



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**ELAYNE CRISTINA DE MORAIS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOCOLESTEROLÊMICO, ANTIOXIDANTE E  
ANTI-INFLAMATÓRIO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) EM  
INDIVÍDUOS NORMOLIPIDÊMICOS OU DISLIPIDÊMICOS, USUÁRIOS OU NÃO  
DE ESTATINA**

**FLORIANÓPOLIS – SC**

**2009**

**ELAYNE CRISTINA DE MORAIS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOCOLESTEROLÊMICO, ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) EM INDIVÍDUOS NORMOLIPIDÊMICOS OU DISLIPIDÊMICOS, USUÁRIOS OU NÃO DE ESTATINA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, área de concentração: Análises Clínicas, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Farmácia.**

**Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz da Silva**

**FLORIANÓPOLIS – SC  
2009**

M827a Morais, Elayne Cristina de

Avaliação dos efeitos hipocolesterolêmico, antioxidante e anti-inflamatório da infusão de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos, usuários ou não de estatina [dissertação] / Elayne Cristina de Morais ; orientador, Edson Luiz da Silva. - Florianópolis, 2009.

128 f.: il., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Farmácia  
Inclui bibliografia

1. Erva-mate - Efeito fisiológico. 2. Sistema cardiovascular - Doenças - Tratamento alternativo. 3. Erva-mate - Uso terapêutico. 4. Dislipidemias. 5. Estresse oxidativo. 6. Antioxidantes. 7. Marcadores inflamatórios.

I. Silva, Edson Luiz da. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. III. Título.

CDU: 615.1

Ficha elaborada na DECTI da Biblioteca Central/UFSC

**ELAYNE CRISTINA DE MORAIS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS HIPOCOLESTEROLÊMICO, ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) EM INDIVÍDUOS NORMOLIPIDÊMICOS OU DISLIPIDÊMICOS, USUÁRIOS OU NÃO DE ESTATINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, área de concentração: Análises Clínicas, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Farmácia.

---

Prof. Dr. Edson Luiz da Silva – Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dra. Mariléria Scartezini  
Universidade Federal do Paraná

---

Prof. Dra. Liliete Canes Souza  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Danilo Wilhelm Filho  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dra. Geny Aparecida Cantos – Suplente  
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 18 de fevereiro de 2009.

*Dedico esta obra à minha família, em especial aos meus pais, Morais e Edith, pelo alicerce seguro em todas as jornadas de minha vida; e ao meu namorado Eduardo, por seu amor.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que, dentre suas mais belas obras, agraciou-me com a vida e com as peculiaridades por que passo a cada momento;

Aos meus pais, Morais e Edith, pelo apoio, confiança, compreensão e principalmente, pelo sentimento maior da existência humana, o amor;

Aos meus irmãos, Paulo Henrique e Luiz Fernando e, às minhas cunhadas, Geórgia e Fernanda, pelas palavras e expressões de carinho a todo instante;

Aos meus sobrinhos, Gabriel, Guilherme e Giovanna, pela felicidade em viver e por me fazer entender que de nada custa a inocência de nossos sonhos;

Ao meu namorado, Eduardo, por sua paciência, carinho, respeito e bravura. Agradeço-o por ter sido meu ombro amigo, abraço seguro, palavra doce e de incentivo nos momentos mais difíceis. Sou grata por sua alegria contagiante e especialmente, por seu amor;

Ao meu orientador, professor Dr. Edson Luiz da Silva, por ter sido além de um grande mestre, um verdadeiro amigo. Foram longos tempos de dedicação, apoio, compreensão e confiança. Pretendo que suas maiores virtudes, às quais pude melhor conhecer durante estes dois anos de convivência, sirvam também de lição, no âmbito profissional e pessoal;

Às minhas amigas do laboratório de Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose. Àquelas que já passaram, Amanda, Annelise, Cíntia, Rafaela e Cássia, meus sinceros agradecimentos pela colaboração prestada na elaboração deste trabalho e pelo vínculo afetivo para sempre criado. Àquelas presentes, Aliny, Graziela, Brunna, Fernanda, Gabriela, Arianna, Caroline e Letícia, sou muito grata pelo apoio, expresso em trabalhos e, principalmente, pela amizade que nos une, motivo pelo qual nos alegamos em estarmos juntas a cada novo dia. Vocês foram, são e por toda a vida serão especiais;

Ao Prof. Marcos de Oliveira Machado, por seu incentivo e cooperação;

Aos participantes do estudo, pela disponibilidade, carinho e discernimento do quão importante foram na realização desta obra. À professora Geny e aos demais membros do NIPEAD-HU-UFSC, pela colaboração e por incentivar seus pacientes a fazerem parte desta pesquisa;

Às professoras Maria de Lourdes Rovaris e Maria Luiza Bazzo, e à bioquímica Elizabeth Hermes, pela compreensão e parceria na concretização deste trabalho. Sou grata pelo espaço cedido no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, onde foram realizadas, muitas vezes, as coletas de sangue dos participantes. Pelas análises laboratoriais, materiais e equipamentos concedidos,

meus sinceros agradecimentos. Aproveito para aqui mencionar, sem exceção, todos os funcionários deste laboratório, que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho. Pelo apoio, respeito, disponibilidade, incentivo e, principalmente pelo carinho, muito obrigada. Vocês foram maravilhosos!

Aos professores doutores Mariléia Scartezini, Liliete Canes Souza e Danilo Wilhelm Filho, pela prontidão em aceitar o convite de constituição de banca avaliadora desta dissertação de mestrado;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Farmácia, pelos mais diversos ensinamentos e, aos funcionários, direta ou indiretamente vinculados ao Programa, que com paciência e alegria prestaram suas contribuições;

Às professoras do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Elizabeth Wazlawik e Patrícia Faria di Pietro, pela cumplicidade e parceria;

A todos que, de uma maneira ou outra auxiliaram no desenvolvimento e concretização deste trabalho, para sempre, meus sinceros agradecimentos!

*Elayne Cristina de Moraes*

*"Minhas imperfeições e fracassos são como  
bênçãos de Deus, assim como meus sucessos  
e meus talentos, eu coloco ambos a seus pés."*

**Mahatma Gandhi**

## RESUMO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morbi-mortalidade no mundo e recentes resultados sugerem que a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) pode contribuir para a diminuição da aterosclerose. O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial hipocolesterolêmico, antioxidante e anti-inflamatório de infusões de erva-mate verde ou tostada em indivíduos normolipidêmicos (NLP) e dislipidêmicos (DLP; LDL-colesterol (LDL-C)  $\geq$  160 mg/dL; Triglicerídeos  $\geq$  150 mg/dL; HDL-colesterol (HDL-C)  $<$  50 e 40 mg/dL, para mulheres e homens, respectivamente; ou relação LDL-C/HDL-C  $\geq$  2,5), bem como verificar o efeito sinérgico da erva-mate com estatinas. Participaram deste estudo 80 indivíduos (n=53/27, fem/masc), com idade média de  $47,2 \pm 1,4$  anos. Os participantes foram distribuídos em quatro grupos: *i*) indivíduos NLP que ingeriram erva-mate verde (NLP-EMV, n=4); *ii*) NLP e erva-mate tostada (NLP-EMT, n=11); *iii*) DLP e erva-mate verde (DLP-EMV, n=12) e; *iv*) DLP e erva-mate tostada (DLP-EMT, n=36). Indivíduos dislipidêmicos em uso de estatina ingeriram erva-mate tostada (DLP-E, n=17). Todos os indivíduos ingeriram 330 mL de infusão de erva-mate verde ou tostada 3 vezes/dia, durante 40 dias. Amostras de sangue foram coletadas, após jejum de 12-14 h, durante um mês de período basal (tempos -30, -15 e 0) e após 20 e 40 dias da ingestão das infusões de erva-mate para as determinações dos parâmetros do perfil lipídico e apolipoproteínas (apos) A-I e B-100, marcadores do estresse oxidativo e inflamatórios. As diferenças foram avaliadas por ANOVA para medidas repetidas e teste complementar de Tukey ou Friedman-*Repeated Measures ANOVA*, considerando-se  $p < 0,05$  como significativo. Os resultados combinados para ambas as ervas, verde e tostada, mostraram que no grupo NLP houve diminuição média de 9,9 e 8,3 mg/dL (-8,7 e -7,4%) no LDL-C e de 12 e 9% na relação LDL-C/HDL-C após 20 e 40 dias, respectivamente ( $p < 0,05$ ). No grupo DLP, a ingestão de erva-mate durante 20 e 40 dias provocou diminuição no colesterol total de 8,9 e 11,9 mg/dL (-3,8 e -5%;  $p < 0,01$ ); no LDL-C de 12,6 e 14,4 mg/dL (-7,9 e -8,8%;  $p < 0,001$ ); Não-HDL colesterol de 11,5 e 12,8 mg/dL (-6,2 e -6,8%) e na relação LDL-C/HDL-C de 12,5 e 10,4%, respectivamente ( $p < 0,01$ ), diminuição da apo B-100 (-6,0%;  $p < 0,05$ ), da relação apo B/apo A-I (-6,4%;  $p < 0,05$ ) e aumento de 2,6 mg/dL (5,4%) no HDL-C, após 20 dias ( $p < 0,01$ ). O consumo de erva-mate tostada pelos indivíduos do grupo DLP-E promoveu diminuição média de 14,6 mg/dL de LDL-C (-10,8%) após 20 dias e 18,6 mg/dL após 40 dias (-12,4%), aumento de HDL-C em 2,7 mg/dL (6,3%) e diminuição da relação LDL-C/HDL-C em 19,9% após 40 dias ( $p < 0,05$ ). O consumo de erva-mate também melhorou os marcadores do estresse oxidativo. Os indivíduos NLP e DLP apresentaram aumento significativo de glutathiona reduzida sanguínea (GSH) de 30,2 e 7,5%, respectivamente, após 40 dias de consumo de erva-mate. Além disso, os participantes do grupo DLP também apresentaram elevação da capacidade antioxidante (25,6%;  $p < 0,001$ ) e diminuição dos hidroperóxidos lipídicos (34%;  $p < 0,01$ ) após 20 dias de ingestão de erva-mate verde ou tostada. Não houve alterações significativas nas concentrações séricas de proteína oxidada e na atividade da paroxonase-1. A ingestão de erva-mate reduziu a concentração de fibrinogênio nos indivíduos dos grupos NLP (12%) e DLP (5%) após 20 dias ( $p < 0,05$ ), porém não modificou os valores de proteína C reativa de alta sensibilidade. Os participantes do grupo DLP-E não apresentaram reduções significativas para os marcadores do estresse oxidativo ou inflamatórios. Com base nestes resultados, sugere-se que a infusão de erva-mate seja benéfica na prevenção de fatores de riscos associados às doenças cardiovasculares, principalmente a dislipidemia.

**Palavras-chave:** Erva-mate, *Ilex paraguariensis*, Dislipidemia, Estresse oxidativo, Antioxidantes, Marcadores de inflamação, Estatina, Seres humanos.

## ABSTRACT

Cardiovascular diseases consist of the major cause of morbidity and mortality in the world. Recent data in animal models suggests that the aqueous extract of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) can contribute to inhibition of atherosclerosis development. The purpose of this study was to evaluate the hypocholesterolemic, antioxidant and anti-inflammatory potential of infusions of green dried or roasted dried leaves of yerba mate in normolipidemic (NLP) and dyslipidemic (DLP) (LDL-cholesterol (LDL-C)  $\geq$  160 mg/dL, Triglycerides  $\geq$  150 mg/dL, HDL-cholesterol (HDL-C)  $<$  50 and 40 mg/dL for women and men, respectively, or LDL-C/HDL-C ratio  $\geq$  2.5) healthy individuals, and to verify the synergistic effect of mate infusion and statins. Eighty individuals (n=53/27, fem/male), with an average age of 47.2 y, participated of this study and were divided into four groups: *i*) NLP individuals who consumed green mate (NLP-EMV, n=4), *ii*) NLP individuals and roasted mate (NLP-EMT, n=11), *iii*) DLP individuals and green mate (DLP-EMV, n=12) and; *iv*) DLP and roasted mate (DLP-EMT, n=36). Dyslipidemic individuals on statin therapy consumed roasted mate (DLP-E, n=17). All subjects ingested 330 mL, 3 times/day, of green or roasted mate infusions, during 40 days. Blood samples were collected after 12-14 h fasting, at the baseline period (days -30, -15 and 0) and after 20 and 40 days of mate infusions intake for the measurement of the serum lipid profile, apolipoproteins (apos) A-I and B-100, and biomarkers of oxidative stress and inflammation. The differences were evaluated by ANOVA for repeated measures and Tukey's *post hoc* test or Friedman-Repeated Measures ANOVA, considering  $p < 0.05$  as significant. The results showed that in the NLP group both green and roasted yerba mate infusions promoted a decrease in the LDL-C levels of 9.9 and 8.3 mg/dL (-8.7 and -7.4%), in average, and diminished 12 and 9% in the LDL-C/HDL-C ratio after 20 and 40 days, respectively ( $p < 0.05$ ). In the DLP group, the intake of mate during 20 and 40 days diminished the levels of total cholesterol (8.9 and 11.9 mg/dL; equivalent to -3.8 and -5%;  $p < 0.01$ ); LDL-C (12.6 and 14.4 mg/dL; eq. to -7.9 and -8.8%;  $p < 0.001$ ); Non-HDL cholesterol (11.5 and 12.8 mg/dL; eq. to -6.2 and -6.8%), and LDL-C/HDL-C ratio (12.5 and 10.4%;  $p < 0.01$ ), respectively. After 20 days, yerba mate intake decreased apo B-100 level (-6.0%;  $p < 0.05$ ), apo B/apo A-I ratio (-6.4%;  $p < 0.05$ ), and enhanced the HDL-C level (2.6 mg/dL; eq. to 5.4%;  $p < 0.01$ ) in the DLP group. The consumption of roasted mate by individuals of the DLP-E group promoted an average decrease of 14.6 mg/dL LDL-C (-10.8%) after 20 days, and 18.6 mg/dL after 40 days (-12.4%). Furthermore, roasted mate increased 2.7 mg/dL (6.3%) HDL-C and diminished 19.9% LDL-C/HDL-C ratio after 40 days ( $p < 0.05$ ). Intake of yerba mate infusions also ameliorates biomarkers of oxidative stress. NLP and DLP individuals showed a significant increase (30.2 and 7.5%, respectively) of whole blood reduced glutathione (GSH) after 40 days mate consumption. In addition, DLP subjects had higher serum antioxidant capacity (25.6%;  $p < 0.001$ ) and diminished level of lipid hydroperoxides (34%;  $p < 0.01$ ) after 20 days of green or roasted mate ingestion. There were no significant changes in plasma levels of oxidized proteins and paraoxonase-1 activity. The intake of mate decreased fibrinogen concentration in NLP (12%) and in DLP subjects (5%) after 20 days ( $p < 0.05$ ), but did not modify high-sensitivity C-reactive protein values. Participants of DLP-E group showed no significant reductions for markers of oxidative stress or inflammation. Based on these results, it is suggested that the intake of mate infusions might be beneficial to reduction of risk factors associated to cardiovascular diseases, particularly dyslipidemia.

**Keywords:** Yerba mate, *Ilex paraguariensis*, Dyslipidemia, Oxidative stress, Antioxidants, Serum markers of inflammation, Statins, Humans.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Reações de iniciação e propagação da peroxidação lipídica (Modificada de Halliwell e Gutteridge, 1989). 25
- Figura 2.** Compostos fenólicos presentes em maior concentração na erva-mate (Modificado de Heck e De Mejia, 2007). 36
- Figura 3.** Estruturas moleculares básicas das saponinas isoladas de *Ilex paraguariensis* (Modificado de Gnoatto, Schenkel e Bassani, 2005). 37
- Figura 4.** Protocolo experimental: Amostras de sangue foram coletadas antes (-30, -15 e 0 dias) da ingestão da infusão da erva-mate verde ou tostada, a fim de monitorar os valores basais de parâmetros do perfil lipídico e marcadores do estresse oxidativo e inflamatórios, e após 20 e 40 dias de consumo da infusão. O peso corporal e pressão arterial foram aferidos em todos os tempos (-30, -15, 0, 20 e 40 dias). Apolipoproteínas A-I e B-100, parâmetros hematológicos e bioquímicos (para a avaliação de glicemia, função renal e hepática) foram avaliados antes (-30 dias) e após o consumo da infusão de erva-mate (20 e 40 dias). 50
- Figura 5.** Variação percentual média dos valores de parâmetros lipídicos dos indivíduos normolipidêmicos (A) ou dislipidêmicos (B) após o consumo por 20 e 40 dias de infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), comparado aos seus respectivos valores basais (sem consumo de erva-mate; média de três determinações com intervalo de 15 dias). CT = Colesterol total; LDL-C = LDL-colesterol; HDL-C = HDL-colesterol; Não-HDL-C = Não-HDL colesterol; TG = Triglicerídeos; LDL-C/HDL-C = Razão entre a fração do colesterol associada à LDL e HDL. \*P < 0,05 (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). 61
- Figura 6.** Associação entre a concentração sérica basal de LDL-C e a variação dos valores de LDL-C provocada pela ingestão das infusões de erva-mate verde ou tostada (dados combinados), após 20 e 40 dias, em indivíduos normolipidêmicos (A) ou dislipidêmicos (B) (Correlação de Pearson). 68
- Figura 7.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate tostada em indivíduos com dislipidemia usuários de estatina (DLP-E; n=17) nos parâmetros LDL-C (A) e HDL-C (B). Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes; LDL-C = LDL-colesterol; HDL-C = HDL-colesterol. \*P < 0,05 comparado aos valores basais (sem consumo de estatina) ou à média deles (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). 70
- Figura 8.** Efeito da ingestão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados), durante 20 e 40 dias, nos parâmetros Apo B-100 (A) e índice Apo B/apo A-I (B) em indivíduos normolipidêmicos (n = 7) ou dislipidêmicos (n = 22). Os resultados estão expressos em média  $\pm$  72

erro-padrão. n = número de participantes; Apo B-100 = Apolipoproteína B-100; Apo B/apo A-I = relação apolipoproteína B/apolipoproteína A-I. \*P < 0,05 comparados aos respectivos valores basais (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey)

- Figura 9.** Variação percentual da atividade sérica da paroxonase (PON-1) após a ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), por indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. 80
- Figura 10.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate tostada por voluntários com dislipidemia usuários de estatina (DLP-E) nos parâmetros do estresse oxidativo: (A) Capacidade antioxidante do soro; (B) Glutathiona reduzida (GSH) sanguínea; (C) Atividade sérica da enzima paroxonase (PON-1). Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. Não houve diferença estatística (ANOVA para Medidas Repetidas). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias. 81
- Figura 11.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate tostada por voluntários com dislipidemia usuários de estatina (DLP-E) nos parâmetros do estresse oxidativo: (A) Hidroperóxidos lipídicos; (B) Proteína Carbonilada. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. Não houve diferença estatística (ANOVA para Medidas Repetidas). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias. 82
- Figura 12.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio de indivíduos normolipidêmicos. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. \*P < 0,05 comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias. 84

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1-</b>	Conteúdo de fenóis totais, saponinas e capacidade antioxidante total das infusões de erva-mate verde e tostada.	55
<b>TABELA 2-</b>	Características biodemográficas dos participantes no início do estudo.	56
<b>TABELA 3-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na pressão arterial dos participantes.	57
<b>TABELA 4-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada, no peso corporal dos participantes.	58
<b>TABELA 5-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), no perfil lipídico sérico de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.	60
<b>TABELA 6-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde no perfil lipídico sérico de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.	63
<b>TABELA 7-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate tostada no perfil lipídico sérico de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.	65
<b>TABELA 8-</b>	Efeito da ingestão de erva-mate verde ou tostada nas concentrações de LDL-C, HDL-C e Não-HDL-C entre os participantes normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.	67
<b>TABELA 9-</b>	Parâmetros bioquímicos e hematológicos antes e após a ingestão da infusão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados).	74
<b>TABELA 10-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na capacidade antioxidante do soro ( $\mu\text{mol/L}$ ).	75
<b>TABELA 11-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na concentração sérica de hidroperóxidos lipídicos ( $\mu\text{mol/L}$ ).	76
<b>TABELA 12-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na concentração plasmática de proteínas carboniladas ( $\mu\text{mol/mg}$ ).	77
<b>TABELA 13-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na concentração de glutatona reduzida sanguínea ( $\text{mmol/L}$ ).	78
<b>TABELA 14-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate tostada na atividade sérica da paroxonase ( $\text{U/mL}$ ).	79

<b>TABELA 15-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde na atividade sérica da paroxonase (U/mL).	79
<b>TABELA 16-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na PCR-us sérica (mg/L) de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.	83
<b>TABELA 17-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde ou tostada nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de indivíduos dislipidêmicos sem uso de estatina.	84
<b>TABELA 18-</b>	Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de infusão de erva-mate tostada nos valores de PCR-us e fibrinogênio de indivíduos dislipidêmicos usuários de estatina.	85

## LISTA DAS PRINCIPAIS ABREVIATURA E SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ALT	Alanina aminotransferase
Apo	Apolipoproteína
Apo A-I	Apolipoproteína A-I
Apo B-100	Apolipoproteína B-100
Apo B/ Apo A-I	Relação apolipoproteína B/ apolipoproteína A-I
AST	Aspartato aminotransferase
AVC	Acidente vascular cerebral
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doença cardiovascular
DLP	Participantes dislipidêmicos não usuários de estatina
DLP-E	Participantes dislipidêmicos usuários de estatina que consumiram erva-mate tostada
DLP-EMT	Participantes dislipidêmicos que consumiram erva-mate tostada
DLP-EMV	Participantes dislipidêmicos que consumiram erva-mate verde
DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
DTNB	Ácido 5,5-ditio-bis (2-nitrobenzóico)
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FA	Fosfatase alcalina
FOX	<i>Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange</i>
FRAP	<i>Ferric reducing antioxidant potential</i>
GGT	gama-glutamil transferase
GSH	Glutathiona reduzida
GS <sup>·</sup>	Radical glutathiona tiil
GSSG	Glutathiona oxidada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-C	HDL-colesterol; Fração do colesterol associada à HDL
IAM	Infarto agudo do miocárdio

IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IFN $\gamma$	Interferon $\gamma$
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-C	LDL-colesterol; Fração do colesterol associada à LDL
LDL-ox	LDL oxidada
LOO $\cdot$	Radical peroxila
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos
M-CSF	Fator estimulante de colônias de macrófagos
MDA	Malondialdeído
MMPs	Metaloproteinases
Não-HDL-C	Não-HDL colesterol; Diferença entre o colesterol total e aquele associado à fração HDL
NLP	Participantes normolipidêmicos
NLP-EMT	Participantes normolipidêmicos que consumiram erva-mate tostada
NLP-EMV	Participantes normolipidêmicos que consumiram erva-mate verde
PA-1	Inibidor do ativador de plasminogênio
PCR	Proteína C reativa
PCR-us	Proteína C reativa quantificada pelo método ultra-sensível
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PON-1	Paroxonase sérica
T.A.	Temperatura ambiente
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TEAC	<i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>
TG	Triglicerídeos
TNF	Fator de necrose tumoral
t-PA	Ativador do plasminogênio tecidual
TPP	Trifenilfosfina
TPTZ	2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina
Trolox	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico
VCAM-1	Moléculas de adesão das células vasculares

VLDL	Lipoproteína de muita baixa densidade
VLDL-C	VLDL-colesterol; Colesterol associado à VLDL

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
1.1	APRESENTAÇÃO DO ESTUDO.....	19
1.2	DOENÇAS CARDIOVASCULARES.....	21
1.2.1	<b>Epidemiologia</b> .....	21
1.2.2	<b>Fatores de Risco</b> .....	22
1.2.2.1	Dislipidemia e Doenças Cardiovasculares.....	23
1.2.3	<b>Patogênese da Aterosclerose</b> .....	24
1.2.3.1	Hipóteses Oxidativa e Inflamatória da Aterosclerose.....	24
1.2.4	<b>Estresse Oxidativo e as Defesas Antioxidantes</b> .....	27
1.2.4.1	Paroxonase.....	28
1.2.5	<b>Marcadores Plasmáticos de Estresse Oxidativo</b> .....	29
1.2.6	<b>Marcadores de Inflamação na Aterosclerose</b> .....	31
1.2.7	<b>Abordagens Terapêuticas</b> .....	31
1.3	ERVA-MATE ( <i>Ilex paraguariensis</i> ).....	34
2	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	41
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	42
3.1	OBJETIVO GERAL.....	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	44
4.1	MATERIAIS E REAGENTES.....	44
4.2	MÉTODOS.....	45
4.2.1	<b>Preparação da Infusão de Erva-Mate</b> .....	45
4.2.2	<b>Caracterização da Infusão de Erva-Mate</b> .....	45
4.2.2.1	Quantificação dos Fenóis Totais.....	45
4.2.2.2	Quantificação da Capacidade Antioxidante Total.....	45
4.2.2.3	Quantificação das Saponinas Totais.....	46
4.2.3	<b>Grupos de Estudo</b> .....	47
4.2.4	<b>Protocolo Experimental</b> .....	48
4.2.5	<b>Análises Laboratoriais</b> .....	50
4.2.5.1	Perfil Lipídico e Apolipoproteínas.....	50
4.2.5.2	Demais Parâmetros Laboratoriais.....	51
4.2.5.3	Marcadores de Estresse Oxidativo.....	51

4.2.5.3.1	Capacidade Antioxidante do Soro.....	51
4.2.5.3.2	Hidroperóxidos Lipídicos.....	51
4.2.5.3.3	Proteínas Carboniladas.....	52
4.2.5.3.4	Glutaciona Reduzida Sanguínea.....	53
4.2.5.3.5	Atividade Sérica da Enzima Paroxonase.....	53
4.2.5.4	Marcadores Inflamatórios.....	53
4.2.5.4.1	Proteína C Reativa ultra-sensível (PCR-us).....	53
4.2.5.4.2	Fibrinogênio.....	53
4.2.6	<b>Análise Estatística.....</b>	54
5	<b>RESULTADOS.....</b>	55
5.1	ANÁLISE DO CONTEÚDO DE FENÓIS TOTAIS, SAPONINAS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS INFUSÕES DE ERVA-MATE.....	55
5.2	CARACTERÍSTICAS BIODEMOGRÁFICAS DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO.....	55
5.3	EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NA PRESSÃO ARTERIAL E PESO CORPÓREO.....	57
5.4	EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NO PERFIL LIPÍDICO.....	58
5.4.1	<b>Indivíduos Normolipidêmicos ou Dislipidêmicos sem Uso de Estatina.....</b>	58
5.4.2	<b>Indivíduos Dislipidêmicos em Uso de Estatina (DLP-E).....</b>	68
5.5	EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NAS APOLIPOPROTEÍNAS A-1 E B-100.....	71
5.6	EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NOS DEMAIS PARÂMETROS LABORATORIAIS.....	73
5.7	EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NOS MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	75
5.7.1	<b>Indivíduos Normolipidêmicos ou Dislipidêmicos sem Uso de Estatina.....</b>	75
5.7.1.1	Capacidade Antioxidante do Soro.....	75
5.7.1.2	Hidroperóxidos Lipídicos.....	76
5.7.1.3	Proteínas Carboniladas.....	76
5.7.1.4	Glutaciona Reduzida Sanguínea.....	77
5.7.1.5	Atividade Sérica da Enzima Paroxonase.....	78
5.7.2	<b>Indivíduos Dislipidêmicos em Uso de Estatina (DLP-E).....</b>	80
5.8	EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NOS MARCADORES DE INFLAMAÇÃO.....	82
5.8.1	<b>Indivíduos Normolipidêmicos ou Dislipidêmicos sem Uso de Estatina.....</b>	82
5.8.1.1	PCR-us.....	82
5.8.1.2	Fibrinogênio.....	83

5.8.2	<b>Indivíduos Dislipidêmicos em Uso de Estatina (DLP-E)</b> .....	85
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	86
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	101
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	103
	<b>ANEXOS</b> .....	123
	<b>ANEXO A-</b> Questionário de Avaliação Clínica.....	123
	<b>ANEXO B-</b> Aprovação pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina.....	125
	<b>ANEXO C-</b> Termo de Livre Consentimento.....	127

# **INTRODUÇÃO**

---

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 APRESENTAÇÃO DO ESTUDO

A aterosclerose é a principal causa de doença arterial coronariana (DAC) na população dos países ocidentais. A hipercolesterolemia, particularmente, a elevação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), a diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL), a disfunção endotelial, a inflamação arterial e a LDL modificada oxidativamente são considerados fatores de risco para a aterosclerose. Muitos autores têm demonstrado que a diminuição e/ou a prevenção do aumento desses fatores diminuem o risco de infarto agudo do miocárdio (IAM) e de acidente vascular cerebral (AVC). Nesse contexto, existe muito interesse em tratamentos com base em produtos vegetais ou de origem alimentar para a prevenção de fatores e marcadores de risco associados à aterosclerose. Dentre as espécies vegetais de importância econômica e cultural para vários países da América do Sul e com possíveis propriedades hipocolesterolêmica, antioxidante e anti-inflamatória, destaca-se a erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.). A erva-mate é utilizada para o preparo de bebidas que são muito apreciadas pelo seu sabor amargo característico e propriedades estimulantes. Desde o estudo pioneiro de Alejandro Gugliucci, em 1995, relatando que o extrato aquoso de erva-mate inibiu a oxidação da LDL *in vitro*, vários outros trabalhos surgiram na literatura mundial confirmando o elevado potencial antioxidante da planta, devido à gama de compostos fenólicos constituintes, e sugerindo que a erva-mate pode prevenir a doença aterosclerótica por diferentes mecanismos. Assim, existe um número crescente de evidências *in vitro* ou em modelos animais indicando que a erva-mate apresenta propriedades antioxidante, vasorelaxante e hipocolesterolêmica, dentre outras.

Estudos realizados em nosso laboratório demonstraram, pela primeira vez, que o extrato aquoso de erva-mate inibiu a progressão da aterosclerose *in vivo*, em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol (MOSIMANN; WILHELM FILHO; SILVA, 2006), e reverteu a disfunção endotelial (deficiência de contração e relaxamento vascular) em camundongos com aterosclerose (FELLIPI et al., 2006).

Em seres humanos, foi comprovado que a ingestão aguda de infusão de erva-mate aumentou a proteção antioxidante do plasma e das partículas de LDL, indicando que os compostos presentes na erva-mate foram absorvidos e atingiram a circulação sanguínea em quantidade suficiente para exercer o seu efeito antioxidante (SILVA et al., 2008).

A propriedade hipocolesterolêmica sugerida para a erva-mate pode ser devida à presença de saponinas, as quais apresentam capacidade de formar complexos com ácidos biliares e colesterol. Saponinas isoladas de *Ilex paraguariensis*, bem como o extrato aquoso da planta, inibiram *in vitro* a difusão passiva de ácido cólico através de membrana de celulose, indicando a formação desses complexos (FERREIRA et al., 1997). Recentemente, foi relatado que o extrato aquoso de erva-mate diminuiu a concentração sérica de colesterol total, dos triglicérides e da lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) e da LDL em ratos (PAGANINI STEIN et al., 2005; PANG; CHOI; PARK, 2008).

No presente estudo, verificamos que a ingestão de infusão de erva-mate, chimarrão ou chá mate, por indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos, durante 20 e 40 dias, melhorou as variáveis do perfil lipídico, reduzindo a concentração do colesterol associado à fração de LDL (LDL-C) e aumentando o colesterol associado à fração de HDL (HDL-C). Além disso, o consumo das infusões de erva-mate pelos participantes alterou favoravelmente a concentração de alguns marcadores do estresse oxidativo e diminuiu os valores de marcadores de inflamação.

## 1.2 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

### 1.2.1 Epidemiologia

As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por aproximadamente 30% das mortes por ano no mundo (WHO, 2008a), sendo as doenças coronarianas e as doenças cerebrovasculares, secundárias à aterosclerose, responsáveis por dois terços desses óbitos (BEAGHOLE; SARACCI; PANICO, 2001). Estimativas da mortalidade por doença cardiovascular indicam que os países em desenvolvimento contribuem com uma parcela maior da taxa global de mortalidade pela doença que os países desenvolvidos (KANITZ et al., 1996; LEVI et al., 2002; REDDY; YUSUF, 1998; WHO, 2008b). Além disso, a doença coronariana é influenciada pelas diversas etnias nos diferentes países, onde os fatores de risco e o estilo de vida a elas associados contribuem de forma singular no desenvolvimento da doença (CHATURVEDI, 2003; FOROUHI; SATTAR, 2006; KURIAN; CARDARELLI, 2007; SANTOS et al., 2006). Neste contexto, LIP et al. (2007) relataram que certas populações no Reino Unido, como negros e outros grupos étnicos minoritários, apresentam incidências elevadas de DCV e de suas complicações clínicas. Nos Estados Unidos, habitantes do sul da Ásia ou seus descendentes, afro-americanos e hispânicos também possuem altos índices de DCV quando comparados aos indivíduos caucasianos (SINGH; DEEDWANIA, 2006). Além disso, é bem conhecida a alta prevalência de DCV em populações com estilo de vida ocidental (JOLLY; GILL, 2008).

No Brasil, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 33% dos óbitos com causas conhecidas (BARRETO et al., 2003; PASSOS; ASSIS; BARRETO, 2006), figurando como a principal causa de mortalidade no país (ISHITANE et al., 2006). Segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2007), as doenças do aparelho circulatório, de um modo geral, são responsáveis por 28,8% de todas as causas de internações no Brasil para indivíduos com idade maior ou igual a 50 anos, sendo uma das principais causas de gasto em saúde.

Após cinco décadas de entendimento dos fatores de risco relacionados à gênese das doenças do coração, tem sido observado um melhor controle dos mesmos e, conseqüentemente, uma redução de mortalidade por doenças cardiovasculares em alguns países desenvolvidos (POLANCZYK, 2005). Dados do estudo de Framingham, nos Estados Unidos, mostraram uma redução de 59% na mortalidade por doença coronariana no período de 1950 a 1999 (FOX et al., 2004). No entanto, este declínio não foi observado no Brasil,

segundo a IV Diretriz de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose, e em outros países em desenvolvimento (SPOSITO, 2007).

Dessa maneira, políticas de saúde baseadas em evidências devem ser implementadas e consolidadas para que a epidemiologia das doenças cardiovasculares e de suas manifestações clínicas seja minimizada no futuro.

### 1.2.2 Fatores de Risco

Segundo as III e IV Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, “aterosclerose é um processo dinâmico, evolutivo, a partir de dano endotelial de origem multifatorial, com características de reparação tecidual, que acomete principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre” (SANTOS, 2001; SPOSITO, 2007). Trata-se de uma doença de ordem crônica e inflamatória, caracterizada por um acúmulo de lipídeos e elementos fibrosos no interior das artérias (revisado por LUZ; UINT, 2003). Diversos fatores de risco estão envolvidos na gênese e progressão da doença aterosclerótica, principalmente a dislipidemia, a hipertensão arterial, o tabagismo, o *diabetes mellitus*, o sedentarismo, a idade, a obesidade, a composição da dieta, o sexo, a hiperfibrinogenemia, a hiperhomocisteinemia, a hereditariedade e os fatores psicossociais (ALENCAR et al., 2000; PITANGA; LESSA, 2007; POLANCZYK, 2005; SANTOS, 2001; SPOSITO, 2007). A III Diretriz Brasileira sobre Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose também relata outros agentes considerados marcadores de risco, por apresentarem associação positiva com o risco de desenvolvimento futuro de evento cardiovascular, sem possuir, porém, uma causalidade específica. Neste contexto, por exemplo, estão incluídas a lipoproteína (a), variáveis hemostáticas (antígeno do inibidor do ativador de plasminogênio (PA-1) e ativador de plasminogênio tecidual (t-PA)) e a proteína C reativa (PCR), quantificada pelo método ultra-sensível (PCR-us) (SANTOS, 2001). No entanto, para os dois primeiros marcadores, as recomendações são ainda indefinidas, diferentemente do que ocorre para a PCR-us, que poderá ser usada para o auxílio da estratificação do risco da aterosclerose clínica (CLEARFIELD, 2005; RIDKER, 2001).

