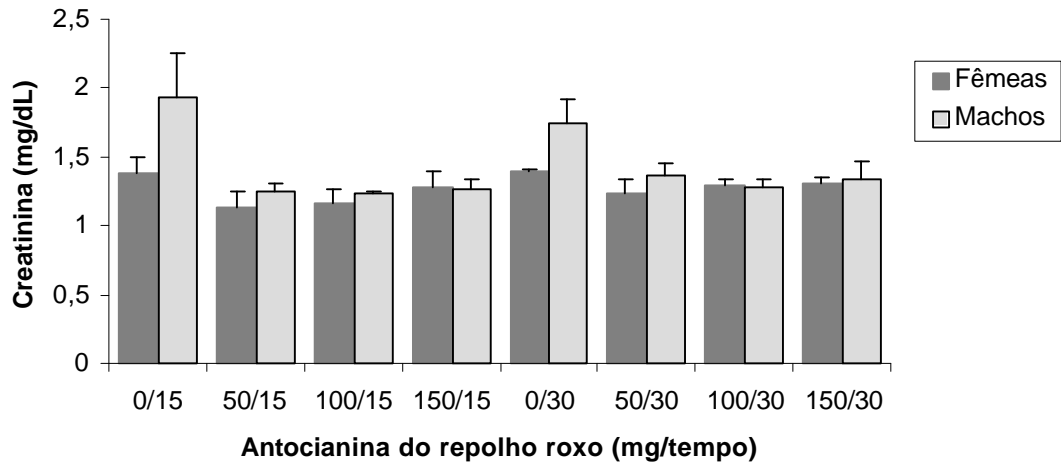


Figura 17 - Médias de creatinina de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

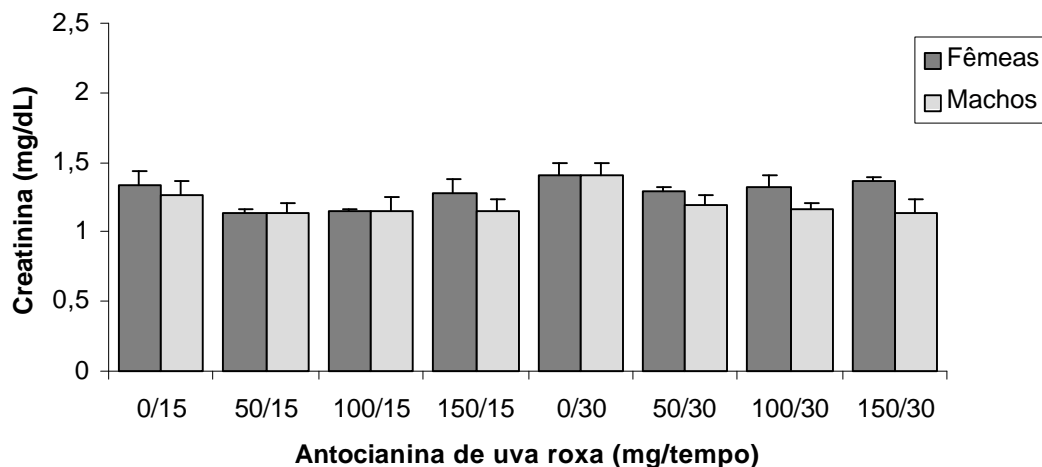


Figura 18 – Médias de creatinina de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

4.2.6 – Albumina

As médias da concentração de albumina sangüínea de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante período experimental de 30 dias, para antocianina do repolho roxo e uva roxa , estão dispostas no Quadro 15 e 16, respectivamente.

Observa-se pelo Quadro 15, que os níveis séricos de albumina foram significativamente diferente entre sexos, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F, no grupo que não recebeu antocianina do repolho roxo (grupo 1), aos 30 dias. Não havendo diferença significativa entre sexo nos grupos que receberam tratamento. Supondo-se que a antocianina do repolho roxo interferiu-se no metabolismo de albumina, havendo um aumento nos machos e diminuição nas fêmeas em relação ao controle, igualando os níveis de albumina entre os sexos.

Quadro 15 – Valores médios de albumina, em g/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Albumina (g/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	4,87 A	4,92 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	4,82 A	4,60 A	- 1,03	- 6,50
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	4,50 A	4,68 A	- 7,60*	- 4,88
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	4,47 A	4,71 A	- 8,21*	- 4,27
30	G ₁	Ração (R)	4,36 B	4,84 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	4,63 A	4,59 A	+ 6,19	- 5,16
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	4,24 A	4,48 A	- 2,75	- 7,44*
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	4,30 A	4,36 A	- 1,38	- 9,92*

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 16 – Valores médios de albumina, em g/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Albumina (g/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	5,04 A	4,90 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	4,69 A	4,90 A	- 6,94	0,00
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	4,93 A	4,72 A	- 2,18	- 3,67
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	4,61 A	4,05 A	- 8,53	- 17,35*
30	G ₁	Ração (R)	4,96 A	4,95 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	4,95 A	4,88 A	- 0,20	- 1,41
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	4,93 A	4,93 A	- 0,60	- 0,40
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	4,53 A	4,44 A	- 8,67	- 10,30

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F ($P < 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Pelo Quadro citado, observa-se que o grupo dos machos apresentaram uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade, no grupo 3 de 7,60% e grupo 4 de 8,21% (15 dias). Para as fêmeas essa redução foi aos 30 dias no grupo 3 de 7,44% e grupo 4 de 9,92%.

Para a antocianina da uva roxa, observa-se pelo Quadro 16, quanto ao nível sérico de albumina, que não houve diferença estatisticamente significativa entre sexos, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, no grupo controle e no grupo que recebeu tratamento. Mostrando portanto, que entre sexos, a antocianina de uva roxa não interferiu no metabolismo de albumina. Quanto aos machos, verifica-se uma redução não estatisticamente significativa de 8,67% (30 dias) e nas fêmeas uma redução estatisticamente significativa pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade de 17,35% no grupo 4 (15 dias).

As Figuras 19 e 20 mostram as médias dos níveis de albumina em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Pela análise feita nas Figuras citadas, verifica-se que os grupos dos machos e fêmeas que receberam tratamentos não apresentaram aumento na concentração de albumina, quando comparados com o grupo controle, exceto o grupo dos machos que receberam 50 mg de antocianina do repolho roxo, no período de 30 dias (Figura 19). Aos 30 dias, verifica-se pela Figura 19, que os machos apresentaram uma diminuição mais intensificada na concentração de albumina na dose de 100 mg de antocianina do repolho roxo e para as fêmeas 150mg. Na Figura 20, essa diminuição foi observada na dose de 150 mg para machos (30 dias) e fêmeas (15 dias) .

Os valores normais de albumina em coelhos encontrados por LOPES (2001) para machos foi de 4,65 mg/dL e para fêmeas 4,33 mg/dL. Observa-se que esses valores normais estão bem próximo dos valores encontrados para os grupos que receberam como tratamento a antocianina de repolho roxo e uva roxa.

Em humanos os valores normais de albumina no plasma são na ordem de 3,5 a 5,0 g/dL, verificam-se valores nesta faixa nos animais que receberam tratamentos.

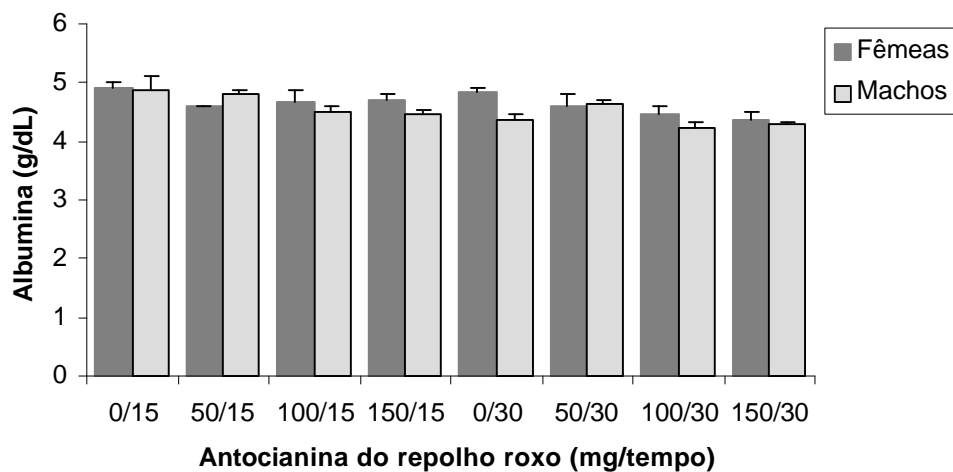


Figura 19 - Médias de albumina de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

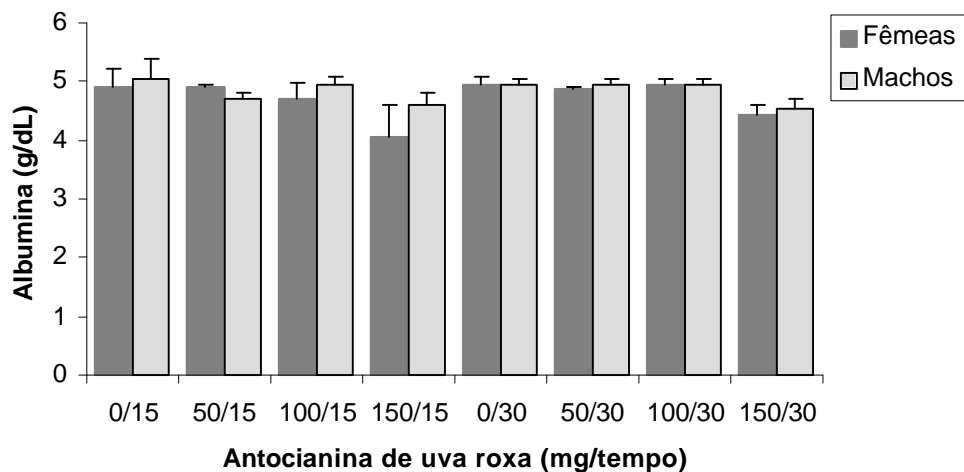


Figura 20 – Médias de albumina de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa /tempo. As barras significam erro padrão.

Proteínas séricas em coelhos adultos são similares aos de outras espécies. A quantidades relativas de albumina compreendem 40-60% das proteínas (BORTOLLOTTI et al., 1989).

RIBEIRO (2001) verificou-se em seu experimento que a antocianina da uva roxa e a associação de antocianina + naringenina não ocasionaram alterações significativas nos níveis sérico de albumina.

4.2.7 – Proteína

As médias da concentração de proteína sangüínea de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante período experimental de 30 dias, para antocianina do repolho roxo e uva roxa , estão dispostas no Quadro 17 e 18, respectivamente.

Observa-se pelos Quadros citados, em relação ao nível sérico de proteína, que não houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% probabilidade entre machos e fêmeas.

Pelo Quadro 17, quanto aos machos observa-se uma maior variação em relação ao controle, no grupo 3 e 4, com uma redução de 17,82% e 10,69%, respectivamente, aos 15 dias. Aos 30 dias, observa-se uma redução no grupo 3 de 13,87%. Quanto às fêmeas essa redução é observada aos 15 dias no grupo 2 de 12,67% e grupo 3 de 11,64%, sendo essa variação estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 17 – Valores médios de proteína, em g/L, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Proteína (g/L)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	64,53 A	61,23 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	58,17 A	53,47 A	- 9,86	- 12,67*
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	53,03 A	54,10 A	- 17,82*	- 11,64*
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	57,63 A	57,40 A	- 10,69*	- 6,26
30	G ₁	Ração (R)	61,80 A	60,27 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	56,60 A	55,57 A	- 8,41	- 7,80
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	53,23 A	54,17 A	- 13,87*	- 10,12
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	58,20 A	55,80 A	- 5,83	- 7,42

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 18 – Valores médios de proteína, em g/L, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Proteína (g/L)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	66,05 A	62,68 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	58,98 A	64,00 A	- 10,70*	+ 2,10
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	67,29 A	61,37 A	+ 1,88	- 2,09
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	63,59 A	62,20 A	- 3,72	- 0,77
30	G ₁	Ração (R)	64,17 A	61,80 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	60,97 A	61,55 A	- 4,99	- 0,40
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	64,27 A	64,63 A	+ 0,15	+ 4,58
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	57,17 A	57,83 A	- 10,91*	- 6,42

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Pelo Quadro 18, verifica-se para os machos uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% probabilidade, no grupo 2 de 10,70% (15 dias) e no grupo 4 de 10,91% (30 dias), em relação ao grupo 1. Quanto às fêmeas a maior variação foi no grupo 4 (30 dias) com uma redução dos níveis séricos de proteína de 6,42%, porém essa variação não foi estatisticamente significativa.

As Figuras 21 e 22, mostram as médias dos níveis de proteína em função das doses de antocianina de repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Analisando a Figura 21, verifica-se aos 15 e 30 dias, uma redução na concentração de proteína nos grupos tratados com 50, 100 e 150 mg de antocianina de repolho roxo em relação ao controle (0 mg de antocianina) para os machos e fêmeas, sendo que, para os machos essa redução foi mais intensificada na dose de 100 mg e para fêmeas na dose de 50 mg, aos 15 dias.

