

JANICE LIMA ALVAREZ FLORES

**A UTILIZAÇÃO DO MATE (*Ilex paraguariensis* St Hill), UM ANTIOXIDANTE
NATURAL COMO ESTRATÉGIA PARA A PROMOÇÃO DA SAÚDE: UM ESTUDO
DA HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL INDUZIDA PELA DIETA**

RIO GRANDE

2006

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM
MESTRADO EM ENFERMAGEM**

**A UTILIZAÇÃO DO MATE (*Ilex paraguariensis* St Hill), UM ANTIOXIDANTE
NATURAL COMO ESTRATÉGIA PARA A PROMOÇÃO DA SAÚDE: UM ESTUDO
DA HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL INDUZIDA PELA DIETA**

JANICE LIMA ALVAREZ FLORES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, como requisito para obtenção do título de Mestre em Enfermagem – Área de Concentração: Enfermagem e Saúde. Linha de Pesquisa: Tecnologias de Enfermagem/Saúde a Indivíduos e Grupos Sociais.

Orientador(a): Dr^a Ana Luiza Muccillo Baisch

Co-Orientador(a): Dr^a Maria Elisabeth Cestari

Rio Grande

2006

F634u Alvarez-Flores, Janice Lima

A utilização do mate (*Ilex paraguariensis* St Hill), um antioxidante natural, como estratégia para a promoção da saúde: um estudo da hipercolesterolemia experimental induzida pela dieta / Janice Lima Alvarez Flores; orientadora Ana Luiza Muccillo Baisch; co-orientadora Maria Elisabeth Cestari. – Rio Grande, 2006.

Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Fundação Universidade do Rio Grande, Programa de pós-graduação em Enfermagem.

104 p.

1. *Ilex paraguariensis* 2. Hipercolesterolemia 3. Antioxidantes I. Título. II. Baisch, Ana Luiza Muccillo III. Cestari, Maria Elisabeth

CDU 612.05.17

Ficha catalográfica elaborada por Thiago Ribeiro Moreira CRB 10-1610

JANICE LIMA ALVAREZ FLORES

A UTILIZAÇÃO DO MATE (*Ilex paraguariensis* St Hill), UM ANTIOXIDANTE NATURAL COMO ESTRATÉGIA PARA A PROMOÇÃO DA SAÚDE: UM ESTUDO DA HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL INDUZIDA PELA DIETA

Esta dissertação foi submetida ao processo de avaliação pela Banca Examinadora para a obtenção do Título de

Mestre em Enfermagem

E aprovada na sua versão final em 24 de agosto de 2006, atendendo às normas da legislação vigente da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Área de Concentração Enfermagem e Saúde.

Dr Wilson Danilo Lunardi Filho
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem

BANCA EXAMINADORA:

Dr.(a) _____
Dr^a Ana Luiza Muccillo Baisch – Presidente/Orientador (FURG)

Dr.(a) _____
Dr^a Fátima Tereza Alves Beira – Membro (UFPel)

Dr.(a) _____
Dr^a Maria Cristina Flores Soares – Membro (FURG)

Dr.(a) _____
Dr^a Marta Regina Cezar Vaz – Suplente (FURG)

Dr.(a) _____
Dr^a Maria Elisabeth Cestari – Co-Orientador (FURG)

Dedico este trabalho
aos meus pais Sidinei e Liége (*In memorian*),
e minhas irmãs Márcia e Alessandra que me incentivaram a
nunca desistir dos meus sonhos.
Ao meu esposo Volmei, pelo amor e companheirismo.
Ao meu filho Otávio que é a minha realização.
Ao meu sobrinho Matheus.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo.

Aos meus pais Sidinei e Liége a quem devo tudo pelo que sou hoje. Que ensinaram os valores, o amor, o sentido da família e a valorizar com sabedoria o que nos foi confiado, seja no pouco, seja no muito. Em vocês tive o apoio e a força para prosseguir. Agradeço a vocês, pai e mãe, e as minhas irmãs Márcia e Alessandra, que ao longo de toda a minha vida me apoiaram e incentivaram, não medindo esforços para que chegasse ao final deste curso de pós-graduação.

Ao meu esposo Volmei pelo apoio e carinho. Somente a renúncia de tantos momentos, que poderiam ser vividos juntos, traduz a palavra amor.

Ao meu filho Otávio, que ingressou no mestrado juntinho a mim. Por todas as alegrias, os risos, as primeiras palavras.

Ao Matheus e ao Joel que estiveram comigo nessa jornada.

Aos meus avós, tios e primos pelo apoio e incentivo e que de alguma forma ou outra estiveram comigo nessa caminhada.

A minha Orientadora Dr^a Ana Luiza Muccillo Baisch, pela sua dedicação e paciência, e que não deixou faltar o auxílio nas horas mais difíceis deste trabalho, agradeço o tempo dedicado. Agradeço à amiga, pela presença nos momentos alegres e difíceis da minha vida.

A minha Co-Orientadora Dr^a Maria Elisabeth Cestari, pela contribuição para a realização deste trabalho.

Aos Msc. Fernando Amarante Silva e Eli Sinnott Silva pela amizade, pelo incentivo para a realização deste curso e pelo apoio em todas as instâncias.

Ao amigo e bibliotecário Thiago Moreira, pela amizade e pela colaboração nessa dissertação, mesmo estando distante.

A todos os meus amigos, que me amparam em todos os momentos dessa trajetória. Foram fundamentais.

Aos amigos do Centro Regional de Estudo, Prevenção e Recuperação de Dependentes Químicos – CENPRE/FURG, que em pequenos gestos e palavras de carinho tornaram-se pessoas importantes ao longo dessa jornada.

A banca examinadora, Dr^a Fátima Tereza Alves Beira, Dr^a Maria Cristina Flores Soares e Dr^a Marta Regina Cezar Vaz, que muito auxiliaram com as sugestões para a conclusão desse trabalho.

A amiga Cláudia Lopes Prato, pela amizade e colaboração para a conclusão dessa dissertação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Área de Concentração Enfermagem e Saúde.

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas, pelo acolhimento para a realização do trabalho em laboratório.

A técnica do Laboratório de Produtos Naturais do Setor de Farmacologia do Departamento de Ciências Fisiológicas Maricler Ávila pela contribuição para a realização desse trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário pela fundamental contribuição nas provas bioquímicas.

A equipe do Biotério Central da FURG, pelo fundamental auxílio com os animais de experimentação.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS, pelo apoio financeiro.

A Cecile Allieres, Danielle Daret e Jean-Marie Daniel-Lamazière pela execução das técnicas imunohistoquímicas empregadas nesse trabalho.

A Unité 441 do Institut National de La Santé et Recherche Médicale - INSERM, França pelo financiamento parcial.

Ao Dr. Obirajara Rodrigues do Departamento de Patologia pela ajuda na avaliação dos aspectos imunohistoquímicos do trabalho.

Ao Dr. Fernando D`Incao do Departamento de Oceanografia pela ajuda na aquisição das imagens morfológicas do trabalho.

Ao Dr. Jorge Alberto Castro Benitez pelo auxílio na tradução do resumo em espanhol.

RESUMO

ALVAREZ-FLORES, Janice Lima. A utilização do mate (*Ilex paraguariensis* St Hill), um antioxidante natural, como estratégia para a promoção da saúde: um estudo da hipercolesterolemia experimental induzida pela dieta. 2006. 104 p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

Neste trabalho investigou-se a utilização do mate (*Ilex paraguariensis* St Hill) como antioxidante natural, a partir de um modelo experimental de hipercolesterolemia induzida pela dieta enriquecida em colesterol (2%). O chimarrão, bebida tradicional na Região Sul do Brasil, é preparado a partir das partes aéreas do vegetal, popularmente conhecida como erva-mate. Nesta planta encontramos uma série de substâncias de natureza química diferentes, incluindo os flavonóides, reconhecidos como potentes antioxidantes. A hipercolesterolemia é um dos principais fatores desencadeantes da doença aterosclerótica. Neste trabalho, investigou-se a capacidade do extrato aquoso da *Ilex paraguariensis* em reduzir os níveis de colesterol e triglicerídeos aumentados pela dieta aterogênica e de evitar ou minimizar os aumentos provocados pela mesma dieta. O extrato foi preparado a partir do decocto (110 g/1L). O rendimento foi de 72% e a concentração final entre 30 e 40 mg/mL. As análises bioquímicas foram feitas a partir de coletas de sangue da veia marginal da orelha dos animais, sendo dosados o colesterol, triglicerídeos, HDL, uréia, creatinina, glicose, transaminases e bilirrubinas. Foram controlados os pesos corporais de todos os animais de experimentação. Os animais receberam 150 mL/dia do extrato oferecido em substituição a água. Foram utilizados coelhos machos da raça New Zealand, divididos em 4 grupos: os grupos controle e colesterol receberam, respectivamente, dieta comercial e dieta aterogênica (2%, colesterol), durante todo o período de experimentação. Todas as dietas foram oferecidas na quantidade de 100 g/dia. Um grupo recebeu dieta aterogênica durante 4 semanas e co-administrado o Eaq/p durante mais 4 semanas e grupo que recebeu o Eaq/p durante 4 semanas e a partir desta data foi implementado a dieta aterogênica. Ao final dos tratamentos os animais foram sacrificados e as aortas retiradas e analisadas imunohistoquimicamente quanto à presença de infiltrado macrófágico e presença de alfa actina na camada íntima. Os resultados obtidos mostram que a dieta aterogênica aumenta os níveis plasmáticos de colesterol, triglicerídeos e que o tratamento com o Eaq/p reduziu significativamente ambos os níveis aumentados ($P < 0.05$). Além disso, o Eaq/p, quando administrado anteriormente ao regime aterogênico, foi capaz de minimizar os aumentos tanto de colesterol quanto de triglicerídeos. Quanto aos outros parâmetros bioquímicos, os resultados demonstram modificações para os níveis de transaminases nos grupos que receberam dieta aterogênica e *Ilex*. A análise imunohistoquímica revelou a presença de infiltrado macrófágico em todas as aortas dos coelhos, exceto nos animais controle. Por outro lado, a utilização dos anticorpos anti-actina revelou uma maior desorganização da matriz dos vasos de coelhos submetidos à dieta aterogênica, resultado da diferenciação celular e a preservação da mesma matriz nos animais tratados com o extrato. Estes resultados não permitem determinar quais os princípios ativos responsáveis pelos efeitos farmacológicos, mas podem atribuir aos compostos

flavonóides presentes no vegetal. Deverão servir também para divulgar o consumo da bebida chimarrão como um antioxidante natural que contribui para a promoção da saúde, principalmente do gaúcho, e da qualidade de vida desta população.

Descritores: *Ilex paraguariensis*. Hipercolesterolemia. Aterosclerose. Antioxidante. Promoção da saúde.

ABSTRACT

ALVAREZ-FLORES, Janice Lima. Effects of green tea (*Ilex paraguariensis* St Hill), the natural antioxidant on strategies from health promotion: the experimental study in hypercholesterolaemic rabbits. 2006. 104 p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease where deposition of lipids in the arteries leads to problems of blood circulation. Several epidemiologic studies suggest that green tea intake, decrease cardiac mortality due to atherosclerosis. Mate or Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) is a tonic and stimulant beverage widely used in South America. It is also traditionally used in gastrointestinal disorders as eupeptic and choleric agent. Experimental studies indicate that most beneficial effects of drinking are attributable to flavonoids that are present in aqueous extract of *Ilex paraguariensis* (Aqelp). The present work evaluates the action of aqueous extract of *Ilex paraguariensis* (Aelp) on hyperlipidemia in rabbits. Blood serum levels of cholesterol, cholesterol-HDL, triglycerides and urea, creatinina, AST, ALT, glucose, and bilirubins have been analyzed. The *Ilex paraguariensis* extract was prepared as by boiling (110 g) in distilled water (1liter) for 15 min. The daily water and mate extract consumption was approximately 500 mg/kg by oral route. To induced hypercholesterolemia New Zealand rabbits were fed for 4 weeks with commercial diet supplemented with cholesterol (atherogenic diet, 2%). The control and the cholesterol group received respectively, a standard laboratory stock chow diet and a atherogenic diet (cholesterol 2%). One group received Aelp during 4 weeks before the atherogenic diet for 4 weeks and another group after 4 weeks with atherogenic diet co-administration of Aelp during the same period. The results demonstrate that Aqelp was effective in reducing serum cholesterol and triglycerides levels by high-fat diet, after 4 weeks of atherogenic diet. Indeed, the treatment of Aqelp reduced the increase of serum cholesterol and triglycerides levels when was offer 4 weeks before the atherogenic diet.

Descriptors: *Ilex paraguariensis*. Hypercholesterolemia. Atherosclerosis. Antioxidant. Health promotion.

RESUMEN

ALVAREZ-FLORES, Janice Lima. El uso del mate (*Ilex paraguariensis* St Hill), un antioxidante natural, como estrategia para promoción de la salud: un estudio de la hipercolesterolemia experimental inducida por la dieta. 2006. 104 p. Disertación (Maestría en Enfermería) – Programa de Post-Grado en Enfermería, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

Se investigó en este trabajo el uso del mate (*Ilex paraguariensis* St Hill) como antioxidante natural, partiendo de un modelo experimental de hipercolesterolemia inducida por dieta enriquecida en colesterol (2%). El mate, bebida tradicional de la Región Sur del Brasil, se prepara partiendo de las partes aéreas del vegetal, popularmente conocidas como hierba mate. Se encuentra en esta planta una serie de sustancias de diferentes naturalezas químicas, incluyendo los flavonoides, reconocidos como poderosos antioxidantes. La hipercolesterolemia es uno de los principales factores desencadenantes de la enfermedad aterosclerótica. En este trabajo, se investigó la capacidad del extracto acuoso de *Ilex paraguariensis* para reducir los niveles de colesterol, y triglicéridos aumentados por la dieta aterogénica y evitar o minimizar los aumentos provocados por la misma dieta. El extracto fue preparado partiendo de la decocción (110 g/L). El rendimiento fue de 72% y la concentración final entre 30 y 40 mg/mL. Los análisis bioquímicos fueron practicados en muestras de sangre obtenidas de la vena marginal de la oreja de los animales, siendo dosificados el colesterol, triglicéridos, HDL, urea, creatinina, AST, ALT, glucosa, transaminasas y bilirrubinas. Fueron controlados los pesos corporales de todos los animales de experimentación. Los animales recibieron 150 mL/día del extracto. Fueron utilizados conejos machos de raza New Zealand, divididos en 4 grupos: los grupos control y colesterol recibieron, respectivamente, dieta comercial y dieta aterogénica (2% colesterol), durante todo el período de experimentación. Todas las dietas fueron ofrecidas en la cantidad de 100 g/día. Un grupo recibió dieta aterogénica durante 4 semanas y co-administración del *Eaq/p* durante 4 semanas adicionales y partiendo de esta fecha se implementó la dieta aterogénica. Al final de los tratamientos, los animales fueron sacrificados y las aortas retiradas y analizadas inmunohistoquímicamente con respecto a la presencia de infiltrado macrofágico y presencia de alfa-actina en la capa íntima. Los resultados obtenidos muestran que la dieta aterogénica aumenta los niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos y que el tratamiento con *Eaq/p* redujo significativamente los dos niveles aumentados ($P < .05$). Además, el *Eaq/p*, cuando administrado previamente al régimen aterogénico, fue capaz de minimizar los aumentos tanto de colesterol como de triglicéridos. Con respecto a los otros parámetros bioquímicos, los resultados demuestran modificaciones en los niveles de transaminasas en los grupos que recibieron dieta aterogénica e *Ilex*. El análisis inmunohistoquímico reveló la presencia de infiltrado macrofágico en las aortas de todos los conejos, excepto los animales control. Además, el uso de anticuerpos anti-actina reveló una mayor desorganización de la matriz de los vasos de conejos sometidos a dieta aterogénica, resultado de la diferenciación celular y la preservación de la matriz de los vasos en los animales tratados con el extracto. Estos resultados no permiten determinar cuáles los principios activos responsables por los efectos farmacológicos, pero

pueden ser atribuidos a los compuestos flavonoides presentes en el vegetal. Deberán también servir para divulgar el consumo de mate como antioxidante natural que contribuye para la promoción de la salud y la calidad de vida del habitante del Sur del Brasil.

Descriptores: *Ilex paraguariensis*. Hipercolesterolemia. Aterosclerosis. Antioxidante. Promoción de la salud.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

a.C. – antes de Cristo

ALT – alanina aminotransferase

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST – aspartato aminotransferase

CAT – catalase

BD – bilirrubina direta

BT – bilirrubina total

°C – grau(s) Celsius

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CPRFB – Comissão Permanente da Farmacopéia Brasileira

DCV – doenças cardiovasculares

dL – decilitro(s)

DNA – ácido desoxirribonucléico

EDRF – fator de relaxamento derivado do endotélio

EMATER – Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência

Técnica e Extensão Rural

FURG – Fundação Universidade Federal do Rio Grande

g – grama(s)

Gcolest – grupo colesterol

Gcont – grupo controle

GCol/p – grupo colesterol e *Ilex paraguariensis* a partir do 30º dia de tratamento

GlpCol – grupo *Ilex paraguariensis* e colesterol a partir do 30º dia de tratamento

H₂O – água

HDL – lipoproteína de alta densidade

HPLC – análise por cromatografia líquida de alta performance

LDL – lipoproteína de baixa densidade

µg – micrograma(s)

mg – miligrama(s)

mL – mililitro(s)

n – número

NO – óxido nítrico

NOs – óxido nítrico sintase

O₂ – oxigênio

OMS – Organização Mundial da Saúde

PBS – Krebs ringer bicarbonato

PFA – paraformaldeído

RNA – ácido ribonucléico

SOD – superóxido dismutase

ST HILL – Saint Hillaire

SUS – Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1 Conhecimento e uso popular das plantas medicinais.....	26
2.2 Promoção da saúde e educação em saúde.....	31
2.3 Hipercolesterolemia e aterosclerose.....	34
2.4 Radicais livres e defesas antioxidantes.....	41
2.5 <i>Ilex paraguariensis</i>	46
2.6 Modelos animais na hipercolesterolemia.....	49
3 OBJETIVOS.....	52
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.1 Animais e condições de experimentação.....	53
4.2 Extrato vegetal.....	54
4.3 Dietas.....	54
4.4 Tratamentos.....	55
4.5 Acompanhamento dos pesos dos animais.....	55
4.6 Procedimentos para a coleta de sangue e análise bioquímica.....	56
4.7 Procedimentos gerais para a retirada da aorta e preparo das artérias	56
4.8 Procedimentos gerais para o preparo das lâminas, coloração tricromo, imunohistoquímica e análise de imagem.....	58
4.8.1 Preparo das Lâminas.....	58
4.8.2 Coloração Tricromo.....	58
4.8.3 Imunohistoquímica.....	59
4.9 Análise estatística.....	60

5 RESULTADOS.....	61
5.1 Avaliação das diferentes dietas sobre o peso corporal e as ingestas sólidas e líquidas.....	61
5.2 Avaliação bioquímica das concentrações plasmáticas de transaminases, uréia, creatinina, glicose, bilirrubinas e fosfatase alcalina.....	62
5.3 Efeitos da dieta enriquecida em colesterol sobre as concentrações plasmáticas de colesterol.....	64
5.4 Efeitos da dieta enriquecida em colesterol e tratados com <i>Ilex paraguariensis</i> sobre as concentrações plasmáticas de triglicerídeos.....	65
5.5 Efeitos da dieta enriquecida em colesterol e tratados com <i>Ilex paraguariensis</i> sobre as concentrações plasmáticas de HDL-colesterol.....	66
5.6 Avaliação imunohistoquímica.....	68
6 DISCUSÃO.....	71
7 CONCLUSÃO.....	85
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico acessível às comunidades já faz parte da história da humanidade, sendo uma prática freqüente do saber popular, para o qual o seu uso é uma eficaz alternativa na atenção primária à saúde (DAVIM *et al.*, 2003).

Com o passar dos tempos formou-se um corpo de lendas e de conhecimentos populares a cerca das virtudes curativas das plantas. Os antigos curadores observaram, não apenas os efeitos do consumo de plantas sobre o homem como também, sobre o comportamento animal. Os pastores sabem que um animal que sofre de problemas digestivos irá modificar seu regime alimentar e preferir um pasto a outro, principalmente escolhendo espécies ricas em tanino, conhecido como antidiarréico (PELT, 1981).

O uso das plantas com finalidades terapêuticas faz parte do cotidiano da população de um modo geral. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a pobreza e a falta de acesso à medicina moderna faz com que 65 a 80% da população mundial dos países em desenvolvimento dependa das plantas para assegurar cuidados primários de saúde (AKERELE, 1993).

