

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE
MINAS GERAIS – IFSULDEMINAS**

Karine de Paula Caproni

**EFEITO DO ÓLEO DE CÁRTAMO (*Carthamus tinctorius* L.) NA DISLIPIDEMIA E
RESISTÊNCIA À INSULINA E SUA INFLUÊNCIA NA HIPERTROFIA
VENTRICULAR ESQUERDA DE CAMUNDONGOS LDL r-/-**

Machado/MG

2018

Karine de Paula Caproni

**EFEITO DO ÓLEO DE CÁRTAMO (*Carthamus tinctorius* L.) NA DISLIPIDEMIA E
RESISTÊNCIA À INSULINA E SUA INFLUÊNCIA NA HIPERTROFIA
VENTRICULAR ESQUERDA DE CAMUNDONGOS LDL r-/-**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS, como parte das exigências do Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: José Antonio Dias Garcia

Machado/MG

2018

C248e

Caproni, Karine de Paula

Efeito do óleo de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) na dislipidemia e resistência à insulina e sua influência na hipertrofia ventricular esquerda de camundongos LDL r-/- / Karine de Paula Caproni. – Machado: [s.n.], 2018.

41 p.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Dias Garcia.

1. Colesterol. 2. Doenças Cardiovasculares. 3. Fitoterápicos. I Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. II. Título.

Karine de Paula Caproni

**EFEITO DO ÓLEO DE CÁRTAMO (*Carthamus tinctorius* L.) NA DISLIPIDEMIA E
RESISTÊNCIA À INSULINA E SUA INFLUÊNCIA NA HIPERTROFIA
VENTRICULAR ESQUERDA DE CAMUNDONGOS LDL r-/-**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS, como parte das exigências do Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 16 de agosto de 2018.

Profa. Dra. Aline Manke Nachtigall
IFSULDEMINAS

Pofa. Dra. Rafaela Bergmann Strada de
Oliveira
UNIFENAS

Prof. Dr. José Antonio Dias Garcia
IFSULDEMINAS

A Deus, pois sem Ele, nada seria possível. Aos meus pais e irmã, que foram profundos incentivadores de toda minha trajetória profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas (IFSULDEMINAS) - Campus Machado, pela oportunidade de desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) – Alfenas, pela parceria no desenvolvimento deste projeto com o IFSULDEMINAS.

Ao CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro no desenvolvimento deste projeto.

Ao meu orientador José Antônio Dias Garcia, por ter me aceito como sua orientanda, pela paciência, carinho e conhecimentos transmitidos.

Aos técnicos de laboratório Paulo Cesar e Gabriel, pela colaboração na realização deste trabalho.

Aos Professores do Programa de Mestrado, por todos os ensinamentos técnicos e experiências passadas dentro e fora da sala de aula.

Às Professoras da Banca Aline Manke Nachtigall e Rafaela Bergmann Strada de Oliveira, pela disponibilidade e contribuição.

Ao Professor Leandro dos Santos, pelo auxílio na confecção do artigo científico.

Às Nutricionistas Danielle Aparecida Quintino Silva Sarto e Ângela Maria Martins, pela contribuição no projeto.

Aos colegas de sala, pelos momentos vividos e pelas experiências profissionais compartilhadas.

Aos amigos e familiares, pela paciência e por acreditarem que eu fosse capaz.

*“Todas as coisas que Deus fez são boas, a seu tempo.
Ele pôs, além disso, no seu coração, a duração inteira,
sem que ninguém possa compreender a obra divina de um
extremo ao outro.”*

(Eclesiastes 3, 11-12)

RESUMO

A dislipidemia, associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, vem sendo considerada um importante problema de saúde pública nos últimos anos. O uso do cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) como fitoterápico no tratamento dessas doenças tem sido largamente estudado. No presente estudo, foi avaliada a influência do óleo de cártamo sobre a dislipidemia e resistência à insulina e sua influência na hipertrofia ventricular esquerda (HVE) em camundongos com ausência para o gene que expressa o receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade LDL (LDL r-/-. Machos com três meses de vida foram distribuídos em quatro grupos: grupo controle (C), animais que receberam dieta padrão; grupo CCA, animais que receberam dieta padrão e óleo de cártamo; grupo HL, animais que receberam dieta hiperlipídica e grupo HLCA, animais que receberam dieta hiperlipídica e óleo de cártamo. Depois de 15 dias, o óleo de cártamo preveniu a dislipidemia e diminuiu o progresso da HVE nos camundongos LDL r-/-. O tratamento com óleo de cártamo foi associado com a redução dos níveis séricos de triglicérides (TG) e Lipoproteína de Densidade Muito Baixa (VLDL) e, por outro lado, houve aumento de Lipoproteína de Alta Densidade (HDL). Os níveis de insulina, proteína C-reativa (PCR) e Índice de Homa (HOMA-IR) dos grupos tratados com dieta hiperlipídica mais óleo de cártamo foram reduzidos quando comparados com os animais que receberam dieta hiperlipídica, porém, os níveis de glicose não se alteraram. Portanto, conclui-se que o óleo de cártamo associado à dieta hiperlipídica atua na prevenção da dislipidemia e como consequência impede a resistência à insulina e desenvolvimento de HVE.

Palavras-chave: Colesterol. Doenças Cardiovasculares. Fitoterápico. Glicose.

ABSTRACT

Dyslipidemia associated with the development of cardiovascular diseases has been considered a major public health issue in recent years. The use of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) as an herbal medication for treating these diseases has been widely studied. In this study, the influence of safflower oil on dyslipidemia and resistance to insulin, as well as on left ventricular hypertrophy (LVH) was evaluated in mice with the absence of the Low-Density Lipoprotein receptor (LDL r^{-/-}) gene. Three-month-old male mice were distributed into four groups: control group (C), in which the animals received standard diet; group CCA, in which the animals received standard diet and safflower oil; group HL, in which the animals received high-fat diet; and group HLCA, in which the animals received high-fat diet and safflower oil. After 15 days of treatment, the safflower oil prevented dyslipidemia and decreased the progression of LVH in LDL r^{-/-} mice. The treatment with the safflower oil was associated with a decrease in the serum levels of triglycerides (TG) and Very Low-Density Lipoprotein (VLDL), and an increase in High-Density Lipoprotein (HDL). The levels of insulin, C-reactive protein (CRP), and Homa's Index (HOMA-IR) of the groups treated with a high-fat diet and safflower oil decreased when compared to the animals that received high-fat diet. However, glucose levels remained the same. Therefore, the safflower oil associated with the high-fat diet acts on the prevention of dyslipidemia, consequently hindering the resistance to insulin and development of LVH.