Além desses fatores e marcadores de risco de doenças cardiovasculares citados acima, atenção especial tem sido dada às concentrações plasmáticas das apolipoproteínas (apos) A-I e B-100, maiores componentes das HDL e LDL, respectivamente. Atualmente, os valores plasmáticos das apos A e B têm sido descritos como melhores indicadores precoces de doenças ateroscleróticas do que as próprias concentrações de lipídeos e lipoproteínas. Vários

autores sugerem que a razão apo B/apo A-I representa um índice superior para a predisposição de risco cardiovascular do que os outros índices lipídicos (SNIDERMAN et al., 2006; van LENNEP et al., 2000; WALLDIUS et al., 2004; WALLDIUS; JUNGNER, 2004).

Recentemente, um índice lipídico adicional, denominado Não-HDL colesterol (Não-HDL-C), vem sendo usado para melhor prever o risco para a DAC. O Não-HDL-C, obtido pela diferença entre os valores de colesterol total e a concentração de HDL-C, representa o conjunto de todas as lipoproteínas potencialmente aterogênicas, como VLDL, lipoproteína de densidade intermediária (IDL) e LDL. A determinação do Não-HDL-C é de particular importância para indivíduos com valores plasmáticos elevados de triglicerídeos (TG), que apresentam concentrações aumentadas destas lipoproteínas aterogênicas circulantes no plasma (SPOSITO, 2007).

#### 1.2.2.1 Dislipidemias e Doenças Cardiovasculares

As dislipidemias podem ser definidas como alterações metabólicas lipídicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico, que ocasionam repercussões nos valores séricos das lipoproteínas. Do ponto de vista laboratorial, podem ser classificadas em hipercolesterolemia isolada (aumento do LDL-C  $\geq 160$  mg/dL), hipertrigliceridemia isolada (aumento dos TG  $\geq 150$  mg/dL), hiperlipidemia mista (aumento do LDL-C  $\geq 160$  mg/dL e TG  $\geq 150$  mg/dL), diminuição isolada do HDL-C ( $< 40$  mg/dL para homens e  $< 50$  mg/dL para mulheres) associada ou não ao aumento de TG ou LDL-C (SPOSITO, 2007). De acordo com a etiologia, as dislipidemias podem ser classificadas em primárias e secundárias. As primeiras são resultantes de causas genéticas, dentre as quais se destacam a hipercolesterolemia familiar, a hiperlipidemia familiar combinada (manifesta-se pelo aumento das concentrações plasmáticas de colesterol total (CT) e TG, nem sempre simultaneamente) e a hipercolesterolemia poligênica (forma mais comum, com envolvimento de genes distintos, os quais promovem pequeno aumento das concentrações de LDL-C). As dislipidemias secundárias são aquelas relacionadas às doenças como *diabetes mellitus* tipo 2, hipotireoidismo, síndrome nefrótica, insuficiência renal crônica, hepatopatias colestáticas crônicas, obesidade, aos efeitos de medicamentos (anti-hipertensivos, corticóides, inibidores de proteases) ou aos hábitos de vida inadequados (tabagismo, etilismo, sedentarismo, alimentação desbalanceada e outros) (SANTOS, 2001).

A associação entre LDL e o aumento da incidência de doença cardiovascular está bem estabelecida, conforme demonstrado pelos estudos longitudinais MRFIT (*Multiple Risk*

*Factor Intervention Trial*) e PROCAM (*The Munster Heart Study*), os quais relataram uma associação importante e direta entre o aumento da concentração plasmática de LDL-C e o risco de eventos coronarianos (ASSMANN; CULLEN; SCHULTE, 1998; NEATON et al., 1992). Além disso, estudos epidemiológicos mostraram que valores aumentados de TG plasmáticos, isoladamente ou em combinação com HDL-C diminuído, podem ser considerados fatores de risco independentes para DCV (KANNEL, 2002; SHARRETT et al., 2001). De um modo geral, as dislipidemias contribuem intensamente para o desenvolvimento da doença aterosclerótica, ao propiciar o acúmulo de lipídeos no interior dos vasos, bem como pela capacidade de atuar no processo oxidativo e inflamatório que envolve a doença (PACKARD; LIBBY, 2008), os quais serão vistos adiante.

### **1.2.3 Patogênese da Aterosclerose**

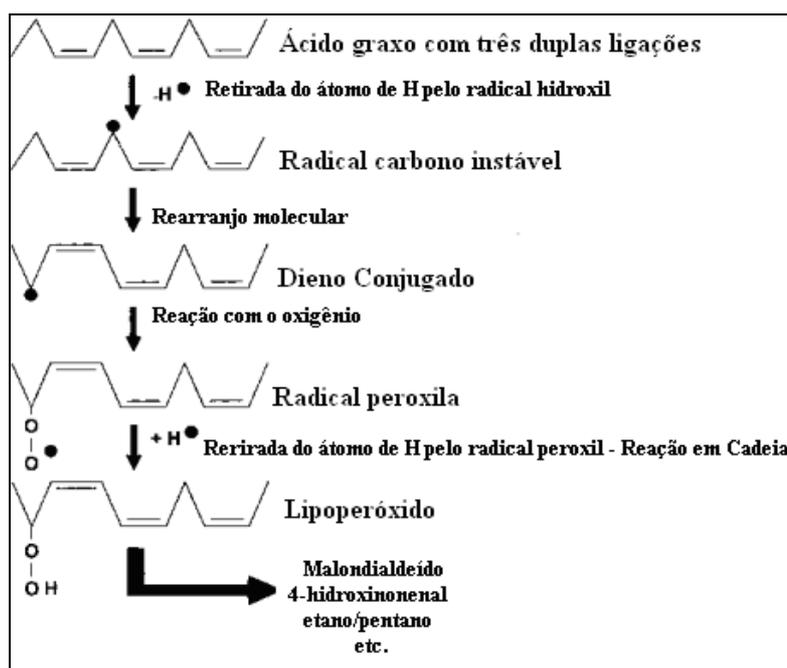
No início dos anos 70, acreditava-se que o simples acúmulo de lipídeos na parede das artérias, estreitando o lúmen das mesmas e levando ao comprometimento do fluxo sanguíneo para os órgãos alvos, poderia ser a explicação mais plausível para o subsequente aparecimento das lesões ateroscleróticas. Além disso, evidências clínicas apontavam uma relação direta entre a hipercolesterolemia e o aparecimento de ateromas (KANNEL et al., 1971). No final da década de 70, entretanto, verificou-se que não somente os lipídeos, mas também determinados fatores de crescimento, bem como a proliferação da musculatura lisa vascular, poderiam desempenhar um papel coadjuvante na patogenia da aterosclerose (LIBBY, 2002). Na década de 90, a aterosclerose foi reconhecida como uma desordem inflamatória crônica que pode ter componentes infecciosos ou auto-imunes, onde também ocorre perda progressiva da função endotelial (LIBBY, 2002; LIND, 2003; ROSS, 1999).

#### **1.2.3.1 Hipóteses Oxidativa e Inflamatória da Aterosclerose**

Inicialmente, as partículas de LDL do plasma atravessam a camada de células endoteliais, particularmente em locais onde o endotélio encontra-se susceptível ou lesionado. Em todos os estágios da aterosclerose, a LDL presente na camada íntima arterial sofre modificações oxidativas mediadas por espécies reativas de oxigênio (ERO) ou de nitrogênio (ERN) (ALBERTINI; MORATTI; De LUCA, 2002), que, por sua vez, incluem substâncias radicalares e não radicalares (FANG; YANG; WU, 2002; KUNIMOTO, 2007).

A oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados da LDL pelas espécies reativas é considerada o maior contribuinte para a doença aterosclerótica e para a disfunção endotelial (DUSTING; TRIGGLE, 2005). A cadeia de reações de lipoperoxidação pode ser dividida em três fases: iniciação, propagação e degradação (Figura 1).

Iniciação é o ataque do ácido graxo por qualquer espécie química, como o radical hidroxila, que possua reatividade suficiente para abstrair um átomo de hidrogênio (H) do grupo metileno ( $-\text{CH}_2-$ ), levando à formação de um radical centrado em carbono ( $-\dot{\text{C}}\text{H}-$ ). Em seguida, ocorre um rearranjo molecular deste radical com formação de um produto mais estável, o dieno conjugado, que por sua vez, pode sofrer várias reações. A mais provável é a reação com o oxigênio que forma um radical peroxila ( $\text{LOO}\cdot$ ). Os radicais peroxila também são capazes de abstrair átomos de hidrogênio de moléculas lipídicas adjacentes, formando novos radicais peroxila e lipoperóxidos, conhecido como fase de propagação. Os lipoperóxidos são compostos bastante estáveis, no entanto, na presença de complexos de metais de transição, como os sais de cobre e ferro, sua decomposição é acelerada e leva à formação de radicais alcóxila, pela quebra da ligação O-O, e peroxila, pela abstração de um hidrogênio. Epóxidos, compostos carbonílicos, gases hidrocarbonetos (pentano, etano, etileno) e aldeídos como o malondialdeído (MDA) e 4-hidroxi-2,3-trans-nonenal, também são produtos de decomposição dos lipoperóxidos por metais (DALLE-DONNE et al., 2006; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989; NEGRE-SALVAYRE et al., 2008).



**Figura 1.** Reações de iniciação e propagação da peroxidação lipídica (Modificada de Halliwell e Gutteridge, 1989).

A LDL oxidada (LDL-ox), por sua vez, estimula a expressão de moléculas de adesão das células vasculares (VCAM-1) e da proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), que atraem os monócitos para a parede arterial (BAYNES; DOMINICZAK, 2000). No interior do endotélio, o monócito diferencia-se em macrófago por meio do fator estimulante de colônias de macrófagos (M-CSF), num processo facilitado pela LDL-ox. A apo B-100 oxidada não é mais capaz de se ligar ao receptor de LDL. Ao contrário, a LDL-ox é reconhecida por macrófagos através de receptores *scavengers*, que não possuem mecanismos de auto-regulação pelo conteúdo intra-celular de colesterol e, dessa maneira, acumulam lipídeos em seu interior, formando as células espumosas (“*foam cells*”), as quais são os principais constituintes da placa aterosclerótica (CHISOLM; STEINBERG, 2000). As células espumosas, além de secretarem citocinas que atraem neutrófilos, produzem fatores de crescimento que induzem a migração de células do músculo liso da camada média para a íntima e sua subsequente proliferação, convertendo a estria gordurosa em placa de ateroma. Da mesma forma que os monócitos, os linfócitos T aderem-se ao endotélio a partir da molécula de adesão VCAM-1. No interior do endotélio, o linfócito T pode encontrar um antígeno, como a LDL-ox ou proteínas como *heat-shock proteins*, de origem endógena ou bacteriana. Ao ligar-se ao antígeno, ocorre produção de citocinas capazes de amplificar a resposta inflamatória na lesão aterosclerótica (LIBBY, 2002). Danos posteriores ocorrem quando as células endoteliais e da musculatura lisa iniciam a secreção de alguns peptídeos de pequeno peso molecular, citocinas e reguladores de crescimento celular, como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), que estimulam a proliferação e migração das células musculares lisas em direção ao lúmen da parede arterial, onde iniciam a síntese de matriz extracelular, particularmente de colágeno (BAYNES; DOMINICZAK, 2000). A associação de colágeno, proteínas fibrosas e proteoglicanos pelas células musculares lisas leva à formação da placa fibrosa (*fibrous plaque*), dura e estável, caracterizada por uma cobertura fibrosa cercando um centro necrótico, potente fator pró-coagulante tecidual (LIBBY, 2002). Os macrófagos e as células T residem preferencialmente nas bordas da placa, onde secretam metaloproteinases (MMPs), enzimas que degradam a matriz extracelular. Além disto, as células T produzem interferon- $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ), que inibe a síntese de colágeno pelas células musculares lisas. Estes processos enfraquecem a placa e podem ocasionar o seu rompimento, com a exposição do núcleo necrótico à corrente sanguínea, com conseqüente aderência e agregação plaquetária e formação de trombos, que, ao se desprenderem, podem causar oclusão total ou parcial dos vasos sanguíneos, tendo como

possíveis conseqüências o infarto do miocárdio, angina estável ou instável, isquemia e/ou derrame cerebral (ANDREASSI, 2003; KÁDÁR; GLASZ, 2001; SPOSITO, 2007).

#### 1.2.4 Estresse Oxidativo e as Defesas Antioxidantes

O desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes leva à condição de estresse oxidativo (SIES, 1985). Os agentes pró-oxidantes podem ser espécies reativas, como o peróxido de hidrogênio, e/ou radicais livres.

Radicais livres são átomos ou moléculas que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente (HALLIWELL, 1994), com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativos. Eles podem ser gerados *in vivo*, em condições fisiológicas, como no metabolismo mitocondrial, nas situações em que há a necessidade de ativação do sistema imunológico, na desintoxicação de drogas e na produção de óxido nítrico (revisado por VALKO et al., 2007), bem como em condições patológicas, como câncer, *diabetes mellitus*, Parkinson, Alzheimer e aterosclerose (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Antioxidantes podem ser amplamente definidos como “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada ao substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995). Ou seja, os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. Eles podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (SIES, 1993). Na primeira classificação estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas de oxigênio, como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, redutase e transferase. Os antioxidantes não-enzimáticos, na segunda classe, são moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação, como por exemplo, as proteínas ligadoras de metais (ceruloplasmina, metalotioneína, albumina, transferrina e mioglobina), ubiquinona (Coenzima Q10), ácido úrico, bilirrubina, NADPH e NADH. Nesta classificação, incluem-se também os antioxidantes naturais de origem dietética, como as vitaminas E e C; carotenóides; minerais (cobre, zinco e selênio); e os compostos fenólicos, incluindo os flavonóides (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Outra importante molécula antioxidante pertencente à segunda classificação é a glutathione reduzida (GSH, L- $\gamma$ -glutamil-L-cistetilglicina), que consiste em um tripeptídeo contendo cisteína e é o tiol não protéico mais abundante nas células de todos os organismos aeróbios. É considerada um antioxidante endógeno e exógeno, uma vez que pode ser

proveniente tanto da dieta quanto sintetizada pelo próprio organismo (FANG; YANG; WU, 2002). Concentrações baixas de GSH estão associadas ao maior risco de estresse oxidativo e, conseqüentemente, a doenças como doença de Alzheimer, mal de Parkinson, desordens hepáticas, fibrose cística, AIDS, câncer, AVC, IAM e *diabetes mellitus* (WU et al., 2004). O núcleo do resíduo cistenilglicina da glutatona está envolvido na função antioxidante, mais especificamente, como um redutor intracelular, sendo capaz, por exemplo, de reagir com um elétron não pareado de um radical livre, formando um radical GS<sup>•</sup>, que produz, por dimerização, a glutatona oxidada (GSSG). A GSSG é, então, reduzida pela enzima glutatona redutase, regenerando a GSH, num processo dependente de NADPH como substrato (KRETZSCHMAR, 1996).

A proteção da GSH contra a peroxidação lipídica pode envolver três mecanismos: *i*) A GSH é utilizada como substrato pela glutatona peroxidase, na eliminação de peróxidos; *ii*) A GSH reduz a forma oxidada da vitamina C, a qual, por sua vez, regenera a vitamina E à sua forma reduzida funcional; *iii*) Finalmente, a GSH pode, através da glutatona-S-transferase, detoxificar aldeídos reativos, como o malondialdeído, gerados na peroxidação lipídica (JORDÃO JÚNIOR et al., 1998). O grupo tiol reativo (SH) da glutatona, que lhe confere efetiva propriedade redutora, permite que este antioxidante reaja com diversas outras moléculas reativas, além dos hidroperóxidos lipídicos (LOOH), tais como peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) e hidroxila (•OH). (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; BIANCHI; ANTUNES, 1999).

#### 1.2.4.1 Paroxonase

A HDL está inversamente associada ao risco de aterosclerose e de doença arterial coronariana (ASSMANN; NOFER, 2003). O efeito protetor desta lipoproteína está associado, primeiramente, ao transporte reverso do colesterol, o qual se caracteriza pela retirada do colesterol dos tecidos periféricos – inclusive artérias –, transportando-o ao fígado para excreção através da bile. Além disso, e, concomitantemente, a HDL possui habilidade de inibir a oxidação da LDL e de membranas biológicas (FERRETI et al., 2004; NOFER et al., 2002).

Este potencial antioxidante da HDL, por sua vez, parece ser devido à influência de algumas proteínas presentes nesta lipoproteína, principalmente a enzima paroxonase (PON-1) (MACKNESS et al., 2001; SÖZMEN et al., 2001). A paroxonase (EC.3.1.8.1.

arildialquilfosfatase) é uma glicoproteína com 354 aminoácidos e peso molecular de aproximadamente 45 kDa. É uma esterase dependente de cálcio, cujo mecanismo de ação não está totalmente elucidado (DRAGANOV; LA DU, 2004; van LENTEN et al., 2001). A PON-1 encontra-se distribuída em vários órgãos, como fígado, rins e intestino, bem como no plasma, onde se encontra associada à HDL (TOMÀS et al., 2004).

À PON-1 é atribuída a propriedade de catalisar a hidrólise dos hidroperóxidos lipídicos na LDL, bem como a de outros substratos, incluindo metabólitos ativos de organofosforados, como o paroxon (de onde origina o seu nome), e outros substratos (MACKNESS et al., 1998). Além disso, foi demonstrado que a PON-1 é capaz de hidrolisar peróxidos lipídicos presentes em lesões ateroscleróticas humanas (AVIRAM et al., 2000).

Vários estudos já demonstraram que indivíduos sob alto risco para o desenvolvimento da aterosclerose, como pacientes hipercolesterolêmicos e diabéticos, apresentam diminuição da atividade sérica da PON-1 (FERRÉ et al., 2002; MACKNESS et al., 2000; MACKNESS et al., 1991; SINGH et al., 2007). Sugere-se, assim, que a elevação da atividade da PON-1 pode ser protetora contra as doenças cardiovasculares.

### **1.2.5 Marcadores Plasmáticos de Estresse Oxidativo**

Há diversos e complexos métodos para avaliar o estado de estresse oxidativo. Porém, devido à falta de um método padrão-ouro para a detecção dos danos oxidativos causados pelas espécies reativas, existem diferentes metodologias amplamente empregadas para a determinação de indicadores indiretos da atividade das espécies reativas, como produtos derivados da oxidação de macromoléculas e a determinação da concentração de antioxidantes (JACKSON, 1999). Em relação aos primeiros, destaca-se a utilização de indicadores da peroxidação lipídica, tais como hidroperóxidos lipídicos (JACKSON, 1999) e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), os quais podem ser quantificados por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) ou por métodos fluorimétricos e colorimétricos. As proteínas são também importantes alvos para as ERO/ERN, pois existem em grande abundância nos sistemas biológicos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Modificações oxidativas têm sido identificadas como uma alteração covalente de proteínas, caracterizadas pela introdução de grupos carbonil em resíduos de aminoácidos de proteínas (DALLE-DONNE et al., 2003b).

Indivíduos com complicações de doença cardiovascular ou fatores de risco a ela associados apresentam valores plasmáticos aumentados de parâmetros de estresse oxidativo

(HALLIWELL; GUTTERIDG, 1989). No trabalho realizado por Serdar et al. (2006) foi observado aumento da peroxidação lipídica e protéica em indivíduos com DAC, quando comparados ao grupo de indivíduos sem a doença instalada. Araújo et al. (1995) relataram que indivíduos hiperlipidêmicos apresentaram estado de estresse oxidativo elevado, avaliado pelo monitoramento de espécies reativas de oxigênio liberadas por leucócitos. Outros estudos demonstraram que pacientes com diagnóstico de AVC agudo apresentam concentrações elevadas de produtos de peroxidação lipídica, como o MDA (BIR et al., 2006; BOLOKADSE et al., 2004; DEMIRKAYA et al., 2001; POLIDORI et al., 2002). A carbonilação protéica (modificação oxidativa das proteínas) está também associada a uma série de doenças, incluindo o *diabetes mellitus*, o qual é considerado um importante fator de risco para a doença cardiovascular (DALLE-DONNE et al., 2003a).

Em relação aos antioxidantes individuais, tem sido avaliada a concentração de substâncias antioxidantes no sangue e nas células, e/ou determinada a atividade celular de enzimas antioxidantes. Nesse contexto, as vitaminas antioxidantes, A, E e C, são, normalmente, as mais quantificadas no plasma sanguíneo (DUSTING; TRIGGLE, 2005; RODRIGO; GUICHARD; CHARLES, 2007; WILLCOX; CURB; RODRIGUEZ, 2008). Além disso, outros compostos antioxidantes de mais fácil determinação laboratorial são utilizados, como a GSH e a atividade da enzima paroxonase. Por exemplo, a concentração de GSH plasmática encontra-se diminuída em indivíduos com doença vascular (SHIMIZU et al., 2004). Da mesma forma, pacientes com hipercolesterolemia e/ou *diabetes mellitus* apresentam atividade reduzida da PON-1 (MACKNESS et al., 2000; MACKNESS et al., 1991).

Em virtude da dificuldade de se avaliar todos os antioxidantes conhecidos separadamente e devido às interações entre os outros tipos de antioxidantes que não estão sendo medidos, várias técnicas têm sido propostas para a avaliação do conjunto dos diferentes antioxidantes nos fluídos biológicos, denominadas de “capacidade antioxidante” (BENZIE; STRAIN, 1996; EVELSON et al., 2001; GHISELLI et al., 2000). Independente do método, todas as técnicas de medida da capacidade antioxidante utilizam como base o potencial redutor dos constituintes do plasma, como compostos fenólicos, ácido úrico e ácido ascórbico, dentre outros. De particular importância, são os resultados de Serdar et al. (2006), os quais demonstraram que a capacidade antioxidante do plasma está diminuída em pacientes com DAC. Esses autores também relataram uma diminuição plasmática de enzimas e vitaminas antioxidantes.

### 1.2.6 Marcadores de Inflamação na Aterosclerose

No processo de inflamação arterial, as citocinas atuam na produção de moléculas de adesão, metaloproteinases e espécies reativas de oxigênio que podem ser também liberadas das lesões. Ao mesmo tempo, estas citocinas estimulam a expressão da IL-6, a qual, por sua vez, ao atingir o fígado estimula a síntese de proteínas inflamatórias de fase aguda, como a PCR e o fibrinogênio (PACKARD; LIBBY, 2008). A elevação plasmática destes parâmetros prediz complicações em pacientes com síndromes coronárias agudas, independentemente do dano do músculo cardíaco (DANESH et al., 2004; ERNEST; RESCH, 1993; KRITCHEVSKY; CESARI; PAHOR, 2005; LIMA; SILVA; LIMA, 2002; RIDKER, 2001). Estudos clínicos e epidemiológicos têm demonstrado uma consistente relação entre os marcadores de inflamação e o risco de eventos cardiovasculares futuros (WILLERSON; RIDKER, 2004).

No entanto, o fibrinogênio, quando comparado à PCR, demonstra ser um preditor menos potente de doenças cardiovasculares. Dessa maneira, uma inflamação crônica em baixo grau, como indicada pela concentração plasmática elevada da PCR quantificada pelo método de alta sensibilidade, define prospectivamente o risco de complicações ateroscleróticas, melhorando assim as informações prognósticas fornecidas pelos fatores de risco tradicionais, como colesterol total, LDL-C, HDL-C, hipertensão e *diabetes mellitus*, dentre outros (CLEARFIELD, 2005). Vale salientar que a PCR-us já é quantificada de forma rotineira nos laboratórios como um marcador de risco adicional de doenças cardiovasculares (SANTOS, 2001).

### 1.2.7 Abordagens Terapêuticas

Muitos estudos têm demonstrado claramente que as manifestações clínicas das doenças cardiovasculares e a mortalidade a elas associadas podem ser minimizadas pelas terapias que diminuem a concentração plasmática de LDL e/ou aumentam a HDL. Desde o estudo pioneiro, denominado 4S – *Scandinavian Simvastatin Survival Study* (1994), o qual demonstrou que o emprego de sinvastatina (um tipo de estatina) durante cinco anos diminuiu a concentração plasmática de LDL-C em 35%, reduziu a maioria dos eventos coronarianos em 42% e a mortalidade total em 30%, vários outros estudos foram realizados corroborando esses resultados (ANDREWS et al., 2001; BROWN et al., 2001; GRUNDY, 2002; SEVER et al.,

2003). O estudo de meta-análise realizado por Cheung et al. (2004), que avaliou nove estudos com estatinas, confirmou que o tratamento hipolipemiante reduziu a incidência de DAC.

Mais recentemente, outra meta-análise realizada a partir de 14 estudos com estatinas, englobando um total de 90056 indivíduos que usaram lovastatina, sinvastatina, pravastatina, fluvastatina ou atorvastatina, demonstrou que a redução nos eventos coronarianos foi melhor predita pela diminuição absoluta da concentração de LDL-C (BAIGENT et al., 2005). A incidência dos eventos vasculares mais importantes foi reduzida em 20% para cada diminuição de 40 mg/dL no LDL-C. Assim, para um indivíduo com valor inicial de 280 mg/dL de LDL-C e cuja concentração diminuía para 200 mg/dL com a terapia (redução de 29%) seria predita uma diminuição de 40% no risco de eventos cardiovasculares para o período de cinco anos (BAIGENT et al., 2005). Além disso, o efeito positivo da terapia combinada com diferentes fármacos no tratamento das dislipidemias tem sido demonstrado em estudos controlados. Por exemplo, a ezetimiba (inibidor da absorção intestinal de colesterol), quando associada às estatinas, potencializa os efeitos de ambas, diminuindo significativamente o LDL-C em comparação com a monoterapia (DASKALOPOULOU; MIKHAILIDIS, 2006).

Embora o efeito anti-aterosclerótico da estatina seja atribuído ao efeito hipolipemiante, por inibir a enzima-chave na síntese endógena do colesterol (HMG-CoA redutase), outros estudos sugerem que alguns benefícios da estatina são mediados por efeitos pleiotrópicos independentes da diminuição do colesterol (CAMPO; CARVALHO, 2007; SACKS et al., 1996; SHEPHERD et al., 1995). Neste contexto, existem relatos das propriedades anti-inflamatória *in vivo*, em modelos animais (KITAMOTO et al., 2004; MONETTI et al., 2007; SCALIA et al., 2001); em indivíduos hipercolesterolêmicos (LEE et al., 2008); da ativação da via do óxido nítrico *in vivo*, em pacientes com doença arterial coronariana (MASUMOTO et al., 2001); da atividade anti-trombótica *in vivo*, em camundongos deficientes de apo-E (MONETTI et al., 2007); e do potencial antioxidante das estatinas, tanto *in vitro* (FRANZONI et al., 2003) como *in vivo* (ROSENSON, 2004; TRAVIDOU et al., 2006).

Além do uso das estatinas, abordagens terapêuticas alternativas são, normalmente, consideradas importantes nos momentos iniciais dos tratamentos e/ou nos casos de dislipidemias leves ou moderadas, como a prática de exercícios físicos e mudança dos hábitos alimentares, particularmente pela redução da ingestão de ácidos graxos saturados e colesterol, aumento do consumo de ácidos graxos poliinsaturados e pelo uso de alimentos vegetais, ricos em compostos antioxidantes e que possuem potencial anti-inflamatório e hipocolesterolêmico.

Dentre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e freqüentemente encontrados são os compostos fenólicos, incluindo os flavonóides. Os compostos fenólicos existem naturalmente numa grande variedade de alimentos e bebidas de origem vegetal e fazem parte integral da dieta humana (CLIFFORD; RAMIREZ-MARTINEZ, 1990; HERTOOG; HOLLMAN; van de PUTTE, 1993; HERTOOG; HOLLMAN; KATTAN, 1992; NIJVELDT et al., 2001). Além disso, estudos clínicos e epidemiológicos demonstraram uma associação inversa entre o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos e flavonóides e a mortalidade por doenças cardiovasculares (ERDMAN JUNIOR et al., 2008; GELEIJNSE et al., 2002; HERTOOG et al., 1995; HERTOOG et al., 1993; HUXLEY; NEIL, 2003; KNEKT et al., 1996).

A propriedade anti-aterosclerótica dos compostos fenólicos pode ser devida, pelo menos em parte, ao efeito antioxidante, o qual é atribuído à capacidade de seqüestrar espécies reativas de oxigênio e/ou de formar complexos com metais (AFANAS'EV et al., 1989; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). Os compostos fenólicos e os flavonóides inibem a peroxidação lipídica, a agregação plaquetária e a atividade das enzimas fosfolipase A<sub>2</sub>, ciclooxigenase e lipoxigenase (revisado por WILHELM FILHO; SILVA; BOVERIS, 2002). Ainda, são inibidores da oxidação da LDL pelo cobre (MANGIAPANE et al., 1992), por macrófagos (De WHALLEY et al., 1990; WITTIG et al., 2001) ou pela enzima 15-lipoxigenase (SILVA; TSUSHIDA; TERAQ, 1998). Sabe-se que a natureza e a posição dos conjugados na molécula do flavonóide afetam negativamente a atividade *in vitro* do polifenol (DAY et al., 2000; SILVA; TSUSHIDA; TERAQ, 1998). No entanto, foi demonstrado que esses metabólitos de flavonóides ainda mantêm a atividade antioxidante no plasma (DAY; WILLIAMSON, 2001; DONOVAN et al., 1999; SILVA; PISKULA; TERAQ, 1998; SILVA et al. 1998). Recentemente, foi evidenciado que a administração do flavonóide quercetina-glicosídica para coelhos hipercolesterolêmicos resultou no acúmulo de metabólitos da quercetina na artéria aorta, inibindo, inclusive, a progressão da aterosclerose e a lipoperoxidação arterial (KAMADA et al., 2005). Esses resultados indicam, assim, que as substâncias atingiram o alvo onde exerceram o efeito biológico.

Alguns compostos fenólicos exibem, ainda, propriedades anti-inflamatórias. Embora não totalmente entendidos, vários mecanismos são propostos para explicar a ação anti-inflamatória dos flavonóides *in vivo*, como a inibição de enzimas geradoras de eicosanóides (prostanóides e leucotrienos), incluindo as enzimas fosfolipase A<sub>2</sub>, a ciclo-oxigenase e a lipoxigenase (KIM et al., 2004). Abidov et al. (2006) descreveram que o extrato de folhas de “blueberry”, diminuiu significativamente a concentração plasmática do marcador de

inflamação, PCR-us, em pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2. Esses efeitos foram associados aos constituintes fenólicos, ácido clorogênico e miricetina.

Desta forma, considerando a participação das ERO/ERN na patogênese da aterosclerose, os compostos polifenólicos, como antioxidantes dietéticos, podem ser importantes na prevenção das doenças cardiovasculares pela proteção das lipoproteínas contra os eventos oxidativos no sistema vascular e/ou pelo aumento geral da proteção antioxidante.

### 1.3 ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)

Dentre as espécies vegetais de importância para o Brasil, com propriedade antioxidante e, possivelmente, anti-inflamatória e hipocolesterolêmica, encontra-se a erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hillaire).

A erva-mate é uma espécie arbórea da família Aquifoliaceae, originária das regiões subtropicais da América do Sul, presente no sul do Brasil, norte da Argentina, Paraguai e Uruguai (BASTOS et al., 2007; ESMELINDRO et al., 2002; HECK; De MEJIA, 2007), e de importância cultural, econômica e social para as populações destas regiões. No Brasil, é encontrada nos estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, nas matas de pinhais e de altitude (400-800 metros). A erva-mate é cultivada nos estados da região sul e aproximadamente 596 municípios desenvolvem a atividade ervateira, envolvendo 710 mil pessoas para uma produção anual de 650 mil toneladas de folhas (MACCARI; SANTOS, 2000). A infusão ou decocção das partes aéreas de *Ilex paraguariensis* é amplamente utilizada no preparo de uma bebida, muito apreciada pelo seu sabor amargo peculiar e propriedades estimulantes, conhecida como chimarrão ou mate. O nome “mate” é derivado da palavra homônima *quíchua* que significa xícara ou vaso utilizado para ingerir a bebida. Durante séculos a erva-mate foi usada como estimulante pelos indígenas da América do Sul, especialmente os índios Guarani, e esse hábito foi incorporado pelas sociedades colonizadoras e permanece até a época atual. Estima-se que milhões de pessoas consomem cerca de um a dois litros por dia de infusão de erva-mate, constituindo a principal alternativa para o café ou para o chá preto (BASTOS et al., 2007). A erva-mate é empregada para o preparo do chimarrão, consumido no sul do Brasil, Uruguai, Argentina e Paraguai; do tererê, consumido na região centro-oeste do Brasil e Paraguai; e do chá mate tostado, um produto suave e de aroma agradável, que surgiu no mercado em 1938, obtido a partir da “queima” da erva-mate (BASTOS et al., 2007; SCHWINDEN, 2001), o qual é consumido no sul e sudeste do Brasil e Argentina como chá mate ou na forma de bebidas refrescantes tipo

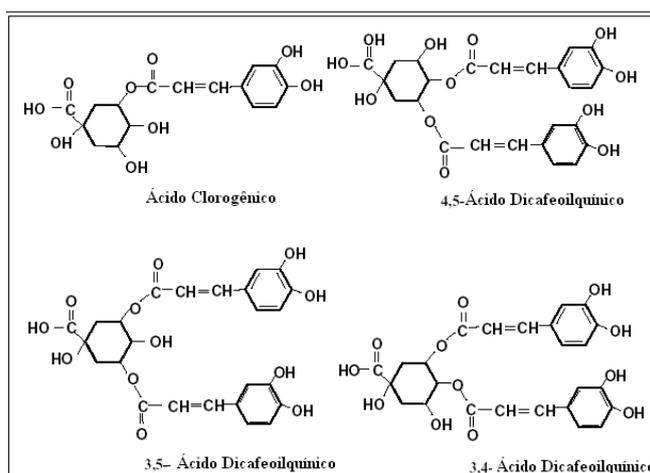
“read to drink”. Tanto o chimarrão quanto o tererê são preparados a partir de folhas secas e moídas de erva-mate verde e o que os difere é a temperatura da água empregada: o primeiro utiliza água quente enquanto o segundo, água fria. O mate cozido (“cocido” em espanhol), por sua vez, também é produzido a partir das folhas secas da erva-mate verde, porém é acondicionado em saquinhos (saches) e consumido como qualquer outro chá. O maior consumidor nacional de erva-mate é o estado do Rio Grande do Sul, com 65% do total, seguido pelos estados do Paraná (17%), de Santa Catarina (12%) e Mato Grosso do Sul (3%) (CIGANA, 2008).

*Ilex paraguariensis* é uma planta que apresenta amplo perfil nutricional, já que contém praticamente todas as vitaminas e minerais necessários para o sustento da vida, como as vitaminas do complexo B (B<sub>1</sub> – tiamina, B<sub>2</sub> – riboflavina, e B<sub>3</sub> – niacina), vitaminas A, C e E, os minerais potássio, magnésio, cálcio, manganês, ferro, selênio, fósforo e zinco, dentre outros. Além disso, a erva-mate apresenta em sua constituição 15 aminoácidos, 196 compostos químicos voláteis, dentre os quais, 144 são também encontrados no chá verde, e muitos polifenóis, principalmente os derivados cafeoilquínicos, como o ácido clorogênico e alguns flavonóides, como a rutina, quercetina, canferol e luteolina (BASTOS et al., 2007; HECK; De MEJIA, 2007). Além dos polifenóis, a erva-mate contém saponinas, cafeína e teobromina (revisado por SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2004; RATES, 2004).