Quanto a antocianina da uva roxa, observa-se pela Figura 22, que não houve alterações relevantes na concentração de proteína quando comparado com o grupo controle (0 mg), verifica-se uma redução na concentração de proteína na dose 150 mg (30 dias) para machos e fêmeas. Sendo que, machos e fêmeas apresentaram um aumento deste constituinte na dose 100 mg, sendo aos 15 dias para os machos e 30 dias para as fêmeas.

A concentração de proteína total sérica em coelhos é similar o outras espécies. Um coelho adulto possui em torno de 60-70 g/L de proteína total sérica (BORTOLOTTI et al., 1989). Os dados encontrados na Figura 21, quanto a antocianina do repolho roxo, mostram que o grupo controle (ração) apresentou seu nível de proteína dentro da faixa, para machos e fêmeas, aos 15 e 30 dias, sendo que os grupos que receberam tratamentos apresentaram valores abaixo de 60 g/L. Indicando que a antocianina do repolho roxo teve efeito no metabolismo de proteína nos machos e fêmeas.

Para a antocianina de uva roxa (Figura 22), observa-se valores fora da faixa (60-70 g/L) para os machos na dose de 50 mg (15 dias) e 150 mg (30 dias) e para fêmeas na dose de 150 mg (30 dias).

A redução da concentração de proteínas totais, de modo geral esta associada a desordens renais do fígado. O aumento da concentração de proteínas total se dá em desidratação ou choques (FOX, 1970).

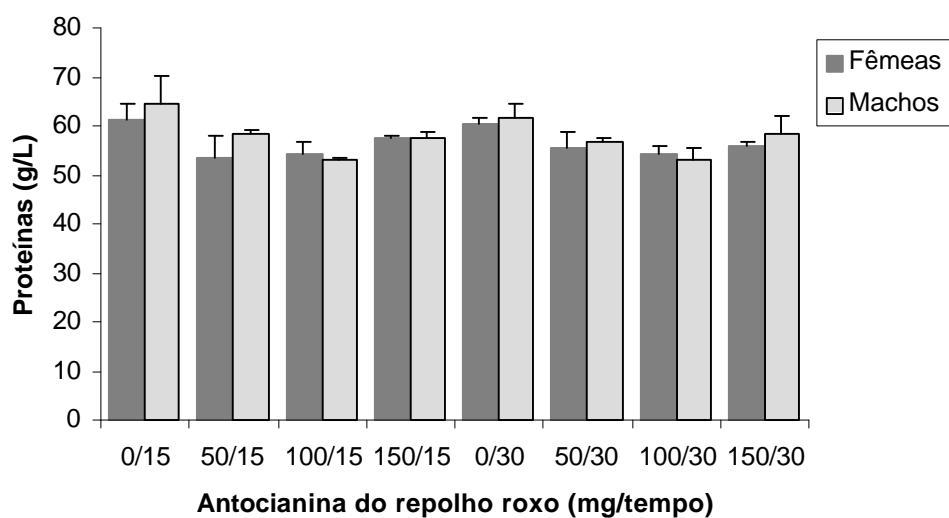


Figura 21 - Médias de proteínas de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

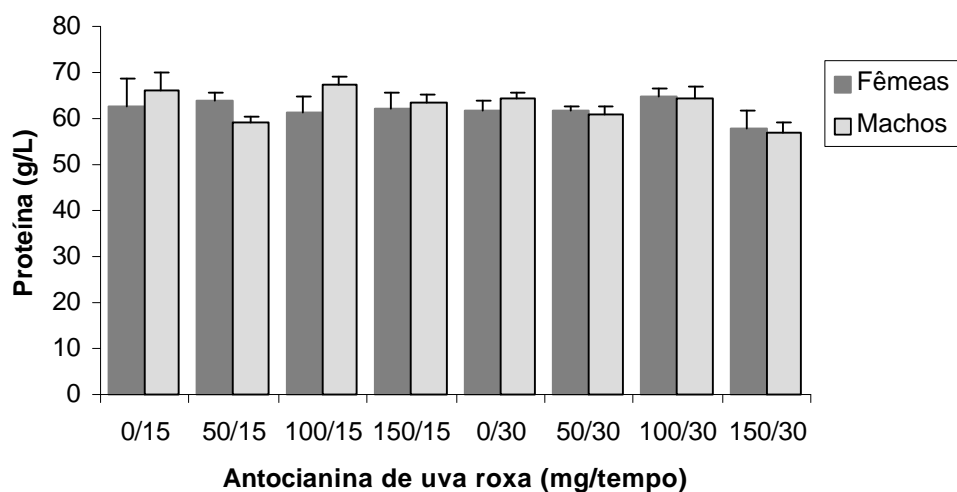


Figura 22 – Médias de proteínas de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

VERDE e GOMEZ (1987) estudando os diversos tipos de estresse sobre as variações de proteínas plasmáticas e substâncias não nitrogenadas em coelhos, encontraram uma acentuada hipoproteinemia nos animais submetidos ao estresse térmico, que eles atribuem a uma redução no consumo voluntário e também a excessiva perda de proteínas, resultantes do incremento da proteólise, e também devido a diminuição da velocidade de síntese.

LIMA (2000), ao avaliar os efeitos toxicológicos de alguns flavonóides (dentre eles a quercetina) no nível de proteína total de coelhos saudáveis, verificou que tais substâncias não provocaram alterações consideráveis no metabolismo proteico desses animais.

4.2.8 – Cálcio

As médias da concentração de cálcio sanguíneo de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante o período experimental de 30 dias, para antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 19 e 20, respectivamente.

Verifica-se pelo Quadro 19, em relação ao cálcio, que houve diferença significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas no grupo 3 (15 dias), grupo 4 (15 dias), grupo 1 (30 dias) e grupo 2 (30 dias). No grupo dos machos que mais variou em relação ao controle foi uma redução no grupo 2 de 34,19% (15 dias), grupo 3 de 58,36% (15 dias), grupo 4 de 49,40% (15 dias), grupo 3 de 29,06% (30 dias) e grupo 4 de 27,08% (30 dias) e nas fêmeas um aumento no grupo 4 de 106,46% (15 dias), sendo que essa variação foi significativa pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se também que aos 15 dias os níveis de cálcio para os machos do grupo controle é 12,49 mg/dL e para fêmeas 8,67 mg/dL. Aos 30 dias, verifica-se um aumento deste constituinte para os machos de 20,20 mg/dL e para fêmeas 14,17 mg/dL. Como esses animais recebem somente ração e uns dos constituintes básico deste produto é o carbonato de cálcio, este aumento

observado pode estar relacionado com a quantidade de cálcio presente na ração (máx. Ca = 2,00%).

Quadro 19 – Valores médios de cálcio, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Cálcio (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	12,49 A	8,67 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	8,22 A	8,13 A	- 34,19*	- 6,23
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	5,20 A	10,43 B	- 58,36*	+ 20,30
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	6,32 B	17,90 A	- 49,40*	+ 106,46*
30	G ₁	Ração (R)	20,20 A	14,17 B	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	17,23 A	12,17 B	- 14,70	- 14,11
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	14,33 A	17,77 A	- 29,06*	+ 25,40
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	14,73 A	14,13 A	- 27,08*	- 0,28

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 20 – Valores médios de cálcio, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Cálcio (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	13,18 A	15,31 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	9,85 A	13,64 A	- 25,26	- 10,91
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	9,84 A	9,64 A	- 25,34	- 37,03*
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	13,06 A	14,18 A	- 0,91	- 7,38
30	G ₁	Ração (R)	13,13 A	13,17 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	14,07 A	11,95 A	+ 7,16	- 9,26
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	12,87 A	12,60 A	- 1,98	- 4,33
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	10,76 A	11,87 A	- 18,05	- 9,87

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Para a antocianina da uva roxa, verifica-se no Quadro 20, quanto ao nível de cálcio, que não houve diferença significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas. A maior variação em relação ao controle, para os machos, foi no grupo 3 com uma redução de 25,34% (15 dias), sendo essa variação não estatisticamente significativa. Para as fêmeas essa redução foi observada no grupo 3 de 37,03% (15 dias), sendo estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

As Figuras 23 e 24 mostram as médias dos níveis de cálcio em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Em relação ao cálcio, observa-se pela Figura 23, quanto a antocianina do repolho roxo, que os machos apresentaram uma tendência em diminuir os níveis séricos de cálcio à medida que aumentavam a dose, aos 15 e 30 dias de tratamento. Para as fêmeas, aos 15 dias, observa-se uma tendência em aumentar os níveis de cálcio à medida que aumentavam a dose, quando comparado ao grupo controle (0 mg). Aos 30 dias, esse aumento foi observado na dose de 100 mg de antocianina de repolho roxo. Podemos então concluir, que a antocianina do repolho roxo interfere no metabolismo de cálcio em machos, diminuindo o nível sérico de cálcio e nas fêmeas aumentam até a dose de 100 mg com 30 dias de tratamento.

Segundo FRÉJAVILLE (1989) existem variações fisiológicas de calcemia conforme a idade e o sexo. No homem adulto, o cálcio diminui com a idade, enquanto, na mulher, permanece constante.

Pela Figura 24, quanto a antocianina de uva roxa, verifica-se uma tendência em diminuir a concentração de cálcio para os machos e fêmeas, aos 15 e 30 dias, exceto o grupo dos machos que receberam 50 mg de antocianina de uva roxa, aos 30 dias. Observa-se para os machos e fêmeas uma redução na dose de 100 mg (15 dias), quando comparado com o grupo controle (0 mg).

Humanos com níveis normais de cálcio no sangue apresentam faixa de 9,0 – 11,5 mg/dL de cálcio ionizado.

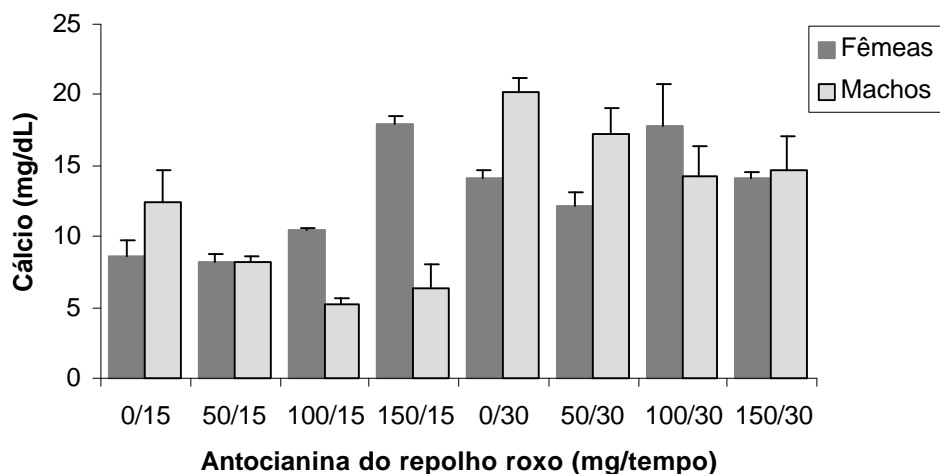


Figura 23 - Médias de cálcio de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

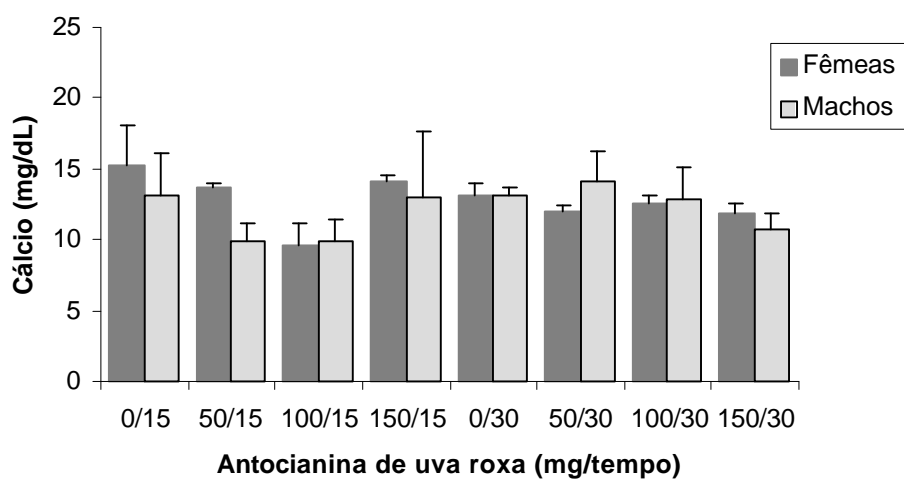


Figura 24 – Médias de cálcio de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

Segundo CHEEKE (1987), as diferenças existentes entre o coelho e a maioria dos animais com relação ao metabolismo de cálcio pode ser resumida nos seguintes aspectos: a) o animal tem uma alta taxa de absorção de cálcio, que não está regulada com as necessidades metabólicas de utilização deste componente, assim sendo, se explica valores de cálcio nos coelhos acima do encontrado na espécie humana; b) o níveis de cálcio no sangue não estão regulados homeostaticamente e sim guardam relação direta com a concentração de cálcio presente na dieta; c) a fração ultrafiltrável do cálcio presente no sangue é elevada, determinando uma passagem acentuada do constituinte ao rim; d) a principal rota de excreção de cálcio nos coelhos é a urina, o que os diferencia dos outros animais, cuja principal rota de eliminação se dá pela bile.

