

Efeito de diferentes doses de rutina sobre lipídeos no soro de coelhos machos e fêmeas

Different doses of the flavonoid rutin on the levels of serum lipids in male and female rabbits

Oliveira, T.T.¹; Nagem, T.J.²; Lopes, R.M.¹; Moraes, G.H.K.¹; Ferreira Junior, D.B.¹; Silva, R.R.¹ & Maia, J.R.S.³

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses do flavonóide rutina sobre os níveis de lipídeos no soro de coelhos machos e fêmeas da raça Nova Zelândia, com 55 dias de vida. De acordo com os resultados, o colesterol não diferiu estatisticamente nos machos, mas apresentou reduções significativas para as fêmeas. Com relação ao colesterol-HDL, as fêmeas não apresentaram alterações e machos apresentaram reduções no grupo tratado 20mg/dia de rutina. Para triacilgliceróis, observou-se diferenças significativas nos grupos tratados com 60mg/dia de rutina.

PALAVRAS-CHAVE – Rutina, lipídeos, coelhos.

SUMMARY – The present work evaluates the effect of different doses of the flavonoid rutin on the levels of serum lipids in male and female rabbits from New Zealand race with 55 days of life. The results showed that cholesterol was not statistical different for male animals. Otherwise, females rabbits showed significant reductions. For cholesterol-HDL, female rabbits did not showed alterations but males rabbits presented reductions mainly in the group treated with 20mg/daily of rutin. For triacilglycerols, the statistical significant differences was observed in the groups treated with 60mg/daily of rutin.

KEYWORDS – Rutin, lipids, rabbits.

INTRODUÇÃO

As lipoproteínas (LP) são aglomerações moleculares quase esféricas e constituídas de componentes hidrofóbicos em seu interior (colesterol esterificado, triacilgliceróis, vitaminas lipossolúveis) e componentes mais hidrofílicos na periferia (fosfolipídeos, colesterol não-esterificado). As apolipoproteínas (apo-LP), formam um mosaico externo com segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos que permitem a solubilidade do macroagregado em meio aquoso, e desempenham diversas funções na regulação de enzimas e de proteínas que participam do metabolismo das lipoproteínas (Quintão e Nakandakare, 1992).

A aterosclerose é uma cardiopatia coronária que tem como fatores de risco a idade, sexo, obesidade, stress emocional, baixos níveis de colesterol-HDL, fumo, dietas ricas em gordura saturada e ainda predisposição genética. Estes são correlacionados com o aumento nos níveis sanguíneos de colesterol, assim como atividades oxidantes de radicais livres sobre as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) ao nível endotelial. O consumo de gorduras saturadas aumenta os valores do colesterol na corrente sanguínea, impedindo a atividade dos receptores de LDL e, conseqüentemente, dificultando a sua eliminação (Leite, 1994).

Os altos níveis de colesterol-HDL reduzem os níveis de cardiopatia coronária; seu efeito é oposto ao colesterol-LDL. Indivíduos que apresentam altos níveis séricos de LDL e níveis baixos de HDL, apresentam riscos elevados de cardiopatia coronária. Ainda que os níveis de HDL possam estar condicionados geneticamente, a alimentação é um dos fatores determinantes.

Nos países desenvolvidos, os altos níveis sanguíneos de colesterol devem-se principalmente a uma alimentação inadequada (Feinleb, 1984).

Flavonóides são compostos naturais encontrados, usualmente, em verduras, leguminosas, frutas, grãos, sementes, ervas e também em bebidas como vinho e chá (Peterson e Dwyer, 1998).

Diversos ensaios *in vivo* e *in vitro* têm mostrado a ampla variedade das atividades biológicas dos compostos flavonoídicos. Segundo Ratty e Das (1998) algumas delas já foram observadas por Szent-Gyorgi, desde 1936. Os seguintes efeitos dos flavonóides sobre os sistemas biológicos, já foram observados: capacidade antioxidativa, antiinflamatória, vasodilatadora, antialérgica, antihepatotóxica, antiulcerogênica, antiplaquetária, antimicrobianas, antivirais, bem como atividade contra o desenvolvimento de tumores (Kuhlmann *et al.*, 1998; Duarte *et al.*, 1993; Hanasaki *et al.*, 1994). Todavia, Formica e Regelson (1995) afirmam que, apesar desses compostos poderem desempenhar atividades mutagênicas, os mesmos são considerados como substâncias essencialmente não carcinogênicas.