Na medicina popular, a erva-mate é utilizada para artrite, dor de cabeça, constipação, reumatismo, hemorróidas, obesidade, fadiga, retenção de fluidos, hipertensão, digestão lenta e distúrbios hepáticos (BASTOS; TORRES, 2003). A ação estimulante do mate é devida principalmente aos alcalóides purínicos (metilxantinas), cafeína (1 a 2% do peso seco), teobromina e teofilina (ALIKARIDIS, 1987; BASTOS et al., 2007; RATES, 2004), sendo que a quantidade de teofilina presente no mate é ainda controversa. A revisão realizada por Rates (2004) alegou apenas traços de teofilina em folhas de erva-mate. Por outro lado, Schubert et al. (2006) não encontraram quantidade detectável de teofilina em folhas de *Ilex paraguariensis*. O fato de a teofilina não ser, muitas vezes, encontrada em vários testes, pode ser devido ao seu metabolismo em cafeína e teobromina (HECK; De MEJIA, 2007). A cafeína acelera o metabolismo do oxigênio pelos tecidos corporais e tem o potencial de produzir efeitos significativos sobre alvos metabólicos como saciedade, termogênese e oxidação de gordura (WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2006). Dentre várias preparações de plantas disponíveis comercialmente e que reivindicam possuir ação anti-obesidade, somente o extrato de *Ilex paraguariensis* provocou a queda no quociente respiratório, indicando uma elevação na proporção de gordura oxidada (MARTINET; HOSTETTMANN;

SCHUTZ, 1999). Além disso, o uso de cápsulas contendo uma mistura de erva-mate, guaraná (*Paullinia cupana*) e damiana (*Turnera diffusa* var. *aphrodisiaca*) prolongou o esvaziamento gástrico, reduziu o tempo de percepção de saciedade e induziu uma significativa perda de peso (5,1 kg) após 45 dias em indivíduos com sobrepeso (ANDERSEN; FOGH, 2001).

Os componentes químicos considerados responsáveis pelas características antioxidantes do produto são os ácidos neo-clorogênico, clorogênico, cripto-clorogênico, dicafeoilquínico, os flavonóides rutina, quercetina, diglicosídeo de luteolina e a cafeoilglicose (BASTOS et al., 2007; BASTOS et al., 2006a; BASTOS et al., 2005; CARINI et al., 1998; FILIP et al., 2001; RICCO; WAGNER; GURNI, 1991). Destes, os ácidos dicafeoilquínico (6,8% do peso seco) e clorogênico (3 a 5% do peso seco) são os que estão em maior proporção, enquanto que os flavonóides se apresentam em menores concentrações (CARINI et al., 1998; FILIP et al., 2001).

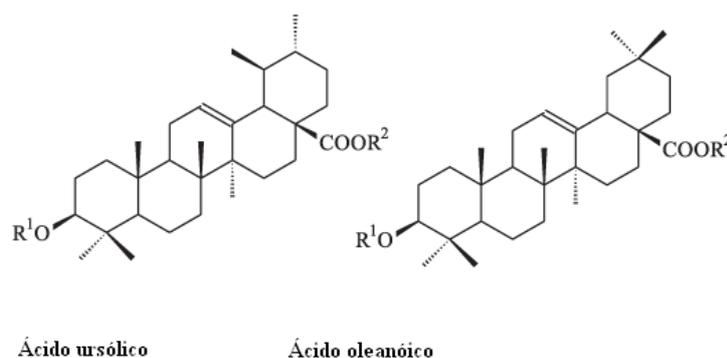


**Figura 2.** Compostos fenólicos presentes em maior concentração na erva-mate (Modificado de Heck e De Mejia, 2007).

A partir de meados dos anos 90, estudos científicos demonstraram o potencial antioxidante da infusão de erva-mate por diferentes mecanismos, como pela inibição da oxidação da LDL *in vitro*, evidenciado pela primeira vez em 1995, por Gugliucci e Stahl; pelo sequestro de radicais livres (CAMPOS; ESCOBAR; LISSI, 1996); e pela proteção do plasma humano contra a peroxidação lipídica *ex vivo* (GUGLIUCCI, 1996). Seguidamente, diversos autores também vêm demonstrando a atividade antioxidante do extrato de *Ilex paraguariensis* utilizando vários sistemas oxidantes *in vitro* (BASTOS et al., 2006b; BRACESCO et al., 2003; CHANDRA; De MEJIA, 2004; FILIP et al., 2007; FILIP et al., 2000; SCHINELLA et al., 2000; VANDERJAGT et al., 2002). Carini et al. (1998) e Silva et al. (2008)

demonstraram que os compostos polifenólicos presentes no extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* atuam como antioxidantes não só isoladamente, mas também de forma sinérgica. Estudo recentemente realizado em nosso laboratório demonstrou que a ingestão aguda de erva-mate por indivíduos saudáveis inibiu a oxidação do plasma e das partículas de LDL *ex vivo* e aumentou a capacidade antioxidante do plasma (SILVA et al., 2008).

Outros constituintes de importância de *Ilex paraguariensis* são as saponinas (GNOATTO; SCHENKEL; BASSANI, 2005; SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2004). Saponinas são glicosídeos de esteróides ou terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura, o qual possui uma parte da molécula com característica lipofílica (triterpeno ou esteróides) e outra parte hidrofílica (açúcares), determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e a ação detergente e emulsificante.



**Figura 3.** Estruturas moleculares básicas das saponinas isoladas de *Ilex paraguariensis* (Modificado de Gnoatto, Schenkel e Bassani, 2005).

O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídeos de membranas determinam um número variado de propriedades biológicas para essas substâncias, destacando-se a ação hemolítica, ictiotóxica, molusquicida, hipocolesterolemiantes e atividades helmíntica, anti-inflamatória e antiviral (revisado por SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2004). A atividade anti-inflamatória das saponinas é conhecida há longo tempo e vários autores demonstraram esse efeito em diferentes modelos de inflamação em animais ou em cultura de células (SAFAYHI; SAILER, 1997; YUAN et al., 2006). No entanto, não existem relatos de estudos envolvendo o efeito anti-inflamatório das saponinas em seres humanos.

As propriedades das saponinas em diminuir a concentração plasmática de colesterol foram demonstradas pela adição de saponinas de várias espécies vegetais à dieta de animais

de experimentação (revisado por SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2004). O mecanismo da ação hipocolesterolemiantes das saponinas pode ser explicado pela diminuição da absorção intestinal do colesterol e do aumento da excreção fecal de esteróides e de ácido biliares (MALINOW et al., 1981). Recentemente, Han et al. (2005) relataram que as saponinas inibiram, também, a atividade da lipase pancreática *in vitro*. De particular importância, são os achados de Ferreira et al. (1997), os quais demonstraram que as saponinas isoladas da *Ilex paraguariensis*, bem como o extrato aquoso da planta, inibiram *in vitro* a difusão passiva de ácido cólico através de membrana de celulose, mimetizando, assim, a inibição da absorção intestinal de ácidos biliares e, conseqüentemente, de colesterol. Gorzalczany et al. (2001) demonstrou que a *Ilex paraguariensis* apresentou propriedades coleréticas e de propulsão intestinal em ratos. Recentemente, Paganini Stein et al. (2005) relataram que o extrato aquoso de erva-mate diminuiu a concentração sérica de colesterol total e triglicérides de ratos alimentados com colesterol. A administração de extrato aquoso de erva-mate também reduziu o LDL-C e o VLDL-C em ratos obesos (PANG; CHOI; PARK, 2008). Todavia, ainda não existem informações sobre a atividade hipocolesterolêmica da erva-mate, ou de suas saponinas, em seres humanos.

Diante do potencial antioxidante e hipocolesterolêmico da infusão de erva-mate é plausível acreditar que a planta apresenta propriedades anti-ateroscleróticas, mediada por diferentes mecanismos. Nesse contexto, estudos também realizados em nosso laboratório demonstraram que o extrato aquoso de erva-mate tem o potencial de inibir a progressão da aterosclerose *in vivo*, em coelhos alimentados com colesterol (MOSIMANN; WILHELM FILHO; SILVA, 2006). Além disso, em camundongos com aterosclerose, os quais apresentam disfunção endotelial semelhante aos pacientes com DAC, o nosso grupo mostrou que a administração prolongada do extrato de erva-mate melhorou de forma significativa a reatividade vascular *ex vivo* (FELLIPI et al., 2006), ou seja, a erva-mate reverteu a inibição da contração e do relaxamento vascular verificada nos animais com aterosclerose. Muccillo Baish, Johnston e Paganini Stein (1998) já haviam demonstrado um efeito vasodilatador *in vitro* para o extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* em artéria mesentérica de ratos. O nosso grupo confirmou esses resultados utilizando artéria aorta de ratos (FELLIPI; RIBEIRO DO VALLE; SILVA, 2005). O fornecimento do extrato de erva-mate a ratos hipocolesterolêmicos também aumentou o relaxamento arterial (PAGANINI STEIN et al., 2005). O efeito ocorreu através do aumento da concentração de óxido nítrico, ou outro composto relacionado, o qual induziu o vasorelaxamento (PAGANINI STEIN et al., 2005), bem como diminuiu a disfunção miocárdica provocada pela isquemia e reperfusão

(SCHINELLA; FANTINELLI; MOSCA, 2005). No entanto, o efeito vasorelaxante da erva-mate em seres humanos ainda não foi demonstrado.

Apesar dos inúmeros possíveis efeitos benéficos da erva-mate à saúde humana, não são conhecidos os efeitos tóxicos da ingestão prolongada da infusão de erva-mate verde ou tostada, particularmente para a função renal e hepática, ou que modificam os parâmetros hematológicos. Em condições de danos hepáticos, existe aumento na síntese e/ou liberação para o plasma das enzimas transaminases, gama-glutamil transferase e fosfatase alcalina (revisado por MINCIS; MINCIS, 2007). De modo semelhante, produtos sintéticos ou naturais tóxicos ao rim levam à redução da capacidade de filtração deste órgão, diminuindo a excreção de metabólitos como uréia e creatinina (BURDMANN; VIEIRA JÚNIOR; VIDAL, 1996). Ainda, especula-se que o consumo de substâncias que contêm taninos, como é o caso da erva-mate, impede a absorção de nutrientes da dieta, como o ferro, elemento fundamental na síntese de hemoglobina (BEARD; DAWSON; PIÑERO, 1996).

Existe uma preocupação crescente sobre o fato de existirem estudos clínicos e epidemiológicos que sugerem uma associação entre o consumo de erva-mate e o risco aumentado de desenvolvimento de certos tipos de câncer, como de boca, esôfago e laringe (revisado por HECK; DE MEJIA, 2007). Muitos estudos epidemiológicos publicados durante os anos 1980-1990 demonstraram elevada incidência de câncer esofágico em algumas regiões da América do Sul, em populações tradicionalmente consumidoras de chimarrão (revisado por BASTOS et al., 2007). No entanto, estes estudos não demonstraram uma correlação positiva entre a ingestão de chimarrão e de câncer. O maior contribuinte pode ser a elevada temperatura da água utilizada no preparo desta bebida, capaz de promover lesões teciduais, como também se observa em outras populações consumidoras de chás muito quentes, como Irã e China. Além disso, fatores agravantes como tabagismo, etilismo e amplo consumo de churrasco foram observados nestes estudos, demonstrando a importância dos mesmos na epidemiologia da doença.

No entanto, recentes trabalhos vêm indicando a presença de compostos denominados hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), potencialmente carcinogênicos, nas bebidas à base de erva-mate ou de metabólitos desses hidrocarbonetos na urina de indivíduos usuários de chimarrão (FAGUNDES et al., 2006; KAMANGAR et al., 2008). Os HPA são gerados no processo de obtenção industrial da erva-mate através da queima de matéria orgânica, como a madeira. Estes resultados sugerem que, apesar da ausência de total comprovação do envolvimento da erva-mate na incidência dos cânceres de esôfago, laringe e boca, atenção especial deve ser dada ao processo de fabricação da erva-mate por parte da indústria ervateira.

Além disso, a população deve se ater aos perigos das associações de inúmeros fatores de risco para o câncer, como o uso concomitante de álcool, tabagismo, churrasco e consumo de grande quantidade de chimarrão preparado com água fervente.

Assim, pelo exposto acima e com base nos estudos já realizados em nosso laboratório, é plausível acreditar que a erva-mate possa proteger os indivíduos contra as doenças cardiovasculares.

# **JUSTIFICATIVA**

## 2 JUSTIFICATIVA

As doenças crônico-degenerativas, incluindo as doenças cardiovasculares, constituem a principal causa de morbi-mortalidade da população de vários países. Apesar dos inúmeros avanços no campo do conhecimento sobre a gênese e tratamento das DCV, a incidência da aterosclerose não acompanha uma redução significativa, particularmente nos países em desenvolvimento. Isso se deve, sobretudo, ao fato de ser uma doença causada por múltiplos fatores. Entretanto, é de consenso geral que a prevenção da aterosclerose é a melhor estratégia terapêutica, principalmente através da diminuição de fatores de risco importantes, como a hipercolesterolemia, o estresse oxidativo e a inflamação arterial. Nesse contexto, a utilização de produtos dietéticos com potencial hipocolesterolêmico, antioxidante e anti-inflamatório tornou-se um campo promissor de estudos para a melhoria da qualidade de vida das populações. Em nosso meio, um possível componente alimentar com essas características é a erva-mate (*Ilex paraguariensis*). A erva-mate é uma espécie vegetal rica em polifenóis antioxidantes e é largamente consumida no Brasil, tanto na forma de chimarrão ou tererê (com erva-mate verde), como na forma de chá mate tostado. Especula-se que o hábito de beber chimarrão no Uruguai e no Rio Grande do Sul possa ser responsável pela relativa baixa incidência de aterosclerose nessas populações, apesar da ingestão elevada de carne bovina, rica em gordura saturada e colesterol. No entanto, apesar do grande número de pessoas que fazem uso de *Ilex paraguariensis*, ainda não existem estudos clínicos ou epidemiológicos relacionando o seu consumo com a diminuição do desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Assim, pelo exposto acima e com base nos estudos anteriormente citados, onde foi demonstrado que o extrato aquoso de erva-mate possui atividade antioxidante *in vitro*, aumentou a proteção do plasma e da LDL de seres humanos contra reações de oxidação, apresentou atividade vasorelaxante *in vitro*, melhorou a reatividade vascular em animais e inibiu a progressão da aterosclerose experimental, é plausível acreditar que a erva-mate possa proteger os indivíduos contra as doenças cardiovasculares. Dessa forma, é importante avaliar o potencial da erva-mate em diminuir a concentração plasmática de colesterol, dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação, principalmente em pacientes com dislipidemia, para estabelecer, assim, a possível contribuição da erva-mate para a saúde humana, bem como demonstrar a provável ausência de efeitos colaterais, através das determinações de enzimas hepáticas, uréia, creatinina e parâmetros hematológicos.

# **OBJETIVOS**

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do presente estudo é avaliar se a ingestão da infusão de erva-mate – verde ou tostada – durante 20 e 40 dias, apresenta propriedades hipocolesterolêmica, antioxidante e anti-inflamatória *in vivo*, em indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos, usuários ou não de estatina.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o efeito da ingestão da infusão de erva-mate verde ou tostada na concentração sérica de colesterol total, LDL-C, HDL-C, Não-HDL-C, relação LDL-C/HDL-C, triglicerídeos, apolipoproteína B-100 e apolipoproteína A-I, em indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos sem uso de medicamentos hipolipemiantes;
- Avaliar o efeito sinérgico da erva-mate com as estatinas no perfil lipídico de indivíduos dislipidêmicos sob terapia medicamentosa;
- Comparar os efeitos dos dois tipos de erva-mate, verde e tostada, nos parâmetros lipídicos de indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos;
- Verificar se os indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos respondem de maneira semelhante ao efeito da erva-mate verde ou tostada em relação aos parâmetros lipídicos;
- Verificar se o efeito hipocolesterolêmico das infusões de erva-mate verde ou tostada em indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos é dependente da concentração inicial de LDL-C;
- Determinar a concentração de marcadores plasmáticos do estresse oxidativo, como capacidade antioxidante, hidroperóxidos lipídicos, atividade da enzima paroxonase sérica, ácido úrico e proteínas oxidadas, bem como a concentração sanguínea da glutathiona reduzida, antes e após 20 e 40 dias de ingestão das infusões de erva-mate verde ou tostada;
- Verificar o efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde ou tostada na concentração dos marcadores de inflamação, como PCR-us e fibrinogênio;
- Avaliar o efeito sinérgico da erva-mate com as estatinas nos marcadores do estresse

- oxidativo e inflamatórios em indivíduos dislipidêmicos sob terapia medicamentosa;
- Quantificar o conteúdo de fenóis totais e saponinas, bem como avaliar a capacidade antioxidante total, das infusões de erva-mate verde ou tostada utilizadas neste estudo;
  - Verificar o efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde ou tostada nos valores da pressão arterial e no peso corpóreo;
  - Verificar o possível efeito tóxico da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde ou tostada, através da determinação dos valores de creatinina, uréia, fosfatase alcalina, transaminases, gama-glutamil transferase e dos parâmetros hematológicos (hemograma).

# **MATERIAIS E MÉTODOS**

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS E REAGENTES

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*), verde ou tostada, foi fornecida pela empresa Leão Júnior S.A. – Curitiba-PR (lotes 2504A e 2504B, ano 2007-2008). A espécie da planta foi identificada como autêntica *Ilex paraguariensis* pelo Prof. Dr. Daniel de Barcelos Falkenberg, do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina.

Os conjuntos de reagentes para as determinações do colesterol total e fração HDL-C, triglicerídeos, glicose, ácido úrico, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase – AST e ALT, respectivamente, fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), uréia e creatinina foram obtidos da empresa Wiener Laboratórios S.A.I.C. (Rosario, Argentina). Já os reagentes utilizados para a quantificação das apolipoproteínas A-I e B-100, da PCR-us e do fibrinogênio foram adquiridos da empresa Dade Behring (Marburg, Alemanha).

As substâncias relacionadas a seguir foram adquiridas da SIGMA (Steinheim, Alemanha ou St. Louis, EUA): reagente de Folin-Ciocalteu, ácido ursólico, 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox), 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), trifenilfosfina (TPP), butil-hidroxi-tolueno (BHT), guanidina, albumina bovina sérica, ácido 5,5-ditio-bis (2-nitrobenzóico) (DTNB), glutatona reduzida comercial, acetato de fenila e ácido clorogênico.

Etanol, acetato de sódio e cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foram obtidos da empresa Labsynth (Diadema, Brasil); vanilina, persulfato de potássio, alaranjado de xilenol, sulfato de ferro e amônio, 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), hidróxido de sódio, ácido tricloroacético (TCA) e fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) e dibásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) foram adquiridos da empresa VETEC (Rio de Janeiro, Brasil); ácido clorídrico (HCl), ácido perclórico, ácido metafosfórico, ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), metanol, acetona, carbonato de sódio, clorofórmio, ácido acético glacial, peróxido de hidrogênio, acetato de etila, TRIS, citrato de sódio, cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e os demais reagentes foram adquiridos de outras marcas nacionais. Todas as soluções foram preparadas com água destilada ou deionizada, com sais de pureza analítica.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Preparação da Infusão de Erva-Mate

A infusão de erva-mate foi preparada pela adição de água quente (aproximadamente 80 °C) sobre folhas secas e moídas de *Ilex paraguariensis* comercial na proporção de 5,0 ou 2,0 g/100 mL de mate verde ou tostado, respectivamente, conforme a preparação usual consumida pela população. Após 10 min de infusão, a solução foi filtrada em tamis de malha fina (coador de chás) e o filtrado foi consumido no mesmo dia pelos participantes.

### 4.2.2 Caracterização da Infusão de Erva-Mate

#### 4.2.2.1 Quantificação dos Fenóis Totais

O conteúdo de fenóis totais da infusão de erva-mate verde ou tostada, preparadas conforme descrição acima, foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu segundo metodologia descrita por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999). Cinquenta microlitros do extrato aquoso de erva-mate foram misturados com 150 µL de etanol (95%), 800 µL de água destilada e 80 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (50%). Após 5 min, foram adicionados 150 µL de bicarbonato de sódio 5% e a mistura permaneceu à temperatura ambiente por 1 h, na ausência de luz. A leitura da absorbância do produto colorido foi realizada em comprimento de onda de 765 nm (espectrofotômetro Spectrum SP2000 - Xangai, China). O ácido clorogênico foi usado como padrão e os resultados foram expressos em mg/mL.

#### 4.2.2.2 Quantificação da Capacidade Antioxidante Total

A capacidade antioxidante total das infusões de erva-mate verde ou tostada foi realizada através de dois métodos. O primeiro, conhecido como FRAP (do inglês, *Ferric Reducing Antioxidant Potential*), baseia-se no potencial antioxidante redutor férrico de compostos antioxidantes presente na infusão de erva-mate. Neste ensaio, os antioxidantes foram avaliados como redutores do  $\text{Fe}^{+3}$  a  $\text{Fe}^{+2}$ , o qual é quelado pela 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) para formar o complexo  $\text{Fe}^{+2}$ -TPTZ, com absorção máxima em 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). Resumidamente, 10 µL de infusões de erva-mate foram adicionadas a 1,0

mL da solução de trabalho, que contém cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), TPTZ e tampão acetato de sódio. A mistura foi incubada por 15 min em banho-maria 37 °C e, posteriormente, realizou-se a leitura da absorbância do produto colorido em 593 nm. A concentração da capacidade antioxidante total foi calculada a partir da curva padrão preparada com diferentes concentrações de Trolox, um análogo hidrossolúvel da vitamina E. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/L}$  eq. Trolox.

Outro método, conhecido por TEAC (do inglês, *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) e descrito por Pellegrine et al. (2001), baseia-se na habilidade dos antioxidantes presentes na erva-mate seqüestrarem o cátion radical estável ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], um cromóforo azul-esverdeado com absorção máxima em 734 nm, em comparação com àquela do Trolox. A solução ABTS 7,0 mM, preparada em persulfato de potássio 2,45 mM, foi diluída em água para fornecer uma absorbância de aproximadamente 0,70 em 734 nm. Após a adição de alíquotas de infusão de erva-mate verde ou tostada ou de Trolox sobre 1,0 mL da solução de ABTS diluída, a absorbância foi monitorada durante um minuto, a 30 °C, em espectrofotômetro semi-automatizado (Bioplus BIO 2000 – Barueri, SP). Os resultados foram expressos em mmol/L equivalente Trolox.

#### 4.2.2.3 Quantificação das Saponinas Totais

A quantificação das saponinas totais na infusão de erva-mate verde ou tostada foi realizada por método espectrofotométrico, conforme extração descrita por Gnoatto, Schenkel e Bassani (2005) e reação com vanilina e ácido perclórico descrita por Fan e He (2006). As saponinas contidas em 10 mL das infusões foram submetidas à hidrólise com 5 mL de HCl 4 N sob refluxo por 2 h. As sapogeninas foram extraídas com a adição de 6 mL de clorofórmio, num processo repetido por quatro vezes. A fração clorofórmica foi evaporada em evaporador rotativo e o resíduo foi re-suspenso em 2,5 mL de etanol. Para a quantificação, alíquotas da solução etanólica foram evaporadas e foram adicionados 300  $\mu\text{L}$  de vanilina a 5%, preparada em ácido acético glacial, e 1 mL de ácido perclórico sobre o resíduo seco. A mistura foi mantida em banho-maria a 60 °C por 45 min e, logo após, resfriada em banho de gelo. Por fim, acrescentou-se 1,0 mL de ácido acético glacial e a leitura da absorbância foi realizada em 548 nm. Como padrão, utilizou-se o ácido ursólico, núcleo triterpênico majoritário das saponinas de *Ilex paraguariensis* (GNOATTO; SCHENKEL; BASSANI, 2005). Os resultados foram expressos em mg/mL.

### 4.2.3 Grupos de Estudo

Cento e dezessete potenciais participantes foram recrutados. Destes, foram incluídos no estudo 80 voluntários, de ambos os sexos, com normolipidemia ou dislipidemia (em uso ou não de estatina), com idade entre 20-60 anos.

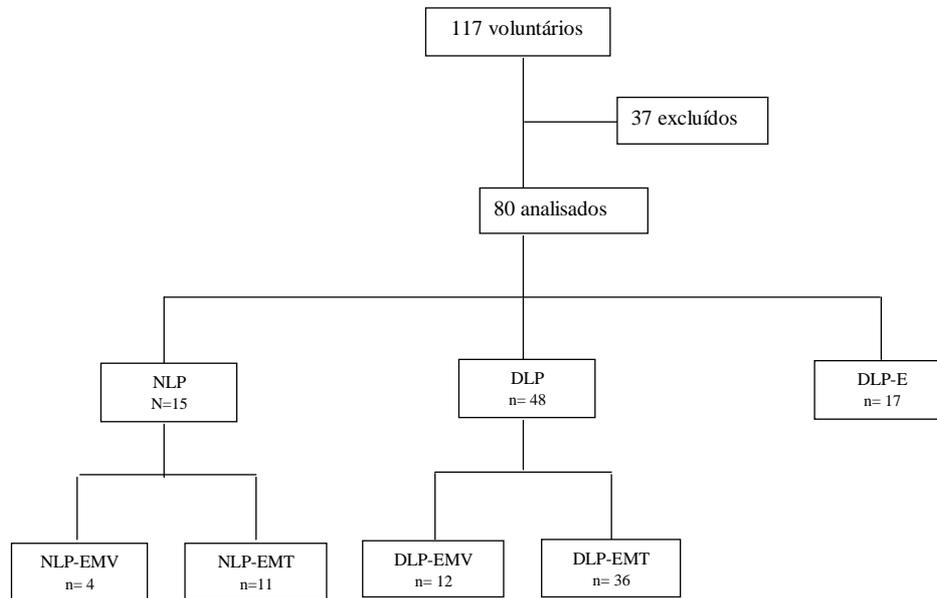
Os participantes foram recrutados na comunidade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), através de enquête, via correio eletrônico, no atendimento ambulatorial no Hospital Universitário da UFSC e, ainda, junto ao Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Assistência à Dislipidemia (NIPEAD-HU) da UFSC. Para a verificação do estado de saúde e da condição de dislipidemia, os voluntários responderam a um questionário padrão (Anexo A) e foram realizados exames laboratoriais, como hemograma, glicemia, perfil lipídico, enzimas hepáticas (transaminases (AST e ALT), FA e GGT), uréia e creatinina.

Foram utilizados os seguintes critérios de exclusão: obesidade (Índice de Massa Corporal (IMC)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), presença de doenças hepáticas, renais, gastrointestinais, neoplasias, hipo e hipertireoidismo, *diabetes mellitus*, alcoolismo, atletas com atividade física intensa ou, ainda, qualquer anormalidade nos resultados dos exames laboratoriais de rotina que estivessem fora dos valores de referência e que pudessem indicar a presença das desordens acima. Após o início do estudo, foram excluídos, por sua vez, os voluntários que introduziram ou modificaram o uso de medicamentos ou suplementos, que apresentaram intolerância à erva-mate ou que interromperam a ingestão da infusão por três dias consecutivos ou mais.

Durante todo o período do estudo, os participantes foram instruídos a manter os seus hábitos regulares de vida, como a prática de exercícios físicos e a alimentação de costume. Todos os participantes concordaram com o protocolo experimental proposto, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos da UFSC, nº 080/06 (Anexo B), e assinaram o termo de livre consentimento (Anexo C).

Os participantes foram distribuídos em três grupos, de acordo com os valores dos lipídeos séricos conforme critérios estabelecidos na IV Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (SPOSITO, 2007): *i*) normolipidêmicos (NLP); *ii*) dislipidêmicos (DLP) (LDL-C  $\geq 160$  mg/dL; TG  $\geq 150$  mg/dL; HDL-C  $< 50$  e  $40$  mg/dL, para mulheres e homens, respectivamente; ou relação LDL-C/HDL-C  $\geq 2,5$ ), e; *iii*) DLP em uso de estatina (DLP-E). Foi facultada a todos os indivíduos participantes a livre escolha do tipo de erva-mate a ser ingerida. Assim, os voluntários dos grupos NLP e DLP ingeriram infusão de erva-mate verde (NLP-EMV e DLP-EMV) ou erva-mate tostada (NLP-EMT e DLP-EMT), e os

indivíduos dislipidêmicos usuários de estatina consumiram somente erva-mate tostada (DLP-E) (Organograma).



**Organograma-** Distribuição dos participantes nos diferentes grupos. NLP = Normolipidêmicos; NLP-EMV e NLP-EMT = Normolipidêmicos que ingeriram erva-mate verde ou tostada, respectivamente. DLP = Dislipidêmicos; DLP-EMV e DLP-EMT = Dislipidêmicos que ingeriram erva-mate verde e tostada, respectivamente; DLP-E = Dislipidêmicos usuários de estatina que ingeriram erva-mate tostada.

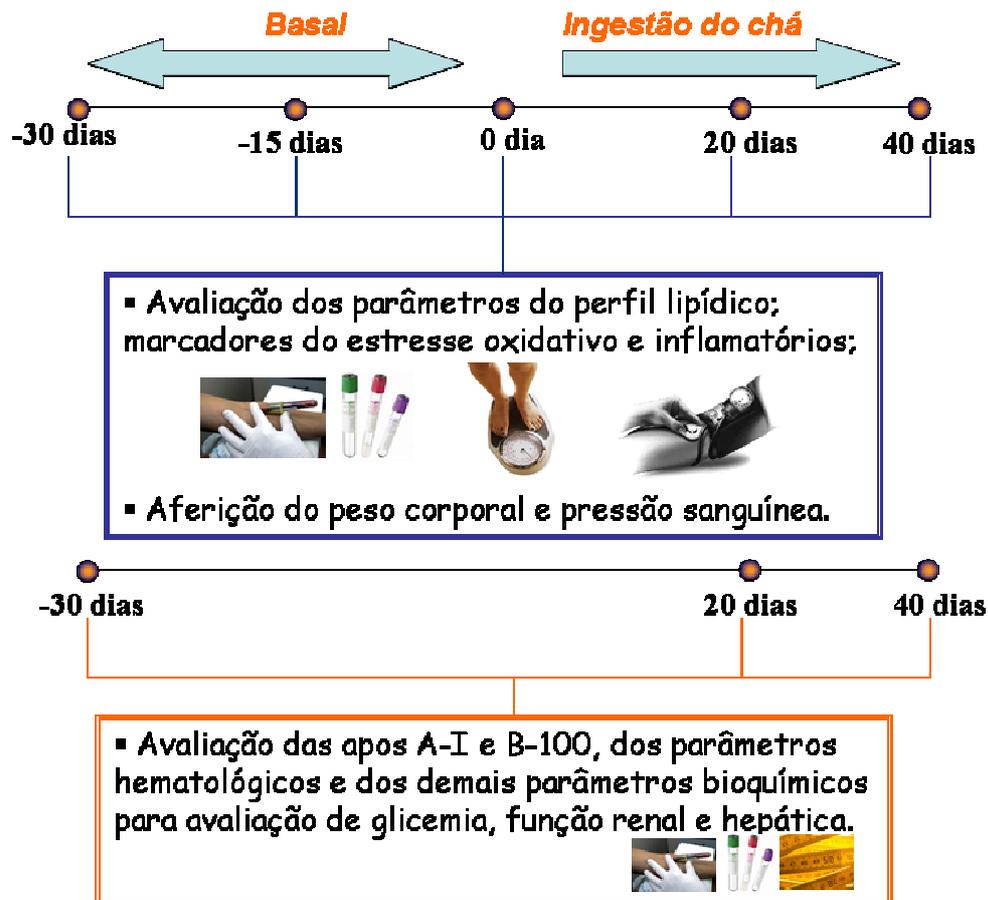
Cento e dezessete indivíduos iniciaram o estudo. Destes, 21 indivíduos desistiram da participação por motivos particulares. Além disso, 16 participantes foram excluídos após o início do consumo das infusões de erva-mate, sendo que quatro destes participantes apresentaram efeitos colaterais, como irritação da mucosa bucal ou gástrica ou enjôo; nove alteraram os hábitos alimentares ou a atividade física; e três modificaram a posologia da medicação em uso ou começaram a usar novos medicamentos. Após 20 dias de consumo de erva-mate, nove participantes desistiram por razões particulares.

#### 4.2.4 Protocolo Experimental

No início do estudo, foram realizadas três coletas de sangue dos voluntários, após jejum de 12-14 h, no período de um mês (tempos -30, -15 e 0), para a verificação e monitoramento dos valores do perfil lipídico e dos marcadores do estresse oxidativo e inflamatórios (período basal). Cada voluntário recebeu 120 pacotes plásticos contendo 25 g de folhas secas e moídas de erva-mate verde ou 10 g de erva-mate tostada e um copo-medida. Eles foram instruídos a preparar a infusão três vezes ao dia, adicionando 500 mL de água quente (85-90 °C) sobre o

conteúdo de cada pacote, conforme descrito acima, e ingerirem a dose de 330 mL, imediatamente antes, durante ou após as três principais refeições do dia, perfazendo um total de aproximadamente 1000 mL/dia.

No período anterior à ingestão da erva-mate (-30, -15 e 0 dias) e após 20 e 40 dias da ingestão, foram aferidos o peso corporal e a pressão sanguínea de todos os participantes, utilizando-se balança (Marte® PP180 - Santa Rita do Sapucaí/Brasil) e esfigmomanômetro (Embramac - Campinas/Brasil), respectivamente. A altura dos voluntários foi medida somente no início do estudo, para o cálculo do IMC ( $\text{peso}/\text{altura}^2$ ), com o uso de antropômetro (Seca® - Frankfurt, Alemanha). A pressão sanguínea foi verificada entre as 07h30min e 09h30min da manhã, após o participante permanecer por, pelo menos, 15 min sentado. Além disso, amostras de 20 mL de sangue foram coletadas, através da punção da veia intermédia do antebraço, com sistema a vácuo (Vacutainer-BD-São Paulo/Brasil), em tubos seco, com ácido etileno-diaminotetracético (EDTA) ou com citrato de sódio 3,2%, conforme apresentado na Figura 4. As amostras de sangue foram centrifugadas imediatamente (1000 g, 15 min) para a obtenção do soro ou plasma.



**Figura 4.** Protocolo experimental: Amostras de sangue foram coletadas antes (-30, -15 e 0 dias) da ingestão da infusão da erva-mate verde ou tostada, a fim de monitorar os valores basais de parâmetros do perfil lipídico e marcadores do estresse oxidativo e inflamatórios, e após 20 e 40 dias de consumo da infusão. O peso corporal e pressão arterial foram aferidos em todos os tempos (-30, -15, 0, 20 e 40 dias). Apolipoproteínas A-I e B-100, parâmetros hematológicos e bioquímicos (para a avaliação de glicemia, função renal e hepática) foram avaliados antes (-30 dias) e após o consumo da infusão de erva-mate (20 e 40 dias).

## 4.2.5 Análises Laboratoriais

### 4.2.5.1 Perfil Lipídico e Apolipoproteínas

As concentrações séricas de colesterol total e triglicerídeos foram determinadas por métodos enzimáticos, automatizados e colorimétricos (reação de Trinder), usando as enzimas colesterol-oxidase e glicerol fosfato oxidase, respectivamente, e o HDL-C foi determinado por método homogêneo, em equipamento automatizado *Wiener Analyzer*, de acordo com as instruções do fabricante (Wiener Laboratórios S.A.I.C - Rosario, Argentina). O LDL-C foi calculado pela equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972):  $(LDL = (CT - (HDL + TG/5))$  e o Não-HDL-C foi obtido pela diferença do CT e do HDL-C ( $Não-HDL-C = CT - HDL-C$ ). As concentrações séricas das apolipoproteínas A-1 e B-100

foram determinadas por nefelometria (Nefelômetro B 100 - Dade Behring - Marburg, Alemanha). Todos os resultados foram expressos em mg/dL.