O cálcio em coelhos é absorvido no intestino delgado. Dietas ricas em cálcio acarretam na liberação de urina rica em carbonato de cálcio, sendo que esta excreção de cálcio pela urina do coelho se relaciona pela ausência de controle homeostático dos níveis de cálcio no soro (CHEEKE, 1987).

LIMA (2000), ao estudar os efeitos de alguns flavonóides (dentre eles a rutina) no metabolismo de cálcio de coelhos saudáveis, verificou-se que tais substâncias não provocaram alterações significativas nas concentrações normais desse elemento no sangue desses animais.

4.2.9 – Fósforo

As médias da concentração de fósforo sangüíneo de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante o período experimental de 30 dias, para antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 21 e 22, respectivamente.

A análise do Quadro 21, indica que houve diferença significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas, nos níveis de fósforo somente no grupo 1 (30 dias). Como não houve diferença entre sexos

nos grupos que receberam tratamento, podemos supor que a antocianina do repolho roxo interferiu-se no metabolismo de fósforo igualando os níveis séricos de fósforo entre sexos. Para os machos observa-se, aos 30 dias, um aumento estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade no grupo 2 de 50,40%, grupo 3 de 49,40% e grupo 4 de 53,17% e nas fêmeas uma redução não estatisticamente significativa no grupo 3 de 15,84%, quando comparado ao grupo 1.

Em relação a antocianina de uva roxa, observa-se no Quadro 22, que não houve diferença significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas nos níveis de fósforo no período de 15 e 30 dias. Indicando que a antocianina de uva roxa não ocasionou alterações nos níveis de fósforo entre sexos. Para os machos verifica-se uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade no grupo 3 de 18,72% (15 dias), quando comparado com o grupo 1. As fêmeas tiveram uma redução no grupo 3 de 10,57% (15 dias), sendo esta redução não estatisticamente significativa.

Quadro 21 – Valores médios de fósforo, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Fósforo (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	6,46 A	7,16 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	7,54 A	6,81 A	+ 16,72	- 4,89
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	6,88 A	7,50 A	+ 6,50	+ 4,75
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	7,58 A	7,18 A	+ 17,34	+ 0,28
30	G ₁	Ração (R)	5,04 B	8,71 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	7,58 A	7,74 A	+ 50,40*	- 11,14
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	7,53 A	7,33 A	+ 49,40*	- 15,84
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	7,72 A	7,66 A	+ 53,17*	- 12,06

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 22 – Valores médios de fósforo, em mg/dL, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Fósforo (mg/dL)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	9,56 A	9,18 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	8,55 A	8,86 A	- 10,56	- 3,48
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	7,77 A	8,21 A	- 18,72*	- 10,57
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	9,23 A	8,73 A	- 3,45	- 4,90
30	G ₁	Ração (R)	8,42 A	8,44 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	8,50 A	8,84 A	+ 0,95	+ 4,74
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	7,36 A	8,25 A	- 12,59	- 2,25
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	7,92 A	8,79 A	- 5,94	+ 4,15

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As Figuras 25 e 26 mostram as médias dos níveis de fósforo em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Pela avaliação da Figura 25, verificou-se que o grupo dos machos que receberam antocianina de repolho roxo, aos 15 e 30 dias, apresentaram um aumento na concentração de fósforo, quando comparado com o grupo controle (0 mg). Esse aumento foi mais intensificado aos 30 dias de tratamento, onde observou-se um valor médio de fósforo de 7,72 mg/dL na dose de 150 mg. Para as fêmeas verificou-se uma tendência em diminuir o nível de fósforo nos grupos que receberam antocianina do repolho roxo, em relação ao grupo controle (0 mg), onde a dose de 50 mg (15 dias) apresentou um menor valor de fósforo de 6,81 mg/dL. Sendo que, aos 30 dias de tratamento essa diminuição na concentração de fósforo nos grupos que receberam tratamento, foi mais intensificada em relação ao grupo controle

Em relação a antocianina de uva roxa, verifica-se pela Figura 26 que os grupos dos machos, aos 15 e 30 dias de tratamento reduziu a concentração de fósforo, quando comparado ao grupo controle (0 mg), exceto a dose de 50 mg

(30 dias). Para os machos e fêmeas a menor concentração de fósforo foi observada na dose de 100 mg (15 e 30 dias), quando comparado com o grupo controle (0 mg).

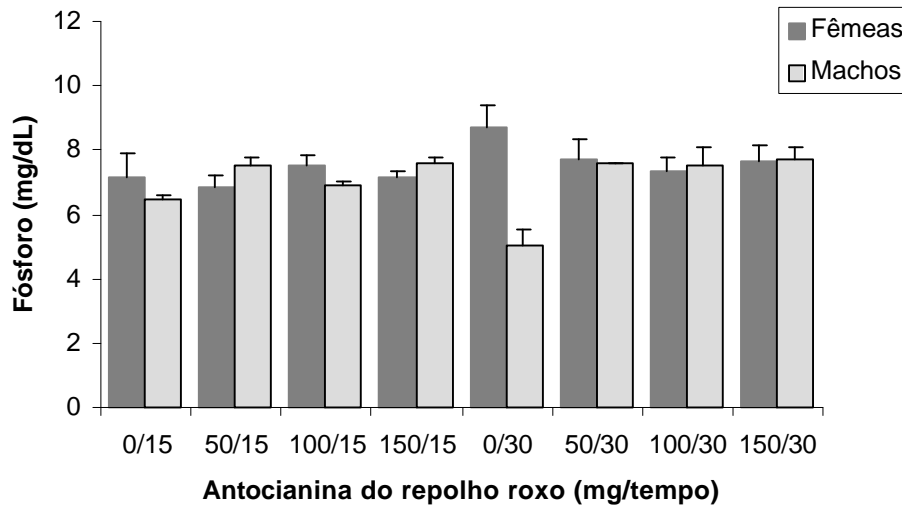


Figura 25 - Médias de fósforo de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

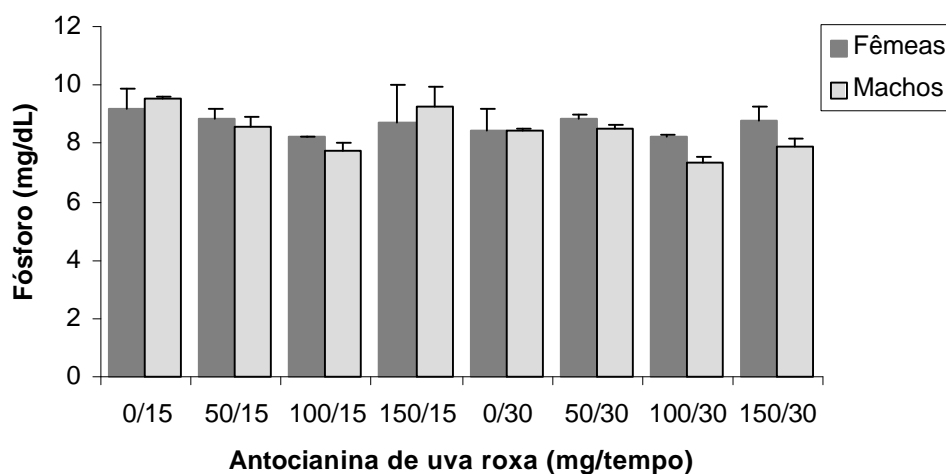


Figura 26 – Médias de fósforo de coelhos machos e Fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

4.2.10 – Cloro

As médias da concentração de cloro sanguíneo de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante o período experimental de 30 dias, para antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 23 e 24, respectivamente.

Os resultados obtidos no Quadro 23, indicam quanto ao nível de cloro, que não houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas, no grupo controle (grupo 1) e nos grupos que receberam antocianina de repolho roxo. Aos 15 dias, o grupo 4 apresentou uma redução de 5,41% para os machos e 5,39% para as fêmeas, sendo essa redução não estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

Para antocianina de uva roxa, observa-se pelo Quadro 24, quanto ao nível de cloro, que houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre sexos no grupo 3 (15 dias). Aos 15 dias o grupo 3 apresentou um aumento de 4,56% para os machos e 0,99% para as fêmeas, apesar deste aumento não ser estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade.

As Figuras 27 e 28 mostram as médias dos níveis de cloro em função das dose de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Observando-se as respectivas Figuras 27 e 28, certifica-se que o grupo controle (0 mg) e os grupos que receberam antocianina do repolho roxo e uva roxa no período de 15 dias apresentaram valores médio de cloro maiores do que os encontrados no período de 30 dias. Pela Figura 27, quanto a antocianina de repolho roxo, verifica-se que a dose de 150 mg (30 dias) apresentou uma menor concentração de cloro para os machos de 100,63 mmol/L e para as fêmeas de 101,60 mmol/L. Para a antocianina de uva roxa, observa-se também que essa mesma dose apresentou uma menor concentração de cloro para machos de 100,80 mmol/L e para as fêmeas de 103,47 mmol/L. Essa diminuição no nível de cloro aos 30 dias pode estar relacionada ao estresse calórico.

De acordo com Casares (1982) citado por OLIVEIRA (1999a) os fatores ambientais mais importante a ser levar em conta para os coelhos são a temperatura, a umidade e a ventilação. Segundo ainda o autor, as faixas ótimas de temperatura para coelhos está compreendida entre 15 a 18°C. A umidade relativa pode variar entre 50 e 80%, estando os valores ótimos entre 60-70% e a ventilação no interior da instalação deve atender as necessidades de renovação do ar, na razão de 4,3 e 1m³/h/kg de animal alojado, respectivamente, para os períodos quente e frio.

Como o experimento foi realizado no período de outubro a dezembro, a temperatura poderia estar acima da faixa compreendida para os coelhos, levando a um estresse calórico afetando assim os níveis séricos de cloro.

Em humano os valores normais são da ordem de 570 a 620 mg/dL no plasma. A diminuição de cloro do sangue pode ser detectada na diabete grave com acidose, nos estados febris, nos distúrbios gastrointestinais, na sudorese abundante, na insuficiência renal e pancreatites agudas (LIMA, 1985). Segundo o mesmo autor, a hiperclorêmia apesar de ser mais rara, pode ocorrer nos estados de nefrose, hipertensão, pela administração excessiva de solução fisiológica nos pós-operatório e na anemia.

Quadro 23 – Valores médios de cloro, em mmol/L, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Cloro (mmol/L)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	111,93 A	115,50 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	113,53 A	111,60 A	+ 1,43	- 3,38
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	113,84 A	111,37 A	+ 1,71	- 3,58
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	105,87 A	109,27 A	- 5,41	- 5,39
30	G ₁	Ração (R)	105,68 A	102,83 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	102,07 A	102,10 A	- 3,42	- 0,71
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	102,70 A	104,77 A	- 2,82	- 1,89
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	100,63 A	101,60 A	- 4,78	- 1,20

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 24 – Valores médios de cloro, em mmol/L, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Cloro (mmol/L)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
15	G ₁	Ração (R)	119,37 A	112,48 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	120,48 A	118,15 A	+ 0,93	+ 5,04
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	124,82 A	113,60 B	+ 4,56	+ 0,99
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	117,93 A	118,55 A	- 1,21	+ 5,40
30	G ₁	Ração (R)	103,33 A	105,30 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	104,20 A	104,45 A	+ 0,84	- 0,81
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	102,50 A	103,47 A	- 0,80	- 1,74
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	100,80 A	103,47 A	- 2,45	- 1,74

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

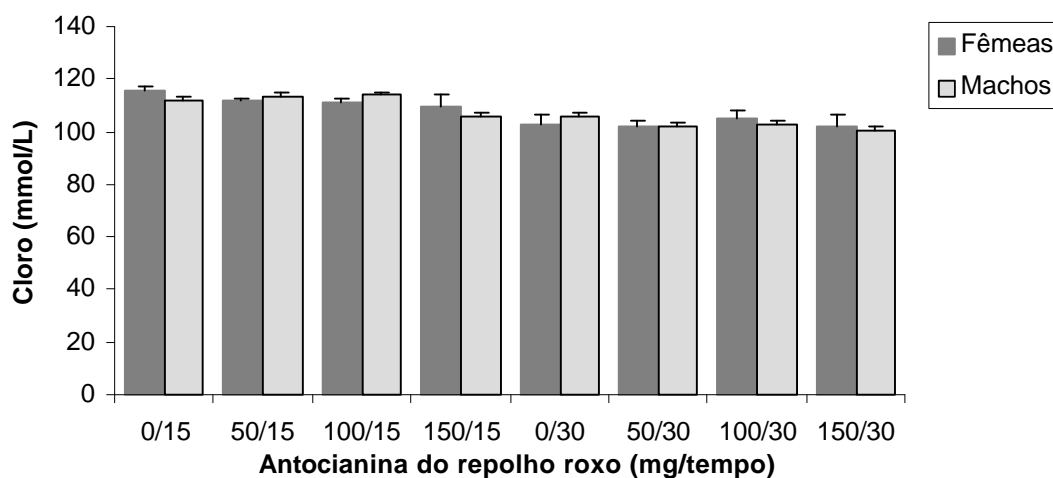


Figura 27 - Médias de cloro de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