O uso das plantas medicinais constitui uma alternativa como tratamento único ou auxiliar, associado a métodos culturais e econômicos. Assim, há um resgate na utilização da fitoterapia nos últimos anos (ALVIM *et al.*, 2002).

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de várias doenças possui, fundamentalmente, influências das culturas indígena, africana e européia, principalmente portuguesa. Essas influências foram fundamentais nas diferentes áreas da cultura, sob o aspecto material e espiritual, constituindo a base da medicina

popular que, há algum tempo, vem sendo retomada pela medicina natural, dando-lhes caráter científico e integrando-as num conjunto de princípios que não visam apenas curar algumas doenças, mas permitir ao homem uma vida natural (MARTINS *et al.*, 2000).

Embora aconteça o uso tradicional de plantas medicinais com fins terapêuticos, muitos destes não estão validados, podendo representar riscos a quem as usa.

Segundo o Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996), somente o uso popular e o tradicional não servem para validar as plantas medicinais como medicamentos. A preconização ou a autorização oficial do seu uso deve estar repousada em evidências experimentais que comprovem que o risco para quem utiliza é superado pelo benefício. O estudo fitoquímico das plantas medicinais, seus efeitos biológicos e possíveis mecanismos é muito complexo e requer uma seqüência de técnicas metódicas que exigem do pesquisador experiência e dedicação.

É fundamental universalizar o uso seguro e de qualidade das plantas medicinais, integrando o saber científico e o popular, uma vez que não se pode negar que a utilização das plantas medicinais faz parte da nossa cultura.

Além disso, percebe-se que o cuidado com a vida e a saúde das pessoas é um elemento que constitui o projeto de cada organização, dos Movimentos Sociais Populares, das Pastorais Sociais, das Entidades da Sociedade Civil, as quais vem desenvolvendo práticas populares de saúde através do uso de plantas medicinais. Há as que priorizam o trabalho de promoção da saúde como serviço à comunidade. Outras, ainda, utilizam as plantas medicinais como elementos de resgate da cultura popular, da auto-estima e do saber popular, tanto para a promoção da saúde, como

também para prevenir e/ou curar problemas de saúde. Em todas as experiências há uma articulação entre o trabalho concreto com o uso de plantas com um trabalho formativo construtor de uma nova consciência humana e ética, evidenciando o resgate do saber popular em saúde articulado com iniciativas na promoção da saúde (DARON; CONY, 2002).

Neste sentido, abordar o uso das plantas medicinais no foco das doenças crônico-degenerativas, aponta não apenas para a sua utilização e conhecimento popular, mas como estratégia para a promoção da saúde.

A promoção da saúde tem como referência o Relatório Lalonde, publicado em 1974, que preconiza como eixo central de intervenção um conjunto de ações que procuram intervir positivamente sobre comportamentos individuais não-saudáveis (CARVALHO, 2004).

O entendimento de promoção da saúde tem sido ampliado, sobressaltando-se o papel protagonista dos determinantes gerais sobre as condições de saúde, que compreende, além das características dos indivíduos, as condições propiciadas pelo ambiente em seus aspectos físicos, sociais, econômicos e culturais (PEDROSA, 2004). Neste sentido, as ações de promoção da saúde incluem os indivíduos, suas famílias, as condições de trabalho, a alimentação e os estilos de vida, entre outros.

Conforme a Carta de Ottawa (OMS, 1986), o termo promoção da saúde está associado a um conjunto de valores: qualidade de vida, saúde, solidariedade, equidade, democracia, cidadania, desenvolvimento, participação, parceria, entre outros, os quais estão relacionados com estratégias combinadas: ações do Estado, da comunidade, de indivíduos, do sistema de saúde e de parcerias intersetoriais. Além desses valores, acrescentemos a educação para a saúde.

Para Gazzineli *et al.*, (2005), o princípio de se educar para a saúde parte do

pressuposto de que os vários problemas de saúde são resultantes da precária situação educacional da população, necessitando, portanto, de medidas educativas.

Sabe-se que há um trabalho educativo a ser feito, o qual extrapola o campo da informação, ao integrar a consideração de valores, costumes, modelos e símbolos sociais que levam a conduta e práticas específicas. Ao pensar em intervenção em educação em saúde deve-se levar em conta o sujeito na sua totalidade.

Segundo Buss (2000), a promoção da saúde, como vem sendo entendida nos últimos anos, representa uma estratégia promissora para enfrentar os múltiplos problemas de saúde que afetam as populações humanas e seus entornos. Partindo de uma concepção ampla do processo saúde-doença e de seus determinantes, propõe a articulação de saberes técnicos e populares para seu enfrentamento e solução.

Neste sentido, a promoção da saúde, através da educação em saúde, leva a repensar estratégias do cuidado no processo saúde-doença, estabelecendo transformações culturais e sociais relacionadas às doenças crônicas.

Podemos estimular a promoção da saúde e, portanto qualidade de vida por meio de ações que proporcionam estilos de vida saudável: uma boa alimentação, o engajamento em programas de atividade física, a não aderência a hábitos nocivos de vida, como por exemplo, o tabagismo e o alcoolismo, e saber lidar com as situações de estresse. São ações que dependem exclusivamente da nossa vontade e determinação. Modificações no estilo de vida são importantes, pois contribuem com a redução de fatores de risco, como o peso excessivo, tolerância à glicose e o perfil lipídico sanguíneo inadequado.

Outros fatores os quais não dependem exclusivamente de nosso controle e

que podem prejudicar a qualidade de vida são os de natureza ambiental, como por exemplo, a poluição ambiental, a possibilidade de manter o emprego, a satisfação no trabalho, o desgaste enfrentado no transporte urbano e a violência das grandes cidades.

A mudança para hábitos mais saudáveis tem reflexos na melhoria da qualidade de vida e na prevenção da doença e de suas complicações, como por exemplo, as doenças cardiovasculares (DCV).

A aterosclerose humana é um processo crônico caracterizado por resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede arterial causada por agressões da superfície arterial (ROSS, 1993).

As primeiras publicações sobre a aterosclerose surgiram no século XIX, quando foi observada a presença de material gorduroso e a degeneração da parede arterial nas coronárias de indivíduos adulto e então demonstrado, a partir desta época, que as placas ateromatosas estavam associadas com o excesso de gordura e o colesterol sanguíneo (ZEEK, 1930; HEALD, 1991).

Segundo o Programa de Educação Médica da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2002), o conceito mais atual caracteriza a aterosclerose como uma condição sistêmica que envolve a presença de alterações da homeostasia e de fenômenos celulares, bioquímicos e inflamatórios associados à disfunção endotelial. Vários modelos têm sido implicados na sua patogênese, dentre os quais está o modelo lipídico, baseado na hipótese de ser o colesterol plasmático o principal responsável pelo desenvolvimento da doença aterosclerótica coronariana, cerebral ou periférica (BRAUNSTEIN *et al.*, 2001). Ross (1999), menciona a hipercolesterolemia como sendo um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de DCV. A aterosclerose é considerada a principal causa de morte

nos países ocidentais, e consiste em processos multifatoriais patológicos na formação de ateroma, produzindo manifestações clínicas na fase média e/ou tardia.

A lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada é a principal fração lipídica associada com a disfunção endotelial - manifestação inicial do processo aterogênico. As células endoteliais liberam radicais livres de oxigênio reativos que podem oxidar a LDL e dar início ao processo aterosclerótico, provocando o primeiro passo, que é a disfunção endotelial, e assim facilitar a adesão e migração de monócitos para o interior da parede vascular e a transformação em macrófagos espumosos (IHARA *et al.*, 1996).

Evidências bioquímicas indicam que o aparecimento de algumas doenças decorrentes do desgaste biológico (entendido como processo de envelhecimento), é devido ao dano oxidativo (BLOCK; LANGSETH, 1994). Nas doenças cardiovasculares, o desenvolvimento da aterosclerose é atribuído às modificações oxidativas das lipoproteínas (STEINBERG *et al.*, 1989).

Recentemente, tem-se verificado que as substâncias antioxidantes são capazes de reverter a disfunção endotelial provocada pela hipercolesterolemia e também reduzir o número de eventos coronários (RIMM *et al.*, 1993; STEWART-LEE *et al.*, 1994; RIBEIRO-JORGE *et al.*, 1996).

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz (SIES; STAHL, 1995).

Os antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, seqüestrando os radicais livres e/ou quelando íons metálicos. Eles protegem contra o estresse oxidativo, definido como a elevação na formação de espécies reativas de oxigênio (THEROND *et al.*, 2000). As

propriedades benéficas dos antioxidantes podem ser atribuídas à sua capacidade de seqüestrar os radicais livres (DECKER, 1997). Esses compostos de considerável importância na dieta podem inibir o processo de peroxidação lipídica (HARTMAN; SHANKEL, 1990; HALLIWEL *et al.*, 1995). Os alimentos contendo antioxidantes ajudam a prevenir os danos causados pelos radicais livres.

A grande quantidade de radicais livres produzidos durante o processo aterogênico faz com que os estudos sejam direcionados aos efeitos antioxidantes de algumas substâncias. Entre os antioxidantes que têm recebido maior atenção, por sua possível ação benéfica na glicemia e prevenção da doença aterosclerótica, estão as vitaminas, os carotenóides e os flavonóides.

Os flavonóides são antioxidantes polifenólicos, encontrados nos alimentos, principalmente nas verduras e frutas, e também em bebidas, como os chás e vinhos. Por possuírem largo espectro de atividades biológicas e farmacológicas, têm recebido ampla atenção dos pesquisadores desde a década de 90 (METODIEWA *et al.*, 1997).

O alto consumo de alimentos ricos em colesterol e gorduras, principalmente a saturada, e o baixo consumo de alimentos fontes de substâncias antioxidantes e fibras, resultam em um teor sanguíneo elevado de colesterol sérico e suas frações, representando um dos principais fatores de risco para a DCV (MC NAMARA, 2000).

As Diretrizes de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2001) sugerem a adoção de uma alimentação rica em frutas e vegetais diversificados a fim de prevenir a doença aterosclerótica, contribuindo para a manutenção da saúde. A dieta é uma das melhores condutas quando se deseja fazer a prevenção das DCV e de outras doenças como o câncer (LAMPE, 1999). Uma dieta equilibrada pode auxiliar na diminuição do risco de formação de placas na parede arterial.

A *Ilex paraguariensis* (planta que pertence à família Aquifoliaceae), popularmente conhecida como erva mate, é nativa da América do Sul e muito importante economicamente.

Das suas folhas é preparada uma infusão, bebida tradicionalmente conhecida como chimarrão, cujo consumo é um hábito muito antigo. Além do chimarrão, também são preparados o tererê, o mate solúvel e o chá mate. É também utilizada em preparações farmacêuticas, tendo sido incorporada por várias farmacopéias. A *Ilex paraguariensis* é recomendada em função de suas propriedades terapêuticas, como estimulante, antiinflamatória, anti-reumática, tônica e diurética (GOSSMANN, 1989).

Já foi relatado que o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* foi capaz de inibir a oxidação da LDL no plasma humano, sugerindo que algum composto no extrato poderia aumentar esta capacidade antioxidante (GUGLIUCCI; STAHL, 1995; GUGLIUCCI, 1996).

A experiência pessoal como bolsista voluntária durante a graduação em Ciências Biológicas, no período de aproximadamente dois anos no Laboratório de Produtos Naturais - Setor de Farmacologia - do Departamento de Ciências Fisiológicas da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG) permitiu a realização de pesquisas das propriedades farmacológicas de produtos naturais de origem marinha (*Balistes capriscus*) e vegetal (*Ilex paraguariensis*). Estudos que exploraram temas de relevância e aliaram o conhecimento das bases fisiológicas à experimentação animal, visando resultados de interesse e aplicação multidisciplinar, de grande importância para a saúde da população e passível de ser compartilhado com outros profissionais desta área, e que possa ser revertido para a prática da Enfermagem.

Ressalta-se aqui a importância e a utilização do conhecimento em Ciências Básicas, envolvendo as Ciências Biológicas e a Enfermagem, permitindo assim, a ação conjunta de profissionais de diferentes áreas, possibilitando a integração de especialistas frente à necessidade de contribuir para melhorar a situação de saúde da população.

Deve haver uma busca constante pela interdisciplinaridade e articulação da pesquisa, ensino e assistência, já que a enfermagem não pode mais se desenvolver desarticulada das demais ciências. Se a enfermagem deseja promover mudanças na prática assistencial terá de valorizar trabalhos multidisciplinares, elaborando e colaborando juntamente com profissionais de outras áreas. A prática da enfermagem deve abranger a assistência, ensino, pesquisa tomados em sua amplitude (PRADO *et al.* 2001; MENDES, 1991 apud ALVES *et al.*, 2004).

Os hábitos culturais e o interesse em investigar o potencial protetor dos produtos naturais fazem surgir o tema desta dissertação, que se propõe em investigar a atividade preventiva e/ou curativa do vegetal *Ilex paraguariensis*, popularmente conhecida como erva mate, sobre a hipercolesterolemia induzida, que caracteriza o quadro clínico, que freqüentemente leva à doença coronária aterosclerótica.

A realização deste trabalho surge com o interesse nos efeitos antioxidantes de compostos derivados de ervas e a ação protetora destes antioxidantes naturais contra o dano oxidativo, além da necessidade de encontrar soluções simples e compatíveis com os hábitos nutricionais da população e sua relação direta com a doença coronária aterosclerótica (crônico-degenerativa), onde a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) é indicada como um fator de formação da aterosclerose.

Tal interesse provém do fato de que a erva-mate consumida pela população, rotineiramente sob a forma de chimarrão, pode contribuir para uma série de efeitos farmacológicos. Estudos realizados demonstraram que a *Ilex paraguariensis* possui em sua composição química, compostos flavonóides com propriedades antioxidantes (FILIP *et al.*, 2001). A presença destas substâncias pode justificar, cientificamente, sua eficácia na prevenção ou evolução da doença aterosclerótica.

Assim, estudos mais detalhados sobre o tipo de compostos presentes e sua capacidade hipocolesterolêmica precisam ser realizados com maior profundidade.

Desta forma percebe-se a importância da utilização dos recursos fitoterápicos, bem como a sua utilização no atendimento às necessidades de saúde e de sobrevivência no que se refere às enfermidades, utilizando como alternativa as plantas medicinais.

Cabe então a questão: o vegetal *Ilex paraguariensis* St Hill, consumido popularmente na forma de chimarrão, tem propriedades terapêuticas que combatem a doença hipercolesterolêmica?

Na tentativa de responder a esta questão, a proposta de trabalho enfocará a doença aterosclerótica experimental e a influência da utilização da *Ilex paraguariensis* no seu desenvolvimento, sob dois enfoques, curativo e/ou preventivo.

Como hipótese de trabalho, consideraremos as propriedades comprovadas popularmente e através de recentes estudos científicos a respeito da *Ilex paraguariensis* como substância antioxidante, atuando de maneira a impedir a oxidação das LDL e também de desempenhar um papel de proteção no que diz respeito as doenças crônicas como a aterosclerose (GUGLIUCCI; STAHL, 1995; GUGLIUCCI, 1996; SCHINELLA *et al.*, 2000).

O presente projeto apresenta uma proposta de trabalho integrado de

pesquisa, de caráter multidisciplinar, envolvendo a FURG e o grupo de pesquisadores liderados pelo Dr. Jacques Bonnet, diretor e pesquisador da Unité 441 do Institut National de la Santé et Recherche Médicale, situado à Pessac, França.

A proposta de trabalho ora apresentada permitirá abordar o problema, criando condições de interação entre instituições de pesquisa que investem em ciência e tecnologia para contribuir para a solução de problemas, com o objetivo de favorecer o desenvolvimento científico ajudando a promover a saúde e melhorar a qualidade de vida da população.

Além disso, proporciona o desenvolvimento da ciência buscando o conhecimento através da pesquisa básica e o conhecimento popular para dar o suporte para a exploração de tecnologias de aplicação, com vistas a capacitar e qualificar recursos humanos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONHECIMENTO E USO POPULAR DAS PLANTAS MEDICINAIS

O homem sempre experimentou e utilizou substâncias vegetais, minerais e animais para sua alimentação, proteção, vestuário e para combater enfermidades (BEVILÁCQUA *et al.*, 1985).

O conhecimento sobre plantas medicinais representa um dos únicos recursos terapêuticos de muitas comunidades e grupos étnicos. Caracterizado pela utilização dos recursos naturais como forma de tratamento e cura de doenças, é considerado tão antigo quanto a espécie humana (DI STASI, 1996).

Nogueira (1984) refere que o uso de plantas medicinais não é novidade, e todos nós usamos ou já utilizamos em determinado momento algum tratamento caseiro aprendido com a família, e que a medicina popular sempre existiu, principalmente entre as camadas das populações menos favorecidas economicamente.

A arte fitoterápica de outrora, pode ser vista hoje, em teste, nos laboratórios científicos, os quais passaram a avaliar experimentalmente a veracidade destas informações, tendo em vista a descoberta de novos medicamentos, com base justamente nos conhecimentos que foram adquiridos durante milhares de anos e repassados de geração em geração por aqueles que são os ancestrais da ciência moderna (DI STASI, 1996). A partir da observação do conhecimento e uso popular de produtos naturais, foram sendo desenvolvidos muitos medicamentos utilizados pela medicina tradicional, entre eles os salicilatos e os digitálicos (BOTSARIS;

MACHADO, 1999).

Mesmo assim, ainda hoje, a medicina pouco usa a terapêutica com plantas medicinais. Na concepção de Heibers (1982), a resistência de alguns setores da comunidade médica e científica ao uso e aos efeitos das plantas medicinais cujo princípio ativo já foi cientificamente isolado deve-se, de certa forma, ao privilégio do saber acadêmico-científico quanto a alopátia em detrimento da fitoterapia.

Dessa forma, o uso dessas práticas alternativas em saúde até os dias atuais tem continuado, entre outros motivos, pela dificuldade de acesso à assistência a saúde, causada pelo alto custo da medicina alopática para a população, a qual é suprida parcialmente pelo uso das plantas medicinais, dando assim, respostas terapêuticas satisfatórias quando bem utilizadas (DAVIM *et al.*, 2003).

O mesmo autor ainda ressalta que a OMS reconhece a importância da fitoterapia, sendo ela sugerida como uma alternativa viável e importante também às populações dos países em desenvolvimento, já que seu custo é baixo.

As plantas medicinais, além de possuírem propriedades nutritivas têm princípios ativos que podem agir terapeuticamente no organismo se forem administradas adequadamente. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada nº 48 de 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os fitoterápicos são medicamentos preparados com plantas ou partes de plantas medicinais (raízes, cascas, folhas, flores frutos ou sementes) que possuem propriedades farmacológicas de cura, prevenção, diagnóstico ou tratamento sintomático de doenças.

A necessidade exige e a ciência busca a unificação do progresso com aquilo que a natureza oferece, respeitando a cultura do povo em torno do uso de produtos medicinais para curar os males (ACCORSI, 2000).

Na América Latina, diversas espécies de plantas medicinais de uso local, têm possibilidade de gerar um custo-benefício bem menor para a população capaz de promover a saúde para os mesmos. No Brasil existem diversidades e peculiaridades, com concepções, opiniões, valores, conhecimentos, práticas e técnicas diferenciadas, que precisam ser incorporadas e respeitadas, influenciadas por hábitos, tradições e costumes (NOGUEIRA, 1983).

Por isso, as plantas medicinais precisam ter validadas a sua eficácia terapêutica, tanto quanto a sua toxicologia ou segurança de uso, dentre outros aspectos. Precisam ser cientificamente aprovadas para serem utilizadas pela população nas suas necessidades básicas de saúde.

Eficácia, baixo risco de uso e qualidade são algumas das características desejáveis em uma planta medicinal. Porém deve-se ressaltar alguns pontos para se formular um fitoterápico. Um deles é o trabalho multidisciplinar, uma vez que se faz necessário uma seleção correta da espécie vegetal, o cultivo seja adequado, a avaliação dos teores dos princípios ativos seja feita e para que a manipulação e a aplicação da clínica médica ocorram (NAKAZAWA, 1999).

Para Calixto (2000), a maioria dos efeitos colaterais registrados para as plantas medicinais são extrínsecos à preparação do fitoterápico, podendo estar relacionados a problemas de processamento: incorreta identificação das plantas; falta de padronização; contaminação; substituição; preparação e/ou dosagens incorretas, entre outros.

Ainda não se tem a garantia de qualidade, eficácia e segurança para o uso de plantas medicinais, por ser insuficiente as informações técnicas para a maioria delas. A domesticação, a produção, os estudos biotecnológicos e o melhoramento genético das plantas podem oferecer vantagens, uma vez que torna possível obter

uniformidade e material de qualidade que são fundamentais para a eficácia e segurança (CALIXTO, 2000).