Izzo *et al.* (1994) verificaram a proteção exercida pela quercetina, kaempferol e rutina sobre a mucosa gástrica de ratos contra a atividade ulcerogênica de etanol. Os autores sugerem que a redução de um fosfolipídio endógeno denominado fator de agregação plaquetária (platelet - activating factor PAF), causador de ulcerações gastrointestinais, é uma das principais razões da atividade contra processos de ulcerações nas mucosas gástricas. Associando a mesma com a capacidade de promover a diminuição de secreção de ácidos gástricos e aumento da secreção de glicoproteínas, bi-

Recebido em 19/11/2003

Aprovado em 5/4/2004

¹Deptº de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV, 36571-000, Viçosa, MG, Brasil; ²Deptº de Química, UFOP, 35400-000, Ouro Preto, MG, Brasil;

³Departamento de Química, UFV, 36571-000, Viçosa, MG, Brasil.

carbonato de sódio, da microcirculação vascular e da síntese de prostaglandinas, notadamente as PGI₂ e PGE₂ que apresentam capacidade citoprotetora da mucosa gástrica (Borel *et. al.*, 1987).

Pelzer *et. al.* (1998) por sua vez, estudaram o efeito antiinflamatório de 30 flavonóides, dentre eles, a rutina e jaceosidina que inibiram significativamente o edema provocado pelo processo de inflamação induzido nas patas de ratos e foram os que apresentaram os melhores efeitos antiinflamatórios.

Morel *et. al.* (1993) também observaram que a rutina e a quercetina foram os inibidores mais efetivos no sistema de peroxidação lipídica dependente de ferro e foram quelantes dos íons ferro com formação de complexos inertes incapazes de iniciar a peroxidação lipídica. Demonstraram capacidade de suprimir os estágios do processo de formação dos radicais livres como a formação do radical hidroxila na reação de Fenton e a formação de radical peróxido.

Outros estudos mostram que os flavonóides quercetina, rutina e naringina inibem a biossíntese de eicosanóides (resposta antiprostanoide e antiinflamatória), protegem a oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (previnem formação de placa aterosclerótica), previnem agregação plaquetária (efeitos antitrombóticos), e promovem relaxamento de músculo liso (efeito antihipertensivo e antiarrítmico). Além disso, flavonóides têm também apresentado propriedades antivirais e carcinostáticas (Smith *et. al.*, 1993).

O efeito antioxidante dos flavonóides parece estar relacionado com sua ação antitrombótica. A ação antitrombótica e vasoprotetora de quercetina e rutina, além de outros flavonóides, tem sido atribuída à sua habilidade de ligar-se à membrana de plaquetas e eliminar radicais livres. Através de sua ação antioxidante, os flavonóides restabelecem a biossíntese e ação de prostaciclina endotelial e fator de relaxamento derivado do endotélio, os quais são inibidos pelos radicais livres (Cook e Samman, 1996).

Devido a grande importância da rutina e de suas propriedades biológicas, o presente trabalho foi elaborado com a finalidade de avaliar o efeito de diferentes doses da rutina sobre ganho de peso e sobre os níveis de lipídeos no soro de coelhos machos e fêmeas da raça Nova Zelândia com 55 dias de idade.

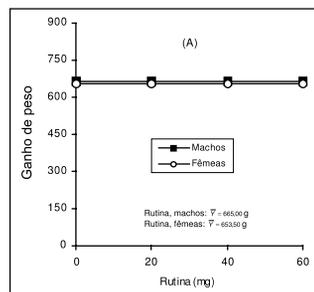


FIG. 1 - Estimativa do ganho de peso de machos e fêmeas de coelhos avaliados aos 28 dias, em função de doses de rutina.