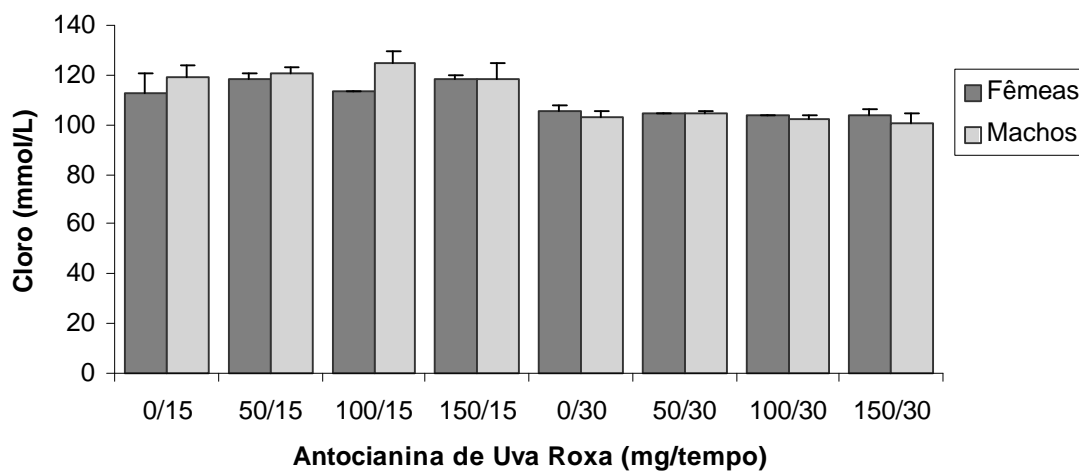


Figura 28 – Médias de cloro de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

4.2.11 – Avaliação dos pesos dos animais na toxicologia

As médias dos pesos de coelhos machos e fêmeas, obtidos durante o período experimental de 30 dias, para a antocianina do repolho roxo e uva roxa, estão dispostas no Quadro 25 e 26, respectivamente.

Certifica-se pelas análises feitas nos Quadros 25 e 26, em relação aos pesos dos animais, que não houve diferença estatisticamente significativa pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade entre machos e fêmeas no tempo 0, 15 e 30 dias.

Quanto a antocianina do repolho roxo, verifica-se em relação ao grupo 1, um aumento não estatisticamente significativo no grupo 2 de 14,77% (30 dias) para os machos e no grupo 2 de 7,77% (0 dias) para as fêmeas. Para a antocianina de uva roxa esse aumento é observado para os machos no grupo 3 de 27,29% (0 dias) e 17,58% (15 dias), sendo estatisticamente significativo pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Nas fêmeas observa-se uma redução estatisticamente significativa pelo teste Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade no grupo 4 de 22,62% (0 dias) e 17,28% (15 dias), quando comparado com o grupo 1.

Quadro 25 – Pesos médios, em Kg, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Peso (Kg)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
0	G ₁	Ração (R)	1,608 A	1,608 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,678 A	1,733 A	+ 4,35	+ 7,77
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,628 A	1,647 A	+ 1,24	+ 2,43
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,592 A	1,658 A	- 0,99	+ 3,11
15	G ₁	Ração (R)	1,810 A	1,915 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	2,042 A	2,020 A	+ 12,82	+ 5,48
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,987 A	2,000 A	+ 9,78	+ 4,44
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	2,013 A	1,980 A	+ 11,22	+ 3,39
30	G ₁	Ração (R)	2,045 A	2,157 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	2,347 A	2,308 A	+ 14,77	+ 7,00
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	2,265 A	2,260 A	+ 10,76	+ 4,78
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	2,232 A	2,232 A	+ 9,14	+ 3,48

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F ($P < 0,05$).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade

Quadro 26 – Pesos médios, em Kg, de coelhos machos e fêmeas submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados aos 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupos	Dietas	Peso (Kg)		% variação	
			Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
0	G ₁	Ração (R)	1,312 A	1,512 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,342 A	1,442 A	+ 2,29	- 4,63
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	1,670 A	1,492 A	+ 27,29*	- 1,32
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,422 A	1,170 A	+ 8,38	- 22,62*
15	G ₁	Ração (R)	1,718 A	1,811 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	1,637 A	1,705 A	- 4,71	- 5,85
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	2,020 A	1,820 A	+ 17,58*	+ 0,50
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	1,778 A	1,498 A	+ 3,49	- 17,28*
30	G ₁	Ração (R)	2,118 A	2,127 A	-	-
	G ₂	Ração + 50 mg de antocianina	2,147 A	2,082 A	+ 1,37	- 2,12
	G ₃	Ração + 100 mg de antocianina	2,227 A	2,142 A	+ 5,15	+ 0,71
	G ₄	Ração + 150 mg de antocianina	2,342 A	2,257 A	+ 10,58	+ 6,11

Em cada tempo e cada dieta (linha) médias seguidas de mesma letra não apresenta diferença pelo teste F (P < 0,05).

* Estatisticamente diferente do grupo-controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As Figuras 29 e 30 mostram as médias dos pesos de coelhos machos e fêmeas em função das doses de antocianina do repolho roxo e uva roxa/tempo, respectivamente.

Pela análise feita na Figura 29 e 30, verifica-se que houve um aumento de peso em cada grupo em relação ao tempo de tratamento. Pela Figura 29, quanto aos machos, observa-se que o grupo que recebeu 150 mg de antocianina de repolho roxo (tempo 0) apresentou um peso menor, quando comparado com o grupo controle (0 mg). Aos 30 dias, o grupo de 150 mg de antocianina de repolho roxo apresentou um peso maior, quando comparado com o grupo controle. Na Figura 30, quanto às fêmeas, observa-se que o mesmo ocorreu para a antocianina de uva roxa. Sendo que, no tempo 0, o grupo que recebeu 150 mg de antocianina de uva roxa apresentou também um peso menor, quando comparado ao controle (0 mg). Aos 30 dias, este grupo teve um peso maior em relação ao controle. Indicando que a antocianina ou

componentes presentes no extrato pode ter algum efeito sobre a conversão alimentar.

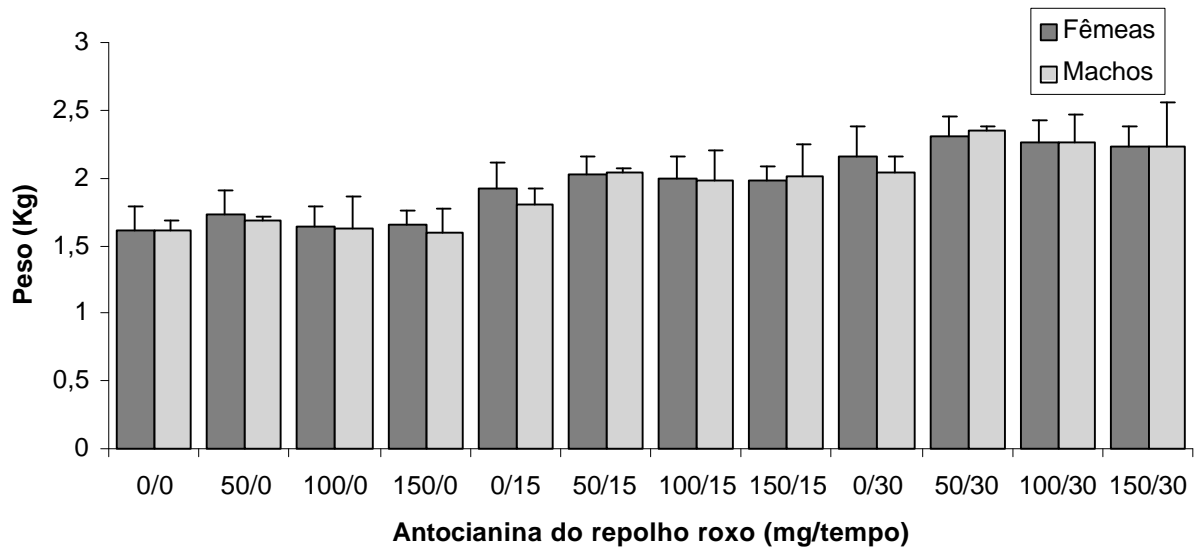


Figura 29 – Médias dos pesos de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de repolho roxo/tempo. As barras significam erro padrão.

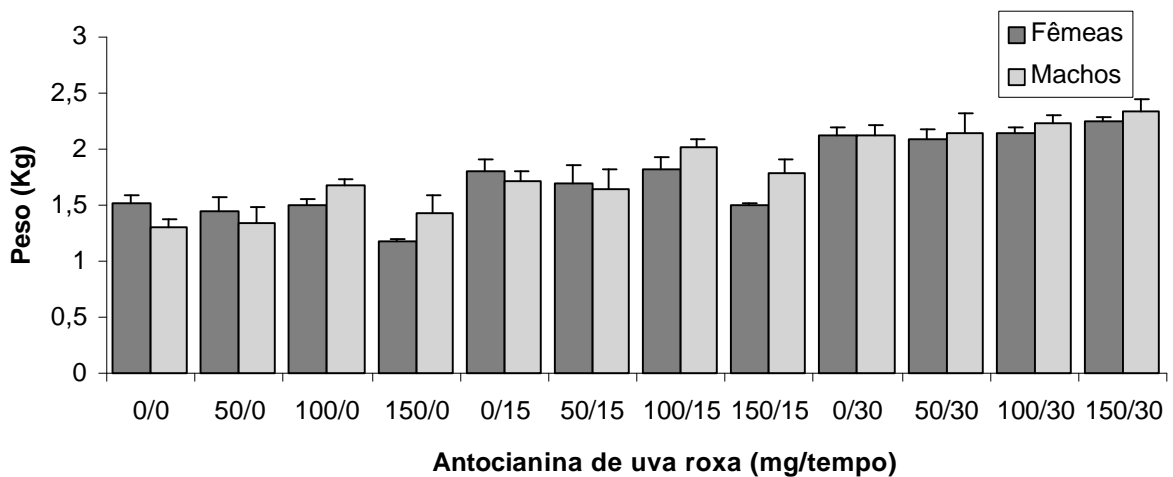


Figura 30 – Médias dos pesos de coelhos machos e fêmeas em função de diferentes dietas com antocianina de uva roxa/tempo. As barras significam erro padrão.

4.3. Avaliação Morfológica do Fígado

A avaliação morfológica hepática foi feita somente em animais que receberam antocianina de uva roxa não sendo possível uma interpretação segura das lâminas obtidas da antocianina do repolho roxo devido as alterações nos tecidos, resultantes do processo de fixação.

4.3.1. Atividade hepatoprotetora da antocianina de uva roxa

Os animais do grupo 1 (padrão), que receberam somente ração, apresentaram tecido hepático dentro dos padrões histológicos normais (Fig. 31A) com hepatócitos sem degeneração aparente e com os lóbulos exibindo seu arranjo típico, semelhante ao encontrado em grande variedade de mamíferos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

A administração da dieta enriquecida com colesterol a 1% juntamente com ácido cólico 0,1%, durante 30 dias (grupo 2 – controle), levou a um acúmulo de gotículas lipídicas no fígado caracterizando esteatose (Fig. 31B). Este acúmulo pode ser visto em todas as regiões do lóbulo hepático. Segundo Contran et al. (1990) citado por SAID (2001), a esteatose hepática refere-se ao acúmulo anormal de lipídeos no interior das células parenquimatosas. A visualização de vacúolos grandes ou pequenos representa um aumento absoluto dos lipídeos intracelulares. Em casos de toxicidade, a diminuição da síntese protéica é o mecanismo mais aceito para esta alteração, pois as proteínas são necessárias para conversão de triglicerídeos em lipoproteínas que serão secretadas.

Dos grupos que receberam antocianina junto com ração, colesterol e ácido cólico, somente aquele tratado com 150 mg do flavonóide apresentou proteção hepática efetiva exibindo raros hepatócitos contendo pequenas gotículas de gordura e características lobulares normais (Fig. 32B). Nos grupos que receberam 50 e 100 mg de antocianina a população de hepatócitos contendo gotículas lipídicas (Fig. 32A) foi comparativamente maior que no

grupo de 150 mg mas sem se igualar aos animais do grupo 2 – controle. Não houve diferença aparente com relação à morfologia hepática e deposição de gorduras entre os animais dos grupos 50 e 100 mg de antocianina. Os resultados encontrados estão de acordo com aqueles obtidos por VALENTE (1998) que observou uma redução dos níveis séricos de triacilgliceróis ao pesquisar o efeito dos corantes naturais, cúrcuma, antocianina e monascus em ratos hipercolesterolêmicos e com os relatos de BOK et al. (1999), estudando os efeitos da mistura de dois flavonóides (naringina + hesperidina) em ratos machos, verificaram redução considerável no nível de triacilgliceróis do fígado.