Keywords: Cholesterol. Cardiovascular diseases. Herbal medication. Glucose.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Representação do ciclo de transporte de lipídeos no plasma.....	16
Figura 2 - Hipertrofia ventricular esquerda (HVE).....	21
Figura 3 - Flor e folhas de <i>Carthamus tinctorius</i> L.....	22

CAPÍTULO 2

Figura 1. A – Fotomicrografia corada com hematoxilina/eosina representativa do ventrículo esquerdo mostrando o diâmetro dos cardiomiócitos. B – Fotomicrografia corada com picrossirius red mostrando a distribuição do colágeno intersticial (marcado em vermelho pela mancha) no miocárdio ventricular esquerdo dos camundongos. C – dieta padrão; CCA - dieta padrão e óleo de cártamo; HL - dieta hiperlipídica; HLCA - dieta hiperlipídica e óleo de cártamo (400x).....	36
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Valores referenciais para o diagnóstico de dislipidemia em indivíduos acima de 20 anos.	17
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Níveis séricos de colesterol total (CT), colesterol LDL (LDLc), colesterol VLDL (VLDLc), colesterol HDL (HDLc), triglicérides (TG), glicose, insulina, índice HOMA (Homa-ir) e proteína C-reativa (PCR).	35
Tabela 2: Efeitos do óleo de cártamo sobre os parâmetros morfométricos do coração de camundongos LDL r-/.	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos graxos livres
Apo B	Apolipoproteína B
AVC	Acidente vascular cerebral
C	Camundongos que receberam ração padrão
CCA	Camundongos que receberam ração padrão e óleo de cártamo
CEPT	Proteína de transferência de ésteres de colesterol
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doença cardiovascular
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
EPM	Erro padrão da média
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HL	Camundongos que receberam ração hiperlipídica
HLCA	Camundongos que receberam ração hiperlipídica e óleo de cártamo
HMG-CoA redutase	Hidroximetilglutaril coenzima A redutase
HOMA-IR	Índice de Homa
HVE	Hipertrofia ventricular esquerda
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
K _{ATP}	Canais de potássio sensíveis ao ATP
LCAT	Lecitina-colesterol- aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL r ^{-/-}	<i>Knockout</i> para receptor de LDL
Lp (a)	Lipoproteína a
LPL	Lipase lipoproteica
NO	Óxido nítrico
PCR	Proteína C-reativa
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase
PUFA	Ácidos graxos poli-insaturados

Qm	Quilomícrom
SFA	Ácidos graxos mono insaturados
SM	Síndrome metabólica
TG	Triglicerídeos
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	13
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Dislipidemias	15
2.1.1 Metabolismo lipídico	15
2.1.2 Tipos de dislipidemias	16
2.2 Estatinas	18
2.3 Resistência à insulina	19
2.4 Hipertrofia Ventricular Esquerda	20
2.5 Cártamo (<i>Carthamus tinctorius</i> L.)	21
2.6 Camundongos <i>knockout</i> para o LDL r-/-	23
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 2	31
ARTIGO 1 – ÓLEO DE CÁRTAMO (<i>Carthamus Tinctorius</i> L.): PROTETOR CARDÍACO EM CAMUNDONGOS DISLIPIDÊMICOS	31
ANEXO A- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)	41

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A principal causa de morte no mundo, nos últimos anos, tem sido as doenças cardiovasculares (DCV). Pesquisas mostram que 17,7 milhões de pessoas morreram por essas doenças no ano de 2015, o que representa cerca de 31% de todas as mortes no mundo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2017). A dislipidemia caracterizada pelas alterações no metabolismo de gorduras e, conseqüentemente, das lipoproteínas tem contribuído significativamente na elevação desses dados. Quando os níveis de lipoproteínas estão altos, tem-se um quadro de hiperlipidemia, porém, se esses níveis diminuem, tem-se, então, hipolipidemia. Ambas podem ter causas primárias, nas quais o desequilíbrio no perfil lipídico é de origem genética ou ser decorrente do estilo de vida inadequado como a má alimentação, ausência de exercício físico, tabagismo, etilismo e consumo de medicamentos (FALUDI et al., 2017).

A dislipidemia associada ao aumento de radicais livres e sua relação com a hipertrofia ventricular esquerda (HVE) está relacionada diretamente com os níveis plasmáticos de LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) e inversamente com a concentração de HDL (Lipoproteína de Alta Densidade) (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2002). Além disso, com a produção elevada de ácidos graxos livres (AGL), há uma redução da sensibilidade à insulina no tecido muscular, havendo produção de interleucinas, fatores de crescimento e outras citocinas e, com isso, culminando na hipersinsulinemia (SANTOS, 2001), que são fatores hipertróficos cardíacos.

O consumo alimentar e a prática de exercício físico devem ser estratégias adotadas não somente como prevenção, mas também como tratamento nas dislipidemias e DCV. Ao serem contempladas ambas as formas de tratamento, caso o resultado ainda não seja favorável o suficiente, e dependendo do grau e classificação das dislipidemias, pode-se acrescentar o tratamento medicamentoso. Porém, o uso de estatinas pode causar efeitos colaterais como queixas musculoesqueléticas (BRUCKERT et al., 2005; COHEN et al., 2012) caracterizada por mialgia, miopatia, rabdomiólise e miosite necrotizante autoimune (ALFIREVIC et al., 2014). Além disso, em decorrência do uso prolongado acaba por tornar o tratamento medicamentoso de custo elevado (SCHAEFER, 2002).

Dentre as estratégias para tratamento e prevenção das DCV, o combate às dislipidemias e hiperglicemia com o uso de fitoterápicos se encontra atualmente como foco de

debates na literatura científica. O cártamo é uma planta pertencente à família *Asteraceae* ou *Compositae*, que botanicamente é classificado como *Carthamus tinctorius* L. (PURDY et al., 1959). Seu nome é comumente chamado de açafão-bastardo, açafroa, açafrol, falso açafão e cártamo; já em inglês designa-se *safflower*, *safflor* ou *bastard saffrons* (PINTÃO; SILVA, 2008). O óleo é retirado das sementes cuja composição é predominantemente de ácidos graxos do tipo mono e poli-insaturados (SFA/PUFA) (90%), sendo composto, principalmente, pelo ácido oleico (20-30%) e ácido linoleico (55-88%), gorduras dos tipos ômega 9 e 6, respectivamente. Além disso, o óleo de cártamo é considerado fonte de α tocoferóis que possui ação antioxidante.

Diante do exposto, objetivou-se, neste estudo, avaliar o efeito do óleo de cártamo sobre a dislipidemia e resistência à insulina e sua influência na HVE de camundongos com ausência de receptor para LDL (LDL r-/).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dislipidemias

2.1.1 Metabolismo lipídico

Os lipídeos estão agrupados de acordo com sua solubilidade, são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos como éter, clorofórmio, hexano e metanol (CHEMIN; MURA, 2007). São importantes, em razão de sua presença em todos os tecidos, assim, atuam como hormônio ou precursor hormonal, servindo como reserva de energia, participando estruturalmente e funcionalmente das biomembranas, atuando como isolante na condução nervosa e prevenindo perda de calor (MOTTA, 2009). Do ponto de vista biológico os mais relevantes são os fosfolipídeos que formam a estrutura básica das membranas celulares; o colesterol que age como precursor dos hormônios esteroides, dos ácidos biliares e da vitamina D; os triglicerídeos (TG) os quais constituem uma das formas de armazenamento energético mais importante do organismo; e os ácidos graxos livres (AGL) (COLLEONE, 2002).