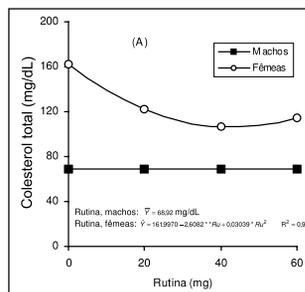


FIG. 2 - Estimativa do colesterol total de machos e fêmeas de coelhos avaliados aos 28 dias, em função de doses diferentes de rutina.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste experimento foram utilizados coelhos da raça Nova Zelândia provenientes do setor de cunicultura da Universidade Federal de Viçosa com 55 dias de idade no início do experimento. Os animais foram divididos em machos e fêmeas, constituindo-se 4 grupos por sexo, contendo cada um 5 animais, que receberam rutina nas doses de 20, 40 e 60mg, além dos grupos controles que receberam apenas ração. Os animais foram colocados em gaiolas individuais, com temperatura ambiente de $22 \pm 3^\circ\text{C}$, sendo que a taxa de umidade relativa do ar foi mantida em torno de 70%. O regime alimentar constituiu-se de água potável *ad libitum* e ração comercial "Socil", sendo fornecida uma quantidade de 120g/dia por animal. Após um período de adaptação de sete dias, os animais receberam, diariamente, durante 28 dias, uma cápsula contendo rutina com suas respectivas doses. Foram estipulados dois tempos para a coleta de sangue e pesagem dos animais: o tempo 0 (zero) aquele após o período de adaptação e tempo final após o 28º dia. As amostras de sangue foram coletadas pelo plexo venoso retro-orbital, sendo, a seguir, centrifugadas a 3500xg durante 15 minutos e efetuadas as dosagens sorológicas de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis em equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados na Tab. I e representados nas Figuras 1, 2, 3 e 4. A discussão dos gráficos foi feita para cada parâmetro avaliado nos tempos 0 (zero) e final do período experimental, ou seja, após 28 dias.

A discussão dos gráficos fundamenta-se sobre equa-

TABELA I
Ganho de peso, colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis de machos e fêmeas de coelhos tratados com diferentes doses de rutina

Grupos	Tempo (Dias)	Ganho de peso (g)		Colesterol (mg/dL)		Colesterol-HDL (mg/dL)		Triacilgliceróis (mg/dL)	
		Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Ração	0			72,94 Ba	156,58 Aa	35,64 Aa	43,40 Aa	134,40 Aa	152,80 Aa
	28	660,00 A	670,00 A	71,04 Ba	164,98 Aa	33,76 Ba	44,28 Aa	134,44 Aa	152,00 Aa
Ração + 20 mg de rutina	0			72,00 Ba	166,00 Aa	37,06 Aa	40,96 Aa	142,00 Aa	149,02 Aa
	28	683,00 A	670,00 A	64,78 Ba	113,04 Ab	26,06 Ab	34,18 Aa	119,66 Aa	120,56 Aa
Ração + 40 mg de rutina	0			72,04 Ba	152,00 Aa	35,56 Aa	37,44 Aa	134,80 Aa	150,00 Aa
	28	683,00 A	642,00 A	73,44 Ba	115,24 Ab	33,25 Aa	37,40 Aa	145,62 Aa	119,44 Aa
Ração + 60 mg de rutina	0			70,02 Ba	161,20 Aa	35,98 Aa	33,72 Aa	116,98 Ba	154,00 Aa
	28	634,00 A	632,00 A	66,42 Ba	111,92 Ab	38,40 Aa	38,42 Aa	135,16 Aa	99,60 Bb

Em cada característica, cada grupo e cada tempo (linha), A difere de B pelo teste F ($P < 0,05$).

Em cada característica, cada grupo e cada sexo (coluna), a difere de b pelo teste F ($P < 0,05$).

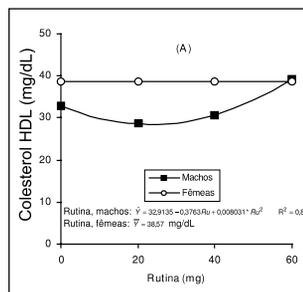


FIG. 3 - Estimativa do colesterol HDL de machos e fêmeas de coelhos avaliados aos 28 dias, em função de doses diferentes de rutina.

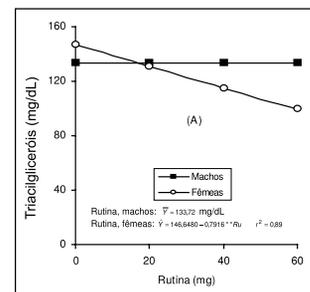


FIG. 4 - Estimativa de triacilgliceróis de machos e fêmeas de coelhos avaliados aos 28 dias, em função de doses diferentes de rutina.