Animais que receberam apenas ração juntamente com diferentes doses de antocianina (50, 100 e 150 mg) (Fig. 33A) exibiram morfologia hepática semelhante aos indivíduos do grupo padrão (Fig. 33B) sem processos degenerativos aparentes e sem modificações na arquitetura dos lóbulos. Assim, pode-se admitir que, nas dosagens utilizadas, não há indícios aparentes de alterações de natureza tóxica no tecido hepático.

OBI et al. (1998) ao induzirem um processo de peroxidação lipídica em ratos utilizando CCl₄ (tetracloreto de carbono), uma hepatotoxina, mostraram claramente que a antocianina extraída de *H. rosasinensis* é um excelente agente preventivo para os danos causados ao fígado, induzidos por CCl₄.

WANG et al. (2000) usaram tert-butihidroperóxido (t-BHP) para induzir a toxicidade hepática em ratos e estudaram a bioatividade antioxidante da antocianina extraída da flores de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae). A avaliação histológica do fígado revelou que os pigmentos de Hibisco reduziram a incidência de lesões no fígado inclusive o processo inflamatório, infiltração de leucócitos e necrose induzida pelo t-BHP em ratos. Segundo estes autores, esse pigmento pode ser usado efetivamente na medicina contra hipertensão, pirexia e desordem no fígado.

Figura 31. Secção de parênquima hepático de coelho normal tratado com ração comercial (A) e submetido a dieta rica em colesterol e ácido cólico (B). Hepatócitos (setas largas), capilares sinusóides (setas finas) e gotículas de gordura (cabeças de seta). Coloração: azul de toluidina. 800X

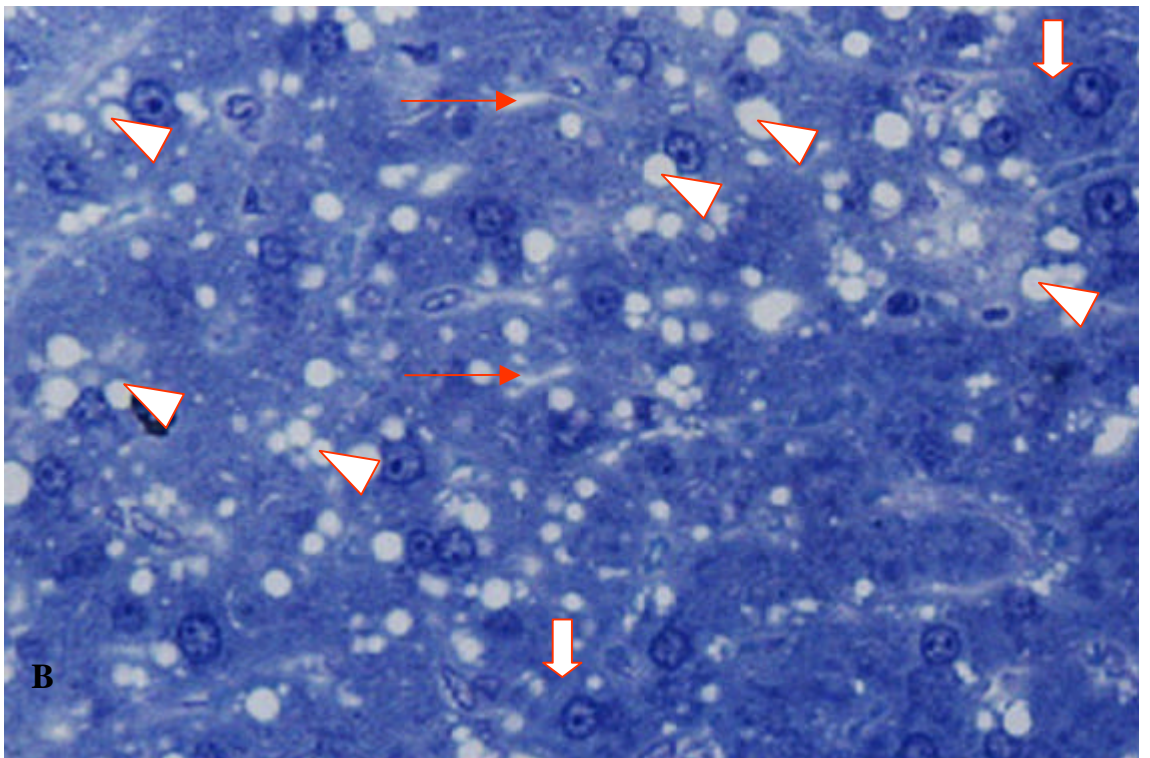
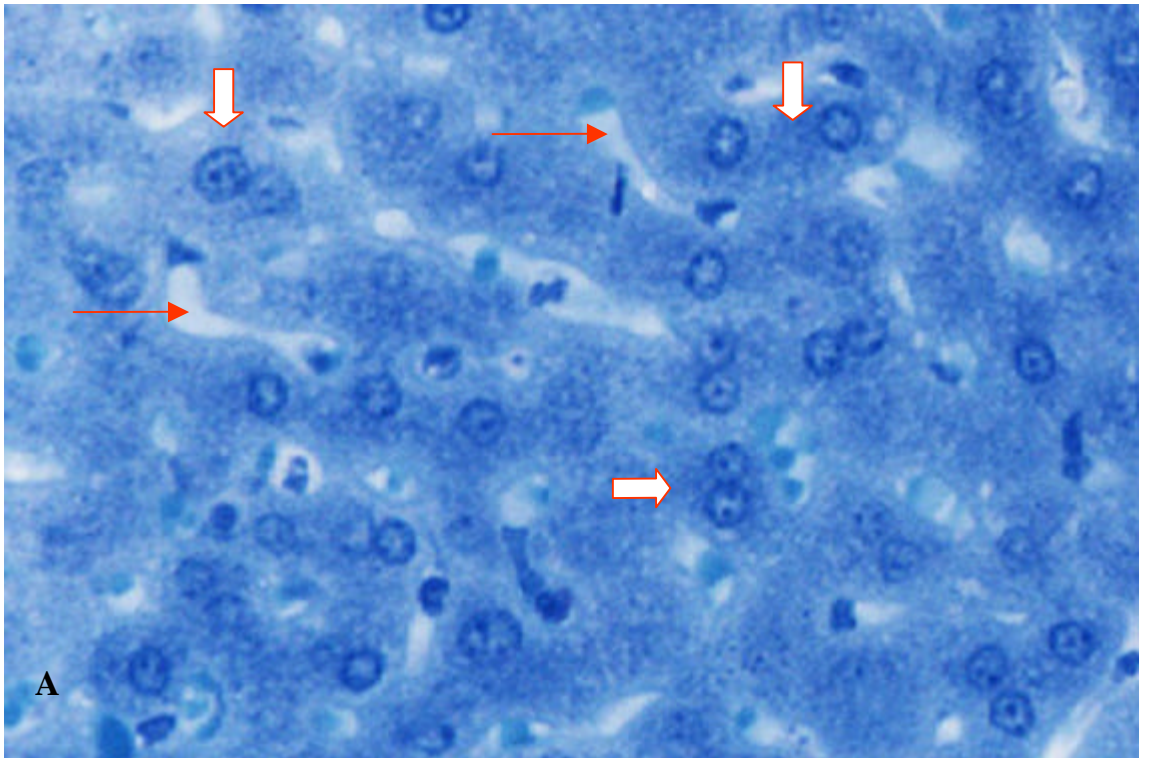


Figura 32. Secção de parênquima hepático de coelhos submetidos a dieta rica e colesterol e ácido cólico, tratado com 100 mg (A) e 150 mg (B) de antocianina de uva roxa. Hepatócitos (setas largas), capilares sinusóides (setas finas) e gotículas de gordura (cabeças de seta). Coloração: azul de toluidina. 800X