#### 4.2.5.2 Demais Parâmetros Laboratoriais

As concentrações dos parâmetros bioquímicos (uréia, creatinina, glicose, ácido úrico e as atividades da enzimas AST, ALT, FA e GGT) e dos parâmetros hematológicos (hemograma completo) foram avaliadas pelos métodos usuais na rotina de laboratório, em equipamentos automatizados – *Wiener Analyzer* (Wiener Laboratórios S.A.I.C. - Rosario, Argentina) e *Sysmex XE-2100D* (Kobe, Japão), respectivamente, segundo as instruções dos fabricantes.

#### 4.2.5.3 Marcadores de Estresse Oxidativo

##### 4.2.5.3.1 Capacidade Antioxidante do Soro

A capacidade antioxidante sérica foi determinada através do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) de acordo com a técnica descrita por Benzie e Strain (1996). Em resumo, 10 µL de soro foram misturados com o reagente de trabalho ( $\text{FeCl}_3$ , TPTZ e tampão acetato de sódio) e a mistura foi incubada por 15 min em banho-maria 37 °C. A absorbância do produto colorido foi lida em 513 nm e o Trolox foi usado como padrão. Os resultados foram expressos em µmol/L.

##### 4.2.5.3.2 Hidroperóxidos Lipídicos

Os hidroperóxidos lipídicos presentes no plasma foram quantificados pelo método da oxidação do ferro com alaranjado de xilenol (FOX – do inglês, *Ferrous ion Oxidation in presence of Xylenol orange*), conforme descrito por Jiang, Hunt e Wolff (1992). O princípio do método baseia-se na rápida oxidação do  $\text{Fe}^{+2}$  a  $\text{Fe}^{+3}$  mediada pelos peróxidos lipídicos. O  $\text{Fe}^{+3}$  na presença de alaranjado de xilenol forma um complexo com absorbância máxima em 560 nm. Alíquotas de 90 µL de plasma foram misturadas com 10 µL de trifenilfosfina (TPP) 20 mM ou com 10 µL de metanol (branco da amostra). Os tubos foram agitados em agitador tipo vortex e mantidos em temperatura ambiente, no escuro, por 30 min, sendo submetidos à agitação a cada 10 min. Após este período, 900 µL de reagente de trabalho FOX, contendo

alaranjado de xilenol 1,0 mM e sulfato de ferro e amônio 2,5 mM, preparados em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 250 mM, e BHT 4,4 mM foram adicionados aos tubos. Em seguida, os tubos foram agitados em vortex e mantidos em temperatura ambiente, no escuro, por 60 min, com agitações subsequentes a cada 10 min. Após centrifugação (16000 g, 10 min), a absorbância do sobrenadante foi lida em 560 nm contra um branco composto por água deionizada. A concentração de hidroperóxidos lipídicos foi calculada pela diferença entre as absorbâncias das amostras com metanol (branco) e com TPP e utilizando-se o peróxido de hidrogênio como padrão. Os resultados foram expressos em µmol/L.

#### 4.2.5.3.3 *Proteínas Carboniladas*

A determinação das proteínas modificadas oxidativamente foi realizada através do método proposto por Levine et al. (1990). O método consiste na reação da 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) com as carbonilas das proteínas, formando hidrazonas que podem ser detectadas espectrofotometricamente. Alíquotas de 100 µL de plasma foram misturadas a 600 µL de DNPH 10 mM ou HCl 2 M (branco da amostra) e os tubos foram mantidos em temperatura ambiente, no escuro, por 60 min, com agitações regulares a cada 10 min. Em seguida, 600 µL de TCA 20% foram adicionados aos tubos, os quais foram novamente agitados em vortex, mantidos em temperatura ambiente, no escuro, por 10 min e centrifugados a 11000 g por 5 min a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado três vezes com 800 µL de etanol/acetato de etila (1:1), com incubações intermediárias de 10 min, T.A. e centrifugação a 15000 g, por 5 min a 4 °C. Em seguida, as proteínas precipitadas foram dissolvidas com 900 µL de guanidina 6,0 M, preparada em KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mM, sob agitação contínua a 37 °C, por 60 min. Após este período, os tubos foram centrifugados a 15000 g por 10 min a 4 °C e a absorbância do sobrenadante foi lida em 360 nm, contra a solução de guanidina 6,0 M. Para a determinação da quantidade de proteínas totais, o sobrenadante do tubo branco foi lido em 280 nm, utilizando albumina sérica bovina como padrão. A concentração de proteínas carboniladas foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar (ε) de 22000 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>, e os resultados foram expressos em µmol/mg.

#### 4.2.5.3.4 *Glutathiona Reduzida Sanguínea*

A glutathiona reduzida, forma majoritária de tióis de baixo peso molecular, foi quantificada no sangue total de acordo com o método descrito por Beutler, Duron e Kelly (1963). Alíquotas de sangue (300 µL) foram hemolizadas com água deionizada gelada e as proteínas foram precipitadas com TCA 20%. Após centrifugação (12000 g, 4 °C, 10 min), 50 µL do sobrenadante foram misturados com 50 µL de DTNB e 900 µL de tampão fosfato 0,2 M. A absorvância do ânion tiolato, formado após 3 min à T.A., foi medida em 412 nm contra o branco da reação. A concentração de GSH sanguínea foi calculada utilizando-se GSH comercial como padrão. Os resultados foram expressos em mmol/L.

#### 4.2.5.3.5 *Atividade Sérica da Enzima Paroxonase*

A atividade arilesterase da enzima paroxonase foi determinada de acordo com o método descrito por Gan et al. (1991). A reação foi iniciada com a adição de 20 µL de soro diluído 20 vezes em 2,0 mL de tampão Tris HCl 20 mmol/L, pH 8,0, contendo CaCl<sub>2</sub> 1 mmol/L e acetato de fenila 1 mmol/L, usado como substrato. A cinética da reação de formação do fenol foi monitorada com leituras a cada minuto durante 5 minutos, em comprimento de onda de 270 nm, a 25 °C. Para corrigir a hidrólise espontânea do acetato de fenila foi incluído um branco da reação. Para o cálculo da atividade, considerou-se o coeficiente de absorvância molar de  $1,31 \times 10^3 \text{ L.M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ . Os resultados foram expressos em U/mL, sendo que uma unidade arilesterase corresponde a 1 µmol de acetato de fenila hidrolisado por minuto, por mL de soro.

#### 4.2.5.4 Marcadores Inflamatórios

##### 4.2.5.4.1 *Proteína C Reativa ultra-sensível (PCR-us)*

A concentração da PCR-us foi quantificada em amostras de soro por nefelometria, de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em mg/L.

##### 4.2.5.4.2 *Fibrinogênio*

A concentração de fibrinogênio foi determinada através da análise da alteração do sinal óptico durante a determinação do tempo de protrombina, em coagulômetro da marca Sysmex,

modelo CA 1500, de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em mg/dL.

#### 4.2.6 Análise Estatística

A estatística descritiva foi apresentada na forma de média e erro-padrão ou mediana (valor mínimo e valor máximo). As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Os testes de Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov foram aplicados para testar a normalidade das variáveis contínuas. Quando necessário, utilizou-se a transformação logarítmica dos dados. Aos dados com distribuição gaussiana aplicou-se a análise de variância (ANOVA) para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey para verificar o efeito temporal da ingestão de erva-mate verde ou tostada (análise intra-grupos). Quando o tamanho da amostra impossibilitou a utilização da ANOVA para Medidas Repetidas, o teste *t* pareado de Student foi aplicado. Para os dados que apresentaram distribuição não-gaussiana, foram utilizados os testes não paramétricos de Friedman - *Repeated Measures ANOVA on Ranks* ou Willcoxon para as comparações intra-grupos. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pela ANOVA e teste complementar de Tukey ou por meio do teste de Kruskal-Wallis, para dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. Para as correlações entre as variáveis quantitativas utilizou-se o teste de correlação de Pearson (SOKAL; ROHLF, 1995). Para a avaliação das diferenças entre os constituintes e a capacidade antioxidante da erva-mate verde e da erva-mate tostada, utilizou-se o teste *t* de Student. Foi considerado um nível de significância menor que 5%. Para o tratamento estatístico dos dados, utilizou-se o software *Statistical Package for Social Science* (SPSS), versão 12.0.

# **RESULTADOS**

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ANÁLISE DO CONTEÚDO DE FENÓIS TOTAIS, SAPONINAS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS INFUSÕES DE ERVA-MATE

Os resultados referentes ao teor de fenóis totais, capacidade antioxidante total e saponinas presentes nas infusões de erva-mate verde e tostada, preparadas na proporção de 50 mg/mL e 20 mg/mL, respectivamente, estão representados na Tabela 1. As determinações foram realizadas em duplicata ou triplicata (saponinas) em 8-10 diferentes infusões (extrações). Como é possível observar, a erva-mate verde contém maior concentração de fenóis totais e, por consequência, maior capacidade antioxidante, bem como maior conteúdo de saponinas do que a erva-mate tostada (aproximadamente duas a três vezes para as três variáveis;  $p < 0,001$ ), com base no mesmo volume das infusões.

**Tabela 1-** Conteúdo de fenóis totais, saponinas e capacidade antioxidante total das infusões de erva-mate verde e tostada.

Infusões	Fenóis Totais (mg/mL)	Capacidade Antioxidante Total		Saponinas Totais (mg/mL)
		TEAC (mmol/L)	FRAP ( $\mu$ mol/L)	
Erva-mate verde	5,5 $\pm$ 0,2	18,1 $\pm$ 0,2	31,5 $\pm$ 1,1	0,394 $\pm$ 0,037
Erva-mate tostada	1,7 $\pm$ 0,1*	4,1 $\pm$ 0,03*	10,6 $\pm$ 0,1*	0,152 $\pm$ 0,014*

Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão de 8-10 determinações de diferentes extrações, em duplicata (fenóis e capacidade antioxidante) ou triplicata (saponinas). \* $P < 0,001$ ; teste t de Student. TEAC = Trolox equivalent antioxidant capacity; FRAP = Ferric reducing antioxidant potential.

### 5.2 CARACTERÍSTICAS BIODEMOGRÁFICAS DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO

Oitenta indivíduos participaram efetivamente da pesquisa, sendo 27 homens e 53 mulheres, com idade de 47,2  $\pm$  1,4 anos, IMC de 25,5  $\pm$  0,4 kg/m<sup>2</sup> e pressão arterial sistólica de 117,1  $\pm$  1,5 mmHg e diastólica de 77,1  $\pm$  1,1 mmHg. Do total de indivíduos participantes, 16 fizeram uso de erva-mate verde e 64 consumiram a infusão de erva-mate tostada.

As características biodemográficas estão representadas na Tabela 2. Como pode ser observado, não houve diferença significativa entre os diferentes grupos de estudo para os parâmetros idade, pressão arterial sistólica e diastólica (ANOVA e teste complementar de Tukey), tabagismo, histórico familiar de DAC e sedentarismo (Teste do  $\chi^2$ ). Por outro lado, os indivíduos dislipidêmicos em uso de estatina apresentaram peso corpóreo e IMC maior (cerca

de 25 e 20%, respectivamente) em relação aos normolipidêmicos que consumiram erva-mate tostada; e IMC maior (aproximadamente 27%) em relação aos normolipidêmicos que consumiram erva-mate verde ( $p < 0,05$ ; Tabela 2).

**Tabela 2-** Características biodemográficas dos participantes no início do estudo.

	Grupos				
	NLP- EMV	NLP-EMT	DLP-EMV	DLP-EMT	DLP-E
Número (M/F)	0/4	1/10	7/5	12/24	7/10
Idade (anos)	40,7 ± 5,1	42,4 ± 4,0	44,3 ± 2,9	46,4 ± 2,0	55,3 ± 3,5
Peso (kg)	56,8 ± 6,2	60,7 ± 2,6	71,5 ± 5,6	69,9 ± 2,2	76,1 ± 3,0*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,0 ± 1,3	23,3 ± 0,8	24,9 ± 1,4	25,6 ± 0,6	28,0 ± 0,8**
PAS (mmHg)	103,3 ± 3,3	111,6 ± 4,1	117,9 ± 3,9	116,7 ± 2,2	123,0 ± 3,2
PAD (mmHg)	75,0 ± 2,9	70,2 ± 2,6	79,2 ± 3,2	77,0 ± 1,6	80,1 ± 2,4
Tabagismo	1 (25%)	1 (9,1%)	1 (8,3%)	2 (5,6%)	1 (5,9%)
Histórico Familiar de DAC	2 (50%)	8 (72,7%)	6 (50%)	28 (77,8%)	11 (64,7%)
Sedentarismo	1 (25%)	4 (36,4%)	3 (25%)	15 (41,5%)	6 (35,3%)

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão; M/F = masculino/feminino; IMC = Índice de massa corporal; PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica; DAC = Doença arterial coronariana. NLP-EMV e NLP-EMT = Normolipidêmicos que ingeriram erva-mate verde e tostada, respectivamente. DLP-EMV e DLP-EMT = Dislipidêmicos que ingeriram erva-mate verde e tostada, respectivamente. DLP-E = Dislipidêmicos em uso de estatina que ingeriram erva-mate tostada. \*P < 0,05 comparado ao grupo NLP-EMT; \*\*P < 0,05 comparado ao grupo NLP-EMV e NLP-EMT (ANOVA e teste complementar de Tukey).

### 5.3 EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NA PRESSÃO ARTERIAL E PESO CORPÓREO

O efeito do consumo da infusão de erva-mate verde na pressão arterial sistólica e diastólica foi semelhante ao efeito promovido pela erva-mate tostada (resultados não mostrados) e, desta forma, os dados foram combinados (Tabela 3). A ingestão de erva-mate por 40 dias reduziu, em média, 2,2% os valores da pressão arterial sistólica ( $p = 0,05$ ), de aproximadamente 117 para 114 mmHg, mas não modificou a pressão diastólica. Os resultados da pressão arterial sistólica e diastólica foram semelhantes para os indivíduos NLP e DLP (dados não mostrados).

**Tabela 3-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na pressão arterial dos participantes.

	<b>Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate</b>			
	<b>Basal</b> (n = 80)	<b>20 dias</b> (n = 80)	<b>Basal</b> (n = 71)	<b>40 dias</b> (n = 71)
PAS (mmHg)	117,1 ± 1,5	117,1 ± 1,5	116,7 ± 1,7	114,1 ± 1,5*
PAD (mmHg)	75,0 (59–110)	80,0 (60–110)	75,7 (59–110)	78,0 (58–110)

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão para PAS e mediana (valor mínimo – valor máximo) para a PAD. n = número de participantes; PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica. \*P = 0,05 comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias. Nesta e nas Tabelas seguintes, bem como nas Figuras, a presença de dois valores basais é devido ao número diferente de participantes nos tempos 20 e 40 dias.

A Tabela 4 mostra os resultados referentes ao peso corpóreo. A ingestão da infusão de erva-mate tostada pelos indivíduos dislipidêmicos sem uso de estatina, durante 40 dias reduziu o peso corpóreo em média em 0,7 kg, equivalente a 1,0% ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças estatísticas para os demais grupos (Tabela 4).

**Tabela 4-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada, no peso corporal dos participantes.

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
NLP	59,7 ± 2,4 (n = 15)	59,7 ± 2,4	58,6 ± 2,4 (n = 14)	58,2 ± 2,4
DLP-EMV	71,5 ± 5,6 (n = 12)	71,8 ± 5,4	72,2 ± 7,5 (n = 9)	72,2 ± 7,4
DLP-EMT	69,7 ± 2,2 (n = 36)	69,3 ± 2,2	70,6 ± 2,3 (n = 32)	69,9 ± 2,3*
DLP-E	76,1 ± 3,0 (n = 17)	76,2 ± 3,0	77,3 ± 2,9 (n = 16)	76,9 ± 2,9

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes; NLP = Normolipidêmicos que consumiram erva-mate verde ou tostada (dados combinados); DLP-EMV e DLP-EMT = Dislipidêmicos que ingeriram erva-mate verde e tostada, respectivamente; DLP-E = Dislipidêmicos usuários de estatina que consumiram erva-mate tostada. \*P = 0,004 comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

#### 5.4 EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NO PERFIL LIPÍDICO

##### 5.4.1 Indivíduos Normolipidêmicos ou Dislipidêmicos sem Uso de Estatina

A Tabela 5 e a Figura 5 apresentam os resultados da avaliação laboratorial do perfil lipídico dos participantes normolipidêmicos e dislipidêmicos sem uso de estatina, antes e após o consumo da infusão de erva-mate.

Para avaliação do efeito da erva-mate em um número maior de participantes, os dados foram combinados para ambas as ervas, verde e tostada. Os resultados mostraram que no grupo dos indivíduos normolipidêmicos houve redução média de 9,9 e 8,3 mg/dL (-8,7 e -7,4%) no LDL-C e diminuição de aproximadamente 12 e 9% na relação LDL-C/HDL-C após 20 e 40 dias, respectivamente ( $p < 0,05$ ). Porém, não houve variação expressiva nos valores de colesterol total, HDL-C, Não-HDL-C e triglicerídeos ( $p > 0,05$ ; Tabela 5 e Figura 5A).

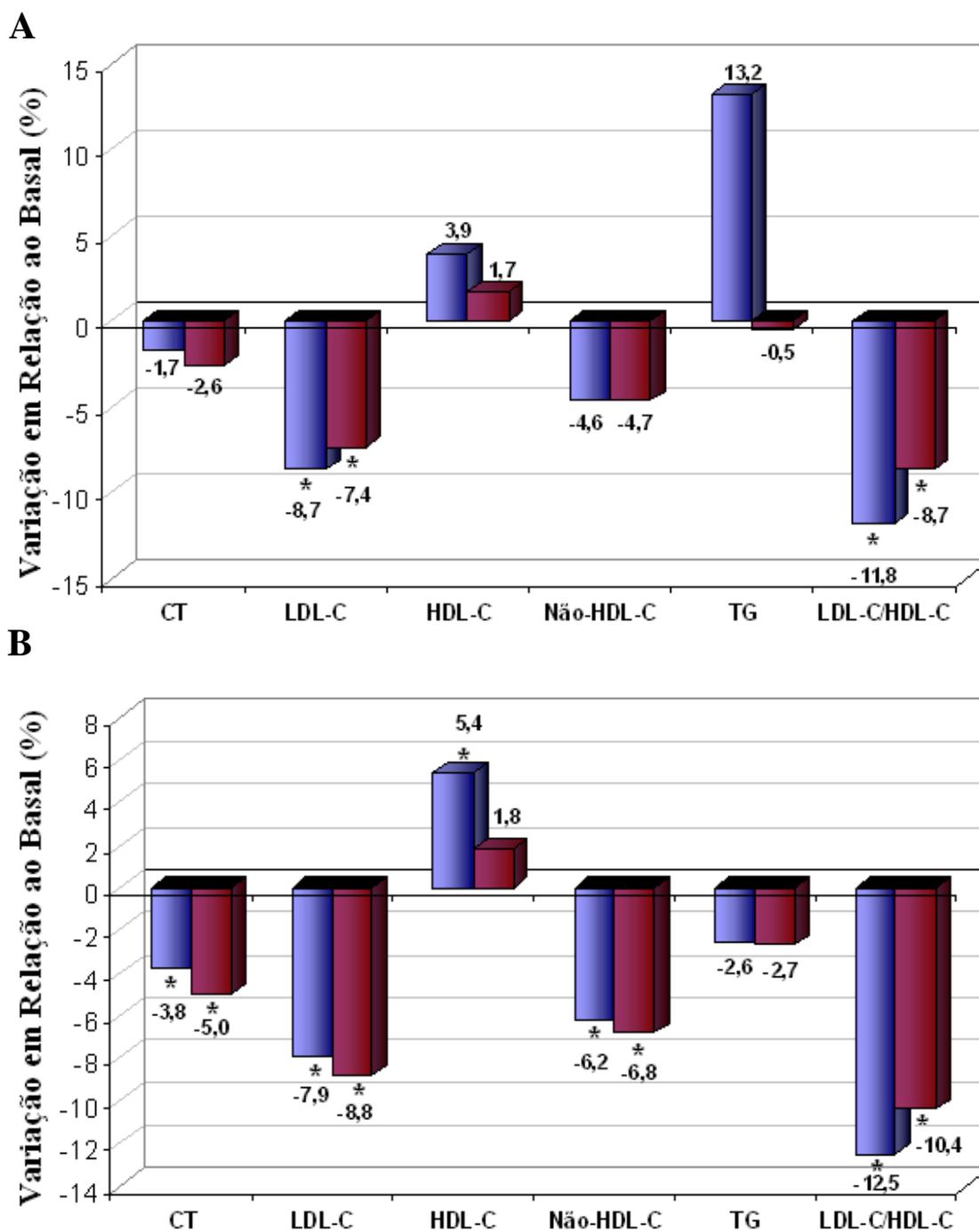
No grupo DLP, a ingestão de erva-mate provocou redução média de 8,9 e 11,9 mg/dL (-3,8 e -5%) no colesterol total, após 20 e 40 dias, respectivamente ( $p < 0,01$ ); redução de 12,6 e 14,4 mg/dL (-7,9 e -8,8%) no LDL-C, após 20 e 40 dias, respectivamente ( $p < 0,001$ ); aumento de 2,6 mg/dL (5,4%) no HDL-C, após 20 dias ( $p < 0,01$ ). A ingestão das infusões de

erva-mate também provocou reduções significativas nos valores de Não-HDL-C de 11,5 e 12,8 mg/dL (-6,2 e -6,8%) e na relação LDL-C/HDL-C de 12,5 e 10,4%, após 20 e 40 dias, respectivamente ( $p < 0,01$ ) e ausência de variação nos valores de triglicérides ( $p > 0,05$ ; Tabela 5; Figura 5B).

**Tabela 5-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), no perfil lipídico sérico de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.

	Colesterol (mg/dL)				Triglicerídeos (mg/dL)	LDL-C/HDL-C
	Total	LDL	HDL	Não-HDL		
<i>Normolipidêmicos</i>						
Basal (n = 15)	195,9 ± 7,4	114,3 ± 4,7	67,0 ± 3,7	128,9 ± 4,7	84,4 ± 6,8	1,70 ± 0,10
Após 20 dias (n = 15)	192,6 ± 9,3	104,4 ± 7,4*	69,6 ± 4,0	123,0 ± 7,5	95,5 ± 8,0	1,50 ± 0,12**
Basal (n = 14)	192,1 ± 6,9	112,4 ± 4,7	65,3 ± 3,6	126,8 ± 4,5	83,9 ± 7,3	1,72 ± 0,10
Após 40 dias (n = 14)	187,2 ± 9,1	104,1 ± 7,6*	66,4 ± 3,6	120,8 ± 7,1	83,5 ± 7,8	1,57 ± 0,11*
<i>Dislipidêmicos</i>						
Basal (n = 48)	233,1 ± 5,0	158,8 ± 4,9	48,4 ± 1,5	184,8 ± 4,8	152,6 ± 12,0	3,28 ± 0,19
Após 20 dias (n = 48)	224,2 ± 4,7**	146,2 ± 4,7**	51,0 ± 1,6**	173,3 ± 4,6**	148,6 ± 10,9	2,87 ± 0,10**
Basal (n = 41)	237,1 ± 6,1	164,4 ± 5,8	48,6 ± 1,8	188,6 ± 5,8	149,6 ± 13,0	3,38 ± 0,19
Após 40 dias (n = 41)	225,2 ± 6,0**	150,0 ± 5,8**	49,5 ± 2,0	175,8 ± 5,8**	145,5 ± 12,3	3,03 ± 0,19**

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes; LDL-C/HDL-C = Razão entre a fração do colesterol associada à LDL e HDL. \*P < 0,05 e \*\*P < 0,01 comparado ao respectivo valor basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.



**Figura 5.** Variação percentual média dos valores de parâmetros lipídicos dos indivíduos normolipidêmicos (A) ou dislipidêmicos (B) após o consumo por 20 e 40 dias de infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), comparado aos seus respectivos valores basais (sem consumo de erva-mate; média de três determinações com intervalo de 15 dias). CT = Colesterol total; LDL-C = LDL-colesterol; HDL-C = HDL-colesterol; Não-HDL-C = Não-HDL colesterol; TG = Triglicerídeos; LDL-C/HDL-C = Razão entre a fração do colesterol associada à LDL e HDL. \*P < 0,05 (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey).

Da análise diferenciada entre os dois tipos de erva-mate, pode-se observar que no grupo NLP a erva-mate verde foi responsável pela redução significativa de 16,7 mg/dL de colesterol total (-9,0%), de 17,5 mg/dL de LDL-C (-16,4%) e do parâmetro Não-HDL-C de 16,8 mg/dL (-13,8%) após 40 dias de consumo desta erva-mate ( $p < 0,05$ ; Tabela 6). Alterações mais expressivas para o HDL-C e triglicerídeos foram observados após 20 dias, com o aumento não significativo de 6,3 mg/dL (9,8%) de HDL-C e elevação significativa de 32,2% nos triglicerídeos ( $p < 0,05$ ; Tabela 6). Para a relação LDL-C/HDL-C houve redução de 27,3% após 20 dias e de 16,4% após 40 dias, porém sem diferença estatística ( $p > 0,05$ ; Tabela 6).

Os indivíduos dislipidêmicos que consumiram a erva-mate verde apresentaram, por sua vez, diminuição significativa de LDL-C em 14,8 mg/dL (-9,3%), de 12,4 mg/dL (-6,8%) de Não-HDL-C e de 17,3% da relação LDL-C/HDL-C após 20 dias de ingestão ( $p < 0,05$ ; Tabela 6); e aumento não significativo de HDL-C em 4,0 mg/dL (9,6%) e de triglicerídeos em 3,7 mg/dL (2,5%) após este mesmo período (Tabela 6).

**Tabela 6-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde no perfil lipídico sérico de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.

	Colesterol (mg/dL)				Triglicerídeos (mg/dL)	LDL-C/HDL-C
	Total	LDL	HDL	Não-HDL		
<i>Normolipidêmicos</i>						
Basal	186,5 ± 15,4	106,5 ± 6,4	64,5 ± 8,0	122,0 ± 7,9	77,5 ± 14,6	1,65 ± 0,15
Após 20 dias (n = 4) <sup>a</sup>	-12 ± 2,4	-21,3 ± 5,3	6,3 ± 1,3	-18,2 ± 2,2	25,0 ± 10,5*	-27,3 ± 0,01
Após 40 dias (n = 4) <sup>a</sup>	-16,7 ± 2,5**	-17,5 ± 2,8**	0,0 ± 1,2	-16,8 ± 0,5**	3,5 ± 1,6	-16,4 ± 0,01
<i>Dislipidêmicos</i>						
Basal	224,6 ± 11,6	159,4 ± 11,3	41,7 ± 2,6	182,9 ± 10,8	148,4 ± 22,4	3,82 ± 0,30
Após 20 dias (n = 12) <sup>a</sup>	-8,4 ± 1,2	-14,8 ± 3,1*	4,0 ± 0,8	-12,4 ± 1,7*	3,7 ± 1,9	-17,3 ± 0,01**
Após 40 dias (n = 9) <sup>a</sup>	2,1 ± 0,4	1,1 ± 0,3	0,2 ± 0,1	1,9 ± 0,4	0,8 ± 0,3	0,3 ± 0,01

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes; LDL-C/HDL-C = Razão entre a fração do colesterol associada à LDL e HDL. \*P < 0,05 e \*\*P < 0,02 comparado aos respectivos valores basais (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey (Dislipidêmicos) ou teste *t* pareado de Student (Normolipidêmicos)). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias. <sup>a</sup>Diferença em relação ao respectivo basal, em mg/dL, exceto para a relação LDL-C/HDL-C, onde as diferenças estão expressas em valores percentuais.

Por outro lado, a ingestão de erva-mate tostada foi efetiva somente para o grupo DLP, onde diminuiu de maneira significativa o colesterol total em 9,1 mg/dL (-3,8%), o LDL-C em 12,0 mg/dL (-7,6%) e as variáveis Não-HDL-C em 11,2 mg/dL (-6,0%) e relação LDL-C/HDL-C em 11,5% após 20 dias ( $p < 0,05$ ; Tabela 7). Após 40 dias, o consumo de erva-mate tostada promoveu diminuições significativas de colesterol total em 16,5 mg/dL (-7,0%), de LDL-C em 19,3 mg/dL (-12,2%), do parâmetro Não-HDL-C em 17,7 mg/dL (-9,5%) e da relação LDL-C/HDL-C em 14% ( $p < 0,05$ ; Tabela 7). Além disso, a ingestão de erva-mate tostada pelos participantes do grupo DLP promoveu o aumento não significativo do HDL-C (2,2 mg/dL; 4,3%) após 20 dias (Tabela 7).

**Tabela 7-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate tostada no perfil lipídico sérico de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.

	Colesterol (mg/dL)				Triglicerídeos (mg/dL)	LDL-C/HDL-C
	Total	LDL	HDL	Não-HDL		
<i>Normolipidêmicos</i>						
Basal	199,3 ± 8,7	117,1 ± 6,0	67,9 ± 4,4	131,4 ± 5,7	86,9 ± 7,9	1,72 ± 0,13
Após 20 dias (n = 11) <sup>a</sup>	-0,1 ± 0,02	-5,7 ± 1,4	1,3 ± 0,2	-1,4 ± 0,2	6,1 ± 1,8	-6,4 ± 0,01
Após 40 dias (n = 10) <sup>a</sup>	-0,1 ± 0,02	-4,7 ± 1,3	1,6 ± 0,3	-1,7 ± 0,2	-1,9 ± 0,6	-5,8 ± 0,01
<i>Dislipidêmicos</i>						
Basal	236,0 ± 5,4	158,7 ± 5,4	50,6 ± 1,7	185,4 ± 5,4	154,0 ± 14,3	3,14 ± 0,17
Após 20 dias (n = 36) <sup>a</sup>	-9,1 ± 1,3**	-12,0 ± 2,6**	2,2 ± 0,4	-11,2 ± 1,1**	-6,6 ± 3,4	-11,5 ± 0,01**
Após 40 dias (n = 32) <sup>a</sup>	-16,5 ± 2,5**	-19,3 ± 4,0**	1,1 ± 0,2	-17,7 ± 2,1**	-5,7 ± 2,9	-14,0 ± 0,01**

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes; LDL-C/HDL-C = Razão entre a fração do colesterol associada à LDL e HDL. \*P < 0,05, \*\*P < 0,02 comparados aos respectivos valores basais (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias. <sup>a</sup>Diferença em relação ao respectivo basal, em mg/dL, exceto para a relação LDL-C/HDL-C, onde as diferenças estão expressas em valores percentuais.

Aparentemente, o consumo de erva-mate verde promoveu efeito diferente nas variáveis lipídicas em relação ao consumo da erva-mate tostada. Da mesma forma, parece que os indivíduos normolipidêmicos responderam diferentemente à erva-mate verde em comparação à erva-mate tostada ou em comparação aos indivíduos dislipidêmicos. Essas potenciais diferenças foram avaliadas considerando os percentuais de variação em relação aos valores basais para os parâmetros LDL-C, HDL-C e Não-HDL-C após 20 e 40 dias de consumo de cada tipo de erva-mate pelos indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos (Tabela 8). Em relação às comparações entre os dois tipos de erva-mate estudados, os resultados mostraram que os participantes do grupo DLP que ingeriram erva-mate tostada apresentaram diminuição significativa nos valores séricos do LDL-C e do Não-HDL-C, após 40 dias, em comparação àqueles indivíduos DLP que consumiram a erva-mate verde ( $p = 0,02$ ; Tabela 8). Não houve diferença estatisticamente significativa para os valores de HDL-C no grupo DLP entre os indivíduos que consumiram erva-mate verde e aqueles que usaram a erva-mate tostada. No grupo NLP, o efeito da ingestão da erva-mate verde nas variáveis LDL-C, HDL-C e Não-HDL-C foi semelhante ( $p > 0,05$ ) à erva-mate tostada (Tabela 8).

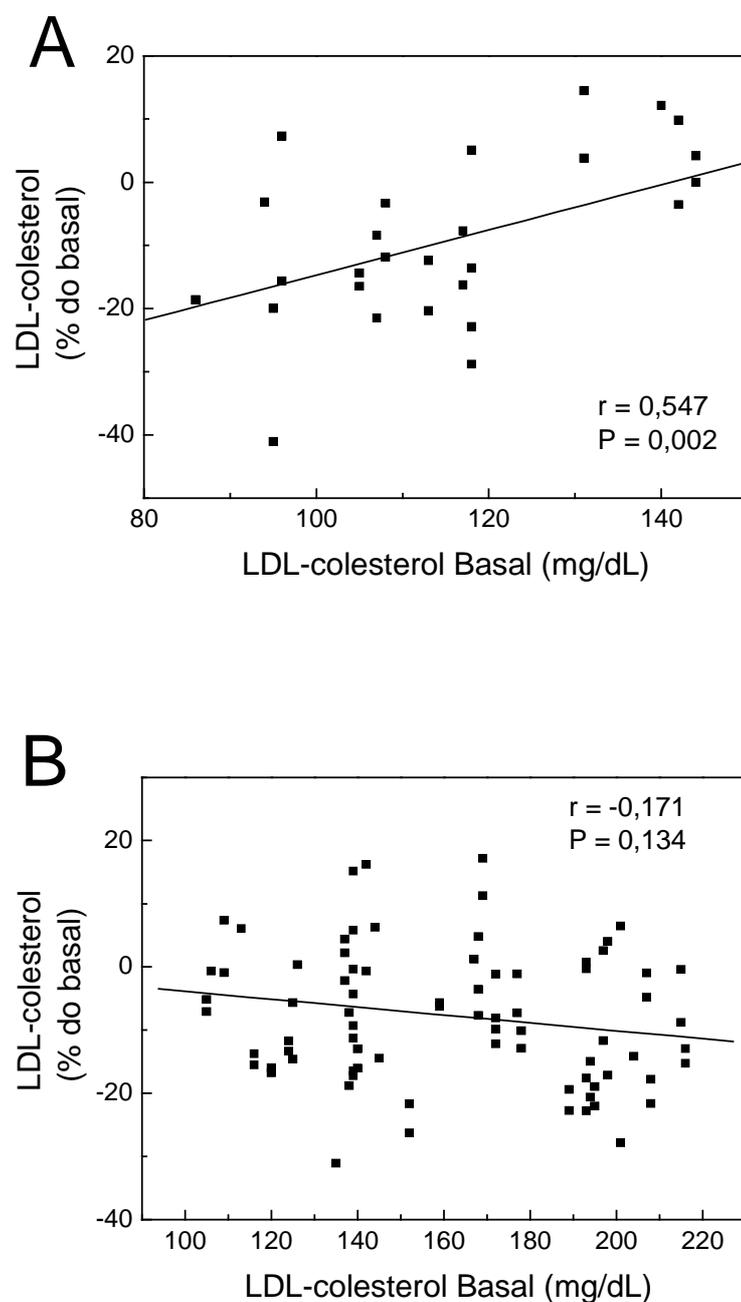
Em relação às comparações entre indivíduos NLP e DLP, as diferenças não se mostraram estatisticamente significativas, independente do tipo de erva-mate consumida (Tabela 8). Apesar do melhor efeito da erva-mate verde na redução do LDL-C e Não-HDL-C nos indivíduos NLP em comparação aos DLP, essas aparentes diferenças (ou ausências de diferenças estatisticamente significativas) devem ser interpretadas com cautela devido ao pequeno número de indivíduos que fizeram uso da erva-mate verde, particularmente do grupo NLP.

**Tabela 8-** Efeito da ingestão de erva-mate verde ou tostada nas concentrações de LDL-C, HDL-C e Não-HDL-C entre os participantes normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.