ções ajustadas para o tratamento de rotina, aos animais machos e fêmeas, após os tratamentos. Por meio destas equações utilizadas para a montagem dos gráficos, pode-se calcular as maiores e menores médias estimadas dos parâmetros avaliados de acordo com a dose utilizada.

Fatores como a linhagem, a idade, a alimentação e o sexo dos animais, assim como as condições ambientais e as variáveis analíticas influenciam no resultado final de estudos bioquímicos, daí a importância de se considerar os valores encontrados nos grupos controle dentro deste experimento. Também a variação no procedimento das técnicas utilizadas para coleta e preparo das amostras pode influenciar no resultado final.

A Tab. I indica que o ganho de peso entre os grupos formados não apresentou variações estatisticamente significativas ($P > 0,05$), o que permite concluir que os tratamentos não afetaram o ganho de peso dos animais. Esta conclusão é confirmada na Figura 1, onde se pode verificar que o uso da rotina não interferiu no parâmetro analisado, já que todos os animais mantiveram as mesmas estimativas, apresentando, para os machos uma média de ganho de peso de 665,00 gramas, e para as fêmeas a média de 653,00 gramas.

Uma diferença significativa ($P < 0,05$) foi observada para o colesterol total em todos os grupos e tempos de fêmeas, enquanto que para os machos, não. Níveis séricos de colesterol foram maiores em fêmeas (Tab. I).

É importante salientar que os coelhos estavam entrando em puberdade e, por isso, o colesterol sintetizado tem várias rotas metabólicas a seguir, sendo as principais a síntese dos sais biliares e a dos hormônios esteroidais.

No caso de coelhas que possuem quatro ou cinco glândulas mamárias distribuídas aos pares, as situadas na região abdominal são as mais produtivas, e apresentam o ápice de seu desenvolvimento após a puberdade, devido à ação dos hormônios estrógenos e da progesterona (15). Parte do colesterol é empregado nestas produções de hormônio, motivo pelo qual se justifica o maior valor de colesterol nas fêmeas em comparação com os machos.

Os resultados mostraram que o colesterol foi reduzido em todos os grupos de fêmeas tratados, evidenciando-se uma capacidade hipocolesterolêmica de rotina nas doses empregadas, embora nos machos não tenha sido observado o mesmo desempenho. A redução dos níveis do colesterol em coelhas se torna mais relevante ao se observar, que não ocorreram variações estatisticamente significativas do colesterol-HDL. Isto é uma vantagem, pois o colesterol-HDL retira o colesterol da circulação e o leva para o fígado para ser metabolizado.

A Fig. 2 mostra que os coelhos machos não variaram seus valores médios de colesterol total de 68,92mg/dL em todas as doses de rotina empregadas. Já as fêmeas apresentaram um valor maior 162,00mg/dL. Estima-se que a rotina, se aplicada durante 28 dias numa dose de 42,91mg acarretaria, uma menor estimativa de colesterol, numa concentração média de 106,04mg/dL.

Com relação aos níveis de colesterol-HDL, as fêmeas não apresentaram alterações significativas quando comparados os tempos 0 e 28 dias. Já os coelhos machos apresentaram reduções estatisticamente significativas no grupo tratado com rotina 20mg por dia (Tab. I).

A análise da Fig. 3 evidencia que rotina não atuou influenciando o colesterol - HDL em fêmeas que manteve uma média de 38,57mg/dL. Nos machos, uma dose de 60 mg de rotina elevou o colesterol - HDL para uma média

máxima de 39,25mg/dL. Estima-se que uma dose de 23,43mg reduziria o HDL para um nível de 28,51mg/dL.

Para triacilgliceróis se observou diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$), comparando sexos distintos, nos grupos de animais tratados com rotina na dose de 60mg diárias. É importante ressaltar que a rotina diminuiu os níveis de triacilgliceróis em fêmeas de 154,00 para 99,60mg/dL ao final do experimento (Tab. I).

A atividade desta substância torna-se bem visível quando se observa que o grupo controle apresenta valores médios de 146,65mg/dL.