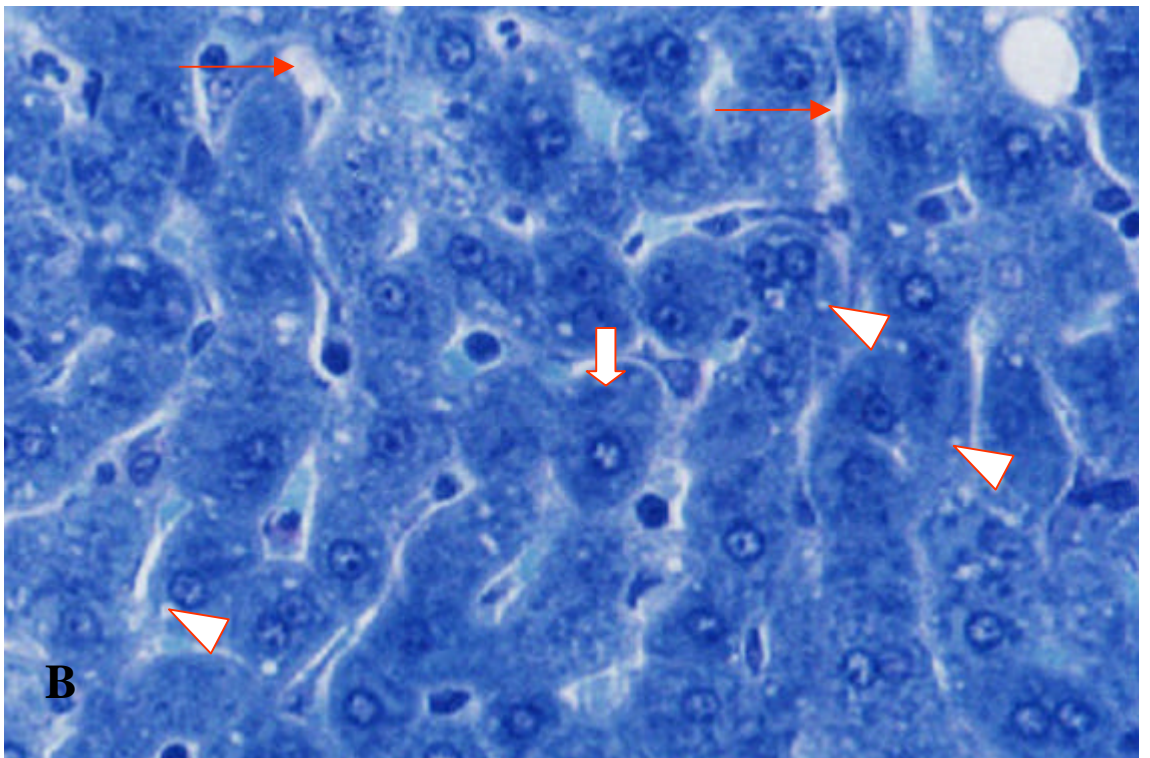
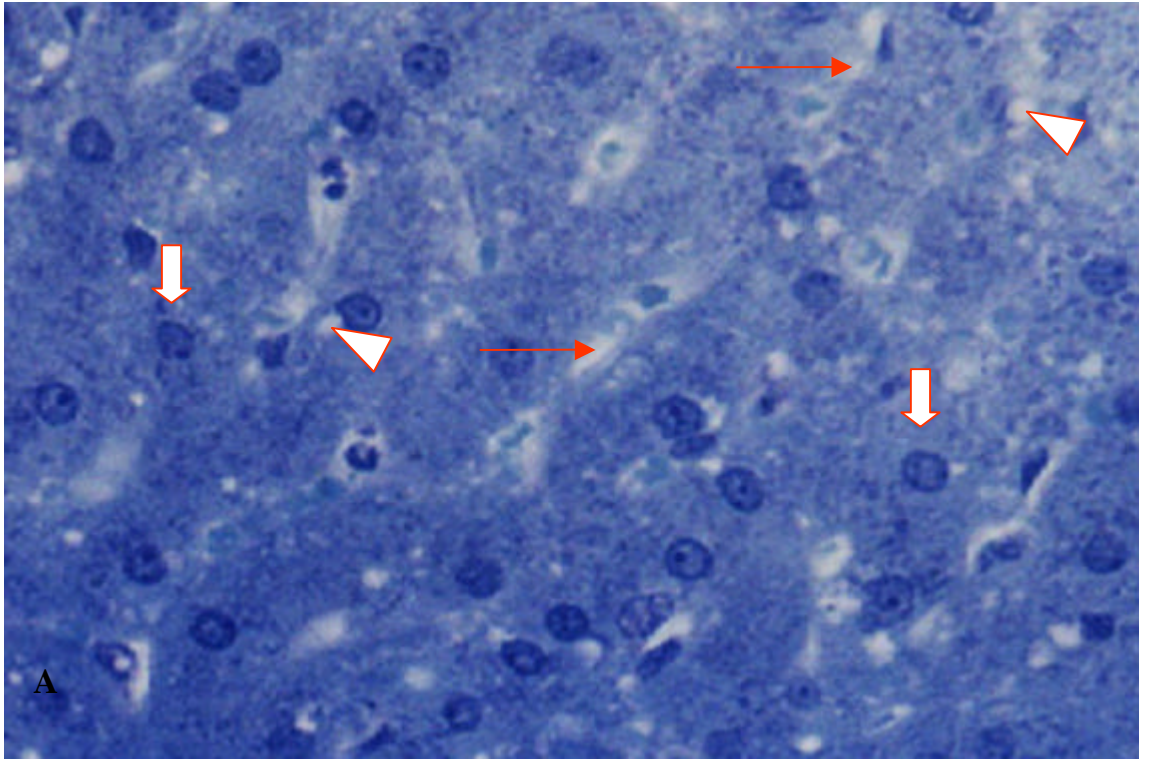
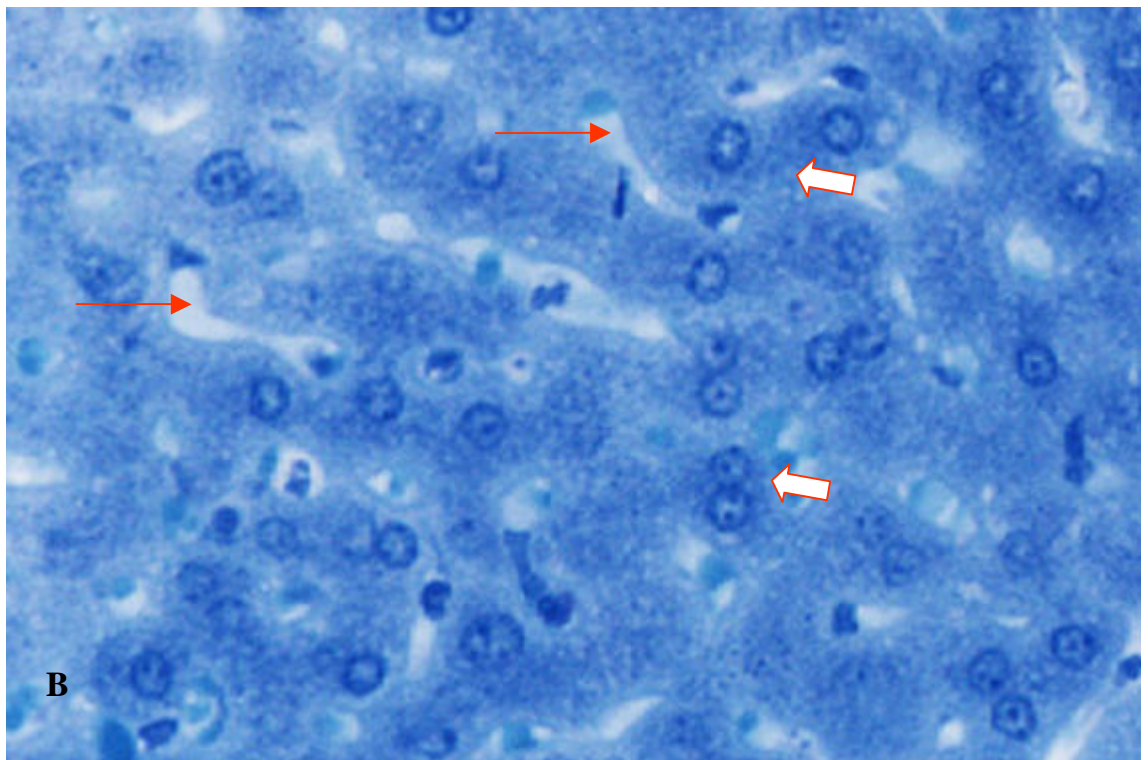
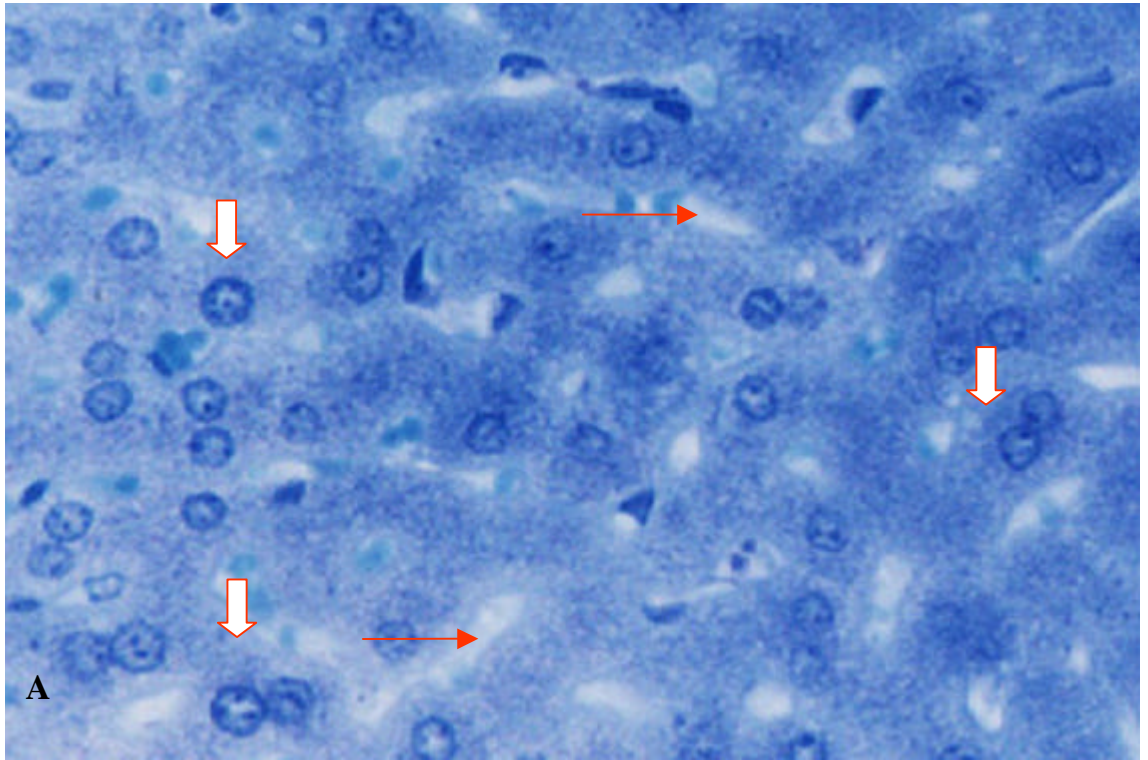


Figura 33. Secção de parênquima hepático de coelhos submetidos a 150 mg de antocianina de uva roxa (A) e tratados apenas com ração comercial (B). Hepatócitos (setas largas) e capilares sinuóides (setas finas). Coloração: azul de toluidina. 800X



5. RESUMO E CONCLUSÕES

Foram realizados dois ensaios biológicos com o objetivo de avaliar o efeito hipolipidêmico e toxicológico da antocianina do repolho roxo e da uva roxa em coelhos.

No primeiro ensaio biológico, foi induzido a hipercolesterolemia em coelhos machos da raça Nova Zelândia, utilizando colesterol 1% mais ácido cólico 0,1%, onde foram avaliados os corantes de antocianina do repolho roxo e uva roxa nas doses de 50, 100 e 150mg.

No segundo ensaio biológico utilizaram coelhos fêmeas e machos da raça Nova Zelândia e avaliou-se o efeito toxicológico desses dois corantes nas três doses estabelecidas.

No final de cada ensaio biológico os animais foram sacrificados e foi feita uma avaliação morfológica hepática para os animais que receberam como tratamento a antocianina da uva roxa. Não foi possível uma interpretação segura das lâminas obtidas da antocianina do repolho roxo devido as alterações no tecido por motivo ocorrido durante o processo de fixação

Pelos resultados obtidos no primeiro ensaio biológico, pode-se concluir:

- 1- A antocianina do repolho roxo e uva roxa reduziram os níveis de colesterol total sérico.
- 2- Em relação aos níveis de colesterol-HDL, observa-se uma elevação acentuada desta lipoproteína, aos 30 dias de tratamento nos animais

tratados com 100 mg de antocianina do repolho roxo e 50 mg de antocianina de uva roxa em relação ao controle.

3- A antocianina do repolho roxo e uva roxa têm efeito hipotrigliceridêmico.

Pelos resultados obtidos no segundo ensaio biológico, pode-se concluir:

- 1- A antocianina do repolho roxo têm efeito hipolipidêmico, aos 15 e 30 dias, na dose de 150 mg para fêmeas e 100 mg para machos e para a antocianina da uva roxa na dose de 100 mg para fêmeas e 150 mg para machos.
- 2- A antocianina do repolho roxo apresentou uma elevação acentuada de colesterol-HDL para os machos e fêmeas na dose de 50 mg (30 dias) e a antocianina de uva roxa uma elevação deste constituinte somente para os machos na dose de 50 mg (15 e 30 dias).
- 3- A antocianina do repolho roxo tem efeito hipolipidêmico sobre triacilglicerol para machos na dose de 50 mg (30 dias) e fêmeas na dose de 150 mg (30 dias) e a antocianina de uva roxa somente para os machos na dose de 150 mg (15 dias).
- 4- A antocianina de repolho roxo apresentou um aumento de glicemia para os machos durante todo período experimental e para as fêmeas somente com 15 dias de tratamento e a antocianina de uva roxa um efeito hipoglicemiante para machos e fêmeas.
- 5- Antocianina de repolho roxo e uva roxa reduziram a concentração de creatinina para ambos os sexos.
- 6- A antocianina do repolho roxo reduziu a concentração de albumina, aos 30 dias, nos machos na dose de 100 mg e para as fêmeas na dose de 150 mg e a antocianina de uva roxa na dose de 150 mg para ambos os sexos.
- 7- A antocianina do repolho roxo reduziu os níveis séricos de proteínas para machos e fêmeas e a antocianina de uva roxa não mostrou alterações relevantes, quanto aos níveis de proteínas, em relação ao grupo controle.
- 8- A antocianina do repolho roxo mostrou uma tendência em diminuir o nível sérico de cálcio para machos à medida que aumentavam às doses e uma tendência em aumentar para as fêmeas na dose de 100 mg (30 dias). A antocianina de uva roxa mostrou uma tendência em diminuir o nível de cálcio para machos e fêmeas em relação ao grupo controle, exceto na dose de 50 mg para o grupo dos machos (30 dias).

- 9- Em relação ao nível sérico de fósforo, a antocianina do repolho roxo mostrou uma tendência em aumentar a concentração deste constituinte para machos e diminuir para fêmeas em relação ao controle. A antocianina de uva roxa mostrou uma tendência em diminuir este constituinte para os machos, exceto na dose de 50 mg (30 dias).
- 10- A antocianina de repolho roxo e uva roxa reduziram a nível sérico de cloro aos 30 dias de tratamento em relação ao controle.

Com relação ao peso corporal, os resultados evidenciaram que a antocianina do repolho roxo e uva roxa proporcionou ganho de peso no metabolismo lipídico e na toxicologia.

Pode-se concluir ainda que as substâncias testadas não foram tóxicas, nas doses empregadas e no tempo utilizado, para o metabolismo de proteínas, minerais, lipídeos e glicose.

Faz-se necessário a realização de estudos dos mecanismos de ação das substâncias testadas no metabolismo lipídico, protéico, minerais e carboidratos, uma vez que os dados sobre este assunto são escassos na literatura.

Na avaliação morfológica hepática, observou-se que o grupo que recebeu 150 mg de antocianina de uva roxa + ração + colesterol + ácido cólico apresentou maior proteção hepática efetiva em relação ao grupo tratado com 50, 100 mg. Os animais que receberam apenas ração + antocianina da uva roxa nas diferentes doses (50, 100 e 150 mg) exibiram morfologia hepática semelhante aos animais do grupo padrão (ração) sem processo degenerativos e modificações na arquitetura dos lóbulos, constatando-se que não houve alterações tóxicas no tecido hepático, nas doses utilizadas e na duração do experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, L. **Estudo dos efeitos mutagênico e antimutagênico do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) e de antocianina em camundongos.** Viçosa, MG: UFV, 2000, 116p. Dissertação (Doutorado Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- BAGCHI, D., BAGHI, M. STOHS, S.J., DAS, D.K., RAY, S.D. et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. **Toxicology**, v.148, p. 187-197, 2000.
- BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v. 68, n.1, p. 55-63, 1997.
- BELLIZI, M.C., FRANKIN, M.F., DUTHIE, G.G., JAMES, W.P.T. Vitamin and coronary heart disease: The european paradox. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.48, p. 822-831, 1994.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução à química de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela, 1992. 223p.
- BOK, S.H., LEE, S.H., PARK, Y.B., BAE, K.H., SON, K.H., JEONG, T.S., CHOL, M.S. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-e-metil-glutaril-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **J. Nutrient.**, v. 129, p.1182-1185, 1999.
- BORTOLOTTI, A., CASTELLI, D., BONATI, M. Hematology and some chemistry values of adult, pregnant and newborn New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Lab. Anim. Sci.**, v.39, p.437-439, 1989.