No Brasil, apesar da imensa flora, da valorização dos aspectos culturais e do uso importante de fitoterápicos, pouco havia sido feito para garantir a qualidade, segurança e eficácia destes produtos. O Ministério da Saúde criou, em 1993, uma comissão para avaliar a situação da fitoterapia no país, instituindo um Grupo Consultor Técnico-Científico incumbido de estabelecer a normatização e o controle dos serviços, produção, armazenamento e utilização de substâncias e produtos naturais (Portaria Ministerial nº 546 de 21/05/93), seguida da Portaria nº 40 (10/01/94) a qual institui a subcomissão da Comissão Permanente da Farmacopéia Brasileira (CPRFB) para elaborar normas sobre fitoterápicos. Em 1995, a Portaria nº 06 (31/01/95), foi elaborada levando em conta todas as avaliações e sugestões apresentadas pelos grupos de trabalho e trouxe esclarecimentos sobre o conceito e termos técnicos, orientações de produção e controle, atendimento de critérios de segurança e eficácia, normas de qualidade para matéria prima e também para o produto final (BRASIL, 1996).

Recentemente foi aprovada, através do decreto 5.813 de 22 de junho de 2006, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, no qual foi instituído um Grupo de Trabalho para elaborar o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. A Política Nacional tem por objetivo garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006).

No Rio Grande do Sul, movimentos populares há muito tempo reivindicavam políticas públicas de caráter intersetorial, articulada com o projeto de

desenvolvimento do Estado, para orientar e apoiar as ações integradas e articuladas no que diz respeito a plantas medicinais. Esta reivindicação foi explicitada em diversos encontros e reuniões realizadas, em todo estado, nas Conferências Estaduais da Saúde, Meio Ambiente e da Mulher, nos Seminários do Fórum pela Vida, coordenados pela Comissão de Saúde e Meio Ambiente da Assembléia Legislativa do Estado (DARON; CONY, 2002).

Os mesmos autores ressaltam que o governo Democrático-Popular, ao assumir seu mandato em 1999, fez um levantamento da realidade e demandas da população gaúcha. Na área específica das plantas medicinais foi construída uma Constituição Interna a fim de elaborar a política de fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS). Com o amadurecimento do processo, foi criada a Comissão Intersecretarial de Plantas Mediciniais, formada por Secretarias de Estado, órgãos vinculados e a Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), as quais elaboraram a Política Intersetorial de Plantas Mediciniais do Rio Grande do Sul aprovada unanimemente pelo Conselho Estadual de Saúde. Atendendo as reivindicações a Política foi lançada em 17 de julho de 2001, pelo então governador do Estado do Rio Grande do Sul, Olívio Dutra.

Serviram de justificativas para que o governo do Estado definisse a Política Intersetorial de Plantas Mediciniais do Rio Grande do Sul: as experiências populares e comunitárias no uso de plantas, a biodiversidade, os recursos materiais e humanos, a realidade econômica e tecnológica brasileira, o acúmulo de conhecimento e competência das universidades, órgãos de pesquisa e a indústria farmacêutica.

A Política tem por objetivos resgatar, valorizar, ampliar e qualificar a utilização de plantas medicinais como elemento estratégico de saúde,

preservação/conservação do ambiente, qualidade de vida e desenvolvimento sustentável no Rio Grande do Sul, através da implantação da fitoterapia nos serviços públicos de saúde, estimulando e fazendo avanços nas pesquisas sobre as plantas medicinais, priorizando as espécies nativas, qualificando a cadeia produtiva, criando mecanismos e instrumentos de proteção, resgate e valorizando a cultura tradicional e popular sobre as plantas e incluindo as questões relativas às plantas medicinais na Política de Educação Ambiental do Rio Grande do Sul (Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul, 2001).

2.2 PROMOÇÃO DA SAÚDE E EDUCAÇÃO EM SAÚDE

A promoção da saúde vem sendo descrita como um novo e promissor paradigma na saúde. Seus principais constituintes são a ênfase na integralidade do cuidado e prevenção, o compromisso com a qualidade de vida e a educação em saúde.

A expressão promoção da saúde foi usada pela primeira vez em 1972, por Mac Lalonde, então Ministro da Saúde do Canadá, em um documento chamado “Novas Perspectivas sobre a Saúde dos Canadenses”. Este documento destacava a influência dos fatores ambientais, comportamentais individuais e modos de vida na ocorrência de doenças e na morte. Como estratégia, a promoção da saúde combinaria melhorias ambientais, com mudanças de comportamento, reduzindo a morbi-mortalidade prematura (MACDONALD; ROBIN, 1995).

Para Gutierrez *et al.* (1996), promoção da saúde é um processo, de ordem

institucional, governamental ou da cidadania, que visa propiciar a melhoria das condições de bem-estar e acesso a bens e serviços sociais, a fim de contribuir para o desenvolvimento de conhecimentos, atitudes e comportamentos aplicáveis ao cuidado da saúde e o desenvolvimento de estratégias que permitam à população maior controle sobre a sua saúde e suas condições de vida, a níveis individual e coletivo.

A OMS (1986), na Conferência em Ottawa, definiu a promoção da saúde como sendo o processo através do qual indivíduos são capacitados para ter maior controle sobre a sua própria saúde e melhorá-la, significando o reconhecimento da importância do poder e do controle para a produção da saúde.

Souza *et al.* (2004), sugerem que a compreensão do que é a prevenção da saúde, a educação para a saúde e a promoção da saúde pode facilitar a construção de estratégias para efetivação da promoção da saúde. A prevenção baseia-se na concepção de risco ou probabilidade de se tornar doente; a educação em saúde envolve o conhecimento relativo ao processo saúde-doença, visando a mudança comportamental e a adoção de estilos de vida saudáveis - o indivíduo passa a ser o responsável pela sua saúde; e a promoção da saúde implica um processo mais abrangente e contínuo, que envolve a prevenção, a educação e participação de diferentes setores da sociedade na elaboração de estratégias que permitam efetivar a educação para a saúde. Dessa forma, a promoção transcende o individual para tornar-se coletiva.

Green e Kreuter (1991), entendem que educação em saúde e promoção da saúde combinam experiências de aprendizagens, combinando apoios educacionais e ambientais que visam atingir ações e condições de vida conducentes à saúde. As combinações referem-se a mescla dos múltiplos determinantes da saúde: fatores

genéticos, ambientes, serviços de saúde e estilo de vida.

Os mesmos autores entendem que a expressão condições de vida permite que a definição de promoção da saúde ultrapasse o limite daqueles fatores estritamente comportamentais, observáveis em geral durante o relacionamento interpessoal que ocorre no âmbito do nível local, para prender-se a uma teia de interações muito mais complexa, constituída pela cultura, por normas e pelo ambiente sócio-econômico, cada um deles se associando com o significado histórico mais amplo do que se convencionou denominar estilo de vida.

Entre as décadas de 40 e 70, estudos epidemiológicos evidenciaram a influência dos hábitos e comportamentos na ocorrência de doenças crônicas não-transmissíveis, que passaram a representar a principal causa de morte nos países desenvolvidos. A promoção da saúde foi então, associada à ação de educadores de saúde que priorizaram a responsabilidade e motivação individual em mudanças de atitudes, como o hábito de fumar, o consumo de álcool, o sedentarismo e a dieta. São mudanças nos padrões de comportamento onde é importante se observar o sujeito em sua totalidade, envolvendo seus processos intelectuais, afetivos e culturais para tornar possível maior efetividade em termos de mudança de conduta (ARRUDA, 1985; MORIN, 1994; TURA, 1998; CHOR *et al*, 2000).

No processo de educação em saúde a informação é condição absolutamente necessária, embora, nem sempre suficiente. As informações que devem ser aprendidas sobre a doença aterosclerótica, assim como nas outras doenças crônico-degenerativas, dizem respeito a múltiplos fatores de natureza pessoal e ambiental relacionados a qualidade de vida.

Neste sentido, proporcionar saúde significa além de evitar doenças, assegurar meios e situações que ampliem a qualidade de vida, o que inclui o acesso à

informação através da educação. No campo da promoção da saúde há uma combinação de apoios educacionais e ambientais que visam a atingir ações e condições de vida que garantam a saúde (CANDEIAS, 1997).

2.3 HIPERCOLESTEROLEMIA E ATEROSCLEROSE

As projeções da OMS apontam que a morbidade e a mortalidade causadas pela doença cardiovascular, nos próximos anos, se constituirão na primeira causa de morte em todo o mundo. No Brasil, a doença arterial coronariana e cerebrovascular já são a primeira causa de morte e incapacidade, correspondendo a 32,1% de todas as causas, e em outros países, essas taxas vem aumentando, em especial no leste europeu, sudoeste asiático e na América do Sul (MAGALHÃES *et al.*, 2004). No Rio Grande do Sul, essas taxas correspondem a 33,4%, e na cidade do Rio Grande, as taxas correspondem a 35,7% de todas as causas (BRASIL, 2002).

O panorama nacional das DCV prevê uma verdadeira epidemia com conseqüências para a saúde pública, devido a tendência de elevação na sua mortalidade nos países em desenvolvimento, dentre os quais o Brasil é um dos representantes (Diretrizes de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, 2001).

A descrição de uma placa de ateroma remonta do século XIX, em um relatório dinamarquês, redigido em 1844 (BERTOLAMI, 2003). Até pouco tempo, a doença aterosclerótica era considerada uma doença degenerativa, que progredia conforme a idade e de lento progresso. Com o avanço do conhecimento e das pesquisas, estudando os componentes celulares, bioquímicos e inflamatórios do seu

desenvolvimento e progressão, tem sido demonstrado que a aterosclerose é um processo dinâmico, inflamatório e modificável (IHARA *et al.*, 2003).

A doença tem início com depósitos lineares de gordura na parede arterial, que podem ser encontrados desde a adolescência ou eventualmente na infância. Essas lesões progridem até a formação de placas, as quais aparecem na idade adulta e culminando posteriormente em oclusões trombóticas.

Gianini (2000) sugere que embora pontos de gorduras nas artérias possam aparecer desde a infância, as lesões evolutivas da aterosclerose, observáveis macroscopicamente, seriam: 1) estrias gordurosas, com lesões planas, com elevado teor de gorduras, observadas nas primeiras décadas de vida; 2) placas fibrosas ou fibrolipídicas, elevadas na superfície da íntima, diminuindo um pouco mais intensamente a luz do vaso; e 3) lesões complicadas, com hemorragia, ulceração, trombose e calcificação na placa fibrosa, podendo reduzir ou interromper a circulação em diferentes órgãos.

Baseado na estrutura microscópica e na composição histoquímica das lesões, Stary (1993, 1998), propõe a classificação das lesões em: tipo I (lesão inicial), sem dano tecidual visível; tipo II (estria gordurosa), com lesões macroscópicas, mas sem dano tecidual identificável e com dois subtipos – II a, capaz de evoluir, e II b, resistente à progressão e passíveis de regressão; tipo III (pré-ateroma), com evidências de dano tecidual; tipo IV (ateroma), com grandes danos na estrutura da íntima; tipo V (fibroateroma), com o desenvolvimento de colágeno e de células musculares lisas; tipo VI (lesões complicadas), com a presença de trombose e/ou hematoma e/ou fissura; tipo VII (lesão calcificada), com o predomínio de cálcio e acentuada deformidade estrutural; e tipo VIII (lesão fibrótica), composta predominantemente de colágeno, com lípidos em quantidades mínimas ou ausentes.

A aterosclerose não é um simples distúrbio. A lesão aterosclerótica tem diferentes formas, dependendo da anatomia do lugar, da idade, da genética, do estado fisiológico do indivíduo afetado e, presumidamente, dos fatores de risco que cada indivíduo foi exposto (ROSS, 1994).

Os fatores de risco que influenciam o desenvolvimento da doença arterial podem ser a elevação dos lipídios, o fumo e a hipertensão (SAAD, 2004). Nas Diretrizes de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2001), consta como fatores de risco adicionais a baixa concentração de HDL (níveis abaixo de 40mg/dL), o histórico familiar de aterosclerose precoce, o diabetes mellitus e a idade (homens com idade acima de 45 anos e mulheres acima de 55 anos). As Diretrizes recomendam ainda modificações no estilo de vida. São vários fatores que isolados ou em conjunto, estão associados ao aumento do risco de formação da placa aterosclerótica.

A causa mais provável da aterosclerose é a incorporação de lipídios e elementos sangüíneos a parede vascular. Esta teoria lipídica ainda inclui a atração, o depósito e a modificação das substâncias lipídicas dentro da parede arterial (SAAD, 2004).

Müller (1938) relacionou a doença aterosclerótica com os níveis sangüíneos de colesterol. Gofman *et al.* (1949), caracterizaram a relação entre a doença arterial e a fração LDL. A lipoproteína de alta densidade (HDL), por sua vez, teria uma relação inversa com a doença.

A hipercolesterolemia e sua relação com a doença aterosclerótica têm sido demonstradas em vários estudos, onde a oxidação da LDL é indicada como um fator de formação da placa de ateroma. A acumulação destas lipoproteínas na parede arterial (íntima) constitui um evento fundamental na aterogênese (ROSS, 1995).

De fato, na atualidade, a hipercolesterolemia vem sendo reconhecida com um importante fator de risco cardiovascular. A hipercolesterolemia, as LDL elevadas e as HDL baixas têm sido objeto de vários estudos, estando ligadas ao desenvolvimento da aterosclerose (GOTTO; POWNALL, 1999; BERTOLAMI, 2000; TADDEI; FRANKEN, 2002).

Mais de 30% da população brasileira apresenta elevados níveis de colesterol (BRASIL, 2002). A Sociedade Brasileira de Cardiologia através das Diretrizes de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2001), indica que níveis de colesterol total acima de 240 mg/dL e para LDL superior a 160 mg/dL são suficientes para estabelecer a hipercolesterolemia. Valores para HDL abaixo de 40 mg/dL, anormalmente baixo, também se torna um fator de risco para o desenvolvimento da doença.

A hipercolesterolemia pode ser determinada geneticamente ou pela dieta. Um defeito no gene do receptor de LDL ocasiona “déficit” na expressão ou função dos receptores de LDL e leva a diminuição do catabolismo da lipoproteína, especialmente pelo fígado. Segundo as Diretrizes de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2001), o maior número de pessoas hipercolesterolêmicas pertence ao grupo de hipercolesterolemia poligênica, no qual ocorre uma complexa interação entre vários fatores genéticos e ambientais que determinam a concentração de LDL no plasma. Esses fatores estão ligados a responsividade à dieta, à regulação da síntese de colesterol e ácidos biliares, ao metabolismo intravascular de lipoproteínas ricas em apo B e à regulação da atividade do receptor de LDL.

As Diretrizes ainda sugerem que quando a hipercolesterolemia é causada pela dieta rica em gorduras, se faz necessária uma terapia nutricional para a prevenção e/ou tratamento hipocolesterolêmico, sendo ainda importante a adesão à

dieta e a mudança de estilo de vida, utilizando técnicas adequadas de mudança de comportamento.

A oxidação da LDL parece associar-se com o aumento do risco da aterosclerose. A hiperlipidemia e a hipercolesterolemia são fatores patológicos suficientes para causar a disfunção endotelial – manifestação inicial do processo aterogênico. A aterosclerose é uma doença oriunda da disfunção endotelial e de processo inflamatório (BAHIA *et al.*, 2004).

O endotélio vascular, por muitas décadas, foi considerado como uma camada unicelular, desempenhando a função de membrana semipermeável entre o sangue e o interstício. Entretanto, só recentemente, através da biologia molecular e celular é que foi dada a importância a essa fina camada celular do sistema circulatório (IHARA, 1996), sendo considerada um órgão dinâmico e heterogêneo, demonstrando diferentes funções biológicas: secretora, sintetizadora, metabólica e imunológica, além de regular a circulação de substâncias nutrientes (CARAMORI; ZAGO, 2000).

Fischman (1982), descreve como sendo as principais funções do endotélio, a regulação do transporte transcapilar, a proteção anticoagulante intravascular, a inibição proliferativa do músculo liso em vasos, a regulação da resposta imunológica, o metabolismo dos autacóides e o controle do tônus vascular.

O endotélio libera várias substâncias com atividade pró e anticoagulante, capazes de promover adesão celular e com ações vasoativas (GROSS, 2000). Um dos principais mediadores de vasoconstrição secretado pelo endotélio é a endotelina, e o mais potente vasodilatador é o óxido nítrico (NO) (AZEVEDO *et al.*, 2000), inicialmente descrito por Furchgott e Zawadzki, em 1980, como sendo o fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF) (LACCHINI, 2004).

O NO é um gás extremamente reativo, sintetizado por enzimas da via óxido nítrico sintases (NOs). Da oxidação da L-arginina tem-se a produção da L-citrulina e NO (PALMER *et al.*, 1988; PALACIOS *et al.*, 1989).

O NO apresenta várias ações biológicas, entre as principais são a vasodilatação, a inibição da adesão e agregação plaquetária, a inibição da quimiotaxia de leucócitos e a supressão da proliferação e migração de células da musculatura lisa vascular por inibição de fatores de crescimento (VIARO *et al.*, 2000).

Caramori e Zago (2000), sugerem que o NO seja o maior mediador do tônus vascular nas situações fisiológicas, correlacionando seu excesso ou falta a estados patológicos.

A hipercolesterolemia é um fator patogênico central de disfunção endotelial, causada, em parte, por um defeito na produção de NO, através de mecanismos ainda pobremente esclarecidos (VIARO *et al.*, 2000).

As alterações da ação do NO causadas por hipercolesterolemia, diabetes e hipertensão em estudos utilizando modelos animais, foram estabelecidas como fatores de risco e estão potencialmente relacionadas com a evolução do processo aterosclerótico (LACCHINI, 2004).

A aterosclerose é considerada como uma resposta à injúria, a qual é representada pela perda do revestimento endotelial da parede vascular. Uma reação, em especial, pela exposição do endotélio vascular a LDL oxidada (ROSS; GLOMSET, 1976), a qual inibe o relaxamento vascular pela queda na síntese ou rápida degradação do NO (VIARO *et al.*, 2000).

Jorge (1997), sugere que as LDL plasmáticas adentram as células endoteliais através de endocitose. Simionescu e Simionescu (1998), ao marcar partículas de

LDL com ouro radioativo, demonstraram invaginações na membrana da célula endotelial, as quais se transformariam em vesículas de endocitose, carreando LDL nativa para o interior da célula endotelial.

Na ocorrência de hipercolesterolemia, em primeira instância aconteceria o processo normal de endocitose das LDL através de receptores específicos. Em segunda instância, endocitose por receptores inespecíficos. Ambos os casos acarretariam em aumento da concentração de LDL nativa, induzindo maior consumo de NO e aumentando a produção de radicais livres (JORGE, 1997).

No espaço subendotelial, a LDL em contato com os macrófagos, células endoteliais e musculares lisas sofre oxidação de seus fosfolípidos pela ação de radicais livres de oxigênio (O_2) (DA LUZ, 1996), o que foi demonstrado *in vitro* (STEINBRECHER *et al.*, 1984).

A LDL nativa transformada em LDL oxidada exerce funções que levam à formação da placa aterosclerótica: 1) atrai monócitos em direção à íntima do vaso, através da produção da proteína quimiotática para monócitos (monocyte chemoattractant protein 1 – MCP1) pelas células endoteliais injuriadas; 2) impede a mobilização dos macrófagos residentes da região subendotelial para a circulação sanguínea; 3) formação da célula espumosa – a LDL oxidada acumula-se em macrófagos, transformando-se em células espumosas, que constituem as estrias gordurosas visíveis como pequenas placas esbranquiçadas na superfície arterial; 4) lesão direta do endotélio, com a formação de áreas de ulceração e exposição do tecido conjuntivo subendotelial, ao qual aderem as plaquetas; 5) proliferação muscular lisa estimulada pelas plaquetas, células espumosas e macrófagos que liberam fatores de crescimento e outras citocinas (DA LUZ, 1996; AZEVEDO, 2000).

Está claro que o processo oxidativo está envolvido na patogênese da

aterosclerose, e que a aterosclerose é acompanhada por profundas alterações no comportamento das células endoteliais e que mediadores liberados pelas células endoteliais podem modular a aterogênese (BULT *et al.*, 1999).

A aterosclerose é um processo que se desenvolve durante décadas e é caracterizada pela formação focal de placas ateromatosas na íntima de artérias de médio e de grande calibre. A acumulação da placa leva a redução gradual e progressiva do lúmen arterial e para o aparecimento de sintomas clínicos. A composição das placas ateromatosas foi identificada pela imunohistoquímica (JONASSON *et al.*, 1986): o centro ateromatoso necrótico é constituído por 60% de macrófagos, 30% de células musculares lisas e 10% de linfócitos (LAURENT *et al.*, 1996).