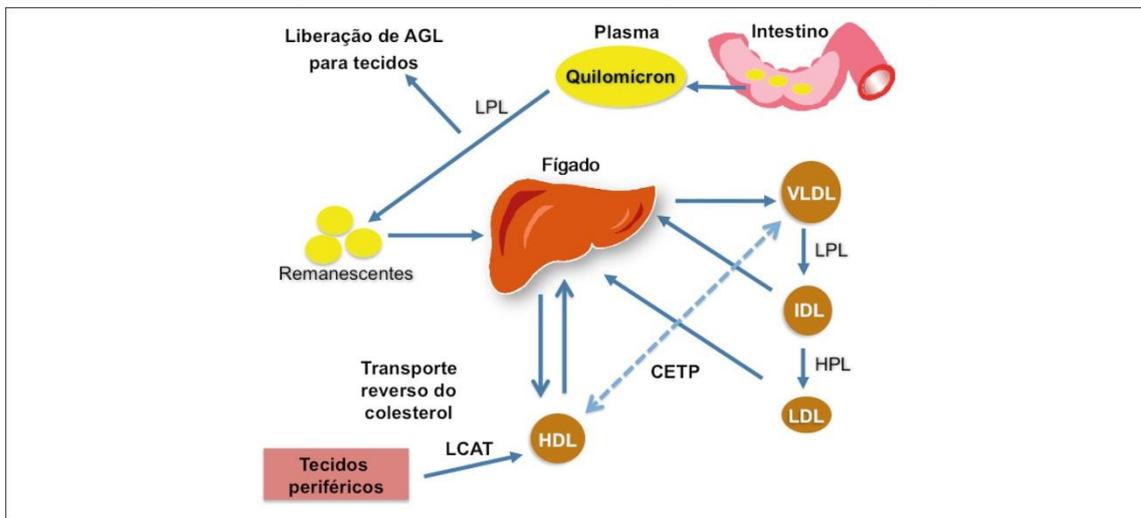
As frações lipídicas oriundas da dieta que foram absorvidas são insolúveis em água e o sangue se encontra em meio aquoso, com isso, o transporte destes é realizado por meio das lipoproteínas que são partículas formadas por lipídeos e proteínas as quais possuem um núcleo hidrofóbico e são envolvidas por uma camada de fosfolipídios. As lipoproteínas são representadas pelos quilomícrons (Qm), Lipoproteína de Densidade Muito Baixa (VLDL), Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL), Lipoproteína de Baixa Densidade (HDL), Lipoproteína de Densidade Intermediária (IDL) e Lipoproteína a (Lpa) (SANTOS et al., 2015). As lipases pancreáticas hidrolisam os TG em AGL, mono e diglicerídeos, após o processo de ingestão do alimento.

No intestino, os sais biliares irão fazer o processo de emulsificação desses lipídeos, formando as micelas, facilitando a sua movimentação, por meio da borda em escova dos enterócitos. Após a absorção pelas células intestinais, os lipídeos serão utilizados para a produção de Qm, os quais serão secretados na linfa, atingindo a circulação e sofrendo hidrólise pela enzima lipase lipoproteica (LPL). Logo depois desse processo, os AG são capturados por células musculares e adipócitos e os remanescentes de Qm são capturados pelo fígado, onde são utilizados na formação de VLDL (ALTMANN et al., 2004). O fígado realiza a montagem e secreção de partículas de VLDL as quais são liberadas na circulação periférica. Com isso, os TG das VLDL são hidrolisados pela LPL na circulação e, então, os AG

liberados são redistribuídos para os tecidos, onde poderão ser acondicionados no tecido adiposo ou utilizados no músculo esquelético. Uma porção das partículas de VLDL origina as partículas de IDL que são removidas do plasma e, por meio da ação da lipase hepática haverá, então, formação de LDL. Poderá haver durante o processo de hidrólise, também, troca lipídica entre a VLDL com HDL e LDL, por intermédio da proteína de transferência de ésteres de colesterol (CEPT, do inglês *cholesteryl ester transfer protein*) (TALL, 2007).

As células hepáticas fazem a captura de LDL pelos receptores de LDL (LDL r-/-) os quais são expressos nos hepatócitos e são responsáveis pelo nível de colesterol sanguíneo. A enzima 3-hidroxi-3methyl-glutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase) é responsável pela síntese intracelular de colesterol hepático, e em ocasiões de queda desse conteúdo de colesterol, pode ocorrer aumento na expressão de LDL r-/- nos hepatócitos e, conseqüentemente, maior captura de LDL, IDL e VLDL circulantes por essas células (STEINBERG; WITZTUM, 2009). Por fim, ocorre esterificação do colesterol livre da HDL pela lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) a qual proporciona estabilização e seu transporte do plasma até o fígado, sendo esse processo chamado de transporte reverso do colesterol (GARCIA; OLIVEIRA, 1992) (FIGURA 1).

Figura 1 - Representação do ciclo de transporte de lipídeos no plasma.



Fonte: Faludi et al. (2017).

2.1.2 Tipos de dislipidemias

As dislipidemias são alterações metabólicas no metabolismo de lipídeos que causam repercussão nos níveis séricos de lipoproteínas como HLD, LDL, VLDL, TG, IDL, Lpa (MANCINI, 2015). Considerando a sua etiologia, a classificação das dislipidemias se dá de

forma primária quando é consequência de uma variação genética, ou secundária, quando é ocasionada, em razão de outros fatores como patologias, uso de medicamentos e estilo de vida inadequado como sedentarismo, maus hábitos alimentares, tabagismo e etilismo (BARBOSA; GOMES; PALMA, 2017).

De acordo com a etiologia, existe a classificação das dislipidemias em primária e secundária. As primárias decorrem de alterações genéticas com alterações no metabolismo de LDL, HDL e TG (MARTINEZ, 2003; NAKANDAKARE, 2011). Geneticamente, são classificadas em dislipidemias do tipo monogênicas, ocasionadas por apenas um gene, e poligênicas, ocasionadas pela relação de diversas mutações e polimorfismos que se estivessem separados não provocariam a patologia (MARTINEZ, 2003). Na Tabela 1, encontram-se os valores referenciais para o diagnóstico de dislipidemia nos indivíduos com idade acima de 20 anos para ambos os sexos: feminino e masculino.

Tabela 1 - Valores referenciais para o diagnóstico de dislipidemia em indivíduos acima de 20 anos.

Lipídeos	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)	Categoria
Colesterol total	< 190	< 190	Desejável
HDL-c	> 40	> 40	Desejável
Triglicerídeos	< 150	< 175	Desejável
LDL-c	< 130	< 130	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto
	< 50	< 50	Muito alto
Não HDL-c	< 160	< 160	Baixo
	< 130	< 130	Intermediário
	< 100	< 100	Alto
	< 80	< 80	Muito alto

Fonte: Adaptado da Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (FALUDI, 2017).

A classificação laboratorial se dá de quatro tipos (SANTOS, 2001; SPOSITO et al., 2007): - hipercolesterolemia isolada: aumento do colesterol total isoladamente, em geral, representada pela elevação do LDL-c; - hipertrigliceridemia isolada: elevação isolada dos TG, normalmente representada pelo aumento da quantidade das partículas ricas em TG como VLDL, IDL e Qm; - hiperlipidemia mista: valores elevados de LDL-c e de TG; - HDL-c baixo: isoladamente ou em combinação com elevação de LDL-c ou TG.

A dislipidemia é um dos principais causadores de DCV e suas alterações no metabolismo lipídico pode perpetuar sobre as concentrações das lipoproteínas e de seus componentes presentes na corrente sanguínea, porém, a hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade, diabetes mellitus (DM) e aterosclerose são também fatores que propiciam o desenvolvimento de DCV (CARVALHO et al., 2007). Com isso, o desenvolvimento de HVE se deve ao estresse oxidativo que é induzido pela dislipidemia tendo a capacidade de alterar a funcionalidade e a expressão de canais de potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) no miocárdio, proporcionando a hipertrofia cardíaca (SATO et al., 2004).