- BRASILEIRO FILHO, G. **Patologia Bogliolo**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1328p.
- BRITO, A.S. **Manual de ensaios toxicológicos *in vivo***. Campinas: UNICAMP, 1994. 122p.
- BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral**. 2^a ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 677p.
- BRUNETON, J., **Pharmacognosy – Phytochemistry Medicinal Plants**. 2 ed. Paris: Tec & Doc., 1999. 1119p.
- CHEEKE, P.R. **Alimentación y nutrición del conejo**. Editora Acríbia, S. A., 1995. 429p.
- COOK, N.C., SAMMAN, S., Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal Nutritional Biochemistry**. v.7, p.66-76, 1996.
- COOPER-DRIVER, G. A. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. **Phytochemistry**. v. 56, p. 229-236, 2001.
- COUTO, A.B., RAMOS, L.A., CAVALHEIRO, E.T.G. Aplicação de pigmentos de flores no ensino de química. **Química Nova**. v. 21, n. 2, p. 221-27, 1998.
- DE WHALEY, C.V., RANKEN, S.M., HOULT, J.R.S., JESSUP, W., LEAKE, D.S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. **Biochemistry Pharmacology**, v. 39, p. 1743-1750, 1990.
- DUFRESNE, C.J., FARNWORTH, E.R. A review of latest research finding on the health promotion properties of tea. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 12, p.404-421, 2001.
- DYRBY, M., WESTERGAARD, N., STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. **Food Chemistry**. v. 72, p.431-437, 2001.
- FAO/WHO. **Toxicological evaluation of certain food additives**. International Programme on Chemical safety. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Roma, 1982, 65p.
- FETT, C. **Ciência da Suplementação Alimentar**. Rio de Janeiro: Editora Sprint Ltda, 2000. 390p.
- FOX, R.R., LAIRD, C.W. Biochemical parameters of clinical significance in rabbits. II – diurnal variations. **J. Hered.** v. 61, p. 265-268, 1970.

- FRANKEL, E.N., WATER HOUSE, A.L., TEISSEDE, P.L. Principal phenolic phytochemistry in selected activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, n.4, p.890-894, 1995.
- FREJAVILLE, J.P. **Manual de exame de laboratório – 500 exames: indicação técnica, interpretação e diagnóstico**. Atheneu, Rio de Janeiro, São Paulo. 1989. 701p.
- FREUND, P. R.; WASHAM, C.J.; MAGGLON, M.; Natural color for use in foods. **Cereal Foods World**, v.33, n.7, p.553-559, 1988.
- FRINHANI, E. M. D. **Efeito de antocianinas de uvas roxas (enocianinas) e de antocianinas extraídas de trapoeraba (*Tradescantia pallida*) em ratos normais e diabéticos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 91p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- FUENTES, J.A.G. Que alimentos convém ao coração? **Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.7-11, 1998.
- FULEKI, T., FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins: 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v.33, n.1, p.72-77, 1968.
- GACKOWSKI, D., KRUSZEWSKI, M., JAWIEN, A., CIECIERSKI, M., OLINSKI, R. Further evidence that oxidative stress may be a risk factor responsible for the development of atherosclerosis. **Free Radical Biology & medicine**, v.31, n.4, p. 542-547, 2001.
- GAULEJAC, N.S.C., GLORIES, Y., VIVAS, N. Free radical effect of anthocyanins in red wines. **Food Research International**. v.32, p.327-333, 1999.
- GERBER, Z.R.S., ZIELINSKY, P. Fatores de risco de aterosclerose na infância- Um estudo epidemiológico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.69, n.4, p.231-236, 1997.
- GOMES, S.M. **Efeitos de flavonóides no metabolismo lipídico**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 95p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- GUIMARÃES, I.S.S. Corantes naturais: os sucedâneos dos artificiais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.2, n.2, p.98-110, 1996.
- GUYTON, A.C., HALL, J.E., **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1997, 1013p.

- HALLAGAN, J.B., ALLEN, D.C., BORZELLECA, J.F.S. **Food chemistry toxicology**. v.33, n.6, p.515-518, 1995.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tanins) as drugs: possible modes of action. **Journal Natural Products**, v.59, p.205-215, 1996.
- HEIJNEN, C.G.M., HAENEN, G.R.M.M., VAN ACKER, F. A. A., VAN DER VIJGH, W.J.F., BAST, A. Flavonoids as peroxy-nitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. **Toxicology in vitro** 15, p.3-6, 2001.
- HERTOG, M.G.L., FESKENS, E.J.M., HOLLMAN, P.C.H., KATAN, M.B., KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. **The Lancet**, v.342, n.23, 1993.
- IGARASHI, K., ABE, S., SATOH, J. Effects of Atsumi-Kabu (Red turnip, *Brassica campestris* L.) anthocyanin on serum cholesterol levels in cholesterol fed rats. **Agricultural Biology Chemistry**, Tokyo, v.54, n.1, p. 171-175, 1990.
- IKAN, R. **Natural Products**. Academic Press, London, 2^a ed. 1991, 360p.
- ITAYA, S., IGARASHI, K. Effects of taxifolin on the serum cholesterol level in rats. **Biosci. Biotech. Biochem.**, Tokyo, v.56, n.9, p.1492-1494, 1992.
- JAHROMI M.A.F., RAY, A.B., CHANSOURIA, J.P.N. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. **J. Nat. Prod.** Columbus, v.56, n.7, p.989-994, 1993.
- JORGE, P. A.R., NEYRA, L.C., OSAKI, R.M., ALMEIDA, E., BRAGAGNOLO, N. Efeito da berinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.70, n.2, 1998.
- JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1995. 433p.
- JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1999. 433p.
- KALIL, A.N., SPERB, D., LICHTENFELS, E. Efeito da pilocarpina na regeneração hepática pós hepatectomia parcial em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**. v.13, n.4, p.222-226, 1998.
- KAYAMORI, F., IGARASHI, K., Effects of dietary nasunin on the serum cholesterol level in rats. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**. 58, p.570-571, 1994.
- KIRK, E. A., SUTHERLAND, P., WANG, S. A., CHAIT, A., LEBOEUF, R.C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in

- C57BL/6 mice but not LDL-receptor-deficient mice. **Journal Nutritional**. v.128, p.954-959, 1998.
- KOZMA, C., MACKLIN, W., CUMMINS, L.M., MAUER, R. The anatomy, physiology and biochemistry of the rabbits. In: WEISBROTH, S.H., FLATT, R.E., KRAUS, A.L. (Eds) **The biology of the laboratory rabbit**. New York: Academy Press, p.50-72, 1974.
- LADEN, B.P., PORTER, T.D. Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase. **Nutrition Research**. v.21, p.747-753, 2001.
- LESSA, I., CONCEIÇÃO, J.L., SOUZA, M.L. OLIVEIRA, V. et al. Prevalência de dislipidemias em adultos da demanda laboratorial de Salvador, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.69, n.6, p.395-400, 1997.
- LIMA, A. O., SOARES, B.J., GRECO, J.B., GALLIZI, C.J.R. **Métodos de laboratório aplicados a técnicas e interpretação**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985, 382p.
- LIMA, L.R.P. **Efeitos farmacológico, toxicológico e mecanismo de ação dos flavonóides e corantes naturais no metabolismo lipídico de coelhos**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 115p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- LOPACZYNSKI, W., ZEISEL, S.H. Antioxidants, programmed cell death, and cancer. **Nutrition Research**. V. 21, p.295-307, 2001.
- LOPES, R.M. **Efeito (hipolipidêmicos) de naringinina e chitosan e toxicologia de monascus e rutina sobre o metabolismo em coelhos**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 105p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- MACHADO, L.D. Coração roxo. **Natureza**, São Paulo, n.101, p.24-26, 1996.
- MACDONALD, J. A., MADER, J. A., BUSSARD. The role of rutin and quercetin in stimulating flavonol glycosidase activity by cultured cell-free microbial preparation of human fezes and saliva. **Mutation Research**, v. 122, p. 95-102, 1983.
- MAHAN, L.K., ESCOTT-STUMP, S. **KRAUSE- Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**,. 9 ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.
- MANSILLA, M.L., GUEDES, M.C., Antocianinas do capim Napiê (*Panicum minutifolia*) corante potencial. **Revista Brasileira de Corante Natural**, v.3, p.87-89, 1999.
- MARINETTI, G.V. **Disordens of lipid metabolism**. New York: Plenum Press, 1990. 226p.

- MARTIN, A.S., BASABE, B., BENEDI, J.M., VILLAR, A.M. In vitro and in vivo antioxidants properties of *Vaccinum myrtillus*. **Pharmaceutical Biology**. v. 37, n. 2, p.109-113, 1999.
- MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C., DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**, Viçosa: UFV, Impr. Univ., 1994. 220p.
- MAURI, P., PIETTA, P. Electrospray characterization of selected medicinal plant extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analyses**. v. 23, p.61-68, 2000.
- MAZZA, G. **Functional Foods – Biochemistry & Processing aspects, Agriculture and Agri-Food** Canada: Editora Technomic Publishing Company, Inc. 1998, 460p.
- MELLO, V.J. **Efeitos hipolipidêmico e toxicológicos de complexos de rutina com organoestânicos**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 161p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) universidade Federal de Viçosa, 2001.
- MORAZZONI, P., MAGISTRETTI, M. J. Effects of vacconium myrtillus anthocyanosides on prostacyclin-like activity in rat arterial tissue. **Fitoterapia**, v.57, n.1, p. 11-14, 1986.
- NAGEM, T.J., PEREIRA, W.L., PINTO, A.S et al. Efeitos de naringina e dos corantes naturais antocianina e carmim no metabolismo lipídico. **Revista Brasileira Farmacologia**, v.80, n.1/2, p. 25-28, 1999.
- NICOLAU, J.C., NOGUEIRA, C.N., MAIA, L.N., RAMIRES, J. A.F. Evolução dos níveis de colesterol na população adulta de São José do Rio Preto (1991-1997). **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.71, n.5, p. 699-704, 1998.
- NOVAZZI, J.P., MARTINEZ, T.L.R., Dislipidemias: critérios diagnósticos. In: LEITE, P.F., MARTINEZ, T.L.R., HALPERN, M.S.C., NOVAZZI, J.P., FONSECA, F. A.H.F., DIAS, J.C. A. (Eds) **Risco Cardiologiar. Fatores metabólicos e nutricionais – diagnósticos e tratamento**. São Paulo: Loyola, p. 51-60. 1994.
- OBI, F.O, USENU, I. A., OSAYANDE, J. O. Prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat by *H. rosasinensis* anthocyanin extract administered in ethanol. **Toxicology**. v. 131, p.93-98, 1998.
- OLIVEIRA, E.M. **III Seminário Nacional de Pesquisa e Tecnologia em Cunicultura**. In: *Ambiência e Produtividade na Cunicultura*. Jaboticabal: São Paulo, p.15-23. 1999a.
- OLIVEIRA, J.C.D., GUIMARÃES, L.D., FARIA, R.X., HIPPLERA, R. A. Fígado: vascularização colateral após isquemia induzida por clampeamento da

- aorta torácica. **Brazilian Journal Veterinary Animal Science**. v.36, n.5, 1999b.
- OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., MASCARENHAS, J.M.^o, STRINGHETA, P.C., Avaliação das concentrações dos minerais (Ca, K, Fe, Na, Mg) e metais pesados (Cr, Al, Pb, Co, Ni, Zn e Mn) em corantes naturais, urucum (norbixina), carmim, clorofila, cúrcuma, monascus, antocianina e vermelho de beterraba. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.3, p.31-35, 1999c.
- ONUNKWO, G.C., AKAH, P. A., UDEALA, O.K. Studies on *Bridelia ferruginea* leaves. Stability and hypoglycaemia actions of leaf extract tablets. **Phytotherapy Research**, v.10, p.418-420, 1996.
- PEARSON, D. A., FRANKEL, E.N., AESCHBACH, R., GERMAN, J.B. Inhibition of endothelial cell mediated low-density lipoprotein oxidation by green tea extracts. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 46, p.1445-1449, 1998.
- PEREIRA, W.L., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., et al. Redução nos níveis de lípideos utilizando o flavonóides biochanina "A" e os corantes monascus e clorofila. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. v.3, p.59-63, 1999.
- PETERSDORF, R.G., ADAMS, R.D., BRAUNWALD, E., ISSELBACHER, K.J., MARTINS, J.B., WILSON, J.D. **Harrison – Medicine Interna**. v.1, 1984, 1407p.
- PLUMP, A.S., SMMITH, J.D., HAYEK, T., ALTO-SETALA, K., WALSH, A., VERSTUYFT, J.G., RUBIN, E.M., BRESLOW, J.L. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in cells. **Cell**. v.71, p.343-353, 1992.
- RAGAN, H. A. Markers of renal function and injury. In: LOEB, W.F., QUIMBLY, F.W. (Eds) **The clinical chemistry of laboratory animals**, New York: Pergamon, p.321-344. 1989.
- RAMIREZ-TORTOSA, C., ANDERSON, O.M., GARDNER, P.T., MORRICE, P.C., WOOD, S.G., DUTHIE, S.J., COLLINS, A.R., DUTHIE, G.G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. **Free Radical Biology & Medicine**. v.31, n.9, p.1033-1037, 2001.
- RAMOS, L. A., LUPETTI, K. O., CARVALHO, E.T.G., FATIBELLO-FILHO, O. Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum nigrum L.* no ensino de química. **Eclética Química**, v.25, 2000.