Fatores que impeçam a oxidação da LDL e que também modifiquem as quantidades das lipoproteínas seja através de mudanças de hábitos alimentares e estilo de vida, constituem um meio de impedir a formação da placa aterosclerótica (WITZTUM, 1994; PERUGINI *et al.*, 2000).

2.4 RADICAIS LIVRES E DEFESAS ANTIOXIDANTES

Os radicais livres são definidos como sendo moléculas, orgânicas ou inorgânicas, ou átomos que contém um ou mais elétrons não pareados. São altamente instáveis com meia-vida muito curta e quimicamente muito reativos. Essa alta reatividade deve-se ao número ímpar de elétrons não emparelhados em sua última camada eletrônica (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Os radicais livres são formados em reações de óxido-redução, cedendo ou recebendo elétrons.

As espécies reativas de oxigênio são constantemente formadas em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos. Muitas são usadas nas funções biológicas, sendo de extrema utilidade, como por exemplo, na ativação do sistema imunológico, na desintoxicação de drogas, e na produção de NO (MONCADA; HIGGS, 2001). A formação dos radicais livres *in vivo* pode ocorrer através de fatores endógenos – a respiração aeróbica, e pela exposição a fatores exógenos – ozônio, radiação gama e ultravioleta, medicamentos, dieta, fumo entre outros (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

O O₂ utilizado no processo respiratório é metabolizado pelo organismo, sendo aproximadamente 85 a 90% utilizados pelas mitocôndrias e 10 a 15% restantes usados pelas enzimas oxidases e oxigenases, e em reações de oxidação diretas. Nas mitocôndrias, cerca de 98% do O₂ – dos 85 a 90% acima citados – são reduzidos pela enzima citocromo oxidase, que remove um elétron de cada uma das quatro moléculas reduzidas de citocromo C, oxidando-as, e adicionando os quatro elétrons ao O₂ para formar água (H₂O). Os 2 a 5% restantes são as espécies reativas de O₂, reduzidos univalentemente (HALLIWEL; GUTERRIDGE, 1999).

As principais espécies reativas de O₂ são os radicais superóxido, hidroxila e o peróxido de hidrogênio.

A produção de radicais livres pelo organismo representa um processo fisiológico. Entretanto em determinadas condições podem ser gerados em excesso ou em lugares inapropriados tornando-se altamente tóxicos e a sua toxicidade pode ser agravada pela presença de íons como os metais de transição ferro e cobre. Aust e Miller (1991), sugerem que embora o cobre possa catalisar as reações de

oxidação, o ferro é o metal pesado mais abundante no organismo e está biologicamente mais capacitado na catalização dessas reações.

Sies (1986), sugere que quando há um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes, pode-se dizer que o organismo encontra-se sob estresse oxidativo.

A ocorrência de um estresse oxidativo geralmente é acompanhada por um aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, porém uma grande produção de radicais livres pode causar dano celular. Uma das principais lesões causadas pelo estresse oxidativo é a oxidação da camada lipídica da membrana celular (lipoperoxidação). O dano oxidativo também tem sido relacionado com a etiologia de várias doenças degenerativas como as cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares (AMES *et al.*, 1993. WITZTUM, 1994; STAHL; SIES, 1997). A reação de radicais livres com ácidos nucléicos também pode gerar mudanças no DNA acarretando em mutagênese e carcinogênese (ERENEL *et al.* 1993; POULSEN *et al.*, 1998).

O corpo é dotado de defesas antioxidantes para minimizar o dano causado pelo excesso de radicais livres (HALLIWELL, 1994). Esse sistema de defesa está representado pelos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.

As enzimas antioxidantes intracelulares funcionam como a primeira linha de defesa para neutralizar radicais livres. É constituída pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases, glutathiona peroxidase/transferase e glutathiona redutase (VANNUCCHI; IGLESIAS *et al.*, 1998), as quais atuam como detoxificadoras do agente antes que ele cause a lesão, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre.

Entretanto, as defesas enzimáticas contra os danos oxidativos não são

completamente eficientes. Uma segunda linha de defesa é então formada pelos antioxidantes não enzimáticos endógenos – melatonina, coenzima Q, ácido úrico – e exógenos – beta-caroteno (pró-vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), alfa-tocoferol (vitamina E) – obtidos através da dieta ou por suplementação (BLOCK; LANGSETH, 1997).

As vitaminas antioxidantes, as enzimas ou outros captadores de radicais livres atuam, principalmente, diminuindo a concentração ou neutralizando as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, ou por inibirem a sua formação ou por facilitarem seu desaparecimento (TAMPO; YONAH, 1990; HOGG *et al.*, 1994; WALKER, 1995).

A oxidação nos sistemas biológicos pode ser evitada através de modificações ambientais ou pelo uso de substâncias antioxidantes.

A hipótese oxidativa da aterosclerose, onde ocorre a exagerada produção de radicais livres, faz com que as investigações se dirijam para o estudo dos efeitos de substâncias antioxidantes tanto em modelos animais quanto humanos. Nestas condições, as defesas naturais antioxidantes estariam prejudicadas, o que permitiria sugerir que tanto o dano oxidativo quanto a progressão da doença poderiam ser retardados através da suplementação das defesas naturais (MAXWELL, 1995).

Os flavonóides têm recebido grande atenção por contribuírem contra o dano oxidativo (OLSEWER, 1997). Estudos mostraram sua propriedade antioxidante e a sua capacidade de capturarem radicais livres (MERFORT *et al.*, 1996). Essa capacidade foi verificada *in vitro* em meio aquoso e lipofílico, com o emprego de luz ultravioleta, radiações, sistema hipoxina-xantina oxidase ou íons metálicos para a formação de radicais livres, e como substrato, lipídios contidos usualmente em homogêneos de tecidos, lipossomas, micelas ou sistemas lipídicos como a LDL

e tecidos animais (QUEIROZ *et al.*, 1996).

Wiseman *et al.*, (1997), descreveram um estudo comparativo de várias substâncias tidas como sendo capazes de inativar radicais livres formados por substâncias oxigênio-reativas. Os resultados mostraram que os flavonóides tem potencial antioxidante até quatro vezes superior ao da vitamina C e E e capacidade semelhante a alguns carotenóides (alfa e beta caroteno e licopeno), sabidamente potentes antioxidantes.

Os flavonóides são amplamente encontrados nos alimentos, principalmente em frutas, chás, verduras, grãos, sementes castanhas, condimentos, em bebidas como os chás, vinho tinto, e também na erva mate (*Ilex paraguariensis*), consumido na forma de chimarrão, fazendo parte da alimentação e hábito diário do ser humano.

Os flavonóides contêm um número variável de grupos hidroxila fenólicos, com capacidade de atuar como agente antioxidante, com potencial terapêutico em enfermidades, por exemplo, protetor de cardiopatias. Estas propriedades combatem os radicais livres, atuando sobre espécies altamente reativas de oxigênio e nitrogênio envolvidas com o início da peroxidação lipídica (COOK; SAMMANS, 1996), assim como inibidores da produção de óxido nítrico e da óxido nítrico sintase (NOs) em macrófagos (MONCADA *et al.*, 1991; GASTON, 1999).

Evidências epidemiológicas sugerem que os flavonóides têm ação protetora contra os problemas coronários (HERTOG *et al.*, 1993), uma vez que impedem a oxidação da LDL. Um estudo mostrou a baixa incidência de doenças coronárias nas populações francesas que possuem uma dieta rica em gorduras de forma semelhante a outras populações européias (mediterrâneas), o qual chamou a atenção para o consumo de álcool nestas populações que é menor do que o dos ingleses. Este fato conhecido como “Paradoxo Francês” está relacionado à proteção

exercida pelo consumo de vinho tinto (SEIGNEUR *et al.*, 1990; RENAUD; DE LORGERIL, 1992), atribuído à presença de flavonóides com propriedades antioxidantes e, que estes compostos agiriam inibindo a oxidação das LDL (FRANKEL *et al.*, 1993; MYARA *et al.*, 1993), ou diminuindo a agregação plaquetária (GRYGLEWSKY *et al.*, 1987).

2.5 *Ilex paraguariensis*

O gênero *Ilex* consiste de cerca de 400 espécies, sob a forma de árvores ou arbustos. Suas folhas são simples e alternadas, isoladas ou agrupadas com pequenas flores e frutos vermelhos ou amarelos (ALIKARIDIS, 1987).

Entre as espécies desse gênero pode-se destacar *Ilex aquifolium* (Europa), *Ilex opaca* (América), *Ilex cornuta* (China) e *Ilex cremata* (Japão). No Brasil, a espécie mais cultivada é a *Ilex paraguariensis*.

A *Ilex paraguariensis* St. Hill foi classificada em 1822 pelo naturalista francês August de Saint Hillaire (St. Hill). Pertence à família Aquifoliaceae, nativa do sul do Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai (PIO CORREA, 1984).

A erva mate é uma das espécies vegetais muito bem identificadas com a região Sul do Brasil, onde suas folhas são usadas para preparar uma tradicional bebida chamada “mate” ou “chimarrão”. No entanto, a cultura da erva mate ainda não é bem reconhecida pela sua importância sócio-econômica, mesmo que o Rio Grande do Sul seja o maior consumidor e o terceiro maior produtor do país (TORMEN, 1995).

O ato de “matear” é uma herança de Tupã aos índios Guaranis, e em mística, supera o cachimbo da paz dos índios Peles Vermelhas do Norte dos Estados Unidos da América, já que aquele ritual é singular e ocasional, enquanto que o chimarrão está incorporado a vida cotidiana dos gaúchos, catarinenses, paranaenses, uruguaios, paraguaios e argentinos (FAGUNDES, 1999).

Da bebida obtida deste vegetal são atribuídas propriedades estimulantes, diuréticas, depurativas, todas relacionadas com a presença de alguns alcalóides na sua composição (MAZZAFERA, 1994).

Popularmente atribui-se ao chimarrão, propriedades desintoxicantes, particularmente eficazes numa alimentação rica em carnes (BERKAI; BRAGA, 1986). Segundo Graham (1984), o mate é a primeira fonte de metilxantinas na dieta de alguns grupos da América do Sul. Devido ao seu alto teor de purinas (BALTASSAT *et al.*, 1984) atribuem-se as ações depurativas e diuréticas das folhas de *Ilex paraguariensis*.

Ferreira *et al.* (1997), nos colocam que a prevalência de doença coronária no Uruguai é semelhante a dos países europeus, ainda que o consumo de carnes naquele país seja um dos maiores do mundo. A região Sul do Brasil tem o maior consumo de carnes com alto teor de gorduras saturadas quando comparadas com a região Sudeste do país, embora tenham quase que a mesma incidência de doenças cardiovasculares (BRASIL, 2002). Desta forma especula-se a possibilidade do papel protetor da erva mate.

A investigação fitoquímica das espécies de *Ilex* (ALIKARIDIS, 1987), incluindo *Ilex paraguariensis*, mostra que esta planta contém muitas classes de constituintes químicos, incluindo flavonóides como a quercetina e rutina (ROBERTS, 1956), terpenóides (ácido ursólico) nas folhas (NOOYEN, 1920; MENDIVE, 1940),

alcalóides (cafeína) nas sementes e folhas (LENDNER, 1918; BOHINC; KORBAR-SMID, 1978), aminoácidos (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, triptofano, tirosina e valina) nas folhas (CASCON, 1955), ácidos graxos (láurico, palmitoléico, oléico, linoléico) nas sementes (CATTANEO *et al.*, 1952), carboidratos (CHLAMTAC, 1955), vitaminas, carotenóides (VILLELA, 1938, 1939), triterpenóides e saponinas nas folhas (GOSMAN *et al.*, 1989, 1995).

De acordo com Gugliucci e Stahl (1995), o vegetal pode ser uma fonte natural de substâncias antioxidantes. Os mesmos autores também mostraram a capacidade dos extratos de *Ilex paraguariensis* em inibir o início e a propagação da oxidação da LDL. Possibilidade que parece ser real, uma vez que a presença de flavonóides e polifenóis justifica as propriedades antioxidantes da *Ilex paraguariensis*.

A FURG possui uma tradição no estudo de produtos naturais, com uma proposta de trabalho interdisciplinar que envolve os Departamentos de Ciências Fisiológicas – Laboratório de Produtos Naturais – Setor de Farmacologia, Enfermagem e Química, fazendo referência ao estudo sistemático da *Ilex paraguariensis* e seu possível papel protetor contra o dano oxidativo.

Estudos recentes realizados por Muccillo-Baisch *et al.* (1998), mostraram que o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* provocou o relaxamento do músculo liso vascular, que é dependente da via óxido nítrico sintase (NOs), e que poderia estar relacionado com a presença de compostos flavonóides no extrato vegetal.

Paganini-Stein (2002), demonstrou que o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* diminuiu os níveis de colesterol e triglicerídeos em ratos submetidos à dieta hipercolesterolêmica. A fração n-butanólica do extrato (com rico conteúdo fenólico) manteve a vasodilatação do leito mesentérico mesmo na vigência de

disfunção endotelial em função do elevado nível de colesterol plasmático.

Recentemente, Badiale-Furlong *et al.* (2003), determinaram os níveis de compostos fenólicos em *Ilex paraguariensis*. As amostras comerciais de erva mate foram avaliadas e quantificadas mostrando elevados teores de compostos fenólicos, quando comparados com amostras de bagaço de laranja e polpa de berinjela, explicando sua atividade antioxidante.

Em um estudo, também utilizando ratos, foi demonstrada a capacidade do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* em decompor o peróxido de hidrogênio hepático, evidenciando o efeito antioxidante do vegetal (KOWALCZYK, 2004).

2.6 MODELOS ANIMAIS NA HIPERCOLESTEROLEMIA

A utilização de modelos animais em trabalhos científicos acontece desde o século V a.C., porém, foi intensificado a partir de 1800.

Especialmente na área da saúde, muitos avanços nos conhecimentos foram obtidos com a experimentação animal, sendo inegável o benefício que trouxe para o desenvolvimento da ciência e da tecnologia (RAYMUNDO; GOLDIM, 2002).

Modelos animais de experimentação têm sido utilizados para o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento e entendimento da hipercolesterolemia e sua relação com o surgimento dos eventos ateroscleróticos, pela oxidação da LDL e a disfunção endotelial.

A ingestão contínua de quantidades elevadas de gordura parece estar relacionada diretamente com a hipercolesterolemia em humanos. Dessa forma,

vários estudos têm sido realizados com animais, induzindo-se a elevação dos níveis de colesterol plasmático através da suplementação de colesterol à dieta destes animais, a fim de melhor compreender a relação entre as desordens metabólicas do colesterol e da aterogênese.

Quatro espécies têm sido amplamente utilizadas para o estudo da aterosclerose: coelhos, galinhas, porcos e primatas não-humanos. Inicialmente os trabalhos foram realizados com coelhos, porém os porcos e os primatas não-humanos desenvolvem lesões que melhor correspondem aquelas que ocorrem com os humanos. Apesar disso, os coelhos continuam sendo importantes no entendimento dos fenômenos celulares (ROSS, 1994).

Em todos os modelos animais citados anteriormente, foi possível detectar modificações na proliferação de células musculares lisas associadas com a aterosclerose, que incluem lesões endoteliais como resultado de lesão mecânica, através de cânulas intra-arteriais, ou induzidas quimicamente a partir de hipercolesterolemia crônica (STEMERMAN; ROSS, 1972).

Vários estudos têm demonstrado que a hipercolesterolemia pode ser induzida em coelhos através da adição de colesterol à dieta.

Alfonso-Valiente *et al.* (2001), estudaram um modelo experimental de aterosclerose carotídea em coelhos a partir de uma dieta hipercolesterolêmica. A partir da suplementação com colesterol durante doze semanas foi possível elevar os níveis plasmáticos de colesterol, e constatar a presença de estrias adiposas nas artérias destes animais.

Jorge *et al.* (1998), avaliaram em coelhos hipercolesterolêmicos, o efeito da berinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial.

Lima *et al.* (2001), estudaram os efeitos de carotenóides e flavonóides no metabolismo lipídico de coelhos hipercolesterolêmicos, objetivando em, futuramente, utilizá-los como fármacos no tratamento e/ou prevenção de doenças cardíacas.

Amaral *et al.* (1995), baseados nas propriedades antioxidantes de compostos presentes no vinho tinto, realizaram experimentos em coelhos hipercolesterolêmicos observando uma sensível diminuição ou não formação de infiltrados de lipídios na íntima da aorta.

Os estudos realizados com modelos animais são de grande importância, pois tem contribuído para aumentar o conhecimento que se tem a respeito da hipercolesterolemia e a aterosclerose e possíveis tratamentos com substâncias com efeitos farmacológicos que podem proteger contra o dano oxidativo.

3 OBJETIVOS

- Verificar a capacidade do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* em diminuir/reduzir as concentrações de colesterol total, HDL e triglicérides em animais hipercolesterolêmicos;

- Verificar a capacidade do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* em prevenir/proteger a elevação das concentrações de colesterol total, HDL e triglicérides anterior à vigência de um regime hipercolesterolêmico;

- Verificar as concentrações plasmáticas das transaminases, fosfatase alcalina, creatinina, uréia, glicose e bilirrubinas durante os diferentes tratamentos e regimes;

- Divulgar a erva mate como um antioxidante natural, como estratégia para a promoção da saúde e melhor qualidade de vida da população nas questões relacionadas às doenças crônico-degenerativas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi do tipo experimental, com análise quantitativa dos dados.

4.1 ANIMAIS E CONDIÇÕES DE EXPERIMENTAÇÃO

Os animais utilizados foram coelhos (n=36), machos da raça New Zealand, com idade entre 4-6 meses, fornecidos pelo Biotério Central da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, condizendo com seu porte físico, sob condições padronizadas de temperatura, umidade e luz, ausência de correntes de ar excessivo, remoção regular de detritos e higienização adequada. Os animais foram alimentados com dieta comercial (Sano, Brasil) e água fresca à vontade em bebedouros automáticos.

O período de duração do experimento para todos os animais foi de 60 dias. O dia zero coincidiu com o dia anterior ao início dos tratamentos específicos. Nesta data, todos os animais foram pesados e o sangue coletado, respeitando um jejum de 12 horas para o estabelecimento dos valores bioquímicos de colesterol total, HDL, triglicerídeos, transaminases, uréia, creatinina, glicose, bilirrubinas e fosfatase alcalina antes dos tratamentos, para posterior análise e comparação dos resultados após cada protocolo.

Os animais foram manipulados obedecendo-se rigorosamente as normas éticas para a experimentação animal determinadas pelo Colégio Brasileiro de

Experimentação Animal – COBEA, (1991).

4.2 EXTRATO VEGETAL

O extrato de *Ilex paraguariensis* foi preparado a partir de 110g do produto comercial (Seiva do Mate, Ilópolis, RS), diluído em 1000mL de água destilada, através do método de decocção, ou seja, a mistura foi levada ao aquecimento um período de 15 minutos a uma temperatura que não ultrapassou os 80 °C.

O extrato foi então filtrado, e determinado o seu peso seco (AD-4714, MOISTURE BALANCE, USA). O rendimento do extrato de *Ilex paraguariensis* foi de 72 % após a filtração e a concentração final em substâncias sólidas variou entre 30 e 40mg/mL.

Os animais receberam em média um volume de 150 mL/dia do extrato durante o tempo previsto para cada protocolo, em substituição da água, correspondendo a uma concentração que variou entre 540-600mg.

4.3 DIETAS

Foram preparadas as seguintes dietas:

Dieta normal: ração comercial (Sano, Brasil).

Dieta enriquecida com colesterol: ração comercial (Sano, Brasil), adicionada

de colesterol (Vetec, Brasil) na concentração de 2%, agregado com óleo de soja.

Todos os animais receberam diariamente 100g de ração, de acordo com cada protocolo.

4.4 TRATAMENTOS

Os coelhos que fizeram parte deste estudo foram divididos em quatro grupos:

Grupo Controle (GCont) (n=9): recebeu ração comercial durante todo o tempo de duração do experimento;

Grupo Colesterol (GColest) (n=9): recebeu ração comercial com adição de colesterol (2%) durante todo o tempo de experimento;

Grupo Colesterol e *Ilex paraguariensis* a partir do 30º dia de tratamento (GColIp) (n=9): dieta com colesterol desde o 1º dia até o fim do experimento e extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* a partir do 30º dia até o fim do experimento;

Grupo *Ilex paraguariensis* e Colesterol a partir do 30º dia de tratamento (GIpCol) (n=9): extrato aquoso da erva-mate a partir do 1º dia até o fim do experimento e colesterol incorporado à dieta a partir do 30º dia.