O tratamento das dislipidemias deve iniciar com mudanças no estilo de vida do indivíduo e compreende, principalmente, hábitos alimentares saudáveis, redução e manutenção do peso corporal, exercício físico regular, combate ao tabagismo e etilismo (FALUDI et al., 2017). Porém, quando esses objetivos não são atingidos, deve-se estudar o início do tratamento medicamentoso, dependendo das necessidades e com manutenção da dietoterapia, proporcionando um plano alimentar diversificado e, ao mesmo tempo, agradável e prático ao paciente (FALUDI et al., 2017; STONE et al., 2014; XAVIER et al., 2013).

2.2 Estatinas

O metabolismo do colesterol ocorre pela ação de algumas enzimas e este pode ser convertido a ácidos e sais biliares pela ação da enzima 7α -hidroxilase. Grande parte dos sais biliares são compostos por ácido cólico e podem ser conjugados à moléculas de glicina e taurina. Estas, por sua vez, são sintetizadas no fígado, armazenadas na bexiga e liberadas no intestino delgado para realizar o processo de emulsificação dos lipídeos da dieta e vitaminas lipossolúveis como A, D, E e K, promovendo, assim, a absorção desses compostos na mucosa intestinal. Há, então, uma reabsorção dos sais biliares pela circulação entero-hepática e estes retornam ao fígado para exercer o controle de *feedback* negativo sobre a enzima 7α -hidroxilase e fazer a regulação do metabolismo de colesterol (CHAU; CHEN; WANG, 2004).

A redução de colesterol no plasma é acompanhada pela queda de LDL e, apesar desse mecanismo auxiliar de forma natural nesse processo, as estatinas também possuem o papel hipocolesterolêmico. Estas irão aumentar os LDL r-/-, onde o LDL se fixará no tecido hepático, ocorrendo remoção das partículas com apolipoproteína B (Apo B) pelo processo de endocitose. O LDL plasmático será reduzido pela ação dos LDL r-/- hepático e, por esse motivo, os inibidores de HMG-CoA redutase possuem ação, tanto da diminuição da biossíntese de colesterol quanto aumento de LDL r-/- hepático, aumentando a remoção de

IDL e LDL circulantes (CAMPO; CARVALHO, 2007). Além disso, as estatinas podem reduzir os TG e elevar as taxas de HDL-c (BAIGENT et al., 2010).

Sobre a terapêutica medicamentosa, os inibidores da HMG-CoA redutase são a classe de medicamentos mais efetiva no tratamento de redução dos níveis lipídicos. Porém, alguns efeitos colaterais musculares são observados como mialgia, rabdomiólise, dor, sensibilidade, rigidez, câimbras, fraqueza, fadiga, (ACCIOLY et al., 2016; JOY; HEGELE, 2009), redução da força muscular em idosos (KRISHNAN; THOMPSON, 2010) tanto local como generalizada. Além disso, há relatos na literatura de que as estatinas interferem no comprometimento hepático e renal, hipotireoidismo, diabetes e polineuropatia (THOMPSON; CLARKSON; KARAS, 2003). Com isso, se faz necessária a busca por alternativas que podem ser capazes de melhorar o perfil lipídico e, conseqüentemente, reduzir a probabilidade de desencadear efeitos colaterais.

2.3 Resistência à insulina

Com o aumento da glicose sanguínea, ocorre uma hiperinsulinemia compensatória e, posteriormente, sensibilidade à insulina que, se sustentada, contribui para a instalação de resistência à insulina. Com o tempo, o indivíduo passa a apresentar deficiência na secreção de insulina, em função da exaustão da capacidade secretora das células β , o que culmina na sua incapacidade de manutenção das concentrações glicêmicas normais no período pós-prandial. A essa fase de intolerância glicolítica segue-se a hiperglicemia de jejum e a conseqüente instalação do quadro clínico de diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) (LOPES, 2005; McLELLAN et al., 2007).

A resistência à insulina refere-se à diminuição da ação da insulina endógena em seus tecidos-alvos, particularmente os músculos, fígado e tecido adiposo, seja por deficiência no receptor de insulina ou por um defeito em algum mecanismo pós-receptor durante sua utilização (WALKER, 1995). A diminuição da sensibilidade à insulina é acompanhada de um aumento da liberação dos hormônios contrarregulatórios da insulina (glucagon, adrenalina e cortisol), alterando o metabolismo lipídico e glicídico por meio do aumento da gliconeogênese, glicogenólise e lipólise (CORNIER et al., 2008; SINGH et al., 2009). Além da associação com o DM2, dislipidemias e aterosclerose, a resistência à insulina também possui correlação com a hipertensão arterial, componente da síndrome metabólica (SM). Ao estimular a via do fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), a insulina, além de permitir a captação de glicose pelos tecidos alvo, regula a produção endotelial de óxido nítrico (NO) o qual possui

efeito vasodilatador. Uma disfunção sistêmica dessa via provoca defeito tanto na captação de glicose quanto na vasodilatação dependente do endotélio mediada por insulina, o que contribui para o aumento da pressão arterial (POZZAN et al., 2004).

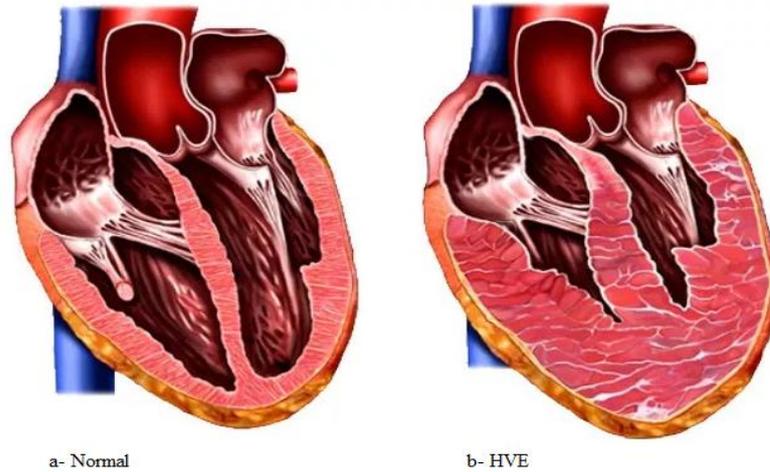
2.4 Hipertrofia Ventricular Esquerda

A hipertrofia é caracterizada pelo espessamento das paredes das câmaras do coração, em razão do aumento do tamanho dos cardiomiócitos (ANVERSA; RICCI; OLIVETTI, 1986; COOPER, 1987). A hipertrofia cardíaca pode ser fisiológica a qual ocorre, naturalmente, durante o crescimento do indivíduo, durante a gestação e em resposta ao exercício físico (MATOS-SOUZA; FRANCHINI; NADRUZ JUNIOR, 2008), e patológica, resultante de muitos estímulos (GRADMAN; ALFAYOUMI, 2006).

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é considerada hipertrofia do tipo patológica, a qual pode gerar estímulos biomecânicos e neuro-humorais. É caracterizada por modificações na estrutura, função e metabolismo do coração, as quais incluem aumento no volume dos cardiomiócitos, aumento na extensão da parede das artérias coronárias, rarefação dos capilares, fibrose extracelular, mudanças no metabolismo energético, manuseio do cálcio dentro das células e contratilidade e relaxamento do miocárdio (ISOYAMA, 1998; OPIE et al., 2006).