	Variação em Relação ao Basal (%)			
	Normolipidêmicos		Dislipidêmicos	
	Após 20 dias	Após 40 dias	Após 20 dias	Após 40 dias
<i>LDL-C</i>				
Erva-mate verde	-19,7 ± 10,3 (n = 4)	-16,5 ± 3,3 (n = 4)	-8,3 ± 2,6 (n = 12)	0,8 ± 2,9 (n = 9)
Erva-mate tostada	-5,9 ± 3,1 (n = 11)	-5,5 ± 4,0 (n = 10)	-7,3 ± 1,9 (n = 36)	-11,4 ± 2,0* (n = 32)
<i>HDL-C</i>				
Erva-mate verde	10,7 ± 5,2 (n = 4)	0,3 ± 3,4 (n = 4)	10,5 ± 4,2 (n = 12)	0,3 ± 5,2 (n = 9)
Erva-mate tostada	2,2 ± 4,0 (n = 11)	2,7 ± 2,6 (n = 10)	5,0 ± 2,0 (n = 36)	2,6 ± 2,4 (n = 32)
<i>Não-HDL-C</i>				
Erva-mate verde	-15,2 ± 5,9 (n = 4)	-13,7 ± 2,4 (n = 4)	-5,8 ± 2,4 (n = 12)	1,5 ± 1,5 (n = 9)
Erva-mate tostada	-1,9 ± 3,1 (n = 11)	-2,2 ± 3,2 (n = 10)	-5,9 ± 1,5 (n = 36)	-9,2 ± 2,0* (n = 32)

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes; LDL-C = LDL-colesterol; HDL-C = HDL-colesterol; Não-HDL-C = Não-HDL colesterol. \*P < 0,05 comparado ao respectivo período de tempo do grupo Dislipidêmico que consumiu erva-mate verde (ANOVA e teste complementar de Tukey). Comparações entre Normolipidêmicos e Dislipidêmicos não foram significativas.

Foi levantada a hipótese de que o grau de hipercolesterolemia dos indivíduos (com base nos valores séricos de LDL-C) poderia influenciar o efeito hipocolesterolêmico da erva-mate. Assim, foi realizada análise de associação entre os valores de LDL-C iniciais e a variação percentual provocada pela ingestão das infusões de erva-mate verde ou tostada. A Figura 6 mostra que houve correlação significativa entre os valores basais de LDL-C (mg/dL) e o grau da variação de LDL-C sérico provocada pela ingestão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados) somente para os indivíduos normolipidêmicos ( $r = 0,547$ ;  $p = 0,002$ ).

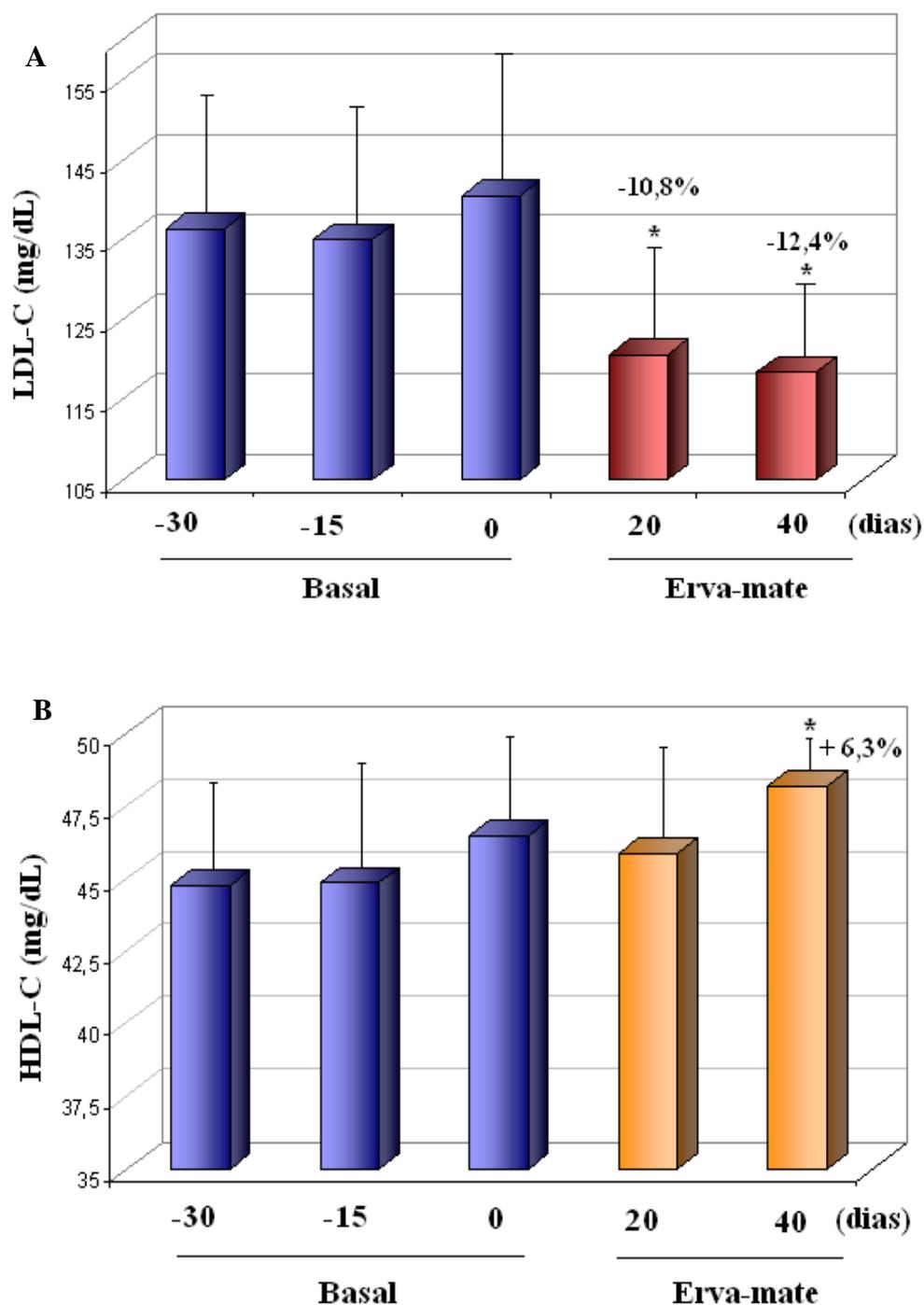


**Figura 6.** Associação entre a concentração sérica basal de LDL-C e a variação dos valores de LDL-C provocada pela ingestão das infusões de erva-mate verde ou tostada (dados combinados), após 20 e 40 dias, em indivíduos normolipidêmicos (A) ou dislipidêmicos (B) (Correlação de Pearson).

#### 5.4.2 Indivíduos Dislipidêmicos em Uso de Estatina (DLP-E)

A Figura 7 apresenta os resultados do efeito somatório da erva-mate e de estatinas na redução de LDL-C (A) e aumento do HDL-C (B) em indivíduos dislipidêmicos em uso de

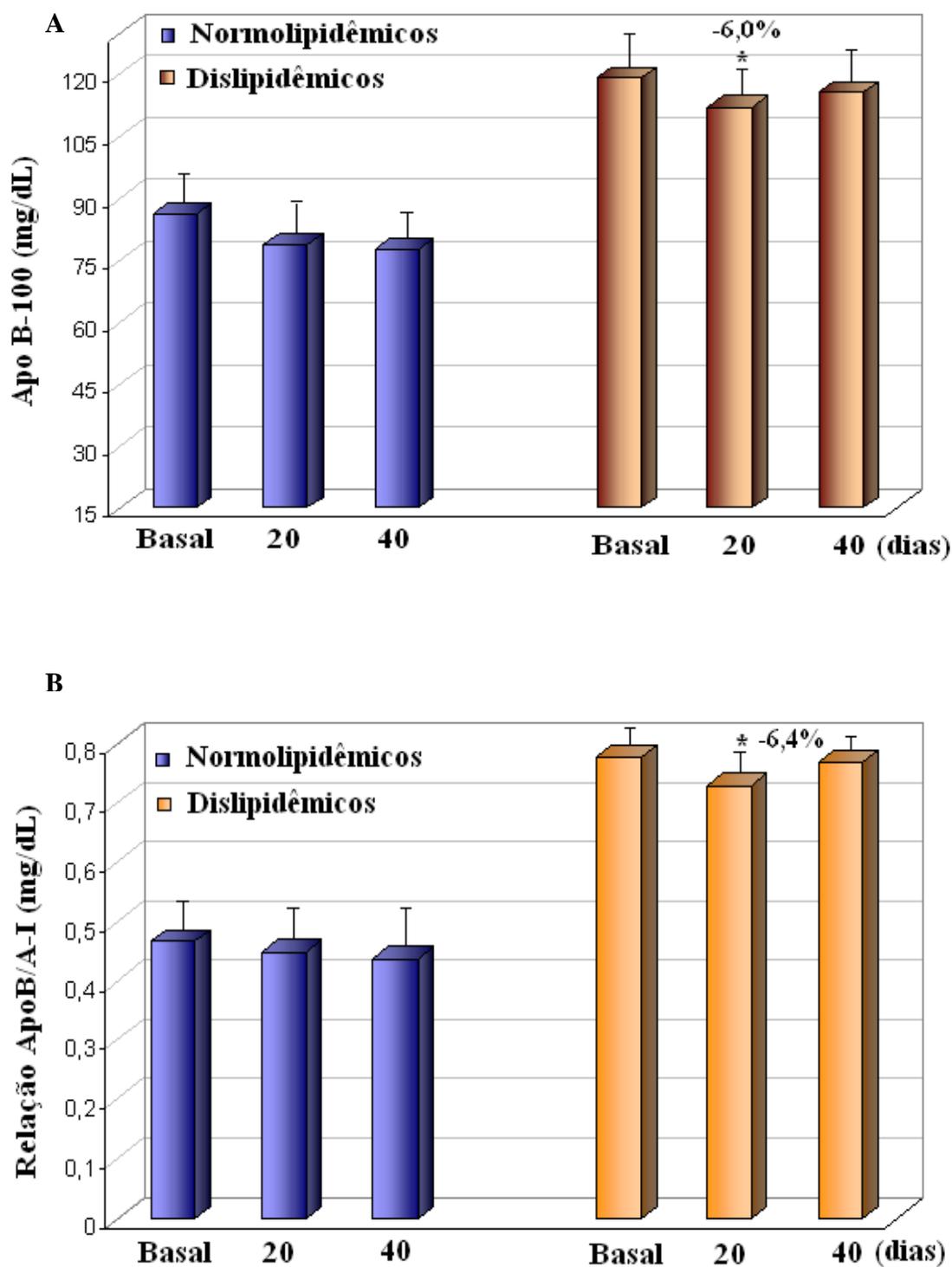
estatinas há cerca de seis meses. As estatinas e as doses diárias utilizadas foram sinvastatina 10 mg, atorvastatina 20 mg e lovastatina 40 mg. Pode-se observar que o uso das estatinas manteve os valores de LDL-C constantes durante o período basal de 30 dias. O consumo de erva-mate tostada pelos 17 voluntários com dislipidemia, concomitante ao uso das estatinas, promoveu diminuição média de 14,6 mg/dL de LDL-C, equivalente a 10,8% ( $135,4 \pm 15,1$  mg/dL *versus*  $120,8 \pm 12,9$  mg/dL;  $p = 0,009$ ) após 20 dias e 18,6 mg/dL (-12,4%) após 40 dias ( $p = 0,04$ ). Para o parâmetro HDL-C houve aumento em 2,7 mg/dL, equivalente a 6,3%, após 40 dias ( $p = 0,006$ ; Figura 7). Além disso, os participantes deste grupo apresentaram diminuição da relação LDL-C/HDL-C em  $19,9 \pm 0,1\%$  após 40 dias ( $p < 0,01$ ; dados não mostrados). Para os demais parâmetros do perfil lipídico, como colesterol total, triglicerídeos e Não-HDL-C, as alterações observadas não foram significativas (resultados não mostrados).



**Figura 7.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate tostada em indivíduos com dislipidemia usuários de estatina (DLP-E; n=17) nos parâmetros LDL-C (A) e HDL-C (B). Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n= número de participantes; LDL-C = LDL-colesterol; HDL-C = HDL-colesterol. \*P < 0,05 comparado aos valores basais (sem consumo de estatina) ou à média deles (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey).

## 5.5 EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NAS APOLIPOPROTEÍNAS A-I E B-100

A Figura 8 mostra os resultados relativos ao efeito da ingestão de infusão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados) nas concentrações séricas da apolipoproteína B-100 (A) e da relação Apo B/apo A-I (B) em voluntários normolipidêmicos (n=7) e dislipidêmicos (n=22). Devido ao alto custo dos reagentes e padrões, o número de amostras foi diminuído de forma aleatória. Os indivíduos normolipidêmicos não apresentaram alterações significativas na concentração de apo B-100 ou na relação apo B/apo A-I após 20 dias de consumo da infusão de erva-mate, entretanto, estes indivíduos tiveram redução significativa da apo A-I ( $187,7 \pm 14,0$  mg/dL *versus*  $180,6 \pm 13,4$  mg/dL;  $p = 0,03$ ; dados não mostrados) ao final deste tempo. Por outro lado, os indivíduos com dislipidemia apresentaram diminuição da apo B-100 (-6,0%;  $p < 0,05$ ) e da relação apo B/apo A-I (-6,4%;  $p < 0,05$ ) após 20 dias de consumo de erva-mate verde ou tostada (Figura 8). Não houve alteração significativa após 40 dias de consumo da erva-mate nas concentrações de apolipoproteínas A-I ou B-100, assim como na relação ApoB/apo A-I para ambos os grupos.



**Figura 8.** Efeito da ingestão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados), durante 20 e 40 dias, nos parâmetros Apo B-100 (A) e índice Apo B/apo A-I (B) em indivíduos normolipidêmicos ( $n = 7$ ) ou dislipidêmicos ( $n = 22$ ). Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão.  $n =$  número de participantes; Apo B-100 = Apolipoproteína B-100; Apo B/apo A-I = relação apolipoproteína B/apolipoproteína A-I. \* $P < 0,05$  comparados aos respectivos valores basais (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey).

## 5.6 EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NOS DEMAIS PARÂMETROS LABORATORIAIS

Os resultados descritos na Tabela 9 mostram o efeito da ingestão de erva-mate verde ou tostada em vários parâmetros laboratoriais. A análise individualizada em relação ao tipo de erva-mate (verde ou tostada), ao gênero e aos grupos de estudo (normolipidêmicos ou dislipidêmicos, usuários ou não de estatina) não mostrou diferenças significativas e, dessa forma, os dados foram combinados.

No início do estudo, todos os participantes apresentaram valores de uréia, creatinina, transaminases, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, glicemia e parâmetros hematológicos dentro da faixa de valores de referência, segundo descrição do fabricante (KAPLAN; PESCE, 1996; LEE et al., 1998). O consumo por 20 e 40 dias das infusões de erva-mate não provocou alterações significativas na atividade das enzimas hepáticas, da creatinina e da glicose. Por outro lado, a ingestão da infusão de erva-mate diminuiu significativamente os valores de uréia após 20 (-10,8%;  $p < 0,001$ ) e 40 dias (-8,4%;  $p < 0,001$ ). Em relação aos parâmetros hematológicos, a ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate promoveu redução do hematócrito em aproximadamente 1,6% ( $p = 0,026$ ) e aumento dos leucócitos no sangue periférico (3,2%;  $p = 0,032$ ) após 20 dias de ingestão (Tabela 9).

**Tabela 9-** Parâmetros bioquímicos e hematológicos antes e após a ingestão da infusão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados).

Parâmetros Laboratoriais	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal (n = 80)	20 dias	Basal (n = 71)	40 dias
<i>Parâmetros Bioquímicos</i>				
AST (U/L)	22,1 ± 0,9	21,8 ± 1,0	21,8 ± 0,9	22,1 ± 0,8
ALT (U/L)	28,4 ± 2,0	28,9 ± 2,2	26,2 ± 1,8	27,5 ± 2,0
FA (U/L)	126,7 ± 9,7	124,6 ± 9,3	131,7 ± 9,9	129,3 ± 9,9
GGT (U/L)	27,1 ± 1,9	25,4 ± 1,7	26,4 ± 1,8	26,5 ± 2,0
Uréia (mg/dL)	35,2 ± 1,5	31,4 ± 1,3*	35,5 ± 1,7	32,5 ± 1,4*
Creatinina (mg/dL)	0,8 ± 0,02	0,8 ± 0,03	0,8 ± 0,02	0,9 ± 0,03
Glicose (mg/dL)	94,8 ± 1,8	94,1 ± 2,0	94,0 ± 1,6	96,5 ± 2,2
Ácido úrico (mg/dL)	5,0 ± 0,2	5,0 ± 0,2	5,2 ± 0,2	5,1 ± 0,2
<i>Parâmetros Hematológicos</i>				
Hemáceas (mil/mm <sup>3</sup> )	4,6 ± 0,05	4,6 ± 0,06	4,6 ± 0,06	4,6 ± 0,06
Hemoglobina (g/dL)	13,7 ± 0,2	13,6 ± 0,2	13,7 ± 0,2	13,6 ± 0,2
Hematócrito (%)	41,0 ± 0,5	40,4 ± 0,5*	41,1 ± 0,6	40,4 ± 0,6*
Leucócitos (x 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup> )	6,2 ± 0,3	6,4 ± 0,3*	6,1 ± 0,3	6,0 ± 0,2
Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup> )	253,8 ± 9,6	255,6 ± 9,1	253,1 ± 9,9	261,7 ± 9,9

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes; AST = Aspartato aminotransferase; ALT = Alanina aminotransferase; FA = Fosfatase alcalina; GGT = gama-glutamil transferase. \*P < 0,05 comparado ao respectivo valor basal (sem consumo de erva-mate; ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey).

## 5.7 EFEITO DO CONSUMO DA INFUSÃO DE ERVA-MATE NOS MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

### 5.7.1 Indivíduos Normolipidêmicos ou Dislipidêmicos sem Uso de Estatina

#### 5.7.1.1 Capacidade Antioxidante do Soro

Os resultados do efeito da ingestão prolongada da infusão de erva-mate, verde ou tostada, na capacidade antioxidante do soro de voluntários normolipidêmicos ou dislipidêmicos estão representados na Tabela 10. Não foram encontradas diferenças importantes em função do tipo de erva-mate ingerida e, assim, os resultados foram combinados para erva-mate verde e tostada.

Os participantes normolipidêmicos apresentaram aumento da capacidade antioxidante do soro em 20,7%, comparado ao valor mediano basal, após 20 dias de consumo de erva-mate verde ou tostada. No entanto, esse aumento foi apenas marginalmente significativo ( $p = 0,07$ ; teste de Friedman - *Repeated Measures ANOVA on Ranks*), provavelmente devido ao número de indivíduos e/ou à grande dispersão dos dados. Da mesma forma, não houve diferença significativa na capacidade antioxidante após 40 dias de ingestão de erva-mate.

Por outro lado, os indivíduos dislipidêmicos tiveram aumento significativo da capacidade antioxidante do soro após 20 dias de consumo de erva-mate verde ou tostada (25,6%;  $p < 0,001$ ), mas sem diferença significativa após 40 dias.

**Tabela 10-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na capacidade antioxidante do soro ( $\mu\text{mol/L}$ ).

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>	533,3 (444,5 – 808,6) n = 15	643,7 (360,7 – 1187,8)	535,3 (444,5 – 808,6) n = 14	547,1 (442,2 – 715,9)
<i>Dislipidêmicos</i>	599,2 ± 13,0 n = 48	752,4 ± 28,5*	607,0 ± 14,4 n = 41	624,3 ± 24,2

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão ou mediana (valor mínimo-máximo). n = número de participantes. \* $P < 0,001$  comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar

de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

### 5.7.1.2 Hidroperóxidos Lipídicos

A Tabela 11 mostra os resultados do efeito da ingestão prolongada de infusão de *Ilex paraguariensis* verde ou tostada (dados combinados) nas concentrações séricas de hidroperóxidos lipídicos dos participantes normolipidêmicos ou dislipidêmicos. A ingestão de infusão de erva-mate não promoveu modificação significativa na concentração de hidroperóxidos lipídicos nos indivíduos normolipidêmicos. Por outro lado, os indivíduos dislipidêmicos apresentaram redução de aproximadamente 34% nos valores de hidroperóxidos lipídicos ( $p < 0,01$ ; Tabela 11) após 20 dias de ingestão das infusões. Porém, esta diferença não se manteve após 40 dias.

**Tabela 11-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na concentração sérica de hidroperóxidos lipídicos ( $\mu\text{mol/L}$ ).

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>				
	3,1 $\pm$ 0,7	4,0 $\pm$ 1,3	3,1 $\pm$ 0,7	3,8 $\pm$ 1,2
	n = 15		n = 14	
<i>Dislipidêmicos</i>				
	3,8 $\pm$ 0,6	2,5 $\pm$ 0,3*	4,0 $\pm$ 0,7	3,7 $\pm$ 0,6
	n = 48		n = 41	

Os resultados estão expressos como média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. \* $P < 0,01$  comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

### 5.7.1.3 Proteínas Carboniladas

A concentração plasmática de proteínas carboniladas (modificadas oxidativamente) não sofreu alterações significativas após a ingestão prolongada de infusão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados) pelos indivíduos dos grupos NLP ou DLP (Tabela 12).

**Tabela 12-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na concentração plasmática de proteínas carboniladas ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ).

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>	1,2 $\pm$ 0,06 n = 15	1,2 $\pm$ 0,06	1,1 $\pm$ 0,06 n = 14	1,2 $\pm$ 0,09
<i>Dislipidêmicos</i>	1,1 (0,8 – 1,8) n = 48	1,1 (0,6 – 1,6)	1,1 (0,8 – 1,8) n = 41	1,1 (0,6 – 1,7)

Os resultados estão expressos como média  $\pm$  erro-padrão ou mediana (valor mínimo-máximo). n = número de participantes. Não houve diferença estatística (ANOVA para Medidas Repetidas ou teste de Friedman -*Repeated Measures ANOVA on Ranks*). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

#### 5.7.1.4 Glutationa Reduzida Sanguínea

A concentração de glutatona reduzida sanguínea aumentou significativamente após 40 dias de ingestão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados) pelos indivíduos normolipidêmicos em relação ao valor médio basal (1,94 mmol/L vs 1,49 mmol/L;  $p = 0,03$ ). De forma semelhante, os indivíduos dislipidêmicos apresentaram elevação significativa de 7,5% em relação ao valor mediano basal (1,58 vs 1,47 mmol/L;  $p = 0,03$ ; Tabela 13).

**Tabela 13-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na concentração de glutathiona reduzida sanguínea (mmol/L).

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>	1,47 ± 0,17 n = 15	1,64 ± 0,14	1,49 ± 0,18 n = 14	1,94 ± 0,27*
<i>Dislipidêmicos</i>	1,46 (0,74 – 2,89) n = 48	1,53 (0,62 – 2,75)	1,47 (0,77 – 2,89) n = 41	1,58** (0,72 – 3,33)

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão ou mediana (valor mínimo-máximo). n = número de participantes. \*P = 0,03 comparado ao respectivo valor basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey); \*\*P= 0,03 comparado ao respectivo valor basal (Teste de Friedman-*Repeated Measures ANOVA on Ranks*). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

#### 5.7.1.5 Atividade Sérica da Enzima Paroxonase

A Tabela 14 mostra os resultados do efeito da ingestão de infusão de erva-mate tostada na atividade arilesterase da enzima paroxonase no soro de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos. A ingestão de erva-mate tostada promoveu elevação não significativa de 7,5 e 9,1% nos indivíduos normolipidêmicos e de 5,5 e 5,4% nos indivíduos dislipidêmicos após 20 e 40 dias, respectivamente. A erva-mate verde, no entanto, não modificou a atividade sérica da enzima paroxonase (Tabela 15).

**Tabela 14-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate tostada na atividade sérica da paroxonase (U/mL).

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>	113,7 (77,9 – 154,9) n = 11	122,2 (67,0 – 189,2)	115,7 (77,9 – 154,9) n = 10	126,2 (71,6 – 133,9)
<i>Dislipidêmicos</i>	114,7 (45,2 – 193,1) n = 36	121,0 (67,0 – 267,8)	119,0 (45,2 – 193,1) n = 32	125,4 (54,5 – 236,7)

Os resultados estão expressos como mediana (valor mínimo-máximo). n = número de participantes. Não houve diferença estatística (teste de Friedman - *Repeated Measures ANOVA on Ranks*). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

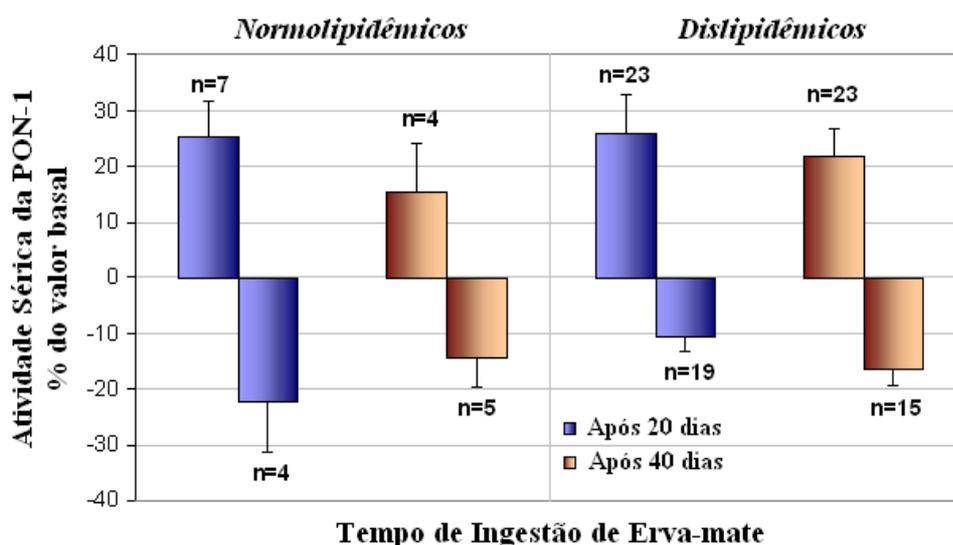
**Tabela 15-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde na atividade sérica da paroxonase (U/mL).

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>	158,0 (130,0 – 186,1) n = 4	140,0 (112,9 – 167,1)	158,0 (130,0 – 186,1) n = 4	123,5 (130,0 – 161,9)
<i>Dislipidêmicos</i>	144,4 (105,9 – 200,9) n = 12	137,3 (105,4 – 216,5)	143,2 (105,9 – 186,3) n = 9	144,0 (108,5 – 179,9)

Os resultados estão expressos como mediana (valor mínimo-máximo). n = número de participantes do estudo. Não houve diferença estatística (teste de Wilcoxon (normolipidêmicos) ou teste de Friedman - *Repeated Measures ANOVA on Ranks* (dislipidêmicos)). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

A análise individualizada da variação da atividade da paroxonase em relação ao período basal mostrou que o número de indivíduos do grupo NLP que apresentou aumento na

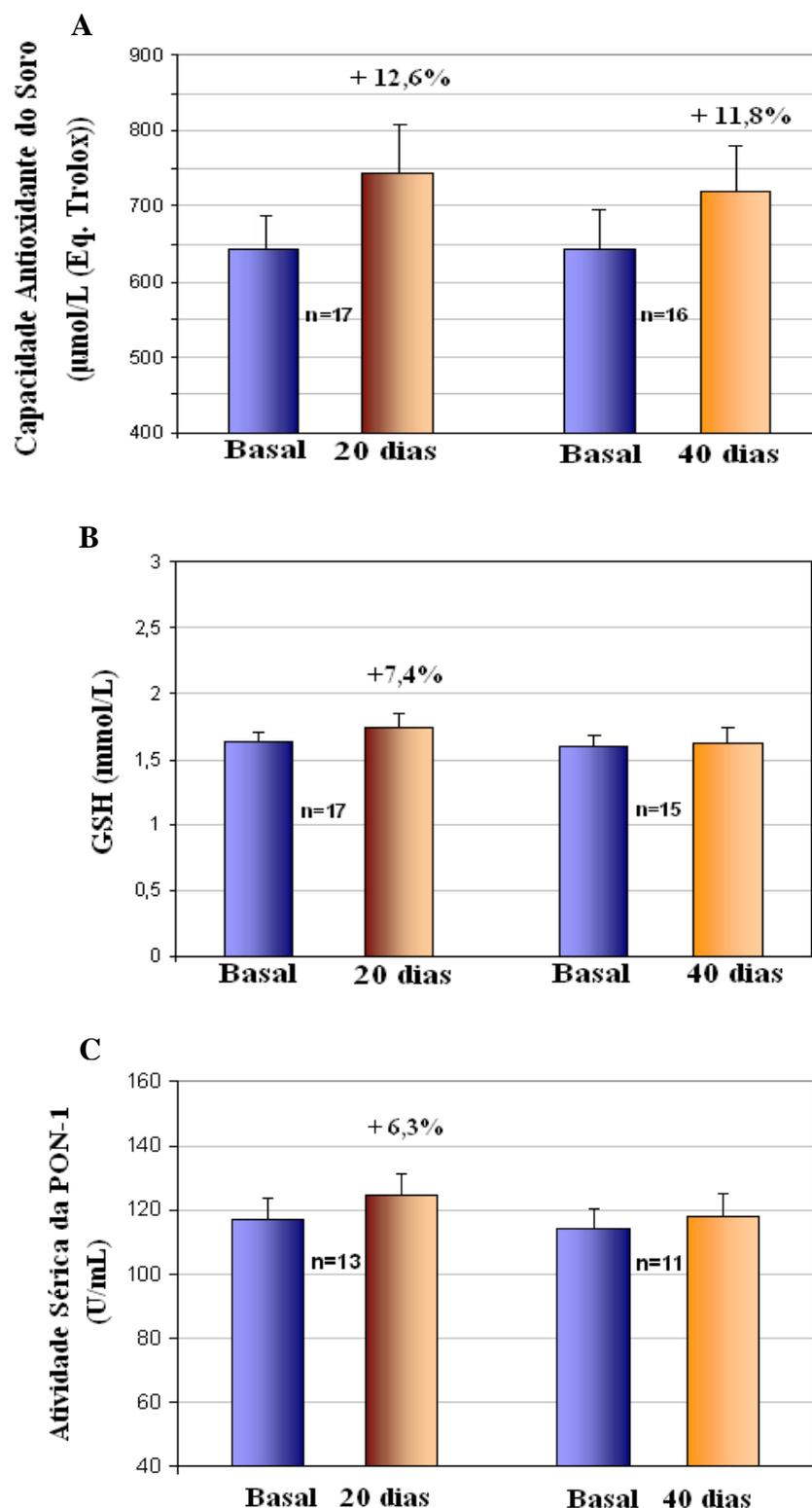
atividade da paroxonase foi semelhante àquele que teve diminuição desta atividade ao final de 20 e 40 dias de consumo de infusão de erva-mate (Figura 9). Por outro lado, 23 indivíduos do grupo DLP apresentaram elevação na atividade da enzima em aproximadamente 26 e 22%, após 20 e 40 dias da ingestão de erva-mate, respectivamente, enquanto que 19 indivíduos tiveram redução de aproximadamente 11% após 20 dias e 15 participantes apresentaram redução de 16% após 40 dias (Figura 9).



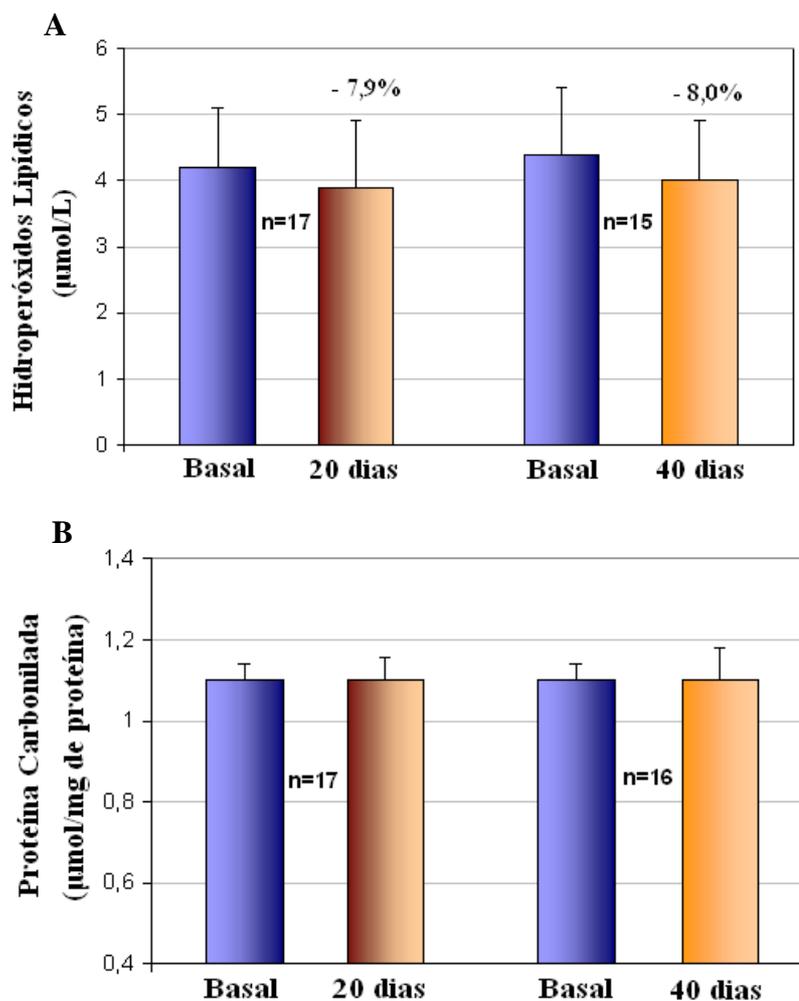
**Figura 9.** Variação percentual da atividade sérica da paroxonase (PON-1) após a ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), por indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes.

### 5.7.2 Indivíduos Dislipidêmicos em Uso de Estatina (DLP-E)

Os resultados do efeito do consumo de erva-mate tostada pelos indivíduos com dislipidemia e usuários de estatina estão representados nas Figuras 10 e 11. A ingestão da infusão de erva-mate promoveu elevação não significativa nos marcadores de proteção antioxidante, como por exemplo, aproximadamente 13 e 12% da capacidade antioxidante do soro, após 20 e 40 dias, respectivamente (Figura 10A); aumentou cerca de 7% os valores de GSH após 20 dias (Figura 10B); e elevou a atividade sérica da PON-1 em 6,3% após 20 dias (Figura 10C). Além disso, a ingestão de erva-mate diminuiu a concentração sérica de hidroperóxidos lipídicos em aproximadamente 8% após 20 e 40 dias (Figura 11A), porém sem diferença significativa, e não modificou a concentração plasmática de proteínas carboniladas (Figura 11B).



**Figura 10.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate tostada por voluntários com dislipidemia usuários de estatina (DLP-E) nos parâmetros do estresse oxidativo: (A) Capacidade antioxidante do soro; (B) Glutaciona reduzida (GSH) sanguínea; (C) Atividade sérica da enzima paroxonase (PON-1). Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. Não houve diferença estatística (ANOVA para Medidas Repetidas). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.



**Figura 11.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate tostada por voluntários com dislipidemia usuários de estatina (DLP-E) nos parâmetros do estresse oxidativo: (A) Hidroperóxidos lipídicos; (B) Proteína carbonilada. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes. Não houve diferença estatística (ANOVA para Medidas Repetidas). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

## 5.8 EFEITO DO CONSUMO DE INFUSÃO DE ERVA-MATE NOS MARCADORES DE INFLAMAÇÃO

### 5.8.1 Indivíduos Normolipidêmicos ou Dislipidêmicos sem Uso de Estatina

#### 5.8.1.1 PCR-us

Para a análise da PCR-us, foram excluídos os participantes fumantes, mulheres sob terapia de reposição hormonal, uso de anti-inflamatórios, ou aqueles que apresentaram infecções ou inflamações (RIDKER, 2001). Após 40 dias de consumo de erva-mate verde ou tostada (resultados combinados), os indivíduos normolipidêmicos apresentaram diminuição

média de aproximadamente 28%, em relação ao seu respectivo valor basal ( $0,68 \pm 0,3$  vs  $0,94 \pm 0,4$  mg/L), porém essa diferença não foi significativa (Tabela 16).