4.5 ACOMPANHAMENTO DOS PESOS DOS ANIMAIS

Nos tempos de 0, 15, 30, 45, e 60 dias os animais foram pesados.

Os resultados obtidos fizeram parte de uma planilha para o controle do peso.

4.6 PROCEDIMENTOS PARA A COLETA DE SANGUE E ANÁLISE BIOQUÍMICA

A coleta de sangue foi feita sob jejum de 12 horas, nos tempos de 0, 15, 30, 45 e 60 dias.

O animal retirado da gaiola foi colocado em uma caixa de contenção, mantendo somente a cabeça exposta. Na orelha foi feita a tricotomia na área da veia marginal, coletando-se mais ou menos 3 mL de sangue em tubos esterilizados, os quais foram imediatamente encaminhados ao Laboratório de Análises Bioquímicas do Hospital Universitário da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

O soro foi separado para a obtenção dos valores de colesterol total, triglicérides, HDL, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD), uréia, creatinina e glicose, pelo método enzimático (Wiener Lab, Argentina; Lab Test, Brasil) através do equipamento Vitalab Selectra 2.

4.7 PROCEDIMENTOS GERAIS PARA A RETIRADA DA AORTA E PREPARO DAS ARTÉRIAS

Após o período de 60 dias previsto para cada protocolo, os coelhos foram transportados e mantidos nas dependências do Departamento de Ciências Fisiológicas da FURG.

Os animais foram sacrificados, via endovenosa, através da veia marginal da orelha com uma superdosagem de Tiopental Sódico (Thionembatal[®]). A superdosagem foi constatada pela dificuldade respiratória seguida de movimentos respiratórios nulos, perda dos reflexos pupilares e cianose.

Logo após o animal foi dissecado. A seguir foi localizada a artéria aorta. Uma vez isoladas *in situ*, foram perfundidas com paraformaldeído (PFA) em solução a 4%, preparada em tampão PBS, durante 5 minutos. Os limites para a remoção foram a bifurcação das íliacas, limite inferior, e a inserção no músculo cardíaco, preservando a parte da crossa para os cortes.

Em seguida as artérias foram removidas (RNase free) e fixadas em PFA (4%) de 3 a 5 horas, em temperatura de 4°C.

Após esse período a artéria removida foi fracionada em segmentos com aproximadamente 0,5 mm de comprimento e lavados três vezes em PBS, com duração de 30 minutos cada lavagem e mantidas sob temperatura de 4°C.

A seguir, os tecidos foram desidratados em banhos sucessivos de álcool (50°, 80°, 95° e 100°), com duração de 30 minutos cada banho e na frequência de três vezes em cada álcool.

Após, os cortes passaram por dois banhos em xileno, cada um de 30 minutos. Por fim, os tecidos foram submetidos a dois banhos de 30 minutos em parafina (56°C) e incluídos em blocos para estocagem.

4.8 PROCEDIMENTOS GERAIS PARA O PREPARO DAS LÂMINAS, COLORAÇÃO TRICOMO, IMUNOHISTOQUÍMICA E ANÁLISE DE IMAGEM

Esta etapa foi realizada na Unité 441 do Institut National de La Santé et Recherche Médicale – INSERM na cidade de Pessac, na França.

4.8.1 Preparo das Lâminas

A partir do material que foi preparado em Rio Grande, sobre as artérias dos coelhos, foram realizados cortes e montagens sobre lâminas pré-tratadas com gelatina.

Para cada bloco de parafina foram preparadas seis lâminas.

As lâminas ficaram por um período de no mínimo 24 horas em estufa a 37°C antes das colorações.

4.8.2 Coloração Tricromo

Os cortes passaram por três etapas diferentes: desparafinagem, rehidratação e desidratação antes da montagem definitiva.

Uma vez preparadas as lâminas, foram submetidas a dois banhos de 10

minutos de xileno para o processo de desparafinagem.

Para o processo de rehidratação, as lâminas passaram por banhos sucessivos de álcool 100° (dois banhos de 2 minutos cada), 95° (dois banhos de 2 minutos cada) e 80° (um banho de 2 minutos) e um banho em água destilada (2 minutos).

Para a coloração, as lâminas sofreram banhos sucessivos em corantes: Hemalum Mayer (um banho de 2 minutos) para a coloração dos núcleos celulares; e Fuccina Escarlata (um banho de 2 minutos) para a coloração do citoplasma.

A seguir foi feita a lavagem com água acidificada e fixação com ácido fosfomolibidico durante 5 minutos. Para a fixação do tecido conjuntivo, em particular o colágeno e proteoglicans, fez-se a coloração com o corante Verde Lumière.

Realizado o processo de coloração, os cortes passaram por três banhos sucessivos de álcool 100° para a desidratação e dois banhos de xileno para a melhor conservação dos tecidos entre a lâmina e a lamela.

Para a montagem final utilizou-se o produto Eukitt (baume de inclusão para técnica histológica de rápida adesão).

4.8.3 Imunohistoquímica

Sobre as lâminas preparadas, procederam-se os mesmos processos de desparafinagem e rehidratação descritos para a técnica do tricromo, exceto na finalização da etapa, onde se fez a lavagem do material em água destilada.

A seguir, procedeu-se a inibição das peroxidases endógenas, através da

utilização do peróxido de hidrogênio (3%), durante 20 minutos. Os cortes foram saturados com soro de cavalo a 10% (Sigma, H-1270), durante 30 minutos.

A seguir os cortes foram incubados com os anticorpos RAM 11 e SMC α -actina durante um período de 12 horas e no dia seguinte foi feita a incubação com a imunoglobulina biotinizada durante uma hora (Amershan, RPN 1004 ou 1001) e com o complexo biotina-estreptavidina peroxidase (Amershan, ECL, RPN 1051). Após o período, foi feita a revelação kit DAB/H₂O₂, em temperatura ambiente.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média.

As respostas obtidas para os diferentes grupos foram comparadas através de Análise de Variância seguido do Teste de Tukey, com nível de significância para $p < 0,05$, para as comparações.

Os parâmetros bioquímicos foram analisados em função dos diferentes tempos dentro de cada grupo e eventualmente comparados entre os diferentes grupos.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DAS DIFERENTES DIETAS SOBRE O PESO CORPORAL E AS INGESTAS SÓLIDAS E LÍQUIDAS

Todos os animais utilizados neste estudo receberam 100g de ração/dia. A análise estatística dos pesos corporais não evidenciou diferenças entre os grupos experimentais. Os animais ganharam peso ao longo dos tratamentos. A tabela 1 apresenta os valores ao início e ao fim dos tratamentos.

Quanto a ingesta hídrica os animais receberam diariamente um volume de 150 mL ou de água ou extrato de *Ilex paraguariensis*. O volume diário ingerido do extrato correspondeu entre 540-600 mg de substâncias sólidas presentes no extrato aquoso.

Tabela 1: Peso corporal (g) ao início e fim do período experimental de coelhos alimentados com dieta comercial, dieta enriquecida em 2% de colesterol e co-tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Valores expressos como média \pm erro padrão da média. n=9 em cada grupo.

Grupos	Peso corporal inicial	Peso corporal final
Controle	3.395,0 \pm 118,6	3.636,5 \pm 118,5
Colesterol	3.585,8 \pm 83,5	3.826,7 \pm 174,4
<i>Ilex paraguariensis</i> + colesterol	3.130,0 \pm 47,3	3.482,5 \pm 90,1
Colesterol + <i>Ilex paraguariensis</i>	3.127,5 \pm 201,6	3.556,2 \pm 24632

5.2 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE TRANSAMINASES, URÉIA, CREATININA, GLICOSE, BILIRRUBINAS E FOSFATASE ALCALINA

As concentrações plasmáticas de AST, ALT, fosfatase alcalina, creatinina, uréia, glicose, BT, BD e foram verificados ao início e ao fim dos diferentes tratamentos e regimes. Ao início dos tratamentos, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (Tabelas 2, 3 e 4).

Após os diferentes regimes e tratamentos, nos animais do grupo controle não foi evidenciada nenhuma diferença nos parâmetros analisados, com exceção da uréia e AST ($p < 0,05$). Os resultados estão apresentados na tabela 2 e 3.

Tabela 2: Perfil lipídico plasmático de coelhos alimentados com dieta comercial, dieta enriquecida em 2% de colesterol e co-tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. * Diferença significativa ($p < 0,05$) versus valores do início (Teste de Tukey). Os valores estão representados como média \pm erro padrão da média. n=9 em cada grupo.

Grupos	AST		ALT		FAL	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
Controle	23,2 \pm 4,4	33,7 \pm 7,2*	37,0 \pm 7,0	57,5 \pm 17,9	44,7 \pm 17,4	100,5 \pm 32,1
<i>Ilex</i> + colesterol	19,2 \pm 1,5	39,6 \pm 8,3*	46,4 \pm 8,3	54,4 \pm 10,8	267,6 \pm 144,7	26,4 \pm 6,6
Colesterol + <i>Ilex</i>	15,2 \pm 1,2	32,8 \pm 8,6*	19,6 \pm 6,8	54,4 \pm 13,3*	77,0 \pm 30,8	128,6 \pm 21,4

Tabela 3: Perfil lipídico plasmático de coelhos alimentados com dieta comercial, dieta enriquecida em 2% de colesterol e co-tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. * Diferença significativa ($p < 0,05$) versus valores do início (Teste de Tukey). Os valores estão representados como média \pm erro padrão da média. $n=9$ em cada grupo.

Grupos	Creatinina		Uréia		Glicose	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
Controle	1,3 \pm 0,2	1,1 \pm 0,0	25,2 \pm 1,5	7,2 \pm 1,0*	122,2 \pm 5,3	121,5 \pm 4,2
<i>Ilex</i> + colesterol	1,6 \pm 0,1	1,3 \pm 0,2	25,8 \pm 2,5	7,2 \pm 0,4*	114,8 \pm 6,0	127,2 \pm 6,9
Colesterol + <i>Ilex</i>	1,41 \pm 0,1	1,0 \pm 0,0*	21,6 \pm 5,4	7,5 \pm 0,8*	104,7 \pm 29,4	130,0 \pm 11,9

No grupo que recebeu dieta enriquecida em colesterol seguida da co-administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*, a comparação dos parâmetros bioquímicos mostrou diferença significativa apenas para as concentrações plasmáticas de creatinina, diminuído ao final do tratamento e ALT, aumentado ($p < 0,05$).

Tabela 4: Perfil lipídico plasmático de coelhos alimentados com dieta comercial, dieta enriquecida em 2% de colesterol e co-tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Os valores estão representados como média \pm erro padrão da média. $n=9$ em cada grupo.

Grupos	BT		BD	
	Início	Fim	Início	Fim
Controle	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	0,06 \pm 0,02	0,0 \pm 0,0
<i>Ilex paraguariensis</i> + colesterol	0,3 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Colesterol + <i>Ilex</i> <i>paraguariensis</i>	0,3 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0

Por outro lado, o grupo que recebeu inicialmente o extrato aquoso da *Ilex paraguariensis* antes do regime hipercolesterolêmico, apresentou valores diferentes ($p < 0,05$) entre o início e o fim do período de observação apenas para as concentrações de uréia, diminuídos ao final, e de AST, aumentados também ao final do tratamento.

5.3 EFEITOS DA DIETA ENRIQUECIDA EM COLESTEROL SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE COLESTEROL TOTAL

Os valores iniciais da concentração plasmática de colesterol foram similares em todos os grupos experimentais. As concentrações plasmáticas dos valores do colesterol durante os diferentes tratamentos estão na Tabela 5. Após o período de incorporação de colesterol (2 %) na dieta dos coelhos, durante 30 dias, houve um aumento significativo das concentrações de colesterol plasmático destes animais ($p < 0,05$) que se mantiveram em elevação até o final do período quando comparados com o grupo controle e quando comparados os valores iniciais e os finais.

A co-administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* no grupo com dieta rica em colesterol, reduziu o aumento induzido pela dieta hipercolesterolêmica e embora os valores não tenham retornado as concentrações iniciais, mantiveram-se significativamente reduzidos se comparados aos valores do início dos tratamentos ($p < 0,05$). O mesmo resultado foi observado no grupo que recebeu o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* anterior ao regime hipercolesterolêmico.

Tabela 5: Concentração de colesterol total de coelhos alimentados com dieta comercial, dieta enriquecida em 2% de colesterol e co-tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. * Diferença significativa ($p < 0,05$) versus tempo zero no grupo experimental (Teste de Tukey). Os valores estão representados como média \pm erro padrão da média. $n=9$ em cada grupo.

Grupos	Zero	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta
Controle	31,9 \pm 3,1	23,5 \pm 1,8	27,4 \pm 2,4	28,6 \pm 4,2
Colesterol	46,0 \pm 7,5	320,8 \pm 48,8*	536,3 \pm 63,4*	1030,7 \pm 43,4*
<i>Ilex paraguariensis</i> + colesterol	31,6 \pm 5,5	513,0 \pm 110,7*	215,3 \pm 71,7	160,2 \pm 67,0*
Colesterol + <i>Ilex</i> <i>paraguariensis</i>	34,6 \pm 9,0	386,0 \pm 119,1*	477,4 \pm 78,3*	336,4 \pm 87,7*

5.4 EFEITOS DA DIETA ENRIQUECIDA EM COLESTEROL E TRATADOS COM *Ilex paraguariensis* SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE TRIGLICERÍDEOS

A tabela 6 apresenta as concentrações plasmáticas de triglicerídeos encontradas durante os diferentes tratamentos. O regime enriquecido em colesterol provocou um aumento gradual nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos e a análise estatística evidenciou diferença significativa entre os valores iniciais e finais ($p < 0,05$). Além disso, os valores plasmáticos do grupo que recebeu o extrato de *Ilex paraguariensis* desde o início e co-administração da dieta enriquecida em colesterol mantiveram-se próximos dos valores encontrados no início dos tratamentos, não sendo verificada nenhuma diferença significativa. Por outro lado, o grupo que iniciou a dieta hipercolesterolêmica, e foi co-administrado o extrato aquoso, as concentrações de triglicerídeos, ao final do período de observação encontraram-se

menores, mas semelhantes ao do grupo anterior no mesmo período ($p < 0,05$).

Tabela 6: Concentração plasmática de triglicerídeos de coelhos alimentados com dieta rica em 2% de colesterol e co-administrados por extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Diferença significativa ($p < 0,05$) versus tempo zero no grupo experimental (Teste de Tukey). Os valores estão representados como média \pm erro padrão da média. $n=9$ em cada grupo.

Grupos	Zero	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta
Controle	62,2 \pm 16,2	64,4 \pm 13,3	41,9 \pm 7,0	52,0 \pm 13,2
Colesterol	41,75 \pm 6,4	67,8 \pm 19,9	100,8 \pm 25,3	136,3 \pm 33,5*
<i>Ilex paraguariensis</i> + colesterol	59,0 \pm 24,0	62,0 \pm 11,0	51,8 \pm 11,1	44,2 \pm 11,8
Colesterol + <i>Ilex</i> <i>paraguariensis</i>	86,0 \pm 4,2	66,5 \pm 2,9	67,8 \pm 15,1	45,0 \pm 12,1*

5.5 EFEITOS DA DIETA ENRIQUECIDA EM COLESTEROL E TRATADOS COM *Ilex paraguariensis* SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE HDL – COLESTEROL

Quanto às concentrações plasmáticas de HDL-colesterol, os valores iniciais foram similares em todos os grupos experimentais. As concentrações foram medidas durante os tratamentos e podem ser vistas na tabela 7. A dieta enriquecida em colesterol induziu um aumento significativo destas lipoproteínas ($p < 0,05$) quando comparados os valores do início e ao final dos tratamentos.

Tabela 7: Concentração plasmática de HDL-colesterol de coelhos alimentados com dieta comercial, dieta enriquecida em 2% de colesterol e co-tratados com extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. * Diferença significativa ($p < 0,05$) com relação ao tempo zero (Teste de Tukey). ** Diferença significativa ($p < 0,05$) com relação a 2ª coleta (Teste de Tukey). Os valores estão representados como média \pm erro padrão da média. $n=9$ em cada grupo.

Grupos	Zero	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta
Controle	36,0 \pm 9,3	32,5 \pm 9,1	27,5 \pm 8,7	34,7 \pm 12,8
Colesterol	31,8 \pm 4,9	51,3 \pm 5,2	53,8 \pm 6,1	68,1 \pm 11,8*
<i>Ilex paraguariensis</i> + colesterol	29,4 \pm 6,9	31,5 \pm 10,9	20,6 \pm 2,6	28,6 \pm 5,8
Colesterol + <i>Ilex</i> <i>paraguariensis</i>	30,5 \pm 7,1	48,0 \pm 7,0	22,6 \pm 4,2**	20,4 \pm 2,0**

Por outro lado, a prévia administração de extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* no grupo de animais submetidos posteriormente ao regime hipercolesterolêmico não modificou os níveis plasmáticos de HDL. Ao final do tratamento os valores encontrados foram semelhantes aos do início e não foi evidenciada nenhuma diferença significativa entre estes valores entre si e os do grupo controle.

Por outro lado, os animais que receberam *Ilex paraguariensis* na vigência de um regime rico em colesterol, os níveis plasmáticos de HDL-colesterol reduziram-se significativamente ($p < 0,05$) quando comparados com os valores do início do tratamento.

Quando foram comparadas as concentrações finais de HDL entre os quatro grupos experimentais, apenas o grupo da dieta hipercolesterolêmica foi significativamente diferente do grupo controle.

5.6 AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA

A avaliação imunohistoquímica mostra infiltração de células RAM 11 positivas na íntima dos animais submetidos a dieta aterogênica (2% de colesterol). O mesmo pode ser observado com relação aos animais que receberam o extrato de *Ilex paraguariensis*, nos dois protocolos propostos (Figura 1).

Na Figura 2 observamos a avaliação histológica realizada com o anticorpo anti alfa actina do músculo liso vascular. Os resultados permitem visualizar uma maior atividade secretora nos animais submetidos a uma dieta aterogênica, identificada por maior desorganização da matriz celular, característica do fenótipo secretor. Nos animais submetidos aos tratamentos com *Ilex paraguariensis* a análise da avaliação imunohistoquímica não evidencia a desorganização celular.

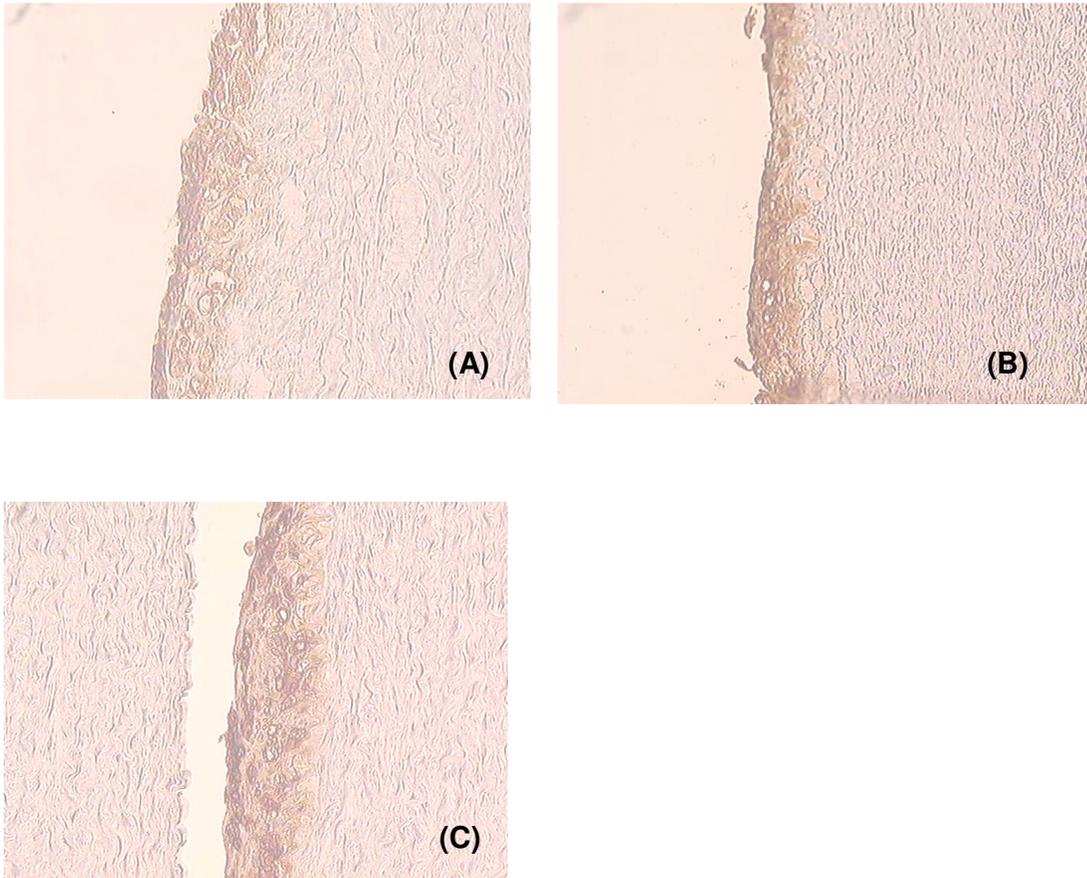


Figura 1. Fotografia representativa da análise imunohistoquímica de macrófagos/células espumosas nas aortas de (A) coelhos alimentados com dieta aterogênica (2% colesterol), (B) coelhos alimentados com dieta aterogênica durante 30 dias suplementada com a co-administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* e (C) coelhos alimentados com dieta Standard e co-administrado com o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* durante 30 dias, seguida da co-administração de dieta aterogênica (2% colesterol).