No interior da célula, haverá um estímulo hipertrófico no cardiomiócito e esse estímulo será traduzido como alterações bioquímicas que levam à ativação de mensageiros (citossólicos e nucleares) que irão agir no núcleo celular, regulando a transcrição e determinarão a expressão do gene que induz a HVE. Os cardiomiócitos podem aumentar de tamanho, por meio da inclusão de sarcômeros em série ou paralelo, promovendo o aumento da célula em comprimento ou diâmetro (KEMPF; WOLLERT, 2004) (FIGURA 2) ocasionando a hipertrofia concêntrica (aumento da espessura relativa da parede ventricular e da massa cardíaca); excêntrica (aumento da massa cardíaca com elevação do volume da cavidade ventricular) ou o remodelamento concêntrico (aumento da espessura relativa da parede ventricular, porém, com massa cardíaca normal) (VERDECCHIA et al., 2007).

Figura 2 - Hipertrofia ventricular esquerda (HVE).



Fonte: Angomed (2018).

A HVE pode ser induzida por vários fatores, principalmente pelos hemodinâmicos e neuro-humorais. Os fatores hemodinâmicos incluem o aumento da demanda metabólica e a sobrecarga que pode ser tanto fisiológica como patológica a qual irá gerar uma adaptação adequada às novas exigências. Já os neuro-humorais incluem as catecolaminas, angiotensina II, insulina, estresse oxidativo, hipercolesterolemia, citocinas e fatores de crescimento que são induzidos pela inflamação (GARCIA; INCERPI, 2008).

A dislipidemia é um dos principais agentes de DCV, sendo assim, a hipercolesterolemia é um fator que interfere no funcionamento e na expressão dos K_{ATP} no miocárdio, gerando a hipertrofia cardíaca (LEE et al., 2004). Porém, também existem outros fatores que desencadeiam as DCV como HAS, obesidade, DM e a aterosclerose (PICININ; LOPES, 2017).

Com isso, a prevenção da dislipidemia deve ser tão logo preconizada, já que sua ocorrência pode levar ao desenvolvimento de várias patologias, inclusive a HVE, a qual pode, por conseguinte, desencadear doença arterial coronariana (DAC), acidente vascular cerebral (AVC), insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e isquemia cerebral transitória (SAMESINA; AMODEO, 2001).

2.5 Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.)

O cártamo faz parte da família das *Asteraceae* ou *Compositae* que, na botânica, é classificada como *Carthamus tinctorius* L. e suas espécies são agrupadas de acordo com os cromossomos pares. Açafraão-bastardo é seu nome comum, mas pode também ser encontrado

na literatura como açafroa, açafrol, falso açafrao, e cártamo; em inglês denomina-se *safflower* (LIU et al., 2016). Morfologicamente é composto por flores amarelas, laranjas, vermelhas ou brancas, a planta é espinhosa e as sementes lembram um pequeno girassol (FIGURA 3). A palavra *tinctorius* significa “para tingir” em inglês visto que as suas flores foram e continuam sendo usadas como corantes na comida e na indústria de vestiário, porém, atualmente o objetivo principal de seu uso é como oleaginosa (WRIGLEY et al., 2016).

A semente de cártamo é composta por casca e núcleo cujo teor de óleo se encontra principalmente em seu interior sendo 72 a 78% de ácido linoleico e 15 a 20% de ácido oleico, gorduras do tipo ômega 6 e 9, respectivamente; além de outros ácidos graxos como palmítico e esteárico (1,5 a 6) e pequena quantidade de ácido linolênico (< 0,2%) o óleo de cártamo apresenta também uma boa quantidade de α -tocoferóis. Além disso, a semente pode apresentar de 14 a 23% de proteína e 11 a 34% de fibra variando de acordo com o espessamento da casca (ASGARPANAH; KAZEMIVASH, 2013).

O óleo de cártamo por conter propriedades antioxidantes, pode atuar no metabolismo das gorduras auxiliando no controle de peso, isto porque seus componentes são capazes de inibir a atividade da enzima lipase lipoproteica (LPL) (COX et al., 1995) a qual tem como papel realizar a transferência das gorduras presentes na corrente sanguínea e levá-las até o interior das células adiposas. Se a atividade dessa enzima for intensa, maior será a quantidade de gordura armazenada dentro das células adiposas; com isso, se o óleo de cártamo pode inibir a ação dessa enzima, o organismo acaba por utilizar os seus próprios estoques de gordura como fonte de energia, levando assim ao estado de lipólise (SABITHA et al., 2009). Além do mais, o óleo de cártamo tem a capacidade de regularizar os níveis lipídico e insulínico e melhora da imunidade, tendo por consequência, definição muscular aumentada, proteção antioxidante e reforço na produção endógena de moléculas anti-inflamatórias (LE-LE et al., 2016).

Figura 3 - Flor e folhas de *Carthamus tinctorius* L.



Fonte: Wrigley et al. (2016).

2.6 Camundongos *knockout* para o LDL r-/-

Quando o genoma é alterado pelo recebimento de um gene de outra espécie tem-se um animal transgênico. Esse tipo de tecnologia permite inserir proteína exógena nos camundongos, modelo animal mais utilizado, em decorrência do custo ser baixo, grande poder de fertilização, amadurecimento rápido e curto período de gestação (SHULDINER, 1996). No momento em que há interrupção do gene *in vitro*, tem-se animais *knockout*, os quais podem ser obtidos por mutação, deleção ou inserção de um fragmento de Ácido desoxirribonucléico (DNA), o que vai interferir na fase de leitura e, obtendo como resultado uma proteína disfuncional. Haverá inserção do gene mutante no vetor e introdução em células tronco embrionárias em cultura por microinjeção, transfecção ou eletroporação (WATSON et al., 1992). Com isso, as células recombinantes serão selecionadas e injetadas em um blastocisto, o qual é introduzido em uma fêmea e algumas das células do filhote possuirão o gene mutante. Por fim, o resultado do cruzamento de camundongos heterozigotos serão animais homozigotos com 25% de frequência, com duas cópias do gene mutadas, ou seja, com expressão nula da proteína (MAJZOUN; MUGLIA, 1996) que manifestaria o receptor de LDL nas células.

Os animais homozigotos herdarão dois alelos mutados, os LDL r-/- não terão funcionalidade e, conseqüentemente, os camundongos serão portadores de hipercolesterolemia do tipo grave. São cinco as classes de mutações do gene: classe I (mutação que irá afetar a região promotora do gene ou a região codificante, resultando na ausência total de síntese de LDL r-/- ou na síntese de um receptor não funcional); classe 2 (defeito na pós-tradução ou falha no transporte de LDL r-/- do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi, expressando menos na superfície celular); classe III (a molécula de LDL não se liga corretamente ao LDL r-/- na superfície da célula); classe IV (o LDL r-/- se liga normalmente a molécula de LDL, mas esta não é internalizada por endocitose); e classe V (o LDL r-/- não é reciclado de volta para a superfície da célula) (HOBBS; BROWN; GOLDSTEIN, 1992; HOBBS et al., 1990).

O LDL r-/- é uma glicoproteína que tem como função regular a absorção de lipoproteínas que fornecem colesterol necessário para a síntese de membranas celulares e formação de ácidos biliares e esteroides. São encontrados na maioria das células com núcleo, principalmente nos hepatócitos presentes no fígado. O LDL r-/- é produzido no retículo sarcoplasmático e complexo de Golgi e migra para a superfície da célula onde são ligados a

proteínas que se invaginam na membrana e se dissociam formando endossomo (ISHIBASHI et al., 1993; MARKS; MARKS; SMITH, 1998).