Para os indivíduos com dislipidemia, a ingestão da erva-mate verde ou tostada (dados combinados) diminuiu a concentração de PCR-us em 4,2% após 20 dias, ao passo que, ao final de 40 dias, elevou em 8,2% a concentração do analito, ambos, porém, de forma não significativa (Tabela 16). Analisando-se separadamente o efeito dos dois tipos de erva-mate, observou-se que os participantes do grupo DLP que ingeriram erva-mate verde apresentaram diminuição não significativa da PCR-us de 10,1% ( $0,89 \pm 0,5$  mg/dL vs  $0,99 \pm 0,2$  mg/L) após 20 dias, em relação ao basal, e de 21,2% após 40 dias de consumo ( $0,63 \pm 0,2$  vs  $0,8 \pm 0,1$  mg/L;  $p > 0,05$ ; resultados não mostrados). Os indivíduos dislipidêmicos que ingeriram erva-mate tostada, por sua vez, apresentaram diminuição de 3,2% após 20 dias ( $0,91 \pm 0,1$  mg/L vs  $0,94 \pm 0,1$  mg/L), e elevação de 14,8% ( $1,01 \pm 0,2$  mg/L vs  $0,88 \pm 0,2$  mg/L) após 40 dias, ambas não significativas (resultados não mostrados).

**Tabela 16-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), na PCR-us sérica (mg/L) de indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos sem uso de estatina.

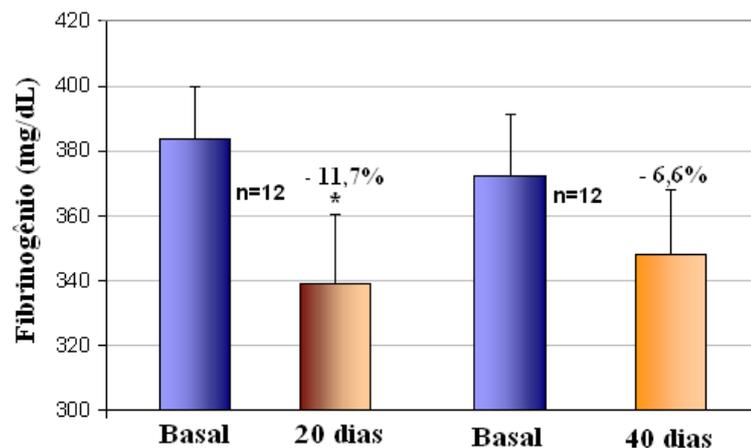
	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Normolipidêmicos</i>	$0,53 \pm 0,1$ (n = 5)	$0,56 \pm 0,2$	$0,94 \pm 0,4$ (n = 6)	$0,68 \pm 0,3$
<i>Dislipidêmicos</i>	$0,95 \pm 0,11$ (n = 31)	$0,91 \pm 0,10$	$0,85 \pm 0,12$ (n = 23)	$0,92 \pm 0,12$

Os resultados estão expressos como média  $\pm$  erro-padrão. n = número de participantes do estudo, de acordo com as recomendações da III Diretriz de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (RIDKER, 2001); PCR-us = Proteína C reativa quantificada por método ultra-sensível. Não houve diferença estatística em relação ao valor basal (teste *t* pareado de Student para os normolipidêmicos e ANOVA para Medidas Repetidas para os dislipidêmicos). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

#### 5.8.1.2 Fibrinogênio

A ingestão de erva-mate verde ou tostada (resultados combinados) promoveu reduções de aproximadamente 12% ( $p = 0,001$ ) e 7% ( $p = 0,089$ ) nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio dos indivíduos normolipidêmicos, após 20 e 40 dias de consumo, respectivamente (Fig. 12). No grupo DLP, apenas os indivíduos que consumiram erva-mate verde (n = 12) apresentaram diminuição significativa da concentração plasmática de

fibrinogênio após 20 dias de ingestão da infusão (368,0 ± 25,1 vs 401,7 ± 22,3 mg/dL;  $p < 0,05$ ). A ingestão de erva-mate tostada não promoveu redução expressiva do fibrinogênio nos indivíduos deste grupo (Tabela 17).



**Figura 12.** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate, verde ou tostada (dados combinados), nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio de indivíduos normolipidêmicos. Os resultados estão expressos em média ± erro-padrão. n = número de participantes. \*P < 0,05 comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

**Tabela 17-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias da infusão de erva-mate verde ou tostada nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de indivíduos dislipidêmicos sem uso de estatina.

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>Verde</i>	401,7 ± 22,3 n = 12	368,0 ± 25,1*	383,4 ± 21,7 n = 9	361,9 ± 23,8
<i>Tostada</i>	333,9 ± 11,8 n = 35	326,3 ± 11,5	332,8 ± 12,7 n = 30	334,1 ± 14,4

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão. n = número de participantes. \*P < 0,05 comparado ao respectivo basal (ANOVA para Medidas Repetidas e teste complementar de Tukey). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

### 5.8.2 Indivíduos Dislipidêmicos em Uso de Estatina (DLP-E)

A ingestão de infusão de erva-mate tostada por indivíduos dislipidêmicos em uso de estatina promoveu redução não significativa, de aproximadamente 30,6%, na concentração sérica de PCR-us somente após 40 dias, em relação ao valor mediano basal (0,5 mg/L vs 0,72 mg/L) e não modificou expressivamente os valores de fibrinogênio (Tabela 18).

**Tabela 18-** Efeito da ingestão por 20 e 40 dias de infusão de erva-mate tostada nos valores de PCR-us e fibrinogênio de indivíduos dislipidêmicos usuários de estatina.

	Período de Ingestão da Infusão de Erva-Mate			
	Basal	20 dias	Basal	40 dias
<i>PCR-us</i>	0,63	0,63	0,72	0,5
(mg/L)	(0,3 – 0,8)	(0,5 – 1,1)	(0,4 – 0,8)	(0,5 – 0,9)
	n = 5		n = 4	
<i>Fibrinogênio</i>	370,5 ± 21,5	352,7 ± 19,3	370,0 ± 23,1	379,1 ± 25,1
(mg/dL)	n = 15		n = 14	

Os resultados estão expressos como média ± erro-padrão ou mediana (valor mínimo – valor máximo). n = número de participantes; PCR-us = Proteína C reativa quantificada por método ultra-sensível. Não houve diferença estatística ( teste de Wilcoxon (PCR-us) ou ANOVA para Medidas Repetidas (Fibrinogênio)). O valor basal (sem consumo de erva-mate) corresponde à média de três determinações com intervalo de 15 dias.

# **DISCUSSÃO**

## 6 DISCUSSÃO

Segundo informações do *National Cholesterol Education Program* (NCEP, 2002), antes de iniciar o tratamento medicamentoso em indivíduos com hipercolesterolemia moderada, recomenda-se o uso de opções terapêuticas não farmacológicas para a diminuição plasmática do LDL-C, especificamente fibras viscosas e esteróides de plantas. Assim, é crescente o interesse em tratamentos para reduzir a hipercolesterolemia, ou prevenir o aumento do colesterol no plasma, e diminuir o estresse oxidativo, particularmente através de mudança de estilo de vida, priorizando uma alimentação saudável e a utilização de produtos de origem alimentar ricos em vitaminas E e C, fitosteróis, flavonóides e outros compostos fenólicos (GIGLEUX et al., 2007).

Em nosso meio, uma bebida rica em compostos fenólicos e amplamente consumida por uma parcela significativa da população de alguns países da América do Sul é a erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Especula-se que o elevado consumo de chimarrão seja a causa da relativa baixa incidência de doenças cardiovasculares na população do Rio Grande do Sul (BRASIL, 2008) e do Uruguai (FERREIRA et al., 1997), apesar da grande ingestão de dieta rica em gordura saturada e colesterol. Os possíveis mecanismos bioquímicos sugeridos para esse potencial efeito anti-aterosclerótico da erva-mate são o efeito antioxidante, hipocolesterolêmico e vasorelaxante. De fato, além da conhecida atividade antioxidante *in vitro* da erva-mate, ou *ex vivo* após a ingestão aguda de mate por indivíduos saudáveis (GUGLIUCCI, 1996; SILVA et al., 2008), alguns estudos *in vitro* e em animais mostraram uma propriedade hipocolesterolêmica (FERREIRA et al., 1997; GORZALCZANY et al., 2001; HAN et al., 2005; PAGANINI STEIN et al., 2005; PANG; CHOI; PARK, 2008) e vasorelaxante do extrato aquoso de erva-mate (FELLIPI et al., 2006; FELLIPI; RIBEIRO DO VALE; SILVA, 2005; MUCCILLO BAISH; JOHNSTON; PAGANINI STEIN, 1998; PAGANINI STEIN et al., 2005; SCHINELLA; FANTINELLI; MOSCA, 2005). No entanto, até o presente momento, não existem estudos mostrando o efeito hipocolesterolêmico e antioxidante em seres humanos após a ingestão prolongada de infusão de erva-mate. Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar o potencial hipocolesterolêmico, antioxidante e anti-inflamatório de infusões de erva-mate, verde ou tostada, em indivíduos normolipidêmicos (NLP) ou dislipidêmicos (DLP), classificados laboratorialmente segundo os critérios da IV Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Aterosclerose (SPOSITO, 2007). Além disso, foi averiguado o possível efeito sinérgico do uso concomitante da erva-mate tostada e de estatinas, fármacos hipocolesterolemiantes.

Os resultados do presente estudo mostraram que a ingestão por 20 e 40 dias de erva-mate melhorou os parâmetros do perfil lipídico para a maioria dos indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos avaliados. Após o consumo diário de aproximadamente um litro de infusão de erva-mate (resultados combinados para erva-mate verde e tostada) pelos participantes normolipidêmicos durante 20 e 40 dias, foi observada diminuição média de LDL-C de 9,9 mg/dL e 8,3 mg/dL, respectivamente, e de 11,8 e 8,7% na relação LDL-C/HDL-C, respectivamente ( $p < 0,05$ ). Para esses indivíduos normolipidêmicos, aparentemente a erva-mate verde foi mais efetiva que o mate tostado, chegando a promover uma diminuição de 17,5 mg/dL de LDL-C (-16,4%;  $p = 0,019$ ), de 16,7 mg/dL de CT (-9,0%;  $p = 0,016$ ), de 16,8 mg/dL (-13,8%) de Não-HDL-C ( $p = 0,017$ ) e diminuição de 16,4% na relação LDL-C/HDL-C após 40 dias de consumo (Tabela 6), enquanto o mate tostado diminuiu a concentração de LDL-C em 4,7 mg/dL (- 4%), de CT em apenas 0,1 mg/dL, de Não-HDL-C em 1,7 mg/dL (- 1,3%) e da relação LDL-C/HDL-C em 5,8% ao final deste tempo (Tabela 7). No entanto, essas diferenças entre o efeito da erva-mate verde e tostada não foram significativas devido ao pequeno número de indivíduos no grupo NLP que consumiram erva-mate verde (Tabela 8). A erva-mate verde também provocou uma elevação significativa nos valores séricos de TG de, em média, 25 mg/dL (32,2%) após 20 dias de consumo. Porém, a concentração sérica deste lipídeo voltou a se normalizar após 40 dias de ingestão da erva-mate. Este efeito pode ser explicado pela não observação do tempo mínimo e máximo de jejum pelos participantes. O retorno dos valores de triglicerídeos à concentração basal após 40 dias de consumo da erva-mate indica ausência do efeito da erva-mate *per se* neste parâmetro bioquímico.

Apesar da erva-mate tostada não ter promovido, em média, melhora no perfil lipídico dos indivíduos normolipidêmicos, uma análise individual mostrou que a maioria dos participantes apresentaram reduções de 11,3 mg/dL ( $n = 8$ ) e 12,3 mg/dL ( $n = 7$ ) de LDL-C, após 20 e 40 dias de consumo, respectivamente, bem como aumento de 7,4 mg/dL ( $n = 7$ ) e 5,4 mg/dL ( $n = 6$ ) de HDL-C, ao final destes tempos. Dessa maneira, os resultados indicaram que a ingestão de erva-mate, verde ou tostada, melhorou as variáveis do perfil lipídico, inclusive para indivíduos que já apresentavam valores desejáveis dos lipídeos séricos. Vale salientar que 66,7% desses indivíduos apresentam histórico familiar de DAC (Tabela 2) e que, portanto, possuem algum fator genético que acarreta em risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Dessa forma, os resultados sugerem que a ingestão de infusão de erva-mate poderá, em longo prazo, prevenir o surgimento da hipercolesterolemia. Além disso, é interessante observar que para estes indivíduos, o percentual de variação do LDL-C após o

consumo de erva-mate verde ou tostada (dados combinados) foi, pelo menos em parte, dependente da concentração basal sérica de LDL-C ( $r = 0,547$ ;  $p < 0,05$ ), sugerindo que aqueles indivíduos que tiveram maior resposta à erva-mate devem apresentar elevada absorção de colesterol, a qual foi inibida pela erva-mate. Outros estudos realizados com diferentes produtos vegetais mostraram resultados semelhantes aos nossos. Baba et al. (2007) relataram que a administração diária de infusões de cacau por um período de quatro semanas melhorou os parâmetros do perfil lipídico em indivíduos com valores normais ou levemente alterados dos lipídeos séricos. Além disso, Merz-Demlow et al. (2000) já haviam demonstrado que a isoflavona de soja promoveu alterações benéficas nos valores de LDL-C de mulheres normocolesterolêmicas em período pré-menopausa, com a diminuição do analito numa faixa de 7,6-10% após o tratamento.

Nos indivíduos dislipidêmicos, a ingestão das infusões de erva-mate verde ou tostada (resultados combinados), durante 20 e 40 dias, promoveu diminuições significativas de CT (8,9 mg/dL e 11,9 mg/dL), de LDL-C (12,6 mg/dL e 14,4 mg/dL), de Não-HDL-C (11,5 mg/dL e 12,8 mg/dL) e da relação LDL-C/HDL-C (12,5% e 10,4%), respectivamente, e aumento de HDL-C de 2,6 mg/dL após 20 dias ( $p < 0,05$ ; Tabela 5 e Figura 5B). Novamente, diferenças foram encontradas em função do tipo de erva-mate ingerida. Porém, ao contrário dos achados anteriores em que foi observada uma aparente melhor ação da erva-mate verde nos indivíduos normolipidêmicos, nos participantes do grupo DLP a erva-mate tostada apresentou efeito significativamente mais prolongado na diminuição de LDL-C do que a erva-mate verde (Tabela 8). Por exemplo, os indivíduos dislipidêmicos que consumiram o mate tostado tiveram diminuições significativas de LDL-C de 12,0 mg/dL (-7,6%) e 19,3 mg/dL (-12,2%) após 20 e 40 dias, respectivamente ( $p < 0,05$ ; Tabela 7), em comparação com os indivíduos que ingeriram o mate verde, os quais mostraram diminuição de -14,8 mg/dL (-9,3%) nos valores de LDL-C após 20 dias, mas nenhuma alteração significativa após 40 dias (Tabela 6). Para explicar esses resultados, consideramos a possibilidade de uma diminuição na dose de ingestão da erva-mate verde ao longo do estudo, tendo em vista o seu forte sabor amargo, particularmente para indivíduos que não são consumidores usuais de chimarrão. De qualquer maneira, as comparações entre os dois tipos de erva-mate, verde e tostada, tanto para indivíduos dislipidêmicos como normolipidêmicos, merecem ser interpretadas com cautela devido ao pequeno número de participantes que consumiram erva-mate verde e, neste momento, podem ser consideradas inconclusivas, necessitando, portanto, de estudos adicionais.

Conforme já mencionado, não existem resultados na literatura de estudos semelhantes com a erva-mate em seres humanos. Porém, o percentual de diminuição do LDL-C aqui apresentado está de acordo com os achados de outros estudos realizados com infusões ricas em polifenóis, como chá preto e chá verde (*Camellia sinensis*), em indivíduos com controle alimentar e por um período de três ou quatro semanas (DAVIES et al., 2003; KONO et al., 1992; STENSVOLD et al., 1992). Resultados anteriores de nosso laboratório mostraram que a administração de extrato aquoso de erva-mate para coelhos normolipidêmicos reduziu, em média, 30% do colesterol total, porém sem diferença estatística, devido, provavelmente, ao pequeno número de animais (MOSIMANN; WILHELM FILHO; SILVA, 2006). Outros autores já demonstraram que a erva-mate reduziu o colesterol sérico e triglicerídeos em ratos alimentados com dieta hiperlipidêmica (PAGANINI STEIN et al., 2005) e que promoveu a diminuição da fração VLDL-LDL em ratos obesos (PANG; CHOI; PARK, 2008). Os resultados do presente estudo, porém, não demonstraram efeito significativo da ingestão prolongada de erva-mate nas concentrações séricas de triglicerídeos, semelhante aos resultados observados após o consumo de diferentes extratos vegetais ou chás preto e verde (GUIMARÃES et al., 2000; MARON et al. 2003; TOKUNAGA et al., 2002; WANGEN et al., 2001).

Segundo o *National Cholesterol Education Program* (NCEP, 1994), para cada diminuição de 1% na concentração de colesterol total, o risco para as doenças cardiovasculares diminui em média 2%. Assim, com base na diminuição de 4,4% (média dos resultados após 20 e 40 dias) de colesterol total no soro dos participantes com dislipidemia, é possível extrapolar uma diminuição do risco de doença cardiovascular de aproximadamente 9%, quando três copos diários de infusão de erva-mate são incluídos na dieta destes indivíduos que apresentam um importante fator de risco e que possuem (em média 70,8%) histórico familiar de antecedentes com DAC (Tabela 2).

Diminuição de aproximadamente 13,5 mg/dL (média dos resultados após 20 e 40 dias) foi observada para o LDL-C após a ingestão de erva-mate por indivíduos dislipidêmicos (Tabela 5). Esses resultados são ligeiramente superiores à diminuição de 9,9 mg/dL de LDL-C após o uso de chá preto em indivíduos com hipercolesterolemia moderada (DAVIES et al., 2003) ou à diminuição de 8 mg/dL após a ingestão diária de isoflavona de soja por mulheres moderadamente hipercolesterolêmicas (WANGEN et al., 2001).

De acordo com as recomendações de estratégias para a redução do LDL-C do *NCEP Adult Treatment Panel III*, sugere-se que para cada diminuição de 30 mg/dL do LDL-C sérico, o risco relativo de DAC é reduzido em 30% (GRUNDY et al., 2004; NCEP, 2001). No

presente estudo, demonstramos que as infusões de erva-mate verde ou tostada diminuíram a concentração de LDL-C, em média, 13,5 mg/dL nos participantes dislipidêmicos (valores médios das duas determinações, após 20 e 40 dias de consumo) (Tabela 5) e, dessa forma, a redução do risco para a doença poderá ser de aproximadamente 14% para estes indivíduos.

Um possível mecanismo para o efeito de a erva-mate reduzir a concentração plasmática de colesterol total e do LDL-C é através da diminuição da absorção intestinal de colesterol, atribuído à presença de saponinas da *Ilex paraguariensis* (TAKETA et al., 2004). O extrato aquoso de erva-mate, bem como as suas saponinas isoladas, formaram complexos com o ácido cólico *in vitro* (FERREIRA et al., 1997), sugerindo a possibilidade de inibição da absorção do colesterol no intestino que depende de ácidos biliares para a formação das micelas mistas. O conteúdo de saponinas na infusão de erva-mate verde utilizadas em nosso estudo foi de 0,394 mg/mL, similar aos valores de 0,35 mg/mL de saponinas no extrato aquoso de erva-mate verde relatados por Gnoatto, Schenkel e Bassani (2005), e de 0,152 mg/mL na erva-mate tostada (Tabela 1). Considerando que os participantes consumiram cerca de um litro de infusão de erva-mate verde ou tostada por dia, a ingestão diária aproximada de saponinas foi de 400 mg e 150 mg, respectivamente. Apesar do menor conteúdo de saponinas na erva-mate tostada em comparação com a erva-mate verde, e considerando a efetividade do mate tostado na diminuição do LDL-C, é plausível acreditar que 150 mg diárias de saponinas sejam suficientes para este efeito, ou que não exista diferença no efeito dose-reposta para esta faixa de concentração de saponina. Em indivíduos hipercolesterolêmicos, a ingestão de 3 g/dia de saponina sintética, durante duas semanas, diminuiu a absorção intestinal de colesterol e aumentou a excreção fecal de esteróis neutros, tendo como consequência a diminuição significativa da concentração de LDL-C em 13% (HARRIS et al., 1997).

As saponinas são encontradas numa variedade de plantas, além da erva-mate, e podem ser consideradas uma classe de inibidores naturais da absorção de colesterol. Realmente, os resultados de vários estudos em modelos animais e em seres humanos têm demonstrado que extratos ou espécies vegetais ricas em saponinas são responsáveis pelo efeito redutor das concentrações séricas de colesterol total e LDL-C (revisado por SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2004). A administração de dieta enriquecida com saponinas para macacos (*Macaca fascicularis*) promoveu o aumento da excreção fecal de sais biliares e diminuiu o colesterol total sérico (MALINOW et al., 1981). Resultados similares foram descritos por outros pesquisadores sobre o efeito de espécies vegetais ricas em saponinas no perfil lipídico. Por exemplo, Guimarães et al. (2000) demonstraram uma diminuição de 13% nos valores de LDL-C em indivíduos que consumiram extrato de berinjela, que contém saponinas, durante

cinco semanas. Infelizmente, os autores não mencionaram a concentração de saponina no extrato de berinjela ou quanto de saponina foi ingerida pelos participantes.

Outro fator de risco para o desenvolvimento da aterosclerose é a concentração diminuída de HDL. Através do transporte reverso do colesterol, a HDL retira o colesterol das artérias transportando-o até o fígado onde o colesterol é captado seletivamente pelos receptores SR-B1 (*scavenger receptors, class B type 1*) ou através da captação das lipoproteínas remanescentes (IDL e remanescentes de quilomícrons) que recebem o colesterol da HDL através da CETP (*cholesteryl-ester transfer protein*) (revisado por LIMA; COUTO, 2006). A HDL também tem outras ações que contribuem para a proteção contra a aterogênese, tais como a remoção e redução de lipídeos oxidados da LDL (efeito antioxidante), inibição da síntese de moléculas de adesão e conseqüente ligação de monócitos ao endotélio (efeito anti-inflamatório), e estimulação da liberação de óxido nítrico (efeito vasorelaxante) (revisado por SPOSITO, 2007). Nossos resultados mostraram que a ingestão de erva-mate verde ou tostada aumentou de forma significativa a concentração sérica de HDL-C pelos indivíduos com dislipidemia em 2,6 mg/dL (5,4% ( $p < 0,05$ ; resultados combinados da erva-mate verde e tostada), após 20 dias de tratamento (Tabela 5 e Figura 5B). Para os indivíduos normolipidêmicos, houve elevação de 2,6 mg/dL (3,9%) nos valores de HDL-C, porém sem diferença estatística em relação aos valores basais, possivelmente, pela maior variação dos dados e/ou menor número de participantes. Novamente, de acordo com as recomendações de estratégias para a diminuição do HDL-C sérico do *NCEP Adult Treatment Panel III* de 2001, o aumento de 1 mg/dL do HDL-C reduz o risco de doenças cardiovasculares em 3% (GORDON et al., 1989) e, dessa maneira, os participantes dislipidêmicos no presente estudo apresentaram diminuição do risco para a doença de, aproximadamente, 8%.

O mecanismo pelo qual a erva-mate promoveu aumento do HDL-C não está esclarecido. Quando existe aumento concomitante da apo A-I, sugere-se um aumento na produção hepática de partículas nascentes de HDL (SCHAEFER et al., 1999). No entanto, nossos resultados não mostraram aumentos importantes para esta apolipoproteína (dados não mostrados) e, dessa maneira, outro possível mecanismo pode ser pela diminuição do catabolismo da HDL. De qualquer maneira, estudos adicionais deverão ser realizados para esclarecer o(s) mecanismo(s) bioquímico(s) da elevação do HDL-C provocada pela erva-mate. É importante salientar que outros extratos vegetais que mostraram potencial de diminuir o colesterol total e o LDL-C em seres humanos, como os chás verde e preto (DAVIES et al., 2003), a berinjela (GUIMARÃES et al., 2000) e as isoflavonas de soja (WANGEN et al.,

2001), não foram efetivos em aumentar o HDL-C, corroborando, assim, a importância da erva-mate para a melhoria dos parâmetros do perfil lipídico.

O desenvolvimento de fármacos hipolipemiantes, como as estatinas (inibidores da enzima HMG-CoA redutase), foi um grande avanço para a prática clínica, considerando que esta classe de medicamentos possui efeitos farmacológicos múltiplos e que resulta numa potente diminuição do LDL-C e na prevenção do processo aterosclerótico (CHONG; BACHENHEIMER, 2000). No presente trabalho, formulamos a hipótese de um potencial efeito sinérgico da erva-mate com as estatinas na diminuição do LDL-C. Os resultados demonstraram que o consumo concomitante de erva-mate tostada e estatina pelos indivíduos com hipercolesterolemia, os quais mantinham os valores de LDL-C estáveis, promoveu diminuição adicional e significativa de LDL-C de 14,6 mg/dL (-10,8%) e 18,6 mg/dL (-12,4%) após 20 e 40 dias, respectivamente, e elevação de HDL-C de 2,7 mg/dL após 40 dias ( $p=0,006$ ). Para comparação, em pacientes sob tratamento com estatinas que tiveram diminuição do LDL-C em 27%, a duplicação da dose de estatina promove redução adicional de LDL-C de apenas 7% (ROBERTS, 1997). Dessa forma, os nossos resultados indicaram o efeito somatório (sinérgico) da erva-mate com as estatinas na diminuição do colesterol plasmático, sugerindo, assim, que a erva-mate pode ser um potencial adjuvante terapêutico para a redução de LDL-C em indivíduos sob tratamento com estatina. Além disso, os nossos achados podem assumir grande relevância clínica em função da possibilidade de diminuição da dose de estatinas, diminuindo, assim, os seus efeitos colaterais, como a hepatotoxicidade (BERTOLAMI, 2005) e também a rabdomiólise, quando a estatina é associada aos fibratos (BROWN, 2008).

O efeito sinérgico da erva-mate com as estatinas pode ser explicado com base nos diferentes mecanismos bioquímicos da ação hipocolesterolêmica desses componentes. Enquanto as estatinas diminuem a síntese do colesterol endógeno por inibição competitiva da enzima HMG-CoA redutase, aumentando a síntese dos receptores celulares para a LDL e levando à maior captação dessa lipoproteína do plasma (revisado por STEINBERG, 2006), a erva-mate diminui o colesterol plasmático (particularmente o LDL-C) pela provável inibição da absorção do colesterol intestinal através da ação de suas saponinas constituintes, as quais, conforme já comentado, formam complexos com os sais biliares e colesterol, impedindo *in vitro* a formação das micelas mistas (FERREIRA et al., 1997). A diminuição da absorção de colesterol promove a formação de quilomícrons no intestino com menor conteúdo de colesterol e conseqüente liberação de quantidades menores de colesterol ao fígado, o qual sintetiza menor número de partículas de VLDL, com subseqüente formação diminuída de

LDL (GAGNÉ et al., 2002). Esta dupla inibição tem sido amplamente relatada pelo uso concomitante das estatinas com o fármaco “ezetimibe”, o qual inibe a absorção intestinal do colesterol por bloquear o transportador de membrana NPC1L1 (*Niemann-Pick C1 Like1*) (GRIGORE; NORATA; CATAPANO, 2008; TADIBOYINA et al., 2005). Além disso, os nossos resultados foram semelhantes ao relatados em outros estudos realizados com fitoesteróis (GOLDBERG et al., 2006), ou com margarinas enriquecidas em esteróis (SIMONS, 2002; BLAIR et al., 2000), os quais também inibem a absorção intestinal de colesterol, em indivíduos usuários de estatina. Mais uma vez, com base nas recomendações de estratégias do *NCEP Adult Treatment Panel III* (NCEP, 2001), a diminuição de 18,6 mg/dL de LDL-C promovida pela ingestão de erva-mate tostada por indivíduos hipercolesterolêmicos é, possivelmente, capaz de reduzir o risco de eventos coronarianos em cerca de 19%. É importante acrescentar que estes indivíduos em uso de estatina que ingeriram erva-mate tostada também apresentaram elevação significativa de HDL-C de 2,7 mg/dL, equivalente a 6,3%, após 40 dias ( $p < 0,05$ ), corroborando a diminuição do risco para DAC em 8,1%, segundo o NCEP (2001).

A apo A-I é o maior componente protéico da HDL (FRANK; MARCEL, 2000), enquanto a apo B-100 está presente na LDL e nas VLDL e IDL (PACKARD; SHEPHERD, 1997). A utilização da concentração das apolipoproteínas A-I e B, assim como o índice apo B/apo A-I, como meta terapêutica para agentes hipolipemiantes não está ainda completamente consolidada. Todavia, com base nas recentes evidências das vantagens dos usos dessas apolipoproteínas como marcadores de risco cardiovascular, observa-se que o índice apo B/apo A-I emerge como importante parâmetro complementar para a avaliação desse risco (revisado por LIMA; CARVALHO; SOUSA, 2007). Nossos resultados demonstraram que a ingestão de erva-mate verde ou tostada (dados combinados) durante 20 dias por indivíduos com dislipidemia promoveu diminuição significativa na concentração de apo B-100 de 6% e na relação apo B/apo A-I de 6,4% (Figura 8). Resultados semelhantes foram encontrados por Davies et al. (2003), os quais relataram uma diminuição de 5% na concentração de apo B após o consumo de chá verde. As reduções nos valores de apo B de aproximadamente 7 e 5% observadas, respectivamente, após 20 e 40 dias de ingestão de erva-mate tostada pelos indivíduos dislipidêmicos usuários de estatina não foram significativas estatisticamente (dados não mostrados), provavelmente devido ao pequeno número de análises.

Vale salientar que a determinação laboratorial das apolipoproteínas apresenta algumas vantagens metodológicas quando comparadas com a quantificação de parâmetros do perfil lipídico, pois não sofrem interferência em função de valores elevados de triglicerídeos

(SNIDERMAN et al., 2003), são pouco influenciáveis por variáveis biológicas e podem ser quantificadas mesmo sem a necessidade do jejum prévio do paciente (DURINGTON, 2002; TALMUD et al., 2002; WALLDIUS et al., 2001). Além disso, a quantidade de apo B-100 representa o número total de partículas lipoprotéicas aterogênicas no plasma, incluindo as IDL, além da própria LDL (SNIDERMAN et al., 2003). A apolipoproteína A-I, por sua vez, é indicativa da quantidade de HDL presente no plasma ou do potencial de formação de novas partículas de HDL para exercer a sua função no transporte reverso do colesterol (FRANK; MARCEL, 2000).

Paralelamente, diante do conhecimento de que o estresse oxidativo é o mecanismo central pelo qual fatores de risco como hiperlipidemia, hipertensão, *diabetes mellitus* e tabagismo levam ao dano vascular e às seqüelas clínicas da aterosclerose (DZAU et al., 2006; STEPHENS; KHANOLKAR; BAIN, 2008), e considerando a notável habilidade antioxidante da infusão de erva-mate demonstrada em diversos sistemas *in vitro*, o presente estudo investigou o potencial da ingestão prolongada de erva-mate verde ou tostada em diminuir o estresse oxidativo em indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos, em uso ou não de estatina. A avaliação deste efeito foi feita através da determinação de marcadores sanguíneos, como a concentração de glutatona reduzida sanguínea; a atividade da enzima paroxonase sérica; o conteúdo de lipídeos e proteínas oxidados no plasma (hidroperóxidos lipídicos e proteína carbonilada, respectivamente); e a capacidade antioxidante (FRAP), que mede o conjunto de substâncias antioxidantes, ou redutoras, presentes no plasma e que podem ser responsáveis pela proteção do organismo contra os efeitos deletérios dos radicais livres.

A ingestão da erva-mate verde e tostada (dados combinados) durante 20 dias promoveu elevação da capacidade antioxidante de 20,7 e 25,6% ( $p < 0,01$ ) para os indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos, respectivamente (Tabela 10). Resultados de um estudo anterior realizado em nosso laboratório mostraram que a capacidade antioxidante no soro aumentou significativamente 1 h após a ingestão de infusão de erva-mate (SILVA et al., 2008). Neste mesmo estudo, foi demonstrada a elevação da resistência do plasma e das partículas de LDL contra a peroxidação lipídica após a ingestão, possivelmente devido ao efeito antioxidante dos compostos fenólicos e flavonóides presentes no extrato, o que sugere que os mesmos foram absorvidos, atingiram a circulação sanguínea em quantidade suficientemente elevada para provocar o efeito antioxidante e permaneceram aderidos às partículas de LDL.

O ensaio laboratorial para a medida da capacidade antioxidante do plasma é de pouca complexidade e, certamente por isto, muito utilizado em vários estudos que procuram mostrar

o potencial antioxidante de extratos vegetais. No entanto, resultados discordantes podem ser encontrados na literatura. Enquanto Serifini, Ghiselli e Ferro-Luzzi (1996) e Panza et al. (2008) encontraram aumento significativo de 20-50% na atividade antioxidante do plasma, 30-60 min após a ingestão de chá verde ou preto, McAnlis et al. (1998) não obtiveram os mesmos resultados em estudo semelhante com chá preto. Ao contrário dos estudos com ingestão aguda, o consumo prolongado de bebidas e de alimentos ricos em antioxidantes costuma apresentar um maior número de variáveis que influenciam a capacidade antioxidante do plasma, como por exemplo, o tempo de meia-vida biológica dos diferentes compostos antioxidantes. Assim, tem sido reportado que nos estudos de consumo de chás por longa duração, os aumentos na atividade antioxidante do plasma são pequenos (3-10%) e geralmente não significativos (McANLIS et al., 1998; van het HOF et al., 1997). Tendo em vista que no presente estudo a capacidade antioxidante no soro foi avaliada em amostra de sangue coletada em jejum, após 12-14 h da última ingestão de mate, e apesar das inconsistências apresentadas pelos diferentes estudos com outros tipos de chás, os resultados de aumento da capacidade antioxidante do soro de aproximadamente 25% podem ser considerados expressivos.

A capacidade antioxidante do plasma é a consequência de efeitos individuais e sinérgicos de inúmeros componentes, como ácido úrico, compostos fenólicos, ácido ascórbico, tocoferóis, bilirrubina e albumina, dentre outros (WAYNER et al., 1987), sendo que o ácido úrico é responsável por aproximadamente 60% da capacidade antioxidante no ensaio de FRAP utilizado no presente estudo (BENZIE; STRAIN, 1996; WAYNER et al., 1987). Assim, é interessante notar que a ingestão prolongada de erva-mate não promoveu alterações importantes na concentração sérica de ácido úrico, indicando que o aumento na capacidade antioxidante foi devido aos constituintes da erva-mate *per se*, provavelmente polifenóis, ou indiretamente, pelo aumento de outras substâncias redutoras por um mecanismo ainda desconhecido.

Comparativamente, a erva-mate apresenta maior potencial antioxidante *in vitro* que os chás verde e preto ou que o vinho tinto (BIXBY et al., 2005; CAMPOS; SCOBAR; LISSI, 1996). Filip et al. (2000) e Schinella et al. (2000) atribuem, inclusive, o potencial antioxidante da erva-mate ao ácido clorogênico presente em grandes proporções em sua constituição, 1 a 10% nos extratos aquosos (BASTOS et al., 2007; HECK; DE MEJIA, 2007). O conteúdo de ácido clorogênico nas infusões de erva-mate utilizadas no presente estudo não foi quantificado, mas Bastos et al. (2005) relataram que a quantidade de ácido clorogênico no extrato aquoso de erva-mate verde foi aproximadamente 5 vezes maior que no mate tostado.