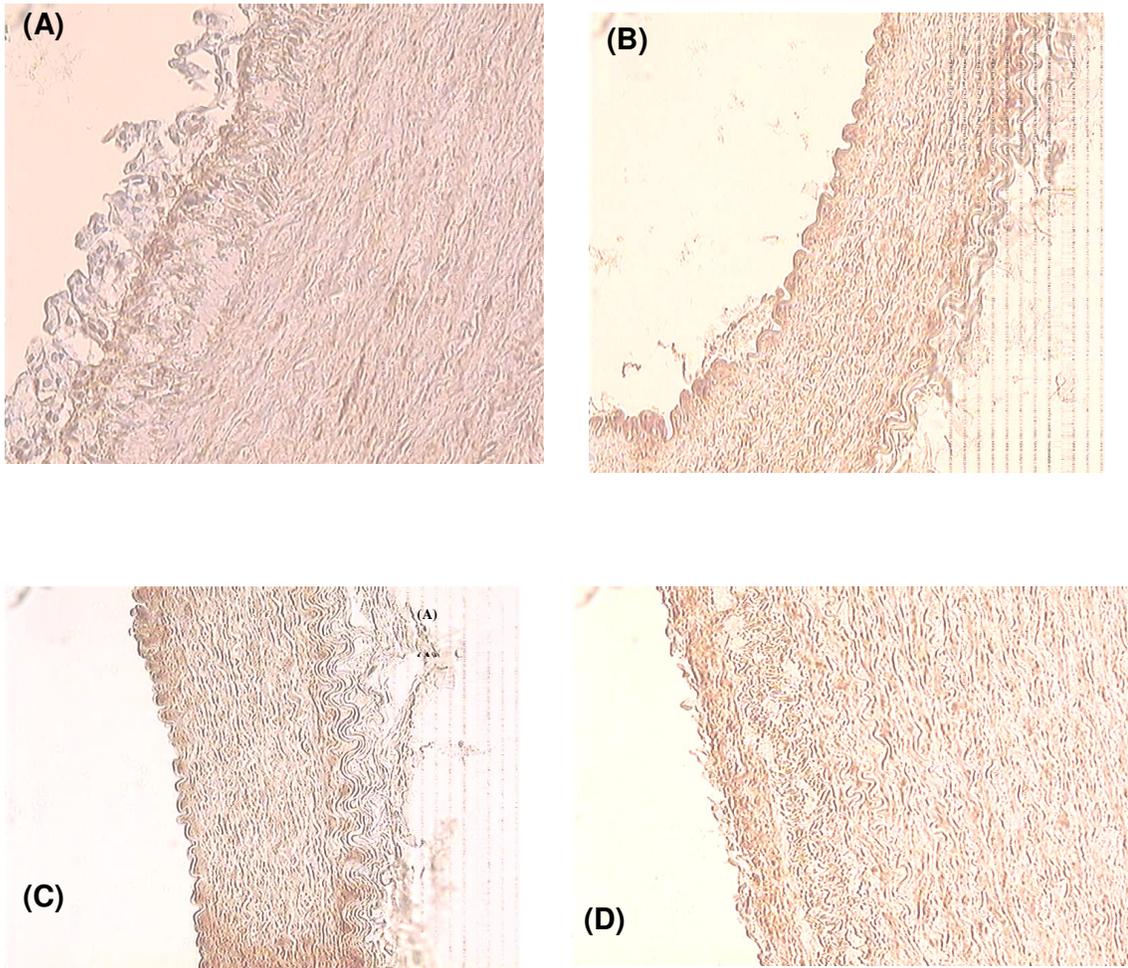


Figura 2. Fotografia representativa da análise imunohistológica da camada íntima e proliferação das células musculares lisas. Aumento de 20X. Intensa coloração das células musculares lisas alfa actina na íntima dos (A) coelhos alimentados com dieta aterogênica (2% colesterol), (B) coelhos alimentados com dieta Standard, (C) coelhos alimentados com dieta aterogênica durante 30 dias suplementada com a co-administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* e (D) coelhos alimentados com dieta Standard e co-administrado com o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* durante 30 dias, seguida da co-administração de dieta aterogênica (2% colesterol).

6 DISCUSSÃO

Neste estudo foi investigado em coelhos o efeito da ingestão do extrato aquoso da *Ilex paraguariensis* (chá verde) sobre os efeitos de uma dieta rica em colesterol.

Os efeitos da bebida conhecida como “chimarrão” foram testados em duas situações diferentes: na vigência de um quadro de hipercolesterolemia e anteriormente ao estabelecimento da dieta aterogênica, com a finalidade de atuar na prevenção dos aumentos do colesterol e dos triglicerídeos plasmáticos induzidos pelo colesterol (2%).

Os resultados mostram que a dieta enriquecida em colesterol, administrada aos coelhos da raça New Zealand, eleva significativamente, os valores do colesterol plasmático, das HDL e também dos triglicerídeos. Este aumento pode ser comparado com os valores do grupo de animais com dieta não enriquecida em colesterol e também no próprio grupo de animais, quando são comparados os valores séricos de antes e depois de 30 dias de regime hipercolesterolêmico.

A administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* reduziu o aumento do colesterol plasmático determinado pela dieta hipercolesterolêmica. Além disso, o extrato também foi capaz de reduzir o aumento dos níveis plasmáticos de colesterol induzidos pela mesma dieta hipercolesterolêmica, quando administrado antes da instalação da dieta aterogênica. Os valores foram significativamente diferentes comparando-se com o grupo controle e também dentro do grupo com os valores obtidos ao início e ao fim dos tratamentos. Resultados semelhantes foram observados em ratos utilizando-se o mesmo extrato aquoso (PAGANINI-STEIN *et al.*, 2005).

Níveis elevados de colesterol estão ligados com as lipoproteínas de baixa densidade (LDL), modificando parâmetros bioquímicos e funcionais, facilitando a agregação plaquetária (CARVALHO *et al.*, 1974; NIMPF *et al.*, 1986; TREMOLI *et al.*, 1984). Na presença de níveis séricos aumentados de LDL, aumenta a infiltração destas lipoproteínas na túnica íntima das artérias onde podem vir a serem oxidadas pelos monócitos/macrófagos e células musculares lisas.

Os resultados deste trabalho evidenciaram um aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos à medida que progride o tempo de administração da dieta enriquecida em colesterol. A incorporação de *Ilex paraguariensis* na ingesta hídrica, mesmo na presença de regime hipercolesterolêmico, determinou a manutenção dos níveis plasmáticos dos triglicerídeos em valores próximos aos do grupo controle e estatisticamente diferentes do grupo que recebeu apenas colesterol.

Elevados níveis de triglicerídeos no soro estão associados com condições que aceleram a aterosclerose.

Durante muito tempo o papel dos triglicerídeos esteve negligenciado com relação à doença aterosclerótica. Hoje a hipertrigliceridemia é considerado um importante fator de risco independente para doenças coronárias, contribuindo para a doença pelo seu efeito aterogênico direto sobre as lipoproteínas ricas em triglicerídeos (SCHIAVO *et al.*, 2003).

Esta condição por um tempo prolongado induz alterações endoteliais que contribuem para o desenvolvimento do risco da aterosclerose (GOTTO, 1998; KUSTERER *et al.*, 1999; BARTUS *et al.*, 2005).

Os níveis de triglicerídeos podem ser satisfatoriamente controlados quando os pacientes investem em mudanças de hábitos de vida tais como a dieta equilibrada,

aumento da atividade física e baixo consumo de álcool (SCHIAVO *et al.*, 2003).

Neste trabalho, o aumento dos níveis de triglicerídeos determinados pela dieta aterogênica foi atenuado pela administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Cabe destacar que neste grupo, os valores de triglicerídeos do início dos experimentos encontravam-se maior do que os outros grupos e a co-administração do extrato os reduziram significativamente ($p < 0,05$). Além disso, o pré-tratamento com o extrato impediu o aumento dos níveis séricos de triglicerídeos os mantendo nos níveis mais baixos do que os encontrados no início dos experimentos.

Quanto aos níveis séricos de HDL, neste estudo observamos um aumento significativo ($p < 0,05$) nas concentrações plasmáticas de HDL, no grupo de animais submetidos a uma dieta enriquecida em colesterol.

Por outro lado, a administração do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* após um período de dieta hipercolesterolêmica reduziu os valores plasmáticos de HDL ($p < 0,05$), bem como manteve os mesmos valores do início da experimentação no grupo que iniciou a ingestão do extrato e foi submetido ao regime enriquecido em colesterol.

Outros modelos animais evidenciaram os mesmos resultados observados em um modelo de aterosclerose induzida pela dieta em ratos, onde a administração de quercetina, um flavonóide, reduziu as concentrações de HDL, porém aumentou os níveis de LDL (YUGARANI *et al.*, 1992). Resultados semelhantes também foram obtidos em coelhos, onde uma dieta rica em gordura provocou aumento dos níveis de HDL e onde a quercetina reduziu os níveis elevados (JUZWIAK *et al.*, 2006).

As doenças cardiovasculares (DCV) representam uma relevante causa de mortalidade nas populações. Entre as principais causas da DCV estão a hipertensão

arterial, tabagismo, obesidade, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. Várias abordagens são dadas para o tratamento e a prevenção da aterosclerose, combinando alterações de vida, intervenção farmacológica e cirúrgica (LEITE, 1994).

A proteção exercida sobre as DCV através da dieta rica em frutas e vegetais já é bem conhecida (BLOCK, 1992; BLOCK; LANGSETH, 1994). Este efeito protetor tem sido atribuído, em grande parte, a presença de substâncias antioxidantes tais como a vitamina C, beta-caroteno, carotenóides e os flavonóides.

Vários estudos mostram a capacidade dos chás verdes e sucos de frutas em reduzir os níveis de colesterol em vários modelos animais. Em coelho que ingeriram diariamente, durante 15 dias, suco liofilizado de *Citrus sinensis* e *Citrus limon* tiveram redução marcada dos níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos e aumentaram os níveis de HDL (TROVATO *et al.*, 1996). Além disso, este mesmo estudo mostrou que o uso prolongado de ambos os sucos exerceram um efeito protetor contra a insurgência da hipercolesterolemia.

O efeito da ingestão de chás verde e preto, administrados em coelhos, durante um período de 21 semanas, evidenciou uma redução à formação de lesões aórticas nos animais que ingeriram o chá verde (TIJBURG *et al.*, 1997).

Hoje o interesse pelo estudo de alimentos que desempenham mais que a função puramente nutritiva vem aumentando. A presença de atividade funcional é desejada como prevenir a ação dos radicais livres, a hipercolesterolemia, hipertensão entre outros estados mórbidos.

Preocupada com a principal causa de mortalidade no Brasil, a doença aterosclerótica, a Sociedade Brasileira de Cardiologia publicou um documento (Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias, 2004) abordando desde o controle dos lipídeos, a avaliação global do risco em desenvolver a doença, o tratamento do

tabagismo, o exercício físico e o uso de medicamentos para a prevenção das manifestações clínicas da aterosclerose. Sendo esta doença multifatorial, a sua prevenção passa pela identificação e controle das dislipidemias e do conjunto de fatores de risco.

Na abordagem quanto às mudanças do estilo de vida, o documento destaca o consumo de substâncias antioxidantes, citando os flavonóides e as vitaminas.

A importância do estudo de substâncias antioxidantes está relacionada à freqüente associação entre dano tecidual e liberação de radicais livres.

Existem evidências de que os compostos derivados de plantas podem ter efeitos benéficos sobre a saúde humana e alguns dentre eles exercem atividade antioxidante, principalmente flavonóides (VINSON *et al.*, 2001).

Os flavonóides são substâncias encontradas nas plantas superiores, e que contém grupos fenólicos hidroxil os quais conferem à atividade antioxidante (HARBORNE, 1986). Estão também presentes nos alimentos principalmente verduras e frutas. Apresentam amplo espectro de atividade biológica e farmacológica, tendo, portanto recebido atenção especial (METODIEWA *et al.*, 1997).

Os efeitos benéficos dos flavonóides estão ligados, principalmente a sua capacidade de inibir a peroxidação lipídica e a agregação das plaquetas devido as suas propriedades antioxidantes e a habilidade da remoção de radicais livres (CAVALLINI *et al.*, 1978; LACKEMAN *et al.*, 1986; FRAGA *et al.*, 1987; AFFANA'S *et al.*, 1989; HANASAKI *et al.*, 1994; FRANKEL *et al.*, 1993).

O conhecimento da composição química da *Ilex paraguariensis* identificou uma série de constituintes como alcalóides purinas (cafeína), aminoácidos, polifenóis e flavonóides (ROBERTS, 1956; ALIKARIDIS, 1987). Os compostos fenólicos

presentes nos extratos aquosos de espécies de *Ilex* foram também identificados por HPLC e revelaram a presença de derivados cafeólicas e flavonóides como a quercetina, rutina e kaempferol, presentes nas espécies estudadas, onde os maiores teores foram encontrados na *Ilex paraguariensis* (FILIP *et al.*, 2000).

Vários trabalhos mostram a capacidade antioxidante ligada aos extratos de *Ilex paraguariensis*. A proteção ao dano oxidativo do DNA foi relacionada ao efeito antioxidante dos extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* (BRACESCO *et al.*, 2003).

A comparação de diferentes espécies de *Ilex* mostrou atividades antioxidantes em todas as espécies testadas e a *Ilex paraguariensis* apresentou a maior atividade comparada com as outras (FILIP *et al.*, 2000). Outro estudo mostrou atividade antioxidante da *Ilex paraguariensis* através da atividade peroxidase e relacionada com a presença de compostos cafeólicos e polifenóis totais (ANESINI *et al.*, 2006).

Recentemente foram descritas propriedades antioxidantes do extrato aquoso da *Ilex paraguariensis*. O extrato inibiu a peroxidação lipídica enzimática, de maneira concentração-dependente e não enzimática nos microsomas hepáticos do rato inibiu a peroxidação induzida por peróxido de hidrogênio na membrana das células vermelhas do sangue e exibiu propriedades seqüestradoras de radicais como o ânion superóxido (SCHINELLA *et al.*, 2000).

Diferentes teores de compostos fenólicos foram identificados e quantificados na casca da berinjela, na polpa da laranja e nas folhas de *Ilex paraguariensis*. Foram encontrados 697,7; 352,7 e 2.136,38 µg fenol.G-1 (coeficiente de variação de 10%) respectivamente (BADIALE-FURLONG *et al.*, 2003). Os compostos fenólicos identificados foram principalmente tirosina, quercetina e rutina.

Os benefícios dos efeitos antioxidantes dos nutrientes encontram suporte em vários trabalhos e evidências epidemiológicas que sugerem uma associação entre

as dietas ricas em vegetais, frutas e vinho tinto e a diminuição do risco das doenças degenerativas (AMES *et al.*, 1993; RIMM *et al.*, 1996; CAO *et al.*, 1988). A doença coronária cardíaca esteve inversamente correlacionada com o consumo de flavonóides (HERTOG *et al.*, 1993).

O paradoxo francês levantou questões acerca da baixa incidência de doenças cardiovasculares nas populações do sul da França apesar da dieta rica em gordura e da tendência ao tabagismo (RENAUD; DE LORGERIL, 1992). A explicação está relacionada ao consumo de vinho tinto onde encontramos quantidades de compostos polifenólicos antioxidantes, ao consumo de azeite de oliva e a presença de frutas e vegetais na dieta dos povos do Mediterrâneo.

A medida da atividade enzimática em decompor o peróxido de hidrogênio no tecido hepático foi realizada em animais tratados cronicamente com o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Os resultados mostraram que os fígados dos animais que receberam o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* mostraram maior atividade de decomposição do peróxido de hidrogênio, sugerindo maior atividade de enzimas antioxidantes ou então na atividade do extrato em diminuir os radicais livres, provavelmente ligada a presença de substâncias fenólicas como os flavonóides (KOWALCZYK, 2004).

Os compostos voláteis presentes em menores concentrações influenciam a qualidade das infusões feitas com partes de plantas (BASTOS *et al.*, 2006). Na *Ilex paraguariensis*, poucos estudos foram feitos para medir a atividade antioxidante dos compostos voláteis presentes nos extratos (KAWAKAMI; KOBAYASHI, 1991). Recentemente (BASTOS *et al.*, 2006) compararam os efeitos antioxidantes de óleos essenciais extraídos de chás verdes e mate (*Ilex paraguariensis*) e evidenciaram atividade antioxidante equivalente entre eles.

A ingestão oral de infusão de *Ilex paraguariensis* interfere com o sistema circulatório, atuando como agente diurético e hipotensivo (MAZZAFERA, 1994).

Vários trabalhos foram realizados considerando os potenciais efeitos da *Ilex* sobre o sistema circulatório. Foram demonstrados efeitos cardioprotetores, colocando em evidência um mecanismo óxido nítrico (NO) dependente.

Com o modelo de isquemia e reperfusão, o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* atenuou a disfunção miocárdica provavelmente por diminuir o dano oxidativo (SCHINELLA *et al.*, 2005).

Da mesma forma, o extrato aquoso do vegetal também foi capaz de relaxar o músculo liso vascular através de um mecanismo que envolve fontes endoteliais de NO (MUCCILLO-BAISCH *et al.*, 1998).

Ainda quanto aos efeitos dos extratos de *Ilex paraguariensis*, precisamente da fração n-butanólica, esta se mostrou esta mais vasodilatadora do que o extrato aquoso, provavelmente porque nesta fração encontramos uma maior concentração de compostos flavonóides (PAGANINI-STEIN *et al.*, 2005). Além disso, apesar da disfunção endotelial produzida pela hipercolesterolemia, as duas frações ainda foram capazes de relaxar o músculo liso vascular, porém a fração n-butanólica mostrou-se ainda mais vasodilatadora (PAGANINI-STEIN *et al.*, 2005). Estes efeitos vasodilatadores suportam a hipótese de que os compostos fenólicos presentes no vegetal estejam implicados no efeito relaxante mesmo na ausência de endotélio funcional.

O tratamento crônico de ratos com a infusão de *Ilex paraguariensis* promoveu um a diminuição da hidrólise do ATP, ADP e AMP no soro dos animais, modulando o balanço dos níveis de purinas e isto se reflete no sistema cardiovascular (GORGEN *et al.*, 2005).

Falando ainda em favor dos efeitos antioxidantes da *Ilex paraguariensis* está à inibição da LDL, in vitro, potência comparável a do ácido ascórbico (GUGLIUCCI; STHAL, 1995) e a inibição in vivo (GUGLIUCCI, 1996).

A oxidação da LDL é conhecida como um determinante no mecanismo da doença aterosclerótica, contribuindo para a formação da lesão (WITZTUM; STEINBERG, 1991).

A LDL oxidada é seqüestrada para o espaço sub-endotelial, assim, com a modificação oxidativa da LDL, monócitos são recrutados pela parede arterial e os macrófagos acumulam quantidades de LDL-oxidadas e dão origem as células espumosas, precursoras da estria lipídica (FREI, 1995).

A aterosclerose é uma doença crônica inflamatória das artérias e é caracterizada por espessamento da parede vascular e a infiltração de macrófagos e linfócitos. Em um animal geneticamente ou com hiperlipidemia induzida pela dieta, as mudanças morfológicas iniciais nas artérias incluem aderência focal dos leucócitos mononucleares ao endotélio e acumulação de células espumosas derivadas de monócitos (KLURFELD, 1985; ROGERS *et al.*, 1986).