O receptor vai se ligar a molécula de LDL e vai transportá-la até o interior do endossomo, e lá as lipoproteínas vão se dissociar dos seus receptores e haverá então digestão do LDL por enzimas, permitindo o uso do colesterol pela célula. Se houver excesso de colesterol na célula, há uma diminuição da síntese de HMG-CoA redutase (GENT; BRAAKMAN, 2004) que é responsável por produzir colesterol e LDL r^{-/-}. A absorção de LDL contribui para a redução de lipoproteínas e colesterol que circulam na corrente sanguínea, com isso, o LDL r^{-/-} é tido como um mediador na remoção de LDL do plasma (JAX MICE & SERVICES, 2018).

Porém, nos camundongos nocauteados, como não há expressão de proteína que codifica o gene para a produção de receptores de LDL, esses animais se encontram com níveis de colesterol e suas frações (LDL, HDL, VLDL, TG) fora dos parâmetros normais, tornando-os modelo de estudo para dislipidemia.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, M. F. et al. Efeito do treinamento físico aeróbico e do uso de estatinas sobre o perfil lipídico de animais com dislipidemia. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Taguatinga, v. 24, n. 1, p. 108-117, 2016.
- ALFIREVIC, A. et al. Phenotype standardization for statin-induced myotoxicity. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, St. Louis, v. 96, n. 4, p. 470-476, Oct. 2014.
- ALTMANN, S. W. et al. Niemann-Pick C1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. **Science**, New York, v. 303, n. 5661, p. 1201-1204, Feb. 2004.
- ANGOMED. Hipertrofia ventricular esquerda. **Angomed**: portal de actualidades médicas, Angola, 2018. Disponível em: <<http://angomed.com/criterios-electrocardiograficos-para-o-diagnostico-de-hipertrofia-do-ventriculo-esquerdo/>>. Acesso em: 26 fev. 2018.
- ANVERSA, P.; RICCI, R.; OLIVETTI, G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. **Journal of the American College of Cardiology**, New York, v. 7, n. 5, p. 1140-1149, May 1986.
- ASGARPANA, J.; KAZEMIVASH, N. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, Beijing, v. 19, n. 2, p. 153-159, Feb. 2013.
- BAIGENT, C. et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170.000 participants in 26 randomised trials. **The Lancet**, London, v. 376, n. 9753, p. 1670-1681, Nov. 2010.
- BARBOSA, V. S. N.; GOMES, L. S.; PALMA, D. A. Dislipidemia em pacientes com diabetes tipo 2. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 10, n. 3, p. 579-585, 2017.
- BRUCKERT, E. et al. Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients – the PRIMO study. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, Norwell, v. 19, n. 6, p. 403-414, Dec. 2005.
- CAMPO, V. L.; CARVALHO, E. Estatinas hipolipidêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 425-430, mar./abr. 2007.
- CARVALHO, D. F. et al. O perfil lipídico e estado nutricional do adolescente. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 491-498, dez. 2007.
- CHAU, C. F.; CHEN, C. H.; WANG, Y. T. Effects of a novel pomace fiber on lipid and cholesterol metabolism in the hamster. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 24, n. 5, p. 337-345, May 2004.
- CHEMIN, S. S.; MURA, J. D. P. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2007.

- COHEN, J. D. et al. Understanding statin use in America and gaps in patient education (USAGE): na internet-based survey of 10, 138 current and former statin users. **Journal of Clinical Lipidology**, New York, v. 6, n. 3, p. 208-215, May/June 2012.
- COLLEONE, V. V. Aplicações clínicas dos ácidos graxos de cadeia média. In: CURI, R. et al. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. São Paulo: Manole, 2002. p. 439-454.
- CORNIER, M.-A. et al. The metabolic syndrome. **Endocrine Reviews**, Chevy Chase, v. 29, n. 7, p. 777-822, Dec. 2008.
- COOPER, G. Cardiocyte adaptation chronically altered load. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v. 49, p. 501-518, 1987.
- COX, C. et al. Effects of coconut oil, butter, and safflower oil on lipids and lipoproteins in persons with moderately elevated cholesterol levels. **The Journal of Lipid Research**, Memphis, v. 36, n. 8, p. 1787-1795, Aug. 1995.
- FALUDI, A. A. et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 109, n. 2, p. 1-76, ago. 2017. Suplemento 1.
- GARCIA, J. A. D.; INCERPI, E. K. Fatores e mecanismos envolvidos na hipertrofia ventricular esquerda e o papel anti-hipertrofico do óxido nítrico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 90, n. 6, p. 443-450, 2008.
- GARCIA, R. C.; OLIVEIRA, H. C. F. Fisiologia das lipoproteínas. In: QUINTÃO, E. C. R. **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1992. p. 1-30.
- GENT, J.; BRAAKMAN, I. Low-density lipoprotein receptor structure and folding. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 61, n. 19/20, p. 2461-2470, 2004.
- GRADMAN, A. H.; ALFAYOUMI, F. From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**, Philadelphia, v. 48, n. 5, p. 326-341, Mar./Apr. 2006.
- HOBBS, H. H.; BROWN, M.; GOLDSTEIN, J. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familia hypercholesterolemia. **Human Mutation**, New York, v. 1, n. 6, p. 445-466, 1992.
- HOBBS, H. H. et al. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 24, p. 133-170, 1990.
- ISHIBASHI, S. et al. Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 92, n. 2, p. 883-893, Aug. 1993.
- ISOYAMA, S. Coronary vasculature in hypertrophy. In: SHERIDAN, D. J. (Ed). **Left ventricular hypertrophy**. London: Churchill, 1998. p. 29-36.
- JAX MICE & SERVICES. **Product Information**. Canada: Jax Mice & Services, 2018. Disponível em: <<https://www.jax.org/jax-mice-and-services>>. Acesso em: 5 mar. 2018.

JOY, T. R.; HEGELE, R. A. Narrative review: statin-related myopathy. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 150, n. 12, p. 858-868, June 2009.

KEMPF, T.; WOLLERT, K. C. Nitric oxide and the enigma of cardiac hypertrophy. **Bioessays**, Cambridge, v. 26, n. 6, p. 608-615, June 2004.

KRISHNAN, G. M.; THOMPSON, P. D. The effects of statins on skeletal muscle strength and exercise performance. **Current Opinion in Lipidology**, London, v. 21, n. 4, p. 324-328, Aug. 2010.

LEE, T.-M. et al. Effect of pravastatin on left ventricular mass by activation of myocardial KATP channels in hypercholesterolemic rabbits. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 176, n. 2, p. 273-278, Oct. 2004.

LE-LE, Z. et al. Phytochemistry and pharmacology of *Carthamus tinctorius* L. **The American Journal of Chinese Medicine**, Garden City, v. 44, n. 2, p. 197-226, 2016.

LIU, L. et al. A review of fatty acids and genetic characterization of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed oil. **World Journal of Traditional Chinese Medicine**, Mumbai, v. 2, n. 2, p. 48-52, Jan. 2016.

LOPES, H. F. Hipertensão, obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 154-158, jul./set. 2005.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10. ed. São Paulo: Roca, 2002.

MAJZOUB, J. A.; MUGLIA, L. J. Knockout mice. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 334, n. 14, p. 904-907, Apr. 1996.

MANCINI, M. C. **Tratado de obesidade**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

MARKS, D. B.; MARKS, A. D.; SMITH, C. M. Digestion and transport of dietary lipids. In: VELKER, J. (Ed.). **Basic medical biochemistry**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. p. 491-500.

MARTINEZ, T. L. R. **Manual de condutas clínicas em dislipidemias**. Rio de Janeiro: Medline, 2003.