Os nossos resultados mostraram que as infusões de erva-mate verde e tostada continham 5,5 e 1,7 mg/mL de fenóis totais, respectivamente, ou 0,11 mg/mg de folhas secas verdes e 0,085 mg/mg de folhas secas tostadas, respectivamente, sendo que os participantes consumiram cerca de 5,5 e 1,7 g de fenóis totais diariamente. Valores semelhantes foram relatados para o conteúdo de fenóis totais na erva-mate verde (0,094 mg/mg de folhas) e tostada (0,059 mg/mg de folhas) (BASTOS et al., 2006b). A atividade antioxidante das infusões utilizadas em nosso estudo foi confirmada em ensaios *in vitro* (Tabela 1). Considerando a semelhança dos efeitos antioxidantes provocados por ambos os tipos de erva-mate nos marcadores do estresse oxidativo dos participantes, podemos especular que a diferença de aproximadamente três vezes no conteúdo de fenóis totais não foi importante ou que os indivíduos consumiram um volume maior de mate tostado em relação ao verde. De qualquer maneira, conforme já comentado, essas comparações não são conclusivas devido o pequeno número de participantes que consumiram erva-mate verde.

A absorção e biodisponibilidade do ácido clorogênico em seres humanos não estão totalmente esclarecidas. Monteiro et al. (2007) identificou o ácido clorogênico e seus isômeros no plasma humano depois da ingestão aguda de café, uma bebida rica em ácido clorogênico, indicando sua absorção e metabolismo. Por outro lado, o ácido caféico foi o único ácido fenólico encontrado no plasma humano depois da administração de café (NARDINI et al., 2002). Segundo Olthof, Hollman e Katan (2001), cerca de 1/3 dos ácidos clorogênicos ingeridos passam a ser absorvidos a partir do intestino delgado e os restantes atingem o cólon, onde as bactérias colonizadoras provavelmente hidrolisam os ácidos clorogênicos aos ácidos caféicos e quínicos. O ácido caféico é altamente absorvido em seres humanos (OLTHOF; HOLLMAN; KATAN, 2001) e metabolizado em ácidos ferúlico, vanílico e hipúrico, os quais foram encontrados na urina de indivíduos (RECHNER et al., 2001). Logo, estes metabólitos do ácido clorogênico e/ou do ácido caféico podem agir como antioxidantes na circulação. Os resultados *in vitro* apresentados por Silva et al. (2008) demonstraram que o ácido ferúlico e vanílico ainda possuem atividade antioxidante, embora em menor grau que as moléculas precursoras. Ainda, a atividade antioxidante do extrato aquoso de erva-mate foi maior quando comparada aos seus constituintes antioxidantes isoladamente, como o ácido clorogênico e o ácido caféico, em concentrações equivalentes (Silva et al., 2008), o que sugere um efeito sinérgico dos constituintes do mate, como já fora reportado por Carini et al. (1998). Este efeito sinérgico pode ser atribuído aos demais antioxidantes presentes no mate, como as vitaminas A, C e E, além de outros compostos fenólicos, incluindo os flavonóides.

Tanto os indivíduos normolipidêmicos quanto os dislipidêmicos apresentaram aumento crescente na concentração de GSH no sangue, chegando a aproximadamente 30% nos participantes normolipidêmicos e 7,5% nos dislipidêmicos, após 40 dias de ingestão de erva-mate ( $p < 0,05$ ). Além do seu alto potencial antioxidante, a GSH serve de substrato para a enzima glutatona peroxidase, a qual catalisa a reação de diminuição de peróxidos em geral, incluindo os peróxidos lipídicos, e para a enzima glutatona-S-transferase na detoxificação de xenobióticos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989; SEN, 1997). Assim, a manutenção de concentrações elevadas de GSH no sangue e nos tecidos é importante para a defesa do plasma sanguíneo e dos tecidos contra o estresse oxidativo.

Outro importante biomarcador de estresse oxidativo avaliado foi a peroxidação lipídica, a qual representa o efeito deletério de espécies reativas de oxigênio e/ou de nitrogênio nos lipídeos de membranas plasmáticas, organelas e de lipoproteínas. Nossos resultados demonstraram que os indivíduos com dislipidemia apresentaram diminuição de aproximadamente 34% do processo de lipoperoxidação após 20 dias de consumo de erva-mate. O trabalho realizado por Bertipaglia de Santana et al. (2008), por sua vez, demonstrou que a associação de soja e chá verde não foi capaz de diminuir os hidroperóxidos lipídicos no plasma de indivíduos dislipidêmicos. Por outro lado, a ingestão de erva-mate pelos participantes não diminuiu a concentração de proteínas oxidadas no plasma (Tabela 12).

A atividade da enzima antioxidante paroxonase (PON-1), ligada à HDL, também está inversamente associada à aterosclerose. A PON-1 pode hidrolisar lipídeos oxidados específicos nas lipoproteínas, em macrófagos e em lesões ateroscleróticas (AVIRAM; ROSEMBLAT, 2005) e sua atividade sérica está diminuída inclusive em indivíduos hipercolesterolêmicos (MACKNESS et al., 1991). Assim, estratégias que promovam a elevação da atividade da PON-1 são consideradas interessantes para reduzir o risco de desenvolvimento da aterosclerose. Realmente, tem sido relatado que a atividade da paroxonase pode ser modulada por agentes externos, apresentando-se diminuída em fumantes com DAC (JAMES; LEVIEV; RIGHETTI, 2000; JARVIK et al., 2002; KLEEMOLA et al., 2002), após a ingestão de refeição rica em gordura oxidada (SUTHERLAND et al., 1999), bem como na gravidez e menopausa (LI; LIU; LIANG, 2003). Por outro lado, a atividade da PON-1 pode ser aumentada pelo consumo de antioxidantes dietéticos (polifenóis, vitaminas C e E) e medicamentos (estatinas e contraceptivos orais) (JARVIK et al., 2002; KLEEMOLA et al., 2002; LI; LIU; LIANG, 2003). Foi reportado, recentemente, que a ingestão aguda de infusão de erva-mate aumentou 10%, em média, a atividade da PON-1 no plasma de quatro indivíduos saudáveis (MENINI et al., 2007). Os resultados obtidos no presente estudo

mostraram que a ingestão de erva-mate tostada aumentou a atividade arilesterase da PON-1 dos participantes, em média, 8,3 e 5,4%, para os participantes normolipidêmicos e dislipidêmicos, respectivamente, porém sem diferença estatística. A análise individualizada mostrou que, apesar da ausência de significância estatística, a maioria dos indivíduos participantes apresentou elevação de 26%, em média, na atividade da PON-1 após 20 dias de consumo de erva-mate (Figura 9). Dessa maneira, parece que a erva-mate e outros antioxidantes nutricionais, por um mecanismo ainda não elucidado, melhora a atividade da enzima antioxidante PON-1 de alguns indivíduos, podendo contribuir para a proteção do organismo contra os eventos cardiovasculares.

Considerando que vários estudos mostraram o efeito antioxidante das estatinas (FRANZONI et al., 2003; ROSENSON, 2004; TRAVIDOU et al., 2006), é interessante notar que, em geral, parece que houve um efeito sinérgico da erva-mate com as estatinas. Para o grupo DLP usuários de estatina, a ingestão adicional de chá mate tostado promoveu elevação não significativa da capacidade antioxidante em 12,6 e 11,8 % após 20 e 40 dias de consumo, respectivamente (Figura 10A). Além disso, a ingestão do chá mate aumentou, também de forma não significativa, a concentração de GSH em 7,4 % (Figura 10B) e a atividade da PON-1 em 6,3% (Figura 10C) e diminuiu aproximadamente 8% a concentração de hidroperóxidos lipídicos após 20 dias de consumo (Figura 11A). Infelizmente, são escassos os estudos que avaliaram o efeito das estatinas nos marcadores plasmáticos do estresse oxidativo. Ky et al. (2008) avaliaram a influência da pravastatina e atorvastatina no estresse oxidativo de indivíduos hipercolesterolêmicos, porém os resultados apresentados foram inconsistentes, com alterações não significativas na concentração de LDL-ox ou na excreção de produtos de peroxidação lipídica (isoprostanos), dentre outros. O trabalho realizado por Travidou et al. (2006), por sua vez, demonstrou que o tratamento com sinvastatina em indivíduos hipercolesterolêmicos promoveu diminuição significativa da LDL-ox.

Está bem estabelecido que a aterosclerose consiste num processo inflamatório crônico e as citocinas envolvidas como IL-1, TNF- $\alpha$  levam à produção de IL-6 que, por sua vez, estimula a síntese hepática de marcadores, e ao mesmo tempo, de mediadores inflamatórios, como a proteína C reativa, quantificada por método ultra sensível, e fibrinogênio. Nossos resultados demonstraram que a ingestão prolongada de erva-mate promoveu diminuição na concentração sérica da PCR-us dos indivíduos normolipidêmicos em aproximadamente 28%, após 40 dias, porém esta diferença não foi significativa, provavelmente devido à grande variação dos dados e pequeno número de análises (n = 6). A diminuição no número de participantes ocorreu devido à exclusão do estudo de vários indivíduos que apresentaram

aumentos e/ou variações exageradas na concentração de PCR em decorrência de inúmeras situações, como processos inflamatórios e infecciosos, tabagismo, terapia de reposição hormonal e emprego de anti-inflamatórios, segundo os critérios descritos na III Diretriz Brasileira sobre Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (RIDKER, 2001).

Os resultados obtidos para o parâmetro fibrinogênio, por sua vez, foram mais expressivos após 20 dias de consumo de erva-mate verde ou tostada. Os indivíduos normolipidêmicos apresentaram diminuição significativa do analito (-11,7%;  $p = 0,001$ ) após 20 dias de consumo de erva-mate. Por outro lado, para o grupo DLP, apenas os indivíduos que consumiram erva-mate verde ( $n = 12$ ) apresentaram diminuição significativa da concentração plasmática de fibrinogênio de 8,4% após 20 dias de ingestão da infusão (Tabela 17). Os participantes dislipidêmicos em uso de estatina apresentaram diminuição não significativa de fibrinogênio em aproximadamente 5% após 20 dias e de 30% de PCR-us após 40 dias de consumo de chá mate.

Em geral, esses resultados de ausência de efeitos anti-inflamatórios mais expressivos da erva-mate devem ser vistos com cautela, pois os valores de PCR-us e de fibrinogênio dos participantes encontravam-se dentro da faixa de referência, já caracterizando um grupo de baixo risco para DAC em relação a esses marcadores. Assim, uma diminuição adicional dos marcadores teria um efeito benéfico questionável. Portanto, os nossos resultados não são conclusivos em relação ao efeito anti-inflamatório da erva-mate, com base na diminuição dos marcadores PCR-us e fibrinogênio. Porém, uma possível justificativa para o mate diminuir os marcadores de inflamação, PCR-us e fibrinogênio, em cerca de 56% e 75%, respectivamente, poderia ser atribuída às saponinas. A atividade anti-inflamatória das saponinas é conhecida há longo tempo e vários autores demonstraram esse efeito em diferentes modelos de inflamação em animais ou em cultura de células (SAFAYHI; SAILER, 1997; YUAN et al., 2006). Porém, não existem relatos do efeito anti-inflamatório das saponinas de qualquer espécie vegetal em seres humanos. De qualquer maneira, os resultados do presente estudo mostram-se promissores para a realização de estudos adicionais para avaliar o efeito anti-inflamatório da erva-mate em seres humanos.

Observou-se também que a ingestão da infusão de erva-mate tostada durante 40 dias pelos indivíduos dislipidêmicos promoveu diminuição no peso corpóreo dos participantes em 1,0%, equivalente a 0,7 kg, após 40 dias de consumo ( $p < 0,05$ ; Tabela 4). Apesar de estatisticamente significativa, esta diferença pode ser considerada clinicamente irrelevante. Porém, em uma ampla revisão sobre o potencial de plantas normalmente usadas para reduzir peso, Dickel; Rates e Ritter (2007) relataram que a *Ilex paraguariensis* é uma das únicas

espécies descritas em estudos que apresentam dados clínicos de eficiência no tratamento de obesidade. Este possível efeito da erva-mate no emagrecimento poderia ocorrer pelo aumento do período de saciedade (ANDERSEN; FOGH, 2001) ou pela maior oxidação de gorduras (MARTINET; HOSTETTMANN; SCHUTZ, 1999). O efeito de diminuição do peso provocado pela erva-mate também pode estar relacionado ao conteúdo de cafeína, uma vez que este composto tem propriedades estimulantes e lipolíticas (revisado por RATES, 2004) ou às propriedades diurética e laxativa da *Ilex paraguariensis* (DICKEL; RATES; RITTER, 2007).

Outra propriedade da erva-mate observada no nosso estudo foi a diminuição significativa na pressão arterial sistólica, após 40 dias de tratamento, de aproximadamente 3 mmHg, equivalente a 2,2%, em relação aos valores basais (Tabela 3). Embora pequena e, talvez, sem significado clínico, essa diminuição na pressão arterial corrobora os resultados apresentados anteriormente em estudos realizados em nosso laboratório (FELIPPI et al., 2006), onde foi demonstrado que a administração de extrato aquoso de erva-mate a camundongos com aterosclerose melhorou de forma significativa a contração e o relaxamento vascular da artéria aorta. Além disso, verificou-se o efeito vasorelaxante *in vitro* da erva-mate em anéis de aorta de ratos (FELIPPI; RIBEIRO DO VALE; SILVA, 2005). Muccillo Baisch, Johnston e Paganini Stein (1998) já haviam apresentado resultados semelhantes em artéria mesentérica de ratos, indicando o envolvimento do óxido nítrico no efeito vasorelaxante da erva-mate.

Para finalizar, os resultados apresentados neste estudo demonstraram que o emprego relativamente prolongado do chá mate pode ser um hábito saudável, por apresentar propriedades hipocolesterolêmicas, antioxidantes e, possivelmente, anti-inflamatórias em seres humanos. Além disso, os nossos resultados mostraram a ausência de danos renais ou hepáticos em função do consumo por 40 dias de erva-mate verde ou tostada pelos participantes (Tabela 9). As alterações significativas observadas para os parâmetros uréia (aprox. -10%), leucócitos (+3,2%) e hematócrito (aprox. -1,6%) podem ser consideradas clinicamente irrelevantes, pois os valores permaneceram dentro da faixa de referência.

Assim, com base nos resultados apresentados neste estudo, os quais mostraram a propriedade da infusão da erva-mate em atuar na diminuição de fatores de risco fortemente associados à aterosclerose, como a dislipidemia, o estresse oxidativo e, possivelmente, a inflamação arterial, sugere-se que estudos epidemiológicos e/ou prospectivos deverão ser realizados a fim de investigar as propriedades anti-ateroscleróticas da erva-mate em seres humanos.

# **CONCLUSÕES**

## 7 CONCLUSÕES

- A ingestão de erva-mate verde ou tostada por indivíduos normolipidêmicos, durante 20 e 40 dias, promoveu diminuição significativa na concentração sérica de LDL-C e na relação LDL-C/HDL-C. Porém, não houve variação expressiva nos valores de colesterol total, HDL-C, Não-HDL-C, triglicerídeos, apolipoproteína B-100 ou na relação apo B/apo A-I;
- A ingestão de erva-mate verde ou tostada por indivíduos dislipidêmicos, durante 20 e 40 dias, diminuiu a concentração sérica de colesterol total, LDL-C, Não-HDL-C, relação LDL-C/HDL-C, apolipoproteína B-100 e a relação apo B/apo A-I e aumentou a concentração de HDL-C após 20 dias, porém não alterou expressivamente os valores de triglicerídeos;
- A erva-mate tostada apresentou efeito sinérgico com as estatinas na redução da concentração sérica de LDL-C e na relação LDL-C/HDL-C, bem como na elevação dos valores de HDL-C;
- Em geral, o efeito da ingestão da erva-mate verde ou tostada nos parâmetros lipídicos foi semelhante para indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos. Além disso, não houve diferença de efeito entre os dois tipos de ervas, exceto a ingestão da erva-mate tostada pelos participantes dislipidêmicos, a qual mostrou ser mais efetiva na diminuição de LDL-C e de Não-HDL-C, após 40 dias de consumo, em comparação com a erva-mate verde;
- O consumo por 20 e 40 dias de erva-mate promoveu melhora dos parâmetros lipídicos para os indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos, sendo que para os primeiros, o percentual de redução de LDL-C foi dependente da concentração inicial sérica do analito;
- O consumo de infusão de erva-mate verde ou tostada aumentou a capacidade antioxidante do soro após 20 dias e a concentração da glutatona reduzida sanguínea após 40 dias nos indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos. Além disso, elevou a atividade da enzima paroxonase-1 em cerca de 50% dos participantes;
- A ingestão de infusão de erva-mate verde ou tostada diminuiu a concentração plasmática de hidroperóxidos lipídicos nos indivíduos dislipidêmicos após 20 dias de consumo, mas não promoveu modificação significativa na concentração das proteínas carboniladas (oxidadas) no plasma dos indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos;

- A ingestão de erva-mate verde ou tostada reduziu a concentração de fibrinogênio no plasma dos indivíduos normolipidêmicos e dislipidêmicos, após 20 dias de consumo, porém não modificou a concentração sérica da PCR-us;
- A ingestão da infusão de erva-mate concomitante ao uso das estatinas não modificou de forma significativa as concentrações dos marcadores do estresse oxidativo ou inflamatórios;
- Apesar da infusão de erva-mate verde apresentar concentrações significativamente maiores de fenóis totais, saponinas e da capacidade antioxidante em relação à erva-mate tostada, estas diferenças não se refletiram no efeito hipocolesterolêmico e antioxidante *in vivo* dos dois tipos de erva-mate;
- A erva-mate verde ou tostada foi capaz de reduzir significativamente a pressão arterial sistólica (~3 mmHg) dos participantes após 40 dias de consumo;
- Os indivíduos dislipidêmicos sem uso de estatina apresentaram redução significativa do peso corporal (~0,7 kg) após 40 dias de consumo de erva-mate tostada;
- O consumo por 20 e 40 dias das infusões de erva-mate não provocou alterações significativas ou clinicamente relevantes na atividade das enzimas hepáticas, na concentração sérica da creatinina, uréia e glicose ou nos parâmetros hematológicos.

## **REFERÊNCIAS**

## REFERÊNCIAS

- ABIDOV, M.; RAMAZANOV, A.; JIMENEZ DEL RIO, M. et al. Effect of Blueberin on fasting glucose, C-reactive protein and plasma aminotransferases, in female volunteers with diabetes type 2: double blind, placebo controlled clinical study. **Georgian Med. News**, v. 141, p. 66-72, 2006.
- AFANAS'EV, I.B.; DOROZHKO, A.I.; BRODSKII, A.V. et al. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochem. Pharmacol.**, v. 38, n.11, p. 1763-1769, 1989.
- ALBERTINI, R.; MORATTI, R.; De LUCA, G. Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. **Curr. Mol. Med.**, v. 2, n. 6, p. 579-592, 2002.
- ALENCAR, Y.M.G.; De CARVALHO FILHO, E.T.; PASCHOAL, S.M.P. et al. Fatores de risco para aterosclerose em uma população idosa ambulatorial na cidade de São Paulo. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 74, n. 3, p. 181-188, 2000.
- ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **J. Ethnopharmacol.**, v. 20, n. 2, p. 121-144, 1987.
- ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **J. Hum. Nutr. Diet.**, v. 14, n. 3, p. 243-250, 2001.
- ANDREASSI, M.G. Coronary atherosclerosis and somatic mutations: an overview of the contributive factors for oxidative DNA damage. **Mutat. Res.**, v. 543, n.1, p. 67-86, 2003.
- ANDREWS, T.C.; BALLANTYNE, C.M.; HSIA, J.A. et al. Achieving and maintaining National Cholesterol Education Program low-density lipoprotein cholesterol goals with five statins. **Am. J. Med.**, v. 111, n. 3, p. 185-191, 2001.
- ARAUJO, F.B.; BARBOSA, D.S.; HSIN, C.Y. et al. Evaluation of oxidative stress in patients with hyperlipidemia. **Atherosclerosis**, v.117, n. 1, p. 61-71, 1995.
- ASSMANN G.; CULLEN P.; SCHULTE, H. The Münster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. **Eur. Heart. J.**, n. 19, supl. A, p. A2-A11, 1998.
- ASSMANN, G.; NOFER, J.R. Atheroprotective effects of high density lipoproteins. **Annu. Rev. Med.**, v. 54, p. 321-341, 2003.
- AVIRAM, M.; HARDAK, E.; VAYA, J. et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. **Circulation**, v. 101, n. 21, p. 2510-2517, 2000.
- AVIRAM, M; ROSENBLAT, M. Paraonxases and cardiovascular diseases: pharmacological and nutritional influences. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 16, n. 4, p. 393-399, 2005.

- BABA, S.; NATSUME, M.; YASUDA, A. et al. Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo - and hypercholesterolemic human after intake of different levels of cocoa powder. **J. Nut.**, v. 137, n. 6, p. 1436-1441, 2007.
- BAIGENT, C.; KEECH, A.; KEARNEY, P.M. et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90.056 participants in 14 randomised trials of statins. **Lancet**, v. 366, n. 9493, p. 1267-1278, 2005.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.
- BARRETO, S.M.; PASSOS, V.M.A.; CARDOSO, A.R.A. et al. Quantificando o risco da doença coronariana na comunidade. Projeto Bambuí. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 81, n. 6, p. 549-555, 2003.
- BASTOS, D.H.M.; DE OLIVEIRA, D.M.; MATSUMOTO, R.L.T. et al. Yerba maté: Pharmacological properties, research and biotechnology. **Med. Arom. Plant. Sci. Biotechnol.**, v.1, n. 1, p.37-46, 2007.
- BASTOS, D.H.M.; FORNARI, A.C.; QUEIROZ, Y.S. et al. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 49, n. 3, p. 399-404, 2006a.
- BASTOS, D.H.M., FORNARI, A.C., QUEIROZ, Y.S. et al. The chlorogenic acid and caffeine content of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) beverages. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, p. 91-95, 2005.
- BASTOS, D.H.M.; ISHIMOTO, E.Y.; MARQUES, M.O.M. et al. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. **J. Food. Compost. Anal.**, v. 19, p. 538-543, 2006b.
- BASTOS, D.H.M.; TORRES, E.A.F.S. Bebidas a base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e saúde pública. **Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, v. 26, p. 77-89, 2003.
- BAYNES, J.; DOMINICZAK, M.H. **Bioquímica médica**. São Paulo: Editora Manole, 2000. p. 201-214.
- BEAGHOLE, R.; SARACCI, R.; PANICO, S. Cardiovascular diseases: causes, surveillance and prevention. **Int. J. Epidemiol.**, v. 30, supl.1, p. S1-S4, 2001.
- BEARD, J.L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D.J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutr. Rev.**, v. 54, n. 10, p. 295-317, 1996.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Anal. Biochem.**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BERTIPAGLIA DE SANTANA, M.; MANDARINO, M.G.; CARDOSO, J.R. et al. Association between soy and green tea (*Camellia sinensis*) diminishes hypercholesterolemia and increases total plasma antioxidant potential in dyslipidemic subjects. **Nutrition**, v. 24, n. 6, p. 562-568, 2008.

- BERTOLAMI, M.C. Mecanismos de hepatotoxicidade. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 85, supl. V, p. 25-27, 2005.
- BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 61, p. 882-888, 1963.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, v. 12, p. 123-130, 1999.
- BIR, L. S.; DEMIR, S.; ROTA, S. et al. Increased serum malondialdehyde levels in chronic stage of ischemic stroke. **Tohoku J. Exp. Med.**, v. 208, n. 1, p. 33-39, 2006.
- BIXBY, M.; SPIELER, L.; MENINI, T. et al. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sci.**, v. 77, n. 3, p. 345-358, 2005.
- BLAIR, S. N.; CAPUZZI, D. M.; GOTTLIEB, S. O. et al. Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy. **Am. J. Cardiol.**, v. 86, p. 46-52, 2000.
- BOLOKADZE, N.; LOBJANIDZE, I.; MOMTSELIDZE, N. et al. Blood rheological properties and lipid peroxidation in cerebral and systemic circulation of neurocritical patients. **Clin. Hemorheol. Microc.**, v. 30, n. 2, p. 99-105, 2004.
- BRACESCO, N.; DELL, M.; ROCHA, A. et al. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguayensis*: prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein. **J. Altern. Complem. Med.**, v. 9, n. 3, p. 379-387, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Morbidade hospitalar por local de internação e mortalidade geral.** Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/tabnet/tabnet.htm>>. Acesso em: 18 ago 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Taxa de mortalidade específica por doenças do aparelho circulatório.** Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ldb2007/c08.def>>. Acesso em: 10 dez 2008.
- BROWN, B.G.; ZHAO, X.Q.; CHAIT, A. et al. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 345, n. 22, p. 1583-1592, 2001.
- BROWN, W.V. Safety of statins. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 19, n. 6, p. 558-562, 2008.
- BURDMANN, E.A.; VIEIRA JÚNIOR, J.M.; VIDAL, E.C. Nefropatia tóxica e tubulointersticial. In: Riella, M.C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólitos.** 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1996. Cap. 24, p. 325-350.
- CAMPO, V.L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e as novas tendências terapêuticas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 425-430, 2007.

CAMPOS, A.M.; ESCOBAR, J.; LISSI, E.A. The total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of *Ilex paraguariensis* extracts and red wine. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 7, p. 43-49, 1996.

CARINI, M.; FACINO, R.M.; ALDINI, G. et al. Characterization of phenolic antioxidants from maté (*Ilex paraguariensis*) by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectr.**, v. 12, p. 1813-1819, 1998.

CHANDRA, S.; De MEJIA, E.G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 11, p. 3583-3589, 2004.

CHATURVEDI, N. Ethnic differences in cardiovascular disease. **Heart**, v. 89, p. 681-686, 2003.

CHEUNG, B.M.; LAUDER, I.J.; LAU, C.P. et al. Meta-analysis of large randomized controlled trials to evaluate the impact of statins on cardiovascular outcomes. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v. 57, n. 5, p. 640-651, 2004.

CHISOLM, G.M.; STEINBERG, D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 28, n. 12, p. 1815-1826, 2000.

CHONG, P.H.; BACHENHEIMER, B.S. Current, new and future treatments in dyslipidaemia and atherosclerosis. **Drugs**, v. 60, n. 1, p. 55-93, 2000.

CIGANA, C. RS: Apex exalta virtudes terapêuticas para vender mais erva-mate. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, 18 out. 2008. Disponível em <[http://www.paginarural.com.br/noticias\\_detalhes.php?id=97511](http://www.paginarural.com.br/noticias_detalhes.php?id=97511)>. Acesso 18 out. 2008.

CLEARFIELD, M.B. C-reactive protein: a new risk assessment tool for cardiovascular disease. **J. Am. Osteopath. Assoc.**, v. 105, n. 9, p. 409-416, 2005.

CLIFFORD, M.N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. Chlorogenic acids and purine contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. **Food Chem.**, v. 35, p. 13-21, 1990.

DALLE-DONNE, I.; GIUSTARINI, D.; COLOMBO, R. et al. Protein carbonylation in human diseases. **Trends Mol. Med.**, v. 9, n. 4, p. 169-176, 2003a.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; COLOMBO, R. et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clin. Chem.**, v. 52, n. 4, p. 601-623, 2006.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; GIUSTARINI, D. et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clin. Chim. Acta**, v. 329, n. 1-2, p. 23-38, 2003b.

DANESH, J.; WHEELER, J. G.; HIRSCHFELD, G. M. et al. C-reactive protein and other circulation markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **N. Eng. J. Med.**, v. 350, p. 1387-1397, 2004.

- DASKALOPOULOU, S.S.; MIKHAILIDIS, D.P. Reaching goal in hypercholesterolaemia: dual inhibition of cholesterol synthesis and absorption with simvastatin plus ezetimibe. **Curr. Med. Res. Opin.**, v. 22, n. 3, p. 511-528, 2006.
- DAVIES, M.J.; JUDD, J.T.; BAER, D.J. et al. Black tea consumption reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolemic adults. **J. Nutr.**, v. 133, n. 10, p. 3298S-3302S, 2003.
- DAY, A.J.; BAO, Y.; MORGAN, M.R. et al. Conjugation position of quercetin glucuronides and effect on biological activity. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 29, n. 12, p. 1234-1243, 2000.
- DAY, A.J.; WILLIAMSON, G. Biomarkers for exposure to dietary flavonoids: a review of the current evidence for identification of quercetin glycosides in plasma. **Br. J. Nutr.**, v. 86, supl. 1, p. S105 – S110, 2001.
- De WHALLEY, C.; RANKIN, S.M.; HOULT, J.R. et al. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. **Biochem. Pharmacol.**, v. 39, n. 11, p. 1743-1750, 1990.
- DEMIRKAYA, S.; TOPCUOGLU, M.A.; AYDIM, A. et al. Malondialdehyde, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in peripheral blood erythrocytes of patients with acute cerebral ischemia. **Eur. J. Neurol.**, v. 8, n. 1, p. 43-51, 2001.
- DICKEL, M.L.; RATES, S.M.; RITTER, M.R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, n. 1, p. 60-71, 2007.
- DONOVAN, J.L.; BELL, J.R.; KASIM-KARAKAS, S. et al. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. **J. Nut.**, v. 129, n. 9, p. 1662-1668, 1999.
- DRAGANOV, D.I.; LA DU, B.N. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 369, n. 1, p. 78-88, 2004.
- DURINGTON, P.N. Can measurement of apolipoprotein B replace the lipid profile in the follow-up of patients with lipoprotein disorders? **Clin. Chem.**, v. 48, p. 401-402, 2002.
- DUSTING, G.J.; TRIGGLE, C. Are we over oxidized? Oxidative stress, cardiovascular disease, and the future of intervention studies with antioxidants. **Vasc. Health Risk Manag.**, v. 1, n. 2, p. 93-97, 2005.
- DZAU, V.J.; ANTMAN, E.M.; BLACK, H.R. et al. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes. Part I: pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). **Circulation**, v. 114, n. 25, p. 2850-2870, 2006.
- ERDMAN JUNIOR, J.W.; CARSON, L.; KWIK-URIBE, C. et al. Effects of cocoa flavonols on risk factors for cardiovascular disease. **Asia Pac. J. Clin. Nutr.**, v. 17, supl.1, p. 284-287, 2008.

- ERNEST, E.; RESH, K.L. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. **Ann. Intern. Med.**, v. 118, n. 12, p. 956-963, 1993.
- ESMELINDRO, M.C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A. et al. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, v. 22, n. 2, p. 193-204, 2002.
- EVELSON, P.; TRAVACIO, M.; REPETTO, M. et al. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 388, n. 2, p. 261-266, 2001.
- FAGUNDES, R.B.; ABNET, C.C.; STRICKLAND, P.T. et al. Higher urine I-hydroxy pyrene glucuronide (I-OHPG) is associated with tobacco smoke exposure and drinking maté in healthy subjects from Rio Grande do Sul, Brazil. **BMC Cancer**, v. 6, n. 139, p. 1-7, 2006.
- FAN, J.P.; HE, C.H. Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high-performance liquid chromatography method. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 41, n. 3, p. 950-956, 2006.
- FANG, Y.Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, n.10, p. 872-879, 2002.
- FELIPPI, R.; RIBEIRO DO VALLE, R.M.; SILVA, E.L. Efeito do extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) na reatividade vascular de aorta torácica de ratos. In: **XIX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE)**, Águas de Lindóia-SP, 2005. CD Rom, n. 44104.
- FELIPPI, R.; RIBEIRO DO VALLE, R.M.; WILHELM FILHO, D. et al. Administration of aqueous extract of *Ilex paraguariensis* reverses endothelial dysfunction in LDL receptor knockout mice. **Free Radic. Res.**, v. 40, n. 1, p. S104, 2006.
- FERRÉ, N.; TOUS, M.; PAUL, A. et al. Paraoxonase Gln-Arg (192) and Leu-Met (55) gene polymorphisms and enzyme activity in a population with a low rate of coronary heart disease. **Clin. Biochem.**, v. 35, n. 3, p. 197-203, 2002.
- FERREIRA, F.; VÁSQUEZ, A.; GÜNTNER, C. et al. Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by the *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. saponins. **Phytother. Res.**, v. 11, p. 79-81, 1997.
- FERRETI, G.; BACCHETTI, T.; BUSNI, D. et al. Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparasion between healthy subjects and type 1 diabetic patients. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, n. 6, p. 2957-2962, 2004.
- FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G. et al. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 774-778, 2001.
- FILIP, R.; LOTITO, S.B.; FERRARO, G. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.

- FILIP, R.; SEBASTIAN, T.; FERRARO, G. et al. Effect of *Ilex* extracts and isolated compounds on peroxidase secretion of rat submandibular glands. **Food Chem. Toxicol.**, v. 45, n. 4, p. 649-655, 2007.
- FOROUHI, N.G.; SATTAR, N. CVD risk factors and ethnicity – a homogeneous relationship? **Atheroscler. Suppl.**, v. 7, n. 1, p. 11-19, 2006.
- FOX, C.S.; EVANS, J.C.; LARSON, M.G. et al. Temporal trends in coronary heart disease mortality and sudden cardiac death from 1950 to 1999: the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 110, n. 5, p. 522-527, 2004.
- FRANK, P.G.; MARCEL, Y.L. Apolipoprotein A-I: structure-function relationships. **J. Lipid Res.**, v. 41, p. 853-872, 2000.
- FRANZONI, F.; QUIÑONES-GALVAN, A.; REGOLI, F. et al. A comparative study of the *in vitro* antioxidant activity of statins. **Int. J. Cardiol.**, v. 90, n. 2-3, p. 317-321, 2003.
- FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifugation. **Clin. Chem.**, v. 18, n. 6, p.499-502, 1972.
- GAGNÉ, C.; GAUDET, D.; BRUCKERT, E. et al. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. **Circulation**, v. 105, n. 21, p. 2469-2475, 2002.
- GAN, K.N.; SMOLEN, A.; ECKERSON, H.W. et al. Purification of serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. **Drug Metab. Dispos.**, v. 19, n. 1, p. 100-106, 1991.
- GELEIJNSE, J.M.; LAUNER, I.J.; van der KUIP, D.A. et al. Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 75, n. 5, p. 880-886, 2002.
- GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F. et al. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 29, n.11, p. 1106-1114, 2000.
- GIGLEUX, I. ; JENKINS, D.J.; KENDALL, C.W. et al. Comparison of a dietary portfolio diet of cholesterol-lowering foods and a statin on LDL particle size phenotype in hypercholesterolaemic participants. **Br. J. Nutr.**, v. 98, n. 6, p. 1229-1236, 2007.
- GNOATTO, S.C.B.; SCHENKEL, E.P.; BASSANI, V.L. HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n. 4, p. 723-726, 2005.
- GOLDBERG, A.C.; OSTLUND JUNIOR, R.E.; BATEMAN, J.H. et al. Effect of plant stanol tablets on low-density lipoprotein cholesterol lowering in patients on statin drugs. **Am. J. Cardiol.**, v. 97, n. 3, p. 376-379, 2006.