O estresse oxidativo e a produção de citocinas pró-inflamatórias são pré-requisitos para a ativação do endotélio em induzir quimiotáticos e moléculas de adesão para atrair e aderir monócitos aos primeiros estágios da formação da estria lipídica. Elevados níveis de LDL e a sua oxidação contribuem para o recrutamento de monócitos circulantes para a íntima arterial (NAPOLI *et al.*, 1997).

Outros autores também mostraram a supressão da acumulação de macrófagos e de células espumosas, bem como a expressão de moléculas de adesão nas aortas de coelhos hipercolesterolêmicos submetidos a tratamentos com antioxidantes. A suplementação da dieta com vitamina E tende a suprimir a

acumulação de macrófagos na parede aórtica, em coelhos que receberam a vitamina quatro semanas antes e durante a indução da hipercolesterolemia (KOGA *et al.*, 2004).

Outro estudo mostrou a capacidade da crocetina, um carotenóide natural, em atenuar o aparecimento de macrófagos e células espumosas nas lesões aórticas encontradas nos animais com dieta aterogênica e suplementação em crocetina (ZHENG *et al.*, 2006).

Nas aortas dos coelhos submetidos a um regime aterogênico, podemos observar a destruição do endotélio vascular, o grande infiltrado inflamatório, revelado pela presença de macrófagos marcados pelo RAM 11 e o número importante de células espumosas, carregadas de lipídios localizadas tanto na camada íntima, subjacente ao endotélio vascular como também na camada muscular lisa, onde podemos ver a presença eventual de macrófagos.

As células espumosas acumulam as LDL oxidadas e esta é uma característica da lesão aterosclerótica e desempenha um papel fundamental na patogênese e progressão da doença.

Considerando a aterosclerose uma doença crônica inflamatória, o envolvimento de macrófagos não é surpreendente e a transformação macrofágica em células espumosa carregada de lipídio, é um evento primário no progresso da doença (GLASS; WITZTUM, 2001).

A avaliação imunohistoquímica revelou também a presença de macrófagos nas aortas dos animais que receberam o extrato aquoso da *Ilex paraguariensis*. Nossos resultados não nos permitiram comparar a extensão do infiltrado macrofágico entre os diferentes grupos experimentais e portanto não podemos verificar se o tratamento diminuiu ou minimizou o estabelecimento do processo

inflamatório.

Resultado semelhante mostrou a redução da progressão da aterosclerose em coelhos alimentados com dieta aterogênica enriquecida em 1% colesterol (MOSIMANN *et al.*, 2006). Apesar de não haver modificação do perfil lipídico e hepático quanto ao conteúdo em colesterol, os autores encontraram áreas de lesão aterosclerótica consideravelmente menores no grupo de animais tratados com o extrato da *Ilex paraguariensis*. Também, neste mesmo trabalho, o conteúdo aórtico em colesterol foi menor para o mesmo grupo de animais, comparados aos coelhos que receberam dieta aterogênica.

Cabe ainda uma consideração com relação as dietas comerciais que servem para alimentar os animais mantidos nos biotérios. Nossa experiência nos tem mostrado os efeitos das rações comerciais sobre os níveis plasmáticos de glicose e sobre o ganho de peso corporal nos animais onde não é feito o controle rigoroso da oferta diária de ração.

Desta forma poder-se-ia especular a possibilidade dos animais empregados neste estudo já possuírem um processo inflamatório anterior, e que seria exacerbado na presença do regime aterogênico ou controlado pela ingestão do extrato aquoso. Em efeito, mesmo que já exista uma lesão aterosclerótica, o número de células espumosas é menor nos animais tratados com o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*. Isto pode traduzir ou ser decorrência do efeito antioxidante que impediu a oxidação das LDL e conseqüentemente o carregamento das células espumosas.

Outro aspecto importante a ser considerado está relacionado à presença de saponinas na bebida “chimarrão”. As saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos o que confere a propriedade de reduzir a tensão superficial de

água bem como ações detergentes e emulsificantes (SCHENKEL *et al.*, 2004).

As saponinas podem também fazer a complexação com esteróides e determinar com isto efeito hipocolesterolêmico (SCHENKEL *et al.*, 2004). A investigação desta propriedade originou vários trabalhos mostrando a redução dos níveis de colesterol sérico. Podemos citar a diminuição do colesterol no sangue e tecidos de frangos, submetidos à dieta onde foram adicionadas saponinas (CHEEKE, 1971), a diminuição de lipídeos e colesterol no fígado de camundongos também alimentados com dieta enriquecida em saponinas presentes na alfafa (RESHEF *et al.*, 1976).

As saponinas presentes no ginseng (*Panax ginseng* C.A.Mey), na beterraba (*Beta vulgaris*) e na calêndula (*Calendula officinalis* L.) também apresentaram propriedades hipocolesterolêmica e hipotrigliceridêmica em coelhos (MOON *et al.*, 1984).

Vários mecanismos foram propostos para o efeito hipocolesterolêmico observado na presença de uma dieta ou tratamento com saponinas. Há a formação de complexos com o colesterol e o aumento da excreção. Pode ainda ocorrer o aumento da eliminação fecal de ácidos biliares o que determina uma maior utilização do colesterol para a síntese dos sais biliares.

As saponinas presentes na *Ilex paraguariensis* são capazes de formar complexos com os ácidos biliares, dificultar a sua reabsorção e aumentar a eliminação. Estes efeitos favorecem a eliminação do colesterol da corrente sanguínea para suprir a carência na bile. A difusão passiva de ácido cólico pode ter um efeito antihipocolesterolêmico *in vivo* por aumentar a excreção de esteróides (FERREIRA *et al.*, 1997).

Talvez ainda mereça considerar a atividade antiinflamatória das saponinas.

Vários trabalhos identificaram as saponinas presentes em vegetais como responsáveis por efeitos antiinflamatórios, utilizando modelos animais. Pode ser citada a mistura de saponinas conhecida como escina, presente na castanheira-da-índia e a glicirrizina presente no alcaçuz (SCHENKEL *et al.*, 2004).

Alterações no peso corporal têm sido usadas para avaliar o curso de doenças assim como a terapia por drogas (TOFOVIC; JACKSON, 1999; RAZA *et al.*, 2002; TEO *et al.*, 2002).

A habilidade de um animal ganhar ou manter seu peso pode ser considerado um indicador de saúde, principalmente quando se trata de estudos subcrônicos e crônicos (GAD; CHENGELIS, 1998). Tanto o peso corporal quanto o consumo de alimentos são parâmetros freqüentemente determinados nos testes de toxicidade.

Neste estudo, os animais ganharam peso durante o período dos experimentos sem serem evidenciadas diferenças significativas entre os grupos. A dose oral administrada de *Ilex paraguariensis* sugere não ser tóxica aos coelhos.

Os valores normais dos parâmetros bioquímicos podem se alterar pela ingestão de produtos tóxicos derivados de plantas (ABATAN; AROWOLO, 1989; AJAGBONNA *et al.*, 1999).

A determinação dos níveis de transaminases, ALT e AST, são um parâmetro importante porque reflete a integridade estrutural do fígado, uma vez que estas enzimas estão no citoplasma e são liberadas para a circulação após o dano celular (KALLNER; TRYDING, 1989). Aumento de ambas transaminases pode ser indicativo de efeitos tóxicos sobre o fígado e são achados comuns nas doenças hepáticas.

Nossos resultados evidenciaram um aumento nos níveis de AST e de ALT nos dois grupos de animais que receberam colesterol. Houve aumento da AST ao final do tratamento no grupo de animais que mesmo tendo recebido o extrato aquoso

de *Ilex paraguariensis*, foi co-tratado com dieta enriquecida em colesterol e também no grupo que inicialmente recebeu a dieta hipercolesterolêmica seguida do extrato aquoso. Apesar destas diferenças, ao compararmos os valores dos três grupos ao final dos tratamentos não encontramos diferenças entre eles. Deve-se notar que os valores iniciais do grupo controle foram maiores do que os outros dois grupos, o que pode ter influenciado na alteração dos parâmetros bioquímicos.

O elevado custo dos medicamentos redutores do colesterol plasmático e a perspectiva do seu uso prolongado fazem com que alguns pacientes recorram a tratamentos alternativos para o controle da hipercolesterolemia (JORGE *et al.*, 1997). Avaliar cientificamente estas possibilidades permite comprovar o uso popular e dar a segurança necessária para a população que utiliza produtos não convencionais no cuidado com a saúde.

O Brasil recentemente aprovou o decreto que instituiu a Política Nacional de Plantas Mediciniais, para garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006).

Sendo a erva-mate um produto cultivado e comercializado nos estados da região Sul do Brasil, e que faz parte da cultura do gaúcho, a política vem contribuir não só para as questões de saúde da população, mas também engloba as questões de geração de emprego e desenvolvimento sustentável da região.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostram que o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* diminui os níveis séricos de colesterol e triglicérides, de coelhos submetidos a uma dieta aterogênica. A diminuição foi verificada tanto na vigência de hiperlipidemia quanto na sua prevenção, quando o extrato foi administrado anteriormente a instalação do regime aterogênico.

O possível mecanismo pode estar ligado ao efeito antioxidante dos flavonóides presentes no vegetal assim como a presença de saponinas, também já identificadas com as espécies de *Ilex*, principalmente a *Ilex paraguariensis*.

Baseado nestes resultados pode-se sugerir estudos clínicos para esclarecer estes efeitos e explorar a utilização da erva-mate como um agente na proteção da doença aterosclerótica em humanos e conseqüentemente como um elemento importante na promoção da saúde, sobretudo por que consiste em um importante componente da cultura regional.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATAN, M. O.; AROWOLO, R. O. *Nigerian Journal of Animal Production*, n. 16, p. 16-19, 1989

ACCORSI, W.R. Medicina natural, um novo conceito. *A fórmula: guia de negócios*, v. 2, n. 4, p. 5, 2000.

AFFANA'S, E.V.I.B., *et al.* Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol*, n. 38, p. 1763-1769, 1989.

AJAGBONNA, O.P. ; ONIFADE, K. L.; SULEIMAN, U. Hematological and biochemical changes in rats given extract of *Calotropis procera*. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, n.1, p. 36-42, 1999.

AKERELE, O. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. *HerbalGram*, v. 28, p. 13-19, 1993.

ALFONSO-VALIENTE, M.A., *et al.* Evaluación de un posible modelo experimental de aterosclerosis carotídea en conejos hipercolesterolémicos. *Rev Cubana Invest Biomed*, Havana, v. 20, n. 3, p. 192-196, 2001.

ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 20, p. 121-144, 1987.

ALVES, L.M.M., *et al.* Pesquisa básica na enfermagem. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*, v. 12, n. 1, p.122-127, jan./fev. 2004.

ALVIM, N.A.T., *et al.* *Enfermagem fundamental e seus nexos com as práticas naturais de saúde*. Rio de Janeiro: Anna Nery, UFRJ, 2002.

AMARAL, D.M., *et al.* Efeito inibidor de substâncias antioxidantes existentes no vinho tinto, na aterogênese experimental no coelho. *Rev Vitale*, Rio Grande, v.7, p. 17-24, 1995.

AMES, B.N.; SHIGENAGA, M.K.; HAGEN, T.M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, Washington DC,

v. 90, n. 17, p. 7915-7922, 1993.

ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. *Food Chemistry*, n. 97, p. 459-464, 2006.

ARRUDA, A. A representação social da saúde num bairro de baixa renda de Campina Grande, Paraíba. *Revista de Psicologia*, v. 3, p. 49-61, 1985.

AUST, S.D.; MILLER, D.M. Role of iron in oxygen radical generation and reactions. In: PROBST, G.S.; VODICNIK, M.J.; DORATO, M.A. (Eds.). *New horizons in molecular toxicology: a symposium*. Lilly Research Laboratories Symposium/Molecular Toxicology, 1991. p. 29-34

AZEVEDO, L.C.P.; PEDRO, M.A.; LAURINDO, F.R.M. Participação do endotélio nas doenças cardiovasculares. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, São Paulo, v. 10, n. 6, p. 769-779, nov./dez. 2000.

BADIALE-FURLONG, E., *et al.* Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais. *Vetor*, n. 13, p. 105-114, 2003.

BAHIA, L., *et al.* Endotélio e aterosclerose. *Rev SOCERJ*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 26-32, jan./fev./mar. 2004.

BALTASSAT, F.; DORBOUR, N.; FERRY, S. Study on the purine level in caffeine drugs. *Plantes Medicinales et Phytoterapie*, v. 18, p. 195-263, 1984.

BARTUS, M., *et al.* Hypertriglyceridemia but not hypercholesterolemia induces endothelial dysfunction in the rat. *Pharmacological Reports*, v. 57, p. 127-137, 2005.

BASTOS, D.H.M., *et al.* Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, n. 19, p. 538-543, 2006.

BERKAI, D.; BRAGA, A. *500 anos de História da Erva Mate*. 3. ed. Porto Alegre: Cone Sul, 1986

BERTOLAMI, M.C. Fatores de risco e estratégias preventivas: intervenções populacionais. In: GIANINI, S.D.; FORTI, N. DIAMENT, J. (Eds.). *Cardiologia*

preventiva. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 43-50.

BERTOLAMI, M.C. Novas perspectivas no tratamento das dislipidemias. *Kardia*, v. 6, n. 3, p. 28-32, 2003.

BEVILÁCQUA, D.F., *et al.* O uso popular de medicamentos de origem vegetal em lactentes. *Revista da Escola de Enfermagem*, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 21-42, 1985.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr*, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, mai./ago. 1999.

BLOCK, G. A role for antioxidants in reducing cancer risk. *Nutr Ver*, v. 50, p. 207-213, 1992.

BLOCK, G.; LANGSETH, L. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technology*, v. 48, n. 7, p. 80-84, 1994.

BOHINC, P.; KORBAR-SMID, J. Xantine, alkaloid of holly plants. *Acta Pharmaceutica Iugoslavica*, n. 28, p. 55-60, 1978.

BOTSARIS, A.S.; MACHADO, P.V. Introdução à fitoterapia. *Memento Terapêutico Fitoterápicos*, v. 1, p. 8-11, 1999.

BRACESCO, N.B., *et al.* Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguariensis*: prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, v. 9, n. 3, p. 379-387, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

_____. Decreto Federal nº 5.813 de 22 de junho 2006. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, Distrito Federal, 23 jun. 2006. Seção 1, p. 2-4.

_____. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº

116/96 de 12 de agosto de 1996, Diário Oficial da União, v. 201, Seção I, p. 15198/21085, 10 out. 1996.

_____. Ministério da Saúde. Datasus. 2002. Online. Disponível em <http://www.datasus.gov.br>. Acesso em novembro de 2005.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária, Portaria nº 196/96, Diário Oficial da União, v. 201, Seção I, p. 15199/21082, 12 ago. 1996.

BRAUNSTEIN, J.B., *et al.* Lipid disorders justification of methods and goals of treatment. *Chest*; v.120, n. 3, p. 979-988, 2001.

BULT, H.; HERMAN, A.G.; MARTINS, K.E. Antiatherosclerotic activity of drugs in relation to nitric oxid function. *European Journal of Pharmacology*, n. 375, p. 157-176, 1999.

BUSS, P.M. Promoção da saúde e qualidade de vida. *Ciências & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 1, p. 163-177, 2000.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CANDEIAS, N.M.F. Conceitos de educação e de promoção em saúde: mudanças individuais e mudanças organizacionais. *Revista de Saúde Pública*, v. 3, n. 2, p. 209-213, abri. 1997.

CAO, G., *et al.* Increases in serum antioxidant capacity following consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly subjects. *J Nutr*, n. 128, p. 2383-2390, 1988.

CARAMORI, P.R.A.; ZAGO, A.J. Endothelial dysfunction and coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol*, v. 75, n. 2, p. 173-182, ago. 2000.

CARVALHO, A.C.A.; COLMAN, R.W.; LEES, R.S. Platelet function in hyperlipoproteinemia. *New Engl J Med*, n. 290, 434-438, 1974.

CARVALHO, S.R. Os múltiplos sentidos da categoria “empowerment” no

projeto de promoção à saúde. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, p. 1088-1095, jul./ago. 2004.

CASCON, C. S. Aminoacids in *Ilex paraguariensis*. *Boletín del Instituto de Química Argentina*, Rio de Janeiro, n. 38, p. 7-15, 1955.

CATTANEO, P.; DE SUTTON, K. G.; RODRIGUEZ, M. L. Chemical composition of the seed oil of *Ilex paraguariensis*. *Anales de la Dirección Nacional de Química*, Buenos Aires, v. 5, n. 9, p. 9-12, 1952.

CAVALLINI, L.; BINDOLI, A.; SILIPRANDI, N. Comparative evaluation of antiperoxidative actino of silymarim and other flavonoids. *Pharmacol Res Commun*, n. 10, p. 133-136, 1978.

CHEEKE, P.R. Nutritional and physiological properties of saponins: a review. *Canadian Journal of Animal Sciences*, v. 51, p. 62, 1971.

CHLAMTAC, E.B. Sugars in *Ilex paraguariensis*. *Boletín del Instituto de Química Argentina*, Rio de Janeiro, n. 38, p. 17-24, 1955.

CHOR, D.; FAERSTEIN, E. Um enfoque epidemiológico da promoção da saúde: as idéias de Geoffrey Rose. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 16, n. 1, p. 241-244, jan./mar. 2000.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA. Os princípios éticos da experimentação animal. São Paulo, Brasil, 1991.

COOK, N.C.; SAMMANS, S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Elsevier Science Inc*, New York, 1996.

DA LUZ, P.L.; JÚNIOR, C.V.S. Aspectos da prevenção das doenças cardiovasculares com antioxidantes. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v. 6, n. 5, p. 568-574, set./out. 1996.

DARON, V.L.P.; CONY, J. Recuperando a capacidade da natureza de produzir saúde: a experiência da Política Intersetorial de Plantas Mediciniais no Rio Grande do Sul. In: FERLA, A.A.; FAGUNDES, S.M.S. *O Fazer em Saúde Coletiva: Inovações da Atenção à Saúde no Rio grande do Sul*. Porto Alegre: Da Casa Editora, 2002. p. 89-109.

DAVIM, R.M.B., *et al.* O cuidar materno: uso de plantas medicinais nas doenças da infância. *Revista Técnica de Enfermagem*, v. 1, n. 4, p. 292-6, 2003.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutrition Reviews*, New York, v. 55, n. 11, p. 396-407, 1997.

DI STASI, L.S. *Plantas medicinais: Arte e Ciência. Um Guia de Estudo Interdisciplinar*. São Paulo: Ed. UNESP, 1996.

ERENEL, G. ERBAS, D. ARICIOGLU, A. Free radicals and antioxidant systems. *Materia Medica Polona*, Warsaw, v. 1, n. 85, p. 37-43, 1993.

FAGUNDES, G. *Cevando mate*. Porto Alegre, RS, 1999.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, F.; VÁZQUEZ, C.G.; MOYNA, P. Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by *Ilex paraguariensis* St. Hill saponins. *Phytother Res*, v. 11, p. 79-81, 1997.

FILIP, R., *et al.* Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research*, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.

FILIP, R., *et al.* Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, n. 72, p. 774-778, 2001.

FISHMAN, A.P. (Ed.). Endothelium. *Ann NY Acad Sci*, n. 401, p. 1-273, 1982.

FRAGA, C.G., *et al.* Flavonoids as antioxidants evaluated by in vitro and in situ liver chemiluminescence. *Biochem Pharmacol*, n. 36, p. 717-720, 1987.

FRANKEL, E.N., *et al.* Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, v. 341, p. 454-457, 1993.

FREI, B. Cardiovascular disease and nutrient antioxidants: role of low-density

lipoprotein oxidation. *Critical Review Food Science Nutrition*, n. 35, p. 83-98. 1995.

GAD, S.; CHENGELIS, C. *Acute Toxicology Testing*. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1998.

GASTON, B. Nitric oxide and thiol groups. *Bioch Bioph Acta-Bioenergetics*, n. 43, p. 109-142, 1999.

GAZZINELLI, M.F., *et al.* Educação em Saúde: conhecimentos, representações sociais e experiência da doença. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 200-206, jan./fev. 2005.

GIANINI, S.D. História natural da aterosclerose. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, São Paulo, v. 10, n. 6, p. 677-685, nov./dez. 2000.

GLASS, C.K.; WITZTUM, J.L. Atherosclerosis: The road ahead. *Cell*, n. 104, p. 503-516, 2001.

GOFMAN, J.M.; LINDGREN, F.T.; ELLIOT, H. Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. *J Biol Chem*, n. 179, p. 973-979, 1949.

GORGEN, M., *et al.* Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* decreases nucleotide hydrolysis in rat blood serum. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 97, p. 73-77, 2005.