MATOS-SOUZA, J. R.; FRANCHINI, K. G.; NADRUZ JUNIOR, W. Hipertrofia ventricular esquerda: o caminho para a insuficiência cardíaca. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 71-74, 2008.

McLELLAN, K. C. P. et al. Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, p. 515-524, set./out. 2007.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para laboratório: princípios e interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2009.

NAKANDAKARE, E. R. Classificação das dislipidemias. In: QUINTÃO, E. C. R.; NAKANDAKARE, E. R.; PASSARELLI, M. (Ed.). **Lípidos: do metabolismo à aterosclerose**. São Paulo: Sarvier, 2011. p. 169-196.

OPIE, L. H. et al. Controversies in ventricular remodelling. **The Lancet**, London, v. 367, n. 9507, p. 356-367, Jan. 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Doenças cardiovasculares. **OMS**, Brasília, maio 2017. Disponível em: <http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839>. Acesso em: 10 jan. 2018.

PICININ, A. A.; LOPES, G. C. Nutracêuticos no manejo das dislipidemias: terapia baseada em evidência. **Revista Uningá**, Ingá, v. 29, n. 1, p. 132-137, jan./mar. 2017.

PINTÃO, A. N.; SILVA, I. F. A verdade sobre o açafrão. In: WORKSHOP PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERAPÊUTICAS NOS TRÓPICOS, 1., 2008, Lisboa. **Anais...** Lisboa: Instituto de Investigação Científica Tropical, 2008.

POZZAN, R. et al. Dislipidemia, síndrome metabólica e risco cardiovascular. **Revista da SOCERJ**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 97-104, abr./jun. 2004.

PURDY, R. H. et al. Pacific vegetable oil corporation, Richmond, California. **Safflower its Development and Utilization**, San Francisco, v. 36, n. 9, p. 26-30, 1959.

SABITHA, P. et al. Comparison of lipid profile and antioxidant enzymes among south Indian men consuming coconut oil and sunflower oil. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, Patna, v. 24, n. 1, p. 76-81, Jan. 2009.

SAMESINA, N.; AMODEO, C. Hipertrofia ventricular esquerda. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 8, n. 3, p. 316-320, 2001.

SANTOS, D. R. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 77, p. 1-48, 2001.

SANTOS, H. V. et al. Caracterização laboratorial das dislipidemias e o uso de fitoterápicos. **Revista Multitexto**, Montes Claros, v. 3, n. 1, p. 21-28, 2015.

SATO, K. et al. Hypercholesterolemia impairs transduction of vasodilator signals derived from ischemic myocardium: myocardium-microvessel cross-talk. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Dallas, v. 24, n. 11, p. 2034-2039, Nov. 2004.

SCHAEFER, E. J. Lipoproteins nutrition, and heart disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 75, n. 2, p. 191-212, Feb. 2002.

SHULDINER, A. R. E. Transgenic animals. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 334, n. 10, p. 653-655, Mar. 1996.

SINGH, B. et al. Metabolic syndrome: a review of emerging markets and management. **Diabetes & Metabolic Syndrome**, Amsterdam, v. 3, p. 240-254, 2009.

SPOSITO, A. C. et al. IV diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 88, p. 2-19, abr. 2007. Suplemento 1.

STEINBERG, D. L.; WITZTUM, J. L. Inhibition of PCSK9: a powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 24, p. 9546-9547, June 2009.

STONE, N. J. et al. Treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular disease risk in adults: synopsis of the 2013 ACC/AHA cholesterol guideline. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 160, n. 5, p. 339-343, Mar. 2014.

TALL, A. R. CEPT inhibitors to increase HDL cholesterol levels. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 356, n. 13, p. 1364-1366, Mar. 2007.

THOMPSON, P. D.; CLARKSON, P.; KARAS, R. H. Statin-associated myopathy. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 289, n. 13, p. 1681-1690, Apr. 2003.

VERDECCHIA, P. et al. Echocardiographic left ventricular hypertrophy in hypertension: marker for future events or mediator of events? **Current Opinion in Cardiology**, London, v. 22, n. 4, p. 329-334, July 2007.

WALKER, M. Obesity, insulin resistance, and its link to non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Metabolism**, New York, v. 44, n. 9, p. 18-20, Sept. 1995. Supplement 3.

WATSON, J. D. et al. **Recombinant DNA**. New York: Scientific American Books, 1992.

WRIGLEY, C. et al. **Encyclopedia of food grains**. London: Academic Press Books, 2016.

XAVIER, H. T. et al. V diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 101, n. 4, p. 1-20, out. 2013. Suplemento 1.

CAPÍTULO 2

ARTIGO 1 – ÓLEO DE CÁRTAMO (*Carthamus Tinctorius* L.): PROTETOR CARDÍACO EM CAMUNDONGOS DISLIPIDÊMICOS

Óleo de Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.): Protetor Cardíaco em Camundongos Dislipidêmicos

C. tinctorius: protetor cardíaco

RESUMO

A regulação do metabolismo lipídico, por meio do consumo de fitoterápicos, é uma estratégia interessante para reduzir o risco de doenças cardiovasculares. Neste estudo nós verificamos a influência do óleo de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) sobre a dislipidemia, hipertrofia ventricular esquerda (HVE) e resistência à insulina de camundongos knockout para receptor de LDL (LDL r^{-/-}). Machos com três meses de vida foram distribuídos em quatro grupos: Grupo com dieta padrão; Grupo com dieta padrão e 2mg/kg de peso de óleo de cártamo; Grupo com dieta hiperlipídica; Grupo com dieta hiperlipídica e 2mg/kg de peso de óleo de cártamo. Depois de 15 dias, o óleo de cártamo preveniu a dislipidemia e diminuiu o progresso da HVE nos camundongos LDL r^{-/-}. O tratamento com óleo de cártamo foi associado à redução dos níveis séricos de triglicerídeos e lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) e, por outro lado, houve aumento de lipoproteína de alta densidade (HDL). Os níveis de insulina, proteína C-reativa e índice Homa dos grupos tratados com dieta hiperlipídica mais óleo de cártamo foram reduzidos quando comparados com os animais que receberam dieta hiperlipídica, porém, os níveis de glicose não se alteraram. Os resultados permitem concluir que o óleo de cártamo associado à dieta hiperlipídica atua na prevenção da dislipidemia e, como consequência, impede a resistência à insulina e o desenvolvimento de HVE.

Palavras-chave: Colesterol. Doenças Cardiovasculares. Fitoterápico. Glicose. Hipertrofia ventricular esquerda.

INTRODUÇÃO

No ano de 2015, estima-se que 17,7 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares, representando 31% de todas as mortes em nível global. Desses óbitos, estima-se que 7,4 milhões ocorreram, em decorrência de doenças cardiovasculares e 6,7 milhões em razão de acidentes vasculares cerebrais (AVCs) (1). Um dos principais fatores para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares é a dislipidemia, que é caracterizada pelo aumento plasmático de triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e/ou diminuição de lipoproteína de alta densidade (HDL) (2). No entanto, existem ainda outros fatores tais como hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade, diabetes mellitus (DM) e aterosclerose (3).

A dislipidemia associada ao aumento de radicais livres e sua relação com a hipertrofia ventricular esquerda (HVE) está relacionada diretamente com os níveis plasmáticos de LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) e inversamente com a concentração de HDL (Lipoproteína de Alta Densidade) (4- MAHAN; SCOTT-STUMP, 2002). Além disso, com a produção elevada de ácidos graxos livres (AGL), há uma redução da sensibilidade à insulina no tecido muscular, havendo produção de interleucinas, fatores de crescimento e outras citocinas e, com isso, culminando na hipersinsulinemia (SANTOS et al., 2001), que são fatores hipertróficos cardíacos.