- GORDON, D. J.; PROBSTFIELD, J. L.; GARRISON, R. J. et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. **Circulation**, v. 79, p. 8-15, 1989.
- GORZALCZANY, S.; FILIP, R.; ALONSO, M.R. et al. Choleric effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 75, p. 291-294, 2001.
- GRIGORE, L.; NORATA, G.D.; CATAPANO, A.L. Combination therapy in cholesterol reduction: focus on ezetimibe and statins. **Vasc. Health Risk Manag.**, v. 4, n. 2, p. 267-278, 2008.
- GRUNDY, S.M. Low-density lipoprotein, non-high-density lipoprotein, and apolipoprotein B as targets of lipid-lowering therapy. **Circulation**, v. 106, n. 20, p. 2526-2529, 2002.
- GRUNDY, S.M.; CLEEMAN, J.I.; MERZ, C.N.B. et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. **Circulation**, v. 110, n. 2, p. 227-239, 2004.
- GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL *in vivo*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 224, p. 338-344, 1996.
- GUGLIUCCI, A.; STAHL, A.J.C. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochem. Mol. Biol. Int.**, v. 35, p. 47-56, 1995.
- GUIMARÃES, P.R.; GALVÃO, A.M.P.; BATISTA, C.M. et al. Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, n. 9, p. 1027-1036, 2000.
- HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: A personal view. **Nutr. Rev.**, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radical in biology and medicine**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1989.
- HAN, L.K.; ZHENG, Y.N.; YOSHIKAWA, M. et al. Anti-obesity effects of chikusetsusaponins isolated from *Panax japonicus* rhizomes. **BMC Complement. Altern. Med.**, v. 5, p. 9, 2005.
- HARRIS, W.S.; DUJOVNE, C.A.; WINDSOR, S.L. et al. Inhibiting cholesterol absorption with CP-88,818 (beta-tigogenin cellobioside; tiqueside): studies in normal and hyperlipidemic subjects. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 130, n.1, p. 55-60, 1997.
- HECK, C.I.; De MEJIA, E.G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **J. Food Sci.**, v. 72, n. 9, p. R138-R151, 2007.

HERTOG, M.G.; FESKENS, E.J.; HOLLMAN, P.C. et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. **Lancet**, v. 342, n. 8878, p. 1007-1011, 1993.

HERTOG, M.G.; HOLLMAN, P.C.; KATAN, M.B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoid of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 2379-2383, 1992.

HERTOG, M.G.; HOLLMAN, P.C.; van de PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. **J. Agric. Food Chem.** v. 41, p.1242-1246, 1993.

HERTOG, M.G.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C. et al. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Arch. Intern. Med.**, v. 155, n. 4, p. 381-386, 1995.

HUXLEY, R.R.; NEIL, H.A. The relation between dietary flavonol intake and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 57, n. 8, p. 904-908, 2003.

ISHITANE, L.H.; FRANCO, G.C.; PERPÉTUO, I.H.O. et al. Desigualdade social e mortalidade precoce por doenças cardiovasculares no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 4, p. 684-691, 2006.

JACKSON, M.J. An overview of methods for assessment of free radical activity in biology. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 58, p. 1001-1006, 1999.

JAMES, R.W.; LEVIEV, I.; RIGHETTI, A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. **Circulation**, v. 101, n. 19, p. 2252-2257, 2000.

JARVIK, G.P.; TSAI, N.T.; MCKINSTRY, L.A. et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 22, n. 8, p. 1329-1333, 2002.

JIANG, Z.Y.; HUNT, J.J.; WOLFF, S.P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. **Anal. Biochem.**, v. 202, n. 2, p. 384-389, 1992.

JOLLY, K.; GILL, P. Ethnicity and cardiovascular disease prevention: practical clinical considerations. **Curr. Opin. Cardiol.**, v. 23, n. 5, p. 465-470, 2008.

JORDÃO JÚNIOR, A.A.; CHIARELLO, P.G.; BERNARDES, M.S.M. et al. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Med., Ribeirão Preto**, v. 31, p. 434-449, 1998.

KÁDÁR, A.; GLASZ, T. Development of atherosclerosis and plaque biology. **Cardiovasc. Surg.**, v. 9, n. 2, p. 109-121, 2001.

- KAMADA, C.; SILVA, E.L.; OHNISHI-KAMEYAMA, M. et al. Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit. **Free Rad. Res.**, v. 39, n. 2, p. 185-194, 2005.
- KAMANGAR, F.; SCHANTZ, M.M.; ABNET, C.C. et al. High levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon in mate drinks. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 17, n. 5, p. 1262-1268, 2008.
- KANITZ, M.G.; GIOVANNUCCI, S.J.; JONES, J.S. et al. Myocardial infarction in young adults: risk factors and clinical features. **J. Emerg. Med.**, v.14, n. 2, p.139-145, 1996.
- KANNEL, W.B. Coronary heart disease risk factors in the elderly. **Am. J. Geriatr. Cardiol.**, v.11, n. 2, p. 101-107, 2002.
- KANNEL, W.B.; CASTELLI, W.P.; GORDON, T. et al. Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease. **Ann. Intern. Med.**, v. 74, n. 1, p. 1-12, 1971.
- KAPLAN, L.A.; PESCE, A.J. **Clinical chemistry: theory, analysis, correlation**. 3. ed. St Louis, MO: Mosby, 1996.
- KIM, H.P.; SON, K.H.; CHANG, H.W. et al. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 96, n. 3, p. 229-245, 2004.
- KITAMOTO, S.; NAKANO, K.; HIROUCHI, Y. et al. Cholesterol-lowering independent regression and stabilization of atherosclerotic lesions by pravastatin and by antimonocyte chemoattractant protein-1 therapy in nonhuman primates. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 24, n. 8, p. 1522-1528, 2004.
- KLEEMOLA, P.; FREESE, R.; JAUHAINEN, M. et al. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. **Atherosclerosis**, v. 160, n. 2, p. 425-432, 2002.
- KNEKT, P.; JARVINEN, R.; REUNANEN, A. et al. Flavonoid intake, coronary mortality in Finland: a cohort study. **Br. J. Med.**, v. 312, n. 7029, p. 478-481, 1996.
- KONO, S.; SHINCHI, K.; IKEDA, N. et al. Green tea consumption and serum lipid profiles: a cross-sectional study in northern Kyushu, Japan. **Prev. Med.**, v. 21, n. 4, p. 526-531, 1992.
- KRETZSCHMAR, M. Regulation of hepatic glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. **Exp. Toxicol. Pathol.**, v. 48, n. 5, p. 439-446, 1996.
- KRITCHEVSKY, S.B.; CESARI, M.; PAHOR, M. Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults. **Cardiovas. Res.**, v. 66, n. 2, p. 265-275, 2005.
- KUNIMOTO, M. Oxidative stress and atherosclerosis. **Yakugaku Zasshi**, v. 127, n. 12, p. 1997-2014, 2007.
- KURIAN, A.K.; CARDARELLI, K.M. Racial and ethnic differences in cardiovascular disease risk factors: a systematic review. **Ethn. Dis.**, v. 17, n. 1, p. 143-152, 2007.

- KY, B.; BURKE, A.; TSIMIKAS, S. et al. The influence of pravastatin and atorvastatin on markers of oxidative stress in hypercholesterolemic humans. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 51, n. 17, p. 1653-1662, 2008.
- LEE, G.R.; BITHELL, T.C.; FOERSTER, J. et al. **Wintrobe Hematologia Clínica**. 1. ed. São Paulo: Editora Manole, 1998.
- LEE, W.J.; LEE, W.L.; TANG, Y.J. et al. Early improvements in insulin sensitivity and inflammatory markers are induced by pravastatin in nondiabetic subjects with hypercholesterolemia. **Clin. Chim. Acta**, v. 390, n. 1-2, p. 49-55, 2008.
- LEVI, F.; LUCCHINI, F.; NEGRI, E. et al. Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world. **Heart**, v. 88, n. 2, p. 119-124, 2002.
- LEVINE, R.L.; GARLAND, D.; OLIVER, C.N. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol.**, v. 186, p. 464-478, 1990.
- LI, H.L.; LIU, D.P.; LIANG, C.C. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. **J. Mol. Med.**, v. 81, n. 12, p. 766-779, 2003.
- LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v., 420, n. 6917, p. 868-874, 2002.
- LIMA, E.S.; COUTO, R.D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 42, n. 3, p. 169-178, 2006.
- LIMA, J.C.C.; SILVA, A.M.; LIMA, D.S. A proteína C reativa PCR (as) como marcador de risco na doença cardiovascular. **Atherosclerosis**, v. 13, n. 1, p. 20-22, 2002.
- LIMA, L.M.; CARVALHO, M.G.; SOUSA, M.O. Índice apo B/apo A-I e predição de risco cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, n. 6, p. e187-e190, 2007.
- LIND, L. Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 169, n. 2, p. 203-214, 2003.
- LIP, G.Y.; BARNETT, A.H.; BRADBURY, A. et al. Ethnicity and cardiovascular disease prevention in the United Kingdom: a practical approach to management. **J. Hum. Hypertens.**, v. 21, n. 3, p. 183-211, 2007.
- LUZ, P.L.; UINT, L. Endotélio na aterosclerose: interações celulares e vasomotricidade. In: Luz, P.L., Laurindo, F.R.M., Chagas, A.C.P. **Endotélio e doenças cardiovasculares**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 131-160.
- MACCARI, A.J.; SANTOS, A.P.R. **Produtos alternativos e desenvolvimento de tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. MCT/CNPq/PADCT, Curitiba, PR, 2000.
- MACKNESS, B.; DAVIES, G.K.; TURKIE, W. et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 21, n. 9, p. 1451-1457, 2001.

MACKNESS, B.; DURRINGTON, P.N.; ABUASHIA, B. et al. Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. **Clin. Sci.**, v. 98, n. 3, p. 355-363, 2000.

MACKNESS, B.; MACKNESS, M.I.; ARROL, S. et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. **FEBS Lett.**, v. 423, n. 1, p. 57-60, 1998.

MACKNESS, M.I.; HARTY, B.; BHATNAGAR, D. et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. **Atherosclerosis**, v. 86, n. 2-3, p. 193-199, 1991.

MALINOW, M.R.; CONNOR, W.E.; McLAUGHLIN, P. et al. Cholesterol and bile acid balance in *Macaca fascicularis*. Effects of alfafa saponins. **J Clin. Invest.**, v. 67, n. 1, p. 156-162, 1981.

MANGIAPANE, H.; THOMSON, J.; SALTER, A. et al. The inhibition of the oxidation of low density lipoproteins by (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid. **Biochem. Pharmacol.**, v. 43, n. 3, p. 445-450, 1992.

MARON, D.J.; LU, G.P.; CAI, N.S. et al. Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract: a randomized controlled trial. **Arch. Intern. Med.**, v. 163, n. 12, p. 1448-1453, 2003.

MARTINET, A.; HOSTETTMANN, K.; SCHUTZ, Y. Thermogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity. **Phytomedicine**, v. 6, n. 4, p. 231-238, 1999.

MASUMOTO, A.; HIROOKA, Y.; HIRONAGA, K. et al. Effect of pravastatin on endothelial function in patients with coronary artery disease (cholesterol-independent effect of pravastatin). **Am. J. Cardiol.**, v. 88, n. 11, p. 1291-1294, 2001.

McANLIS, G.T.; McENENY, J.; PEARCE, J. et al. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 52, n. 3, p. 202-206, 1998.

MENINI, T.; HECK, C.; SCHULZE, J. et al. Protective action of *Ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. **Planta Med.**, v. 73, n. 11, p. 1141-1147, 2007.

MERZ-DEMLOW, B.E.; DUNCAN, A.M.; WANGEN, K.E. et al. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, n. 6, p. 1462-1469, 2000.

MINCIS, M.; MINCIS, R. Enzimas hepáticas: Por que são importantes para o estudo de doenças do fígado? **Prática Hosp.**, ano IX, n. 51, p. 5-10, 2007.

MONETTI, M.; CANAVESI, M.; CAMERA, M. et al. Rosuvastatin displays anti-atherothrombotic and anti-inflammatory properties in apoE-deficient mice. **Pharmacol. Res.**, v. 55, n. 5, p. 441-449, 2007.

- MONTEIRO, M.; FARAH, A.; PERRONE, D. et al. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. **J. Nutr.**, v. 137, n. 10, p. 2196-2201, 2007.
- MOSIMANN, A.L.P.; WILHELM FILHO, D.; SILVA, E.L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* (mate) attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **BioFactors**, v. 26, p. 59-70, 2006.
- MUCCILLO BAISH, A.L.; JOHNSTON, K.B.; PAGANINI STEIN, F.L. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extract of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1998.
- NARDINI, M.; CIRILLO, E.; NATELLA, F. et al. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 20, p. 5735-5741, 2002.
- NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). Second report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel II). **Circulation**, v. 89, p. 1329-1445, 1994.
- NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). Third report of the National Cholesterol Education Program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel III). Executive summary. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 285, p. 2486-2497, 2001.
- NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). Third report of the National Cholesterol Education Program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel III): final reports. **Circulation**, v. 106, p. 3143-3421, 2002.
- NEATON, J.D.; BLACKBURN, H.; JACOBS, D. et al. Serum cholesterol and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. **Arch. Intern. Med.**, v. 152, n. 7, p. 1490-1500, 1992.
- NEGRE-SALVAYRE, A.; COATRIEUX, C.; INGUENEAU, C. et al. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. **Br. J. Pharmacol.**, v. 153, n. 1, p. 6-20, 2008.
- NIJVELDT, R.J.; van NOOD, E.; van HOORN, D.E. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.
- NOFER, J.R.; KEHREL, B.; FOBKER, M. et al. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. **Atherosclerosis**, v. 161, n. 1, p. 1-16, 2002.
- OLTHOF, M.R.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **J. Nutr.**, v. 131, n. 1, p. 597-600, 2001.
- PACKARD, R.R.S.; LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. **Clin. Chem.**, v. 54, n. 1, p. 24-38, 2008.

- PACKARD, C.J.; SHEPHERD, J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 17, n. 12, p. 3542-3556, 1997.
- PAGANINI STEIN, F.L.; SCHMIDT, B.; FURLONG, E.B. et al. Vascular responses to extractable of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. **Biol. Res. Nurs.**, v. 7, n. 2, p. 146-156, 2005.
- PANG, J.; CHOI, Y.; PARK, T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 476, n. 2, p. 178-185, 2008.
- PANZA, V.S.P.; WASLAWIK, E.; SCHÜTZ, G.R. et al. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. **Nutrition**, v. 24, n. 5, p. 433-442, 2008.
- PASSOS, V.M.A.; ASSIS, T.D.; BARRETO, S.M. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 15, n.1, p. 35-45, 2006.
- PELLEGRINI, N.; VISIOLI, F.; BURATTI, S. et al. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, n. 5, p. 2532-2538, 2001.
- PITANGA, F.J.G.; LESSA, I. Associação entre indicadores antropométricos de obesidade e risco coronariano em adultos na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 10, n. 2, p. 239-248, 2007.
- POLANCZYK, C.A. Fatores de risco cardiovascular no Brasil: os próximos 50 anos! **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 84, n. 3, p. 199-201, 2005.
- POLIDORI, M.C.; CHERUBINI, A.; STAHL, W. et al. Plasma carotenoid and malondialdehyde levels in ischemic stroke patients: relationship to early outcome. **Free Radic. Res.**, v. 36, n. 3, p. 265-268, 2002.
- [Nenhum autor listado] Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). **Lancet**, v. 344, n. 8934, p. 1383-1389, 1994.
- RATES, S.M.K. Metilxantinas. In: Simões, C.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G. et al.(Orgs.). **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004. Cap. 34, p. 885-901.
- RECHNER, A.R.; SPENCER, J.P.; KUHNLE, G. et al. Novel biomarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives *in vivo*. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 30, n. 11, p. 1213-1222, 2001.
- REDDY, K.S.; YUSUF, S. Emerging epidemic of cardiovascular disease in developing countries. **Circulation**, v. 97, n. 6, p. 596-601, 1998.

- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- RICCO, R.A.; WAGNER, M.L.; GURNI, A.A. Estudio comparativo de flavonoides en seis especies austrosudamericanas del género *Ilex*. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 10, n. 1, p. 29-35, 1991.
- RIDKER, P.M. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjuvant for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 103, n. 13, p. 1813-1818, 2001.
- ROBERTS, W. C. The rule of 5 and the rule of 7 in lipid-lowering by statin drugs. **Am. J. Cardiol.**, v. 80, p. 106-107, 1997.
- RODRIGO, R.; GUICHARD, C.; CHARLES, R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 21, n. 2, p. 111-127, 2007.
- ROSENSON, R.S. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. **Atherosclerosis**, v. 173, n. 1, p. 1-12, 2004.
- ROSS, R. Mechanisms of disease: atherosclerosis – an inflammatory disease. **N. Eng. J. Med.**, v. 340, p. 115-126, 1999.
- SACKS, F.M.; PFEFFER, M.A.; MOYE, L.A. et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. **N. Engl. J. Med.**, v. 335, n. 14, p. 1001-1009, 1996.
- SAFAYHI, H.; SAILER, E.R. Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. **Planta Med.**, v. 63, n. 6, p. 487-493, 1997.
- SANTOS, R.D. (Coord.) III Diretrizes Brasileiras de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77, supl. 11, 2001.
- SANTOS, R.D.; NASIR, K.; RUMBERGER, J.A. et al. Difference in atherosclerosis burden in different nations and continents assessed by coronary artery calcium. **Atherosclerosis**, v. 187, n. 2, p. 378-384, 2006.
- SCALIA, R.; GOOSZEN, M.E.; JONES, S.P. et al. Simvastatin exerts both anti-inflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2598-2603, 2001.
- SCHAEFER, J.R.; SCHWEER, H.; IKEWAKI, K. et al. Metabolic basis of high density lipoproteins and apolipoprotein A-I increase by HMG Co-A reductase inhibition in healthy subjects and a patient with coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v.144, n. 1, p. 177-184, 1999.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: Simões, C.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 5.

ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004. Cap. 27, p. 711-740.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J.C.; MOSCA, S.M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clin. Nutr.**, v. 24, n. 3, p. 360-366, 2005.

SCHINELLA, G.R.; TROIANI, G.; DÁVILA, V. et al. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 269, n. 2, p. 357-360, 2000.

SCHUBERT, A.; ZANIN, F.F.; PEREIRA, D.F. et al. Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* St. Hill. (erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Quim. Nova**, v. 29, p. 1233-1236, 2006.

SCHWINDEN, A. **Leão Jr. S.A.: A empresa centenária**. Curitiba: Reproset Indústria Gráfica LTDA, 2001. p. 132.

SEN, C. K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **J. Nutr. Biochem.**, v. 8, p. 660-672, 1997.

SERAFINI, M.; GHISELLI, A.; FERRO-LUZZI, A. *In vivo* antioxidant effect of green and black tea in man. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 50, n. 1, p. 28-32, 1996.

SERDAR, Z.; ASLAN, K.; DIRICAN, M. et al. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. **Clin. Chem.**, v. 39, n. 8, p. 794-803, 2006.

SEVER, P.S.; DAHLÖF, B.; POULTER, N.R. et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial - Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. **Lancet**, v. 361, n. 9364, p. 1149-1158, 2003.

SHARRETT, A.R.; BALLANTYNE, C.M.; COADY, S.A. et al. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein (a), apolipoproteins A-I e B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Circulation**, v. 104, n. 10, p. 1108-1113, 2001.

SHEPHERD, J.; COBBE, S.M.; FORD, I. et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. **N. Eng. J. Med.**, v. 333, n. 20, p. 1301-1307, 1995.

SHIMIZU, H.; KIYOHARA, Y.; KATO, I. et al. Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama Study. **Stroke**, v. 35, n. 9, p. 2072-2077, 2004.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks. In: Sies, H. **Oxidative Stress**. USA: Ed. Academic press, 1985. p. 1-7.

- SIES, H. Strategies of antioxidant defence. **Eur. J. Biochem.**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.
- SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 62, supl. 6, p.1315S-1321S, 1995.
- SILVA, E. L.; NEIVA, T.J.C.; SHIRAI, M. et al. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. **Food Res. Int.**, v. 41, p. 973-979, 2008.
- SILVA, E.L.; PISKULA, M.; TERAJO, J. Enhancement of antioxidative ability of rat plasma by oral administration of (-)-epicatechin. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 24, n. 7-8, p. 1209-1216, 1998.
- SILVA, E.L.; PISKULA, M.; YAMAMOTO, N. et al. Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. **FEBS Lett.**, v. 430, n. 3, p. 405-408, 1998.
- SILVA, E.L.; TSUSHIDA, T.; TERAJO, J. Inhibition of mammalian 15-lipoxygenase-dependent lipid peroxidation in low density lipoprotein by quercetin and quercetin-monoglucosides. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 349, n. 2, p. 313-320, 1998.
- SIMONS, L. A. Additive effect of plant sterol-ester margarine and cerivastatin in lowering low-density lipoprotein cholesterol in primary hypercholesterolemia. **Am. J. Cardiol.**, v. 90, p. 737-740, 2002.
- SINGH, V.; DEEDWANIA, P. Dyslipidemia in special populations: asian indians, african americans and hispanics. **Curr. Atheroscler. Rep.**, v. 8, n. 1, p.32-40, 2006.
- SINGH, S.; VENKETESH, S.; VERMA, J. S. et al. Paraoxonase (PON1) activity in north west Indian Punjabis with coronary artery disease & type 2 diabetes mellitus. **Indian J. Med. Res.**, v. 125, n. 6, p. 783-787, 2007.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol.**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SNIDERMAN, A.D.; FURBERG, C.D.; KEECH, A. et al. Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary risk and as targets for statin treatment. **Lancet**, v. 361, p. 777-781, 2003.
- SNIDERMAN, A.D.; JUNGNER, I.; HOLME, I. et al. Errors that result from using the TC/HDL-C ratio rather than the apoB/apoA-I ratio to identify the lipoprotein-related risk of vascular disease. **J. Intern. Med.**, v. 259, n. 5, p. 455-461, 2006.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 3. ed. New York: W.H. Freeman, 1995.
- SÖZMEN, E.Y.; SÖZMEN, B.; GIRGIN, F.K. et al. Antioxidant enzymes and paraoxonase show as co-activity in preserving low-density lipoprotein from oxidation. **Clin. Exp. Med.**, v. 1, n. 4, p. 195-199, 2001.

SPOSITO, A.C. (Ed.) IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, supl. 1, 2007.

STEINBERG, D. An interpretive history of the cholesterol controversy, part V: the discovery of the statins and the end of the controversy. **J. Lipid Res.**, v. 47, p. 1339-1351, 2006.

STENSVOLD, I.; TVERDAL, A.; SOLVOLL, K. et al. Tea consumption, relationship to cholesterol, blood pressure, and coronary and total mortality. **Prev. Med.**, v. 21, n. 4, p. 546-553, 1992.

STEPHENS, J.W.; KHANOLKAR, M.P.; BAIN, S.C. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* (2008), doi:[10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.006](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.006). Article *in press*.

SUTHERLAND, W.H.F.; WALKER, R.J.; JONG, S.A. et al. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 19, n. 5, p. 1340-1347, 1999.

TADIBOYINA, V.T.; LIU, D.M.; MISKIE, B.A. et al. Treatment of dyslipidemia with lovastatin and ezetimibe in an adolescent with cholesterol ester storage disease. **Lipids Health Dis.**, v. 4, p. 26, 2005.

TAKETA, A.T.C.; GNOATTO, S.C.B.; GOSMANN, G. et al. Triterpenoids from Brazilian *Ilex* species and their *in vitro* antitrypanosomal activity. **J. Nat. Prod.**, v. 67, n. 10, p. 1697-1700, 2004.

TALMUD, P.J.; HAWES, E.; MILLER, G.J. et al. Nonfasting apolipoprotein B and triglyceride levels as a useful predictor of coronary heart disease risk in middle-age UK men. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 22, n. 11, p. 1918-1923, 2002.

TOKUNAGA, S.; WHITE, I.R.; FROST, C. et al. Green tea consumption and serum lipids and lipoproteins in a population of healthy workers in Japan. **Ann. Epidemiol.**, v. 12, n. 3, p. 157-165, 2002.

TOMÁS, M.; LATORRE, G.; SENTÍ, M. et al. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma em la arteriosclerosis. **Rev. Esp. Cardiol.**, v. 57, n. 6, p. 557-569, 2004.

TRAVIDOU, A.; EFTHIMIADIS, A.; EFTHIMIADIS, I. et al. Antioxidant effects of simvastatin in primary and secondary coronary heart disease. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 62, n. 6, p. 485-489, 2006.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

van het HOF, K.H.; de BOER, H.S.; WISEMAN, S.A. et al. Consumption of green or black tea does not increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. **Am. J. Clin Nutr.**, v. 66, n. 5, p. 1125-1132, 1997.

van LENNEP, J.E.; WESTERVELD, H.T.; van LENNEP, H.W. et al. Apolipoprotein concentrations during treatment and recurrent artery disease events. **Arterioscler. Thromb. Vasc Biol.**, v. 20, n. 11, p. 2408-2413, 2000.

van LENTEN, B.J.; NAVAB, M.; SHIH, D. et al. The role of high-density lipoproteins in oxidation and inflammation. **Trends Cardiovasc. Med.**, v. 11, n. 3-4, p. 155-161, 2001.

VANDERJAGT, T.J.; GHATTAS, R.; VANDERJAGT, D.J. et al. Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. **Life Sci.**, v. 70, n. 9, p. 1035-1040, 2002.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. **J. Intern. Med.**, v. 255, n. 2, p. 188-205, 2004.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I.; AASTVEIT, A.H. et al. The apoB/apoA-I ratio is better than cholesterol ratios to estimate the balance between plasma proatherogenic and antiatherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 42, n. 12, p. 1355-1363, 2004.

WALLDIUS, G.; JUNGNER, I.; HOLME, I. et al. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. **Lancet**, v. 358, n. 9298, p. 2026-2033, 2001.

WANGEN, K.E.; DUNCAN, A.M.; XU, X. et al. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, n. 2, p. 225-231, 2001.

WAYNER, D.D.; BURTON, G.W.; INGOLD, K.U. et al. The relative contributions of vitamins E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 924, n. 3, p. 408-419, 1987.

WESTERTERP-PLANTENGA, M.; DIEPVEN, K.; JOOSEN, A.M. et al. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. **Physiol. Behav.**, v. 89, n. 1, p. 85-91, 2006.

WHO - World Health Organization. **Cardiovascular Diseases**. Disponível em: <[www.who.int/cardiovascular\\_diseases/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/)>. Acessado em 20 de outubro de 2008a.

WHO - World Health Organization. **Cardiovascular Diseases: prevention and control**. Disponível em: <<http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/cvd/en/>>. Acessado em 20 de novembro de 2008b.

WILHELM FILHO, D.; SILVA, E.L.; BOVERIS, A. Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: Yunes, R.A., Calixto, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó (SC): Argos Editora Universitária – UNOESC, 2001. p. 317-334.

WILLCOX, B.J.; CURB, J.D.; RODRIGUEZ, B.L. Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies. **Am. J. Cardiol.**, v. 101, n. 10A, p. 75D-86D, 2008.

WILLERSON, J.T.; RIDKER, P.M. Inflammation as a cardiovascular risk factor. **Circulation**, v. 109, p. II-2 – II-10, 2004.

WITTIG, J.; HERDERICH, M.; GRAEFE, E.U. et al. Identification of quercetin glucuronides in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.**, v. 753, n. 2, p. 237-243, 2001.

WU, G.; FANG, Y.Z; YANG, S. et al. Glutathione metabolism and its implications for health. **J. Nutr.**, v. 134, n. 3, p. 489-492, 2004.

YUAN, G.; WAHLQVIST, M.L.; HE, G. et al. Natural products and anti-inflammatory activity. **Asia Pac. J. Clin. Nutr.**, v. 15, n. 2, p. 143-152, 2006.

**ANEXOS**





**ANEXO B-** Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da  
Universidade Federal de Santa Catarina



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS**

**Parecer Consubstanciado Projeto nº 080 / 2006**

**I - Identificação**

Título do Projeto: Verificação do efeito hipocolesterolemiante do extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em seres humanos

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Edson Luis da Silva – Departamento de Análises Clínicas/ CCS.

Pesquisador Principal: Aluno(a) de Mestrado a ser selecionado

Instituição onde se realizará: Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose (PGFAR).

Data de entrada no CEP: 03 /04 /2006.

**II – Objetivos**

Verificar o efeito da ingestão prolongada (40 dias) do extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) na concentração do colesterol plasmático de pacientes com hipercolesterolemia. Além disso, serão avaliadas a capacidade antioxidante total do plasma e a pressão arterial após a ingestão prolongada do extrato aquoso de erva-mate.

**III - Sumário do Projeto**

Estudo clínico laboratorial, aberto, controlado e randomizado, realizado mediante inclusão de 40 sujeitos de ambos os sexos, entre 25 e 60 anos, com hipercolesterolemia moderada ou alta, sem distúrbios que afetem os valores do perfil lipídico, que concordarem em participar, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e que, após coleta e análise laboratorial, apresentem valores de colesterol total >220 mg/dia, LDL-c/ HDL-c >2,5 e triglicérides <400mg/dia. Serão excluídos do estudo sujeitos com doenças crônicas como câncer, doenças hepáticas, gástricas, renais e hiper ou hipotireoidismo. Cada participante receberá 120 pacotes contendo 35g de folhas secas e moídas de erva-mate e um copo medido. A infusão deverá ser preparada adicionando 330mL de água quente sobre o conteúdo do pacote e ingerida três (3) vezes ao dia, antes ou logo após as refeições, por um período de 40 dias. No início do estudo, aos 20 e 40 dias serão avaliados o peso corporal, e a altura, para cálculo do Índice de Massa Corporal e a pressão sanguínea, bem como, serão coletados 5 mL de sangue, após jejum de 12 a 14 horas, para as análises laboratoriais do perfil lipídico e capacidade antioxidante total no soro. Os dados coletados serão analisados pelo teste de Kolmogorov-Smirnoff para verificar a normalidade dos dados, teste t de Student para as variáveis que tiverem distribuição gaussiana e teste de Wilcoxon para as variáveis que apresentarem uma distribuição não-gaussiana.

**IV – Comentários**

O projeto encontra-se bem escrito e fundamentado, apresenta tema relevante, o pesquisador está capacitado ao seu desenvolvimento e o protocolo apresenta os documentos necessários para análise. No entanto, questiona-se:

1. Como e onde serão recrutados os sujeitos participantes da pesquisa, chamados de “pacientes” no projeto?
  2. Quem vai realizar a coleta de sangue dos participantes?
-

3. Solicita-se a informação do nome e o envio do currículo do “aluno(a) de Mestrado a ser selecionado”, posto que deve ser do conhecimento do CEP o nome e a qualificação de todos os componentes de uma pesquisa cujo protocolo seja apresentado para análise.

V - Parecer do CEP: **Com pendências**

VI - Data da Reunião

Florianópolis, 24 de abril de 2006.

Vera Lúcia Bosco  
Coordenadora

Obs: A resolução das Pendências deve ser encaminhada ao CEP em 60 dias.

Devem ser encaminhados relatórios parciais anuais e relatórios finais dos projetos Aprovados pelo CEP da UFSC.

### ***Parecer Final***

Os pesquisadores responderam de forma esclarecedora as pendências apontadas. Pelo exposto, recomenda-se a Aprovação do projeto em questão.

Parecer do CEP: **Aprovado.**

Florianópolis, 29 de maio de 2006



*Prof. Washington Portela de Souza*

Washington Portela de Souza  
Coordenador do CEP/UFSC

Fonte: CONEP/ANVS - Resoluções 196/ 96 e 251/ 97 do CNS.

---



## ANEXO C- Termo de Livre Consentimento

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS  
CEP: 88040-970 - FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA

Participante N°

□□□□

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), da pesquisa intitulada “**Efeito hipocolesterolêmico e antioxidante do extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em seres humanos**”, de responsabilidade do pesquisador **Prof. Dr. Edson Luiz da Silva**. Neste estudo, pretende-se avaliar se a erva-mate verde (chimarrão) ou a erva-mate tostada (chá mate) apresentam algumas propriedades consideradas benéficas à saúde humana. Este estudo é necessário porque se acredita que algumas substâncias químicas que estão presentes na erva-mate podem proteger os indivíduos contra a doença aterosclerótica, particularmente pela diminuição dos fatores de risco, como a hipercolesterolemia (colesterol sanguíneo elevado) e o estresse oxidativo, conforme já demonstrado em alguns estudos de laboratório utilizando-se animais e/ou tubos de ensaio.

Para a demonstração desse possível potencial benéfico da erva-mate precisamos de sua colaboração para a ingestão de 330 mL de chá de erva-mate verde ou tostada, 3 vezes ao dia, imediatamente antes ou depois das três principais refeições (independente do horário das mesmas), durante 40 dias. É importante que o consumo da erva-mate não seja interrompido por mais de 2 dias seguidos. Precisamos, também, da sua autorização para a realização de uma coleta de 15-20 mL de sangue (4-5 tubos), em jejum de 10-12 horas, antes e após 20 e 40 dias do início do estudo, bem como a medida da pressão arterial e aferição do peso e da altura. Coletas de sangue também serão realizadas em dois momentos, 20 e 40 dias, previamente à ingestão da erva-mate. O chá de erva-mate (infusão) será preparado pelo(a) senhor(a) na hora de uso, pela adição de 500 mL de água quente (cerca de 85 °C – quando a chaleira começar a “chiar”) sobre 25 g de folhas secas e moídas de erva-mate verde ou 10 g de erva-mate tostada, ambas comerciais, as quais serão fornecidas por nós em pacotes plásticos. Deixar a erva em infusão por, no mínimo, 5-10 minutos antes de filtrar, sendo que essa infusão pode ser preparada pela manhã para posterior consumo, quente ou fria. O chá de erva-mate verde pode ser preparado na cuia e ingerido através da bomba (chimarrão). Caso os chás sejam muito amargos ao seu paladar, recomenda-se adicionar apenas **meia colher de chá** de açúcar ou **uma gota** de adoçante. Quantidade maior de açúcar descaracteriza o sabor natural do mate e, principalmente, aumenta o consumo calórico diário que poderá interferir negativamente nos resultados.

Esse protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC (n° 080/2006) e trará apenas o desconforto das coletas de sangue. Porém, pessoas sensíveis à cafeína (um dos componentes da erva-mate) poderão sentir irritação gástrica, tremores, excitabilidade ou insônia. Caso ocorra algum desses efeitos colaterais com o(a) senhor(a), favor interromper o consumo da erva-mate e entrar em contato com os pesquisadores. Esperamos, entretanto, que esse estudo traga benefícios, tais como a possibilidade de conhecimento das propriedades benéficas da erva-mate à saúde humana, que poderá ser utilizado para a transformação da erva-mate em fitoterápico ou em alimento especial. Esta pesquisa não oferece riscos maiores do que os citados acima, não tem fins lucrativos, é confidencial e o seu nome será usado apenas no primeiro momento de coleta das amostras de sangue. Em seguida, as amostras serão identificadas pelo número do seu cadastro. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revistas científicas, apresentados em congressos ou eventos científicos ou às autoridades sanitárias, sem que seu nome seja mencionado em parte alguma.

O(A) senhor(a) poderá se beneficiar diretamente dos resultados obtidos, caso estes sejam de interesse clínico. Sua participação é voluntária, podendo desistir desta pesquisa em qualquer de suas fases. Se você tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato pelos telefones 3721-80.53 ou 9915-41.49. Se você estiver de acordo em participar, garantimos que as informações obtidas e o material coletado serão confidenciais e só serão utilizados neste trabalho.

Eu, abaixo assinado, concordo em participar deste estudo.

Nome do(a) participante	Assinatura	Data
<u>Edson Luiz da Silva</u> Coordenador - Fone: 3721-80.53; edson@ccs.ufsc.br	<u>Elayne Cristina de Morais</u> Pesquisador - Fone: 9915-41.49; elaynecdemorais@gmail.com	



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
 CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
 DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS  
 CEP: 88040-970 - FLORIANÓPOLIS – SANTA CATARINA  
 FONE: (48) 3721-8053; 3721-9712 - FAX: (48) 3721-9542

Participante N°

□□□□

## Consentimento Para Participar Deste Estudo

Eu, \_\_\_\_\_ declaro que li e compreendi as informações contidas nesse documento. Fui devidamente informado(a) pelos pesquisadores – Prof. Dr. Edson Luiz da Silva e Mestranda Elayne Cristina de Moraes - dos procedimentos que serão utilizados e da conduta deste estudo intitulado “**Efeito hipocolesterolêmico e antioxidante do extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em seres humanos**”, concordando em participar da pesquisa como voluntário. Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Florianópolis, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do(a) participante  
 Voluntário

R.G. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 Prof. Dr. Edson Luiz da Silva

\_\_\_\_\_  
 Elayne Cristina de Moraes