Para os machos tratados com rotina, os níveis séricos de triacilgliceróis apresentaram uma manutenção em suas médias ao longo das doses do tratamento efetuado. O valor médio de 132,72mg/dL foi constante (Fig. 4).

CONCLUSÃO

O flavonóide rutina, nas condições experimentais deste trabalho, mostrou-se eficaz em reduzir, de maneira significativa, os níveis de colesterol total em fêmeas de coelhos, mas não nos machos. Não influenciou nos níveis de colesterol-HDL nos machos e fêmeas, à exceção da dose de 20mg nos machos.

Os teores de triacilgliceróis foram reduzidos significativamente nas fêmeas somente na dose de 60mg diários de rotina. Estes resultados podem servir de parâmetros, na utilização da rotina com fins hipolipidêmicos, devido especialmente, a sua capacidade de diminuir o colesterol total, o grande vilão das doenças cardiovasculares dos tempos modernos.

REFERÊNCIAS

1. Borel, J.P.; Maquart, F.X.; Valeyre J.; Peuch, L.C.; Rondouse, A.; Bioquímica Dinâmica. 1ª ed., Ed. Panamericana, 800p., 1987.
2. Cook, N.C.; Samman, S.; Flavonoids - chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources - review. The Journal of Nutrition Biochemistry; 7: 66-76, 1996.
3. Duarte, J.; Vizcaino, F.P.; Utrilla, P.; Jimenez, J.; Tamargo, J.; Zarzuelo, A.; Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure activity relationships. Biochemical Pharmacology; 24: 857-862, 1993.
4. Feinleb, M.; The magnitude and nature of the decrease in coronary artery disease mortality rate. American Journal of Cardiology; 54: 2c-6c, 1984.
5. Formica, J.V.; Regelson; W.; Review of quercetin and related bioflavonoids. Food Chem. Toxic.; 33: 12, 1061-1080, 1995.
6. Hanasaki, Y.; Ogawa, S.; Fukui, S.; The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. Free Radical Biol. Med.; 16: 845-850, 1994.
7. Izzo, A.A.; Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Capasso, F.; Antiulcer effect of flavonoids. Role of endogenous PAF. Phytoterapy Research. 8: 179-181, 1994.
8. Kuhlmann, M.K.; Korsch, E.; Burkhardt, G.; Wagner, M.; Kohler, H.; Reduction of cisplatin toxicity in cultured renal tubular cell by the bioflavonoid quercetin. Arch Toxicol; 72: 8, 536-540, 1998.
9. Leite, P.F.; Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. 1ª ed., Editora Acta Médica Ltda, 1994, 175p.
10. Mello, H.V.; Silva, J.F.; A criação de coelhos. 2ª ed.; Editora Globo, 214p., 1989
11. Morel, I.; Lescoat, G. Cogrel, P.; Sergent, O.; Pasdeloup, N.; Brissot, P.; Cillard, P.; Cillard, P.; Cillard, J.; Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron loaded rat hepatocyte cultures. Biochemical Pharmacology; 45: 13-19, 1993.
12. Pelzer, L.E.; Guardia, T.; Juarez, A.O.; Guerreiro, E.; Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. Il farmaco, 53: 421-424, 1998.
13. Peterson, J.; Dwyer, J.; Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. Nutrition Research; 18: 12, 1995-2018, 1998.
14. Quintão, E.; Nakandare, E.R.; Manual de referência em dislipidemias; São Paulo, 106p., 1992.
15. Ratty, A.K.; Das, P.N.; Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. Biochemical Medicine and Metabolic Biology; 39: 69-79, 1988.
16. Smith, R.M.; Tiesinga, J.J.; Shah, N.; Smith, J.A.; Jarett, L.; Genistein inhibits insulin-stimulated glucose transport and decreases immunocytochemical labeling of GLUT 4 carboxyl-terminus without affecting translocation of GLUT-4 in isolated rat adipocytes: additional evidence of GLUT-4 activation by insulin. Archives of Biochemistry and Biophysics; 300: 238-246, 1993.

Endereço para correspondência

Profª Drª Tânia Toledo de Oliveira / e-mail: ttoledo@ufv.br
Deptº de Bioquímica e Biologia Molecular
Avenida PH Rolfs, S/N, 36571-000
Universidade de Viçosa - Viçosa - Minas Gerais - Brasil