GOSMANN, G.; GUILLAUME, D. Triterpenoid saponins from *Ilex paraguariensis*. *Journal of Natural Products*, v. 58, n. 3, p. 438-441, 1995.

GOSMANN, G. *Saponinas de Ilex paraguariensis St. Hill (erva mate)*. 1989. 108 p. Dissertação (Mestrado em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 1989.

GOTTO, A.M.; POWNALL, H. Atherosclerosis overview and histologic classification of lesions. In: _____. *Manual of lipid disorders*. 2. ed. Baltimore: Williams Wilkins, 1999. p. 56-66.

GOTTO, A.M. Triglycerids as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol*, n. 82, p. 22Q-25Q, 1998.

GRAHAN, H.N. Maté. *Progress in clinical and biological research*, n. 158, p. 179-183, 1984.

GREEN, L.W.; KREUTER, M.W. Health promotion planning, an educational and environmental approach. 2.ed. Mountain View: Mayfield Publishing Company, 1991.

GROSS, P.L.; AIRD, W.C. The endothelium and thrombosis. *Sem Thromb Hemost*, n. 26, p. 463-477, 2000.

GRYGLEWSKY, P.J., *et al.* On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochem Pharmac*, n. 36, p. 317-322, 1987.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis* induction of decreases oxidability of human LDL in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 224, n. 2, p. 338-344, 1996.

GUGLIUCCI, A. STAHL, A.J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. *Biochemical Molecular Biological Interactions*, n. 35, p. 47-56, 1995.

GUTIERREZ, M. *et al.* Perfil descriptivo-situacional del sector de la promoción y educación en salud: Colombia. In: Aroyo, H.V.; CERQUEIRA M.T. (Eds.). *La promoción de la salud y la educación para la salud en America Latina: una análisis sectorial*. Editorial de la Universidad de Puerto Rico, 1996. 114 p.

HALLIWELL, B., *et al.* The characterization on antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v.33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HALLIWELL, B. Free Radical, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, v. 344, p. 721-724, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTERRIDGE, J.M.C. *Free radicals in biology and medicine*. 3. ed. New York: Oxford, 1999.

HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active

oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids free radical. *Biol Med*, n. 16, p. 845-850, 1994.

HARBORNE, J.B. Nature, distribution and function of plant flavonoids. In: CODY, B.; MIDDLETON, E.; HARBORNE, J.B. (Eds.). *Plant flavonoids in biology and medicine* New York: Alan Liss, 1986. p. 15-24.

HARTMAN, P.E.; SHANKEL, D.M. Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, New York, v. 15, n. 3, p. 145-182, 1990.

HEALD, F.P. The history of pediatric concern with atherosclerosis. In: JACOBSON, M.S. *Atherosclerosis Prevention: Identification and treatment of the child with high cholesterol*. New York: Harwood Academic Publishers, 1991. p. 9-14.

HEIBERS, J. *Cure as dores reumáticas com as plantas medicinais*. São Paulo: Hemus, 1982.

HENRY, J.B. Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais. 18.ed. São Paulo: Manole, 1998.

HERTOG, M.G.L., *et al.* Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *Lancet*, v. 342, p. 1007-1011, 1993.

HOGG, N., *et al.* Inhibition of low density lipoprotein oxidation by nitric oxide. *FEBS Letters*, v. 334, p. 170-174, 1994.

IHARA, S.S.M., *et al.* *Manual de condutas clínicas*. Rio de Janeiro: Medline, 2003.

IHARA, S.S.M.; NOVAZZI, J.P.; MARTINEZ, T.L.R. Lípidos e disfunção endotelial. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 155-159, 1996.

JONASSON, L., *et al.* Regional accumulation of T cells, macrophages and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis*, n. 6, p. 131-138, 1986.

JORGE, P.A.R. Endotélio, lípidos e aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*, v. 68, n. 2, p. 129-134, 1997.

JORGE, P.A.R., *et al.* Efeito da berinjela sobre os lípidos plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. *Arq Bras Cardiol*, v. 70, n. 2, p. 87-91, 1998.

JUZWIAK, S., *et al.* Effect of quercetin on experimental hiperlipidemia and atherosclerosis in rabbits. *Pharmacological Reports*, n. 57, p. 604-609, 2006.

KALLNER, A.; TRYDING, N. IFCC guidelines to the evaluation of drug effects in clinical chemistry. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigatios*, n. 195, p. 1-29, 1989.

KLURFELD, D.M. Identification of foam cells in human atherosclerotic lesions as macrophages using monoclonal antibodies. *Arch Pathol Lab Med*, n. 109, p. 445-449, 1985.

KOGA, T., *et al.* Vitamin E supplementation suppresses macrophage accumulation and endothelial cell expression of adhesion molecules in the aorta of hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*, n. 176, p. 265-272, 2004.

KOWALCZYK, S. *A utilização do mate (Ilex paraguariensis St HILL) um antioxidante natural, como estratégia para a promoção da saúde: um estudo experimental.* 2004. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2004.

KUSTERER, K., *et al.* Chronic selective hypertriglyceridemia impairs endothelium-dependent vasodilatation in rats. *Cardiovasc Res*, v. 42, n. 3, p. 783-793.

LACCHINI, S. Óxido nítrico: perspectivas clínicas na função endotelial. *Rev Soc Cardiol do Estado do Rio Grande do Sul*, n. 3, p. 1-4, set./out./nov./dez. 2004.

LACKEMAN, G., *et al.* *Planta Médica*, n. 52, p. 433-436, 1986.

LAMPE, J. Health effects of vegetable and fruit: assissing mechanisms of action in human experimental studies. *The American Journal of Clinical*

Nutrition, v. 70, n. 3, p. 475-490, 1999.

LAURENT, S., *et al.* The arterial wall: a new pharmacological and therapeutic target. *Fundamental Clinical Pharmacology*, n. 10, p. 243-257, 1996.

LEITE, P.F. *Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais, diagnósticos e tratameto*. São Paulo: Loyola, 1994. p. 1-33.

LENDNER, A. The seeds of *Ilex paraguariensis* St. Hillaire. *Schweizerische Apotheker-Zertung*, n. 56, p. 565-569, 1918.

LIMA, L.R.P., *et al.* Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. *Braz J Vet Res Anim Sci*, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 196-200, 2001.

MACDONALD, G.; ROBIN, B. Health promotion: discipline or disciplines? In: BUTON, R.; MACDONALD, G. *Health promotion: disciplines and diversity*. London (UK): Routledge, 1995.

MC NAMARA, D.J. Dietary cholesterol and atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (Bras). Molecular and Cell Biology of Lipids*, v. 1529, n. 1-3, p. 310-320, 2000.

MAGALHÃES, M.E.C., *et al.* Novas perspectivas no tratamento das dislipidemias. *Rev SOCERJ*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 105-111, abr./mai./jun. 2004.

MARTIN, D. W.; MAYES, P. A.; RODWELL, Y. W. *Harpers Review of Biochemistry*. 18. ed. C.A: Lange Medical, p. 61, 1981.

MARTINS, E.R., *et al.* *Plantas medicinais*. Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 2000. 220 p.

MAXWELL, S.R.J. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs*, n. 49, p. 345-361, 1995.

MAZZAFERA, P. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v. 6, n. 2, p. 149-151, 1994.

MENDIVE, J.R. Isolation of α -amyrin and ursolic acid in the leaves of *Ilex paraguariensis*. *Journal of Organic Chemistry*, n. 5, p. 235-237, 1940.

MERFORT, I., *et al.* Radical scavenger activity of three flavonoid metabolites studied by inhibition of chemiluminescence's in human PMNs¹. *Planta Médica*, n. 62, p. 289-292, 1996.

METODIEWA, D.; KOCHMAN, A.; KAROLCZAK, S. Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N, N-Diethylaminoethyl-ethers of flavone oximes: a comparison with natural polyphenolic flavonoid (Rutin) action. *Biochem Mol Biol Int*, v. 41, p. 1067-1075, 1997.

MONCADA, S.; HIGGS, A. *Nitric oxide: role in human disease*. Encyclopedia of Life Sciences, 2001.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, n. 43, p. 109-142, 1991.

MOON, C.K., *et al.* Effect of red ginseng crude saponin on plasma lipid levels in rat fed on s diet high in cholesterol and triglycerides. *Archives Pharmacological Research*, v.7, p. 41-45, 1984.

MORIN, M. Entre representations et pratiques: lê sida, la prevention et lês jeunes. In: ABRIC, J.C. (Ed.). *Pratiques sociaux et representation*. Paris: PUF, 1994. p. 109-44.

MOSIMANN, A.L.; WILHELM-FILHO, D.; SILVA, E.L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progressino of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Biofactors*, v. 26, n. 1, p. 59-70, 2006.

MUCCILLO-BAISCH, A.L.; JOHNSTON, K.B.; PAGANINI-STEIN, F. Endothelium-dependent vasorelaxing of aqueous extract of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 60, p. 133-139, 1998.

MÜLLER, C. Xanthomata, hypercholesterolemia , angina pectoris. *Acta Med Scand*, n. 89, p. 75-84, 1938.

MYARA, I., *et al.* A Meted to screen for the antioxidant effect of compounds on

low-density lipoprotein (LDL): Illustration UIT Flavonoids. *J. Pharma Tox Meth*, n. 30, p. 69-73, 1993.

NAKAZAWA, T.A. Particularidades de formulações para fitoterápicos. *Rev Racine*, v. 9, n. 53, p. 38-41, 1999.

NAPOLI, C., *et al.* Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*, n. 100, p. :2680–2690, 1997.

NIMPF, J., *et al.* Platelet activation in normo- and hyperlipoproteinemias. *Basic Res Cardiol*, n. 81, p. 437-453, 1986.

NOGUEIRA, M.J.C. Fitoterapia: A Volta à natureza. *Enfoque*, v. 12, n. 1, p. 8-10, 1984.

NOGUEIRA, M.J.C. Fitoterapia popular e enfermagem comunitária. *Rev Esc Enf USP*, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 275, 1983.

NOOYEN, A.M. Urson and its distribution in the plant world. *Pharmaceutisch weekblad*, n. 57, p. 1128-1142, 1920.

OLSZEWER, E. *Tratado de medicina ortomolecular*. 2. ed. São Paulo : Nova Linha Editorial, 1997.

Organização Mundial da Saúde. Carta de Ottawa. In: BUSS, P.M. (Org.). *Promoção da Saúde e Saúde Pública: Contribuição para o debate entre as escolas de Saúde Pública na América Latina*. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, 1986. p. 158-162.

PAGANINI-STEIN, F.L. *Estudo comparativo da reatividade vascular de ratos normais e hipercolesterolêmicos (Rattus norvegicus, Variedade Wistar) ao extrato de Ilex paraguariensis St. Hill*. 2002. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Animal Comparada) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2002.

PAGANINI-STEIN, F.L., *et al.* Vascular Responses to Extractable Fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. *Biological Research for Nursing*, v. 7, n. 2, p. 146-156, 2005.

PALACIOS, M., *et al.* Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands. *Biochem Biophys Res Commun*, n. 165, p. 802-809, 1989.

PALMER, R.J.M.; ASHTON, D.S.; MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, n. 333, p. 664-666, 1988.

PEDROSA, J.I.V. Perspectivas na avaliação em promoção da saúde: uma abordagem institucional. *Revista Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3, p. 617-626, jul./set. 2004.

PELT, J.M. La médecine par les plantes. *Fayard*, 1981.

PERUGINI, C., *et al.* Distribution of lipid-soluble antioxidants in lipoproteins from healthy subjects. Correlation with plasma antioxidant levels and composition of lipoproteins. *Pharmacological Research*, v. 41, n. 1, p. 55-56, 2000.

PIO CORRÊA, M. *Dicionário da plantas úteis do Brasil*. Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. V. III, n. 95, 1984.

POULSEN, H.E.; PRIEME, H.; LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *European Journal of Cancer Prevention*, Oxford, v. 7, n. 1, p. 9-16, 1998.

QUEIROZ, M.I., *et al.* Avaliação do potencial oxidante da própolis em carne de pescado. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 46-54, 1996.

RAYMUNDO, M.M.; GOLDIM, J.R. Ética da pesquisa em modelos animais. *Rev Bioética*, v. 10, n. 1, p. 31-44, 2002.

RAZA, M. *et al.* Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica*, n.70, p. 135-145, 2002.

RENAUD, S.; DE LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, v. 339, p. 1523-1526, 1992.

RESHEF, G., *et al.* Effect of alfafa saponinas on the growth and some aspects on lipid metabolism of mice and quails. *Journal of Science and Food Agriculture*, v. 27, p. 63-72, 1976.

RIBEIRO-JORGE, P.A., *et al.* Effects of vitamin E on endothelium dependent coronary flow hypercholesterolemic dogs. *Atherosclerosis*, v. 126, p. 43-51, 1996.

RIMM, E.B., *et al.* Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men, *JAMA*, n. 275, p. 447-451, 1996.

RIMM, E.B., *et al.* Vitamin E consumption and risk of coronary disease in men. *N. Engl J Med*, v. 328, p. 145-156, 1993.

ROBERTS, E.A.H. Chlorogenic acids of tea and maté. *Chemistry and Industry*, n. 37, p. 985, 1956.

ROGERS, K.A., *et al.* Dietary cholesterol-induced changes in macrophage characteristics relationship to atherosclerosis *Am J Pathol*, n. 125, p.284-291, 1986.

ROSS, R. Cell biology of atherosclerosis. *Annual Review Physiology*. n. 57, p. 791-804, 1995.

ROSS, R. Factors influencing atherogenesis. In: SCHALANT, R.C.; ALEXANDER, R.W. (Eds.). *The Heart*. 8. ed. New York: Mc Gram Hill, 1994. v. I.

ROSS, R.; GLOMSET, J.A.; The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med*, n. 295, p. 369-425, 1976.

ROSS, R. Patogênese da aterosclerose. In: BRAUNWALD, E. (Ed.) *Tratado de Medicina Cardiovascular*. 5.ed. São Paulo: Roca, 1999. cap. 14, p. 1179-1198.

ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature*, v. 362, p. 801-809, 1993.

SAAD, E.A. Prevenção primária e secundária da aterosclerose: perspectivas

atuais e futuras. *Rev SOCERJ*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 112-132, abr./mai./jun. 2004.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2004. 1102 p.

SCHIAVO, M.; LUNARDELLI, A.; OLIVEIRA, J.R. Influência da dieta na concentração sérica de triglicerídeos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 39, n. 4, p. 283-298, 2003.

SCHINELLA, G., *et al.* Antioxidants effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 269, p. 357-360, 2000.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, F.C.; MOSCA, S.M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. *Clinical Nutrition*, n. 24, p. 360–366, 2005.

Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul. Online. Disponível em <http://www.saude.rs.br>. Acesso em março de 2005.

SEIGNEUR, M. BONNET, J.; DORIAN, B. Effects of the consumption of alcohol, white wine, and red wine on platelets function and serum lipids. *J Appl Card*, n. 5, p. 215-222, 1990.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew Chem Int Ed Engl*, n.25, p. 1058-1071, 1986.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamin E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidant. *Am J Clin Nutr*, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

SIMIONESCU, N.; SIMIONESCU, M. *Endotelial cell biology in health and disease*. New York: Plenum Press, 1988.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Aterosclerose. Programa de Educação Médica Continuada: Módulo 2*. Rio de Janeiro: Diagraphic, 2002; v. 1, n. 2, p. 10-17.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da SBC. *Arq Bras Cardiol*, v. 77, supl. III, 2001.

SOUZA, E.M.; GRUNDY, E. Promoção da saúde, epidemiologia social e capital social: interrelações e perspectivas para a saúde pública. *Cadernos de saúde Pública*, v. 20, n. 5, p. 1354-1360, set./out. 2004.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant defence: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, New York, v. 46, p. S14-S18, supl. 2, 1997.

STARY, H.C. Evolution of human atherosclerosis. *Merck & Co., Inc*, 1993.

STARY, H.C. Natural history of atherosclerosis: the sequence of changes in lesion composition. In: JACOTOT, B.; MATHÉ, D.; FRUCHART, J.C. (Eds.). *Elsevier Science*, 1998, p. 393.

STEINBERG, D., *et al.* Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*, n. 320, p. 915-924, 1989.

STEINBRECHER, U.P., *et al.* Modification of LDL by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation LDL phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA*, n. 81, p. 3883-3887, 1984.

STEMERMAM, M.B.; ROSS, R. Experimental arteriosclerosis. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 136, p. 769-789, 1972.

STEWART-LEE, A.L., *et al.* Vitamin E protects against impairment of endothelium-mediated relaxations in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis Thromb*, v. 14, p. 494-499, 1994.

TADDEI, C.F.G.; FRANKEN, R.A. Aterosclerose: fisiopatologia e prevenção de fatores de risco. In: FREITAS, E.V.; PY, L.; NERY, A.L.; CANÇADO, F.A.X. (Ed.). *Tratado de geriatria e gerontologia*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. p. 233-238.

TAMPO, Y. YONAH, M. Vitamin E and glutathione are requires for preservation of microsomal glutathione S-transferase from oxidative stress in microsomes. *Pharmacology e Toxicology*, n. 66, p. 259-265, 1990.

TEO, S., *et al.* A 90-day gavage toxicity study of D-methylphenidate and D,L-methylphenidate in Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, n. 179, p. 183-196, 2002.

THEROND, P.T., *et al.* Biomarkers of oxidative stress: and analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, v. 3, p. 373-384, 2000.

TIJBURG, L.B.M., *et al.* Tea flavonoids and cardiovascular diseases : a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 37, n. 8, p. 771-785, 1997.

TOFOVIC, S.P.; JACJSON, E.K. Effect of long-term caffeine consumption on renal function in spontaneously hypertensivs heart failure prone rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, n. 33, p. 360-366, 1999.

TORMEN, M.J. Economia ervateira brasileira. In: WINGE, H., *et al.* *Erva Mate: biologia e cultura no Cone Sul*. Porto Alegre : Universidade/UFRGS, 1995. p. 27-40.

TREMOLI, E., *et al.* Increased platelet sensitivity and thromboxane B₂ formation in type-II hyperlipoproteinaemic patients. *Eur J Clin Invest*, n. 14, p. 329-333, 1984.

TROVATO, A., *et al.* Effects of fruit juices of *Citrus sinensis* L. and *Citrus limon* L. on experimental hypercholesterolemia in the rat. *Phytomedicine*, v. 2, n. 3, p. 221-227, 1996.

TURA, L.F.R. AIDS e estudantes: a estrutura das representações sociais. In: JODELET, D.; MADEIRA, M. (Org.). *AIDS e representações sociais: a busca de sentidos*. Natal: EDUFRN; 1998. p. 121-154.

VANNUCCHI, E.; IGLESIAS, A.C.R.G. Determinação de radicais livres em ensaios biológicos. *Modelos Experimentais de Pesquisa em Cirurgia*, n. 12, p. 160-170, 1998.

VIARO, F.; NOBRE, F.; EVORA, P.R.B. Expressão das óxido nítrico sintetases na fisiopatologia das doenças cardiovasculares. *Arq Bras Cardiol*, v. 74, n. 4, p. 365-379, 2000.

VILLELA, G.G. Determination of vitamin B1 in maté herb. *Memórias Instituto*

Oswaldo Cruz, n. 34, p. 237-260, 1939.

VILLELA, G.G. Determination of vitamin B1 in yerba mate by the schopterjung meted. *Comptes Rendus de La Société de Biologie et des Filiales*, n. 129, p. 987-989, 1938.

VINSON, J.A.; TEUFEL, K.; WU, N. Red wine, dealcoholized red wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model. *Atherosclerosis*, n. 156, p. 67-72, 2001.

WALKER, M.W. Nitric oxide- induce cytotoxicity: involvement of celular resistance to oxidative stress and the role of glutathione in protection, v. 37, n. 1, 1995.

WISEMAN, S.A; BALENTINE, D.A.; FREI, B. Antioxidants in tea. *Critic Review Food Sci Nutr*, v. 37, n. 8, p. 705-718, 1997.

WITZTUM, J.L.; STEINBERG, D. Role of oxidized low-density lipoprotein in Atherogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, n. 88, p. 785-792, 1991.

WITZTUM, J. The oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, London, v. 344, n. 8926, p. 793-795, 1994.

YUGARANI, T., *et al.* Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids*, v. 27, n. 3, p. 181-186, 1992.

ZEEK, P. Juvenile arteriosclerosis. *Arch Pathol*, v.10, p. 417-446, 1930.

ZHENG, S., *et al.* Crocetin attenuates atherosclerosis in hyperlipidemic rabbits through inhibition of LDL oxidation. *J Cardiovasc Pharmacol*, n. 47, p. 70-76, 2006.