- RIBEIRO, J.N. **Efeitos de própolis, antocianina e naringinina em coelhos normais e diabéticos.** Viçosa, MG: UFV, 2001. 111p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- ROSA, C.O.B. **Propriedade do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na redução de colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos.** Viçosa, MG: UFV, , 1996, 80p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, 1996.
- ROSS, M.H., ROMRELL, L.J. **Histologia – texto e Atlas.** 2ed. São Paulo: Panamericana, 1995. 779p.
- SAID, R. A. **Atividade hepatoprotetora de diferentes concentrações dos extratos aquoso e etanólico da própolis, nas intoxicações agudas por acetaminofen, em camundongos.** Viçosa, MG: UFV, 2001. 87p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- SANTOS, M.D., BLATT, C.T.T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.21, n.2, 1998.
- SANTOS, R.D., MARANHÃO, R.C. Comparação entre homens e mulheres hipercolesterolêmico de alto risco de desenvolvimento de aterosclerose. Estudo dos fatores de risco e da resposta ao tratamento com pravastatina. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.70, n.6, p. 383-387, 1998.
- SARMA, A.D., SHARMA, R. Anthocyanin-DNA copigmentation complex mutual protection against oxidative damage. **Phytochemistry**. v.52, p.1313-1318, 1999.
- SHERLOCK, S. **Doenças do fígado e do sistema biliar.** 8 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1991. 538p.
- SHI, Z., DAUN, H., FRANCIS, F.J. Major anthocyanin from *Tradescantia pallida*: Identification by LSI-MS and chemical analyses. **Journal of Food Science**, v. 58, n.5, p.1068-1069, 1993.
- SILVA, M.R.L, MOLINA, H.M., BORGES, D.R. Substâncias vasoativas e a modulação do sistema microvascular hepático. **Rev. Ass. Med. Brasil.** v.45, n.3, p.206-216, 1999.
- SILVA, R. R. **Efeito hipolipidêmico de flavonóides e corantes naturais em Aves.** Viçosa, MG: UFV, 2000, 134p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Consenso brasileiro sobre dislipidemias: detecção – avaliação – tratamento. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v.67 n.2, p.113-128, 1996.

- STRINGHETA, P. C. Antocininas – Estudos de novas fontes. **Revista Brasileira de Corantes naturais**, v.1, n.1, p. 188-193, 1992
- TAKEOKA, G.R., DAO, L.T., FULL, G.H., WONG, R.Y., HARDEN, L. A., EDWARDS, R.H., BERRIOS, J.D.J. Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.45, p.3395-3400, 1997.
- TEDESCO, I., RUSSO, G.L., NAZZARO, F., RUSSO, M. PALUMBO, R. Antioxidants effect of red wine anthocyanins in normal and catalase-inactive human erythrocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.12, p.505-511, 2001.
- TIMBERLAKE, C.F. The biological properties of anthocyanins. **Quarterly Information Bulletin**, n.1, p.4-15, 1988.
- TIMBERLAKE, C.F., BRIDLE, P. The anthocyanins. In: HARBONE, J. B., (Ed.). **The flavonoids**. London: Chapman & Hall Ltd., p.215-266. 1975.
- TOIL, R.D., VOLSTEDT, Y., APOSTOLIDES, Z. Comparison of the antioxidants content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. **Toxicology**. 166, p.63-69, 2001.
- TSUDA, T., HORIO, F. OSAWA, T. Absorption and metabolism of cyanidin 3-O- β -D-glucoside in rats. **FEBS Letters**. 449, p.179-182, 1999.
- TSUDA, T., SHIGA, K., OHSHIMA, K., KAWASKISHI, S., OSAWA, T. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect o anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. **Biochemistry Pharmacology**. v.52, p.1033-1039, 1996.
- VALENTE, S. T. X. **Efeito de corantes naturais nos níveis de colesterol e triacilgliceróis séricos em ratos hiperlipidêmicos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 102p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- VERDE, M.T. GOMEZ, J. Variaciones en las proteínas plasmáticas y en las substancias nitrogenadas no proteicas en conejos ante dos tipos de situaciones estresantes. **Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.**, v.26, n.3, p.209-220, 1987.
- VOET, D., VOET, J.G. **Biochemistry**, New York: copyright, 1995, 1361p.
- VON ELBE, J.H.e SCHWARTZ, S.J. Colorants. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3 ed. New york: Marcel Dekker, p.651-722. 1996.

- WAGNER, G. J.; Celular and subcellular localization in plant metabolism. In **Recent Advances in Phytochemistry**; Phenum Press, New York, v.16, p.1-45, 1982.
- WANG, C.J., WANG, J.M., LIN, W.L., CHU, C.Y., CHOU, F.P., TSENG, T.H. Protective effect of hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. **Food and Chemistry toxicology**. 38, p.411-416. 2000.
- WANG, H., CAO, G., PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal Agricultural Food Chemistry**. 45, p.304-309, 1997.
- WANG, W., GOODMAN, M.T. Antioxidants property of dietary phenolic agents in a human LDL-oxidation ex vivo model: Interaction of protein binding activity. **Nutrition Research**. v.19, n.2, p.191-202, 1999.
- WEISS, L., GREEP, R.O., LOBO, B.A.** Histologia. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1981. 1016p.
- YOUDIM, K.A., MARTIN, A., JOSEPH, J. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**. v.29, n.1, p.51-60, 2000.

APÊNDICE

Quadro 1A – Resumo da análise de variância do peso, do colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis de machos de coelhos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados durante 30 dias.

FV	GL	Quadrado médio			
		Peso	Colesterol total	Colesterol-HDL	Triacilgliceróis
Dietas (D)	4	0,1730 ns	225.981,90 **	72.756,13 **	17.494,61 **
Resíduo-A	25	0,1029	23.540,29	10.822,05	3.293,98
Tempo (T)	2	3,0251 **	605.108,60 **	162.049,40 **	357.316,30 **
D x T	8	0,0142 **	68.400,95 **	60.551,46 **	24.663,16 **
Resíduo-B	50	0,0038	8.554,34	9.586,63	2.477,28
CV parcela (%)		16,49	56,41	121,08	39,18
CV subparcela (%)		3,17	34,01	113,95	33,98

** F significativo a 1% de probabilidade.
 ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 2A – Resumo da análise de variância do colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis de machos de coelhos submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados durante 30 dias.

FV	GL	Quadrado médio			
		Peso	Colesterol total	Colesterol-HDL	Triacilgliceróis
Dietas (D)	4	0,0802 ns	521.076,40 **	39.382,27 *	3.993,8090 *
Resíduo-A	25	0,0886	54.751,67	128,5593	1.137,4340
Tempo (T)	2	4,2766 **	876.532,60 **	41.398,78 *	33.829,0400 **
D x T	8	0,0073 ns	217.039,00 **	39.006,13 **	3.442,0590 *
Resíduo-B	50	0,0187	19.025,89	139,0306	1.445,8100
CV parcela (%)		16,46	77,96	145,59	27,64
CV subparcela (%)		7,56	45,96	150,62	31,28

** F significativo a 1% de probabilidade.

* F significativo a 5% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 3A – Resumo da análise de variância do colesterol total, colesterol-HDL, triacilgliceróis, glicose, creatinina, albumina, proteínas, cálcio, fósforo e cloro de coelhos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados durante 30 dias.

FV	GL	Quadrado médio									
		Colesterol total	Colesterol HDL	Triacilgliceróis	Glicose	Creatinina	Albumina	Proteínas	Cálcio	Fósforo	Cloro
Sexo (S)	1	48,6018 ns	4,3923 ns	172,3315 ns	176,5249 ns	0,2791 *	0,1776 ns	23,5200 ns	4,0252 ns	2,6508 ns	1,4630 ns
Dietas (D)	3	1.158,1050 ns	74,9341 ns	1.740,7510 *	154,3692 ns	0,3763 **	0,2358 *	147,7149 **	15,5508 ns	1,1078 ns	49,2143 ns
S x D	3	1.991,2290 ns	5,8474 ns	321,6042 ns	111,9528 ns	0,1325 ns	0,0908 ns	8,9517 ns	78,5124 **	4,0769 *	5,3576 ns
Resíduo-A	16	800,3526	77,3370	375,9886	144,4830	0,0612	0,0608	27,8925	5,9050	1,1709	34,7114
Tempo (T)	1	342,9355 ns	86,1888 ns	1.974,4090 **	5.428,3260 **	0,0169 ns	0,5852 **	2,9009 ns	420,9120 **	0,8911 ns	932,9785 **
S x T	1	928,4001 ns	2,0336 ns	1.576,0930 ns	555,2198 *	0,0091 ns	0,0469 ns	1,8408 ns	84,0052 **	2,1336 ns	1,0150 ns
D x T	3	285,7117 ns	49,4283 ns	15,3636 ns	45,4467 ns	0,0229 ns	0,0215 ns	2,8114 ns	19,1268 ns	0,0885 ns	8,8042 ns
S x D x T	3	56,8957 ns	7,4221 ns	835,4636 ns	70,9191 ns	0,0075 ns	0,0484 ns	4,7059 ns	17,3092 ns	1,8874 ns	17,5018 ns
Resíduo-B	16	380,0724	36,4260	396,4225	75,7742	0,0240	0,0514	15,9629	7,1538	0,7426	17,5651
CV parcela (%)		27,89	24,94	23,00	8,72	18,30	5,38	9,23	19,24	14,87	5,50
CV subparcela (%)		19,22	17,12	23,62	6,31	11,45	4,94	6,98	21,18	11,85	3,91

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 4A – Resumo da análise de variância do peso de coelhos submetidos a diferentes dietas com repolho roxo e avaliados durante 30 dias.

FV	GL	Quadrado médio
Sexo (S)	1	0,009225 ns
Dietas (D)	3	0,083433 ns
S x D	3	0,005057 ns
Resíduo-A	16	0,222687
Tempo (T)	2	2,072544 **
S x T	2	0,000690 ns
D x T	6	0,007540 ns
S x D x T	6	0,004342 ns
Resíduo-B	31	0,016926
CV parcela (%)		24,21
CV subparcela (%)		6,68

** F significativo a 1% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 5A – Resumo da análise de variância do colesterol total, colesterol-HDL, triacilgliceróis, glicose, creatinina, albumina, proteínas, cálcio, fósforo e cloro de coelhos submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados durante 30 dias.

FV	GL	Quadrado médio									
		Colesterol total	Colesterol HDL	Triacilgliceróis	Glicose	Creatinina	Albumina	Proteínas	Cálcio	Fósforo	Cloro
Sexo (S)	1	169,8771 ns	86,9947 ns	1.513,1300 ns	1.470,7600 *	0,0936 *	0,1398 ns	7,6880 ns	5,8870 ns	0,7400 ns	36,5317 ns
Dietas (D)	3	296,2201 ns	42,0654 ns	20.382,0900 *	652,0657 *	0,0719 ns	0,7514 *	45,9744 ns	12,1526 ns	2,3186 ns	7,8598 ns
S x D	3	173,3929 ns	104,4152 ns	2.563,4030 ns	96,8219 ns	0,0108 ns	0,0817 ns	21,3436 ns	1,2098 ns	0,3667 ns	23,9029 ns
Resíduo-A	16	488,8790	89,3833	2130,359	173,3241	0,0273	0,1858	32,8336	15,4667	1,0906	46,6751
Tempo (T)	1	3.800,3020 **	708,2497 **	36.151,6700 *	13,2299 ns	0,0833 **	0,0945 ns	35,5870 ns	0,5568 ns	2,4210 *	2.604,6320 **
S x T	1	49,8168 ns	12,1203 ns	335,4920 ns	171,7633 ns	0,0161 ns	0,0553 ns	4,5080 ns	12,2918 ns	0,9464 ns	123,4406 ns
D x T	3	20,0408 ns	60,0593 *	24.242,7800 *	38,7806 ns	0,0030 ns	0,0161 ns	19,2024 ns	16,9067 ns	0,5135 ns	13,9621 ns
S x D x T	3	72,6120 ns	9,0767 ns	2.011,5510 ns	61,6272 ns	0,0081 ns	0,0729 ns	14,6117 ns	5,7223 ns	0,2432 ns	18,2258 ns
Resíduo-B	16	88,4144	17,1689	2647,834	96,5727	0,0069	0,1089	14,3489	5,8101	0,3043	32,6780
CV parcela (%)		21,70	21,82	58,02	9,74	13,29	9,02	9,18	31,60	12,23	6,17
CV subparcela (%)		9,23	9,56	66,07	7,27	6,67	6,91	6,07	19,37	6,46	5,16

** F significativo a 1% de probabilidade.
 * F significativo a 5% de probabilidade.
 ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 6A – Resumo da análise de variância do peso de coelhos submetidos a diferentes dietas com uva roxa e avaliados durante 30 dias.

FV	GL	Quadrado médio
Sexo (S)	1	0,057066 ns
Dietas (D)	3	0,105660 ns
S x D	3	0,097017 ns
Resíduo-A	16	0,074239
Tempo (T)	2	3,486852 **
S x T	2	0,003349 ns
D x T	6	0,059028 **
S x D x T	6	0,014749 ns
Resíduo-B	32	0,012999
CV parcela (%)		15,28
CV subparcela (%)		6,39

** F significativo a 1% de probabilidade.

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.