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) pode ser desencadeada por alterações nos parâmetros sanguíneos das frações lipídicas e insulina. A dislipidemia resulta em alterações morfológicas, disfunção e, até mesmo, insuficiência cardíaca (5-6). Já a concentração de insulina atua indiretamente pelo aumento da expressão de RNAm, dos receptores AT2 (7) e ativação do sistema nervoso simpático (8). A HVE tem como principais características as

mudanças na estrutura, no funcionamento e metabolismo do coração, que engloba o aumento dos cardiomiócitos, espessura das artérias coronarianas, rarefação da microcirculação do coração e fibrose extracelular (9). Os fatores que induzem o desenvolvimento de HVE são divididos em hemodinâmicos e neuro-humorais. Os hemodinâmicos incluem o aumento da necessidade metabólica e a sobrecarga de pressão e volume; já os neuro-humorais incluem as catecolaminas e sistema nervoso simpático, angiotensina II, insulina, estresse oxidativo e hipercolesterolemia (10).

Dentre as estratégias para tratamento e prevenção das DCV, o combate às dislipidemias e hiperglicemia com o uso de fitoterápicos se encontra como foco de debates na literatura científica. O cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) pertence à família Asteraceae ou Compositae foi originado da Ásia e introduzido no sul do Brasil, na década de 90, como planta ornamental (11-12). É uma planta oleaginosa anual, rústica e possui várias finalidades como culinária, farmacêutica, forrageira e biodiesel (13-14). Por possuir um ciclo de cultivo próximo de 140 dias, o cártamo pode ser cultivado no Brasil o ano todo, sobretudo no sul do país pela característica de ser resistente às baixas temperaturas, tornando-se uma alternativa de cultivo de flores propagadas por sementes (15-16). O óleo extraído dessa planta contém antioxidantes e anti-inflamatórios o qual atua na atividade da enzima lipase lipoproteica (LPL) que é uma enzima da família de lipases com função conhecida de hidrolisar moléculas de triglicérides presentes nas lipoproteínas, aumentando os níveis plasmáticos de HDL, bem como diminuindo os níveis de LDL e TG (17).

Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do óleo de cártamo sobre a dislipidemia e resistência à insulina e sua influência na HVE em camundongos com ausência de receptor para LDL (LDL r/-).

MATERIAIS E MÉTODOS

Protocolo animal

Os experimentos foram realizados em camundongos machos com 3 meses de idade, homozigotos para o gene do receptor de LDL (LDL r/-) pesando 25 ± 3 g, divididos em quatro grupos com dez animais cada. Os animais foram mantidos em ambiente de temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) com ciclo claro e escuro (12 horas). Os camundongos foram divididos em grupos de 10 animais cada: Grupo C, receberam dieta padrão (Nuvital®); Grupo HL, receberam dieta hiperlipídica (20% de gordura total, 1,25% de colesterol e 0,5% de ácido cólico); Grupo CCA, receberam dieta padrão e o óleo de cártamo por gavagem na dose 2g/kg de peso (óleo de cártamo Copra®); Grupo HLCA, receberam dieta hiperlipídica e óleo de cártamo na dose 2g/kg de peso. Todos os animais receberam água e ração *ad libitum*.

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Animais da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS, Alfenas, MG, Brasil), (nº 05A/2011).

Após 15 dias de experimentação, os camundongos permaneceram em jejum por 12 horas e, posteriormente, foram anestesiados utilizando-se xilazina (Bayer AS®) e cetamina (Parke-Davis®), nas concentrações de 6 e 40 mg/Kg, respectivamente. Foi realizada a retirada da amostra de sangue por punção retro-orbital do plexo venoso para análise sérica de glicose, insulina e CT e suas frações LDL, VLDL, HDL e TG. O coração foi removido e o ventrículo esquerdo (VE) foi isolado para determinar a presença de HVE, através da relação do peso do

VE (mg)/peso corporal (g). Na sequência os VE foram fixados por 24 horas em formaldeído a 10%, para determinação do diâmetro dos cardiomiócitos e da deposição de colágeno.

Análise sérica

As amostras de sangue passaram por centrifugação para obtenção do soro (3.000 rpm por 10 minutos). O nível sérico de glicose foi medido pelo método enzimático colorimétrico. O nível sérico de insulina foi determinado usando um kit comercial específico de ELISA (DAKO Ltda, High Wycombe, Bucks, Reino Unido). O índice Homa (Homa-ir) foi calculado pela fórmula: {Homa-ir = [insulinemia rápida (mU/ L) x glicemia rápida (mmol / L)] / 22,5} para determinar a resistência à insulina. Ensaios enzimáticos foram usados para medir TG, CT e HDL, assim como descrito por Hedrick et al (18). O nível de proteína C-reativa (PCR) foi calculado por turbidimetria e fotometria (Humastar 300®) e os resultados foram expressos em mg/dL. O nível de LDL foi determinado de acordo com a fórmula (19): LDL (mg/dL) = TC – HDL - TG/5.0; e o valor de VLDL foi calculado segundo a fórmula VLDL (mg/dL) = TG/5.0 (20).

Análise morfométrica e histológica

Para as análises morfométricas do diâmetro dos cardiomiócitos e da deposição de colágeno, cortes de 4 µm de largura do VE embebidos em parafina foram corados com hematoxilina-eosina e picrosirius red, respectivamente. Fotomicrografias foram tiradas do mesmo ponto pré-fixado de secções transversais de VE de cada camundongo, usando uma câmara digital acoplada ao Leica IM50. O diâmetro dos cardiomiócitos foi medido de 8 a 12 células em cada secção por animal (21). Secções coradas com picrosirius red foram submetidas a uma luz polarizada e cada fotomicrografia foi analisada pela imagem LGMC (22) e as áreas coradas em vermelho foram selecionadas para determinar a porcentagem do depósito de colágeno no tecido cardíaco (23).

Análise estatística

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM). A análise de variância (ANOVA) foi seguida do teste de Tukey, para comparação das médias entre os diferentes grupos. As diferenças foram consideradas significativas para o valor de p<0,05.

RESULTADOS

Na Tabela 1, mostra-se que os camundongos do grupo HL apresentaram níveis séricos elevados de CT, LDL, VLDL e TG e reduzidos de HDL com relação aos camundongos do grupo C. O tratamento com óleo de cártamo no grupo HLCA preveniu o aumento nos níveis séricos de TG e VLDL e a redução nos níveis séricos de HDL observados nos animais do grupo HL.

Tabela 1: Níveis séricos de colesterol total (CT), colesterol LDL (LDLc), colesterol VLDL (VLDLc), colesterol HDL (HDLc), triglicérides (TG), glicose, insulina, índice HOMA (Homa-ir) e proteína C-reativa (PCR).

Grupos	C	CCA	HL	HLCA
CT (mg/dL)	253±19	252±10 ^{c,d}	612±12 ^{a,b,d}	579±10 ^{a,b}
LDLc (mg/dL)	165±10	168±4 ^{c,d}	531±19 ^{a,b,d}	477±12 ^{a,b}
VLDLc (mg/dL)	27±3	25±3 ^c	57±4 ^{a,b,d}	39±2 ^c
HDLc (mg/dL)	61±3	59±9 ^c	23±1 ^{a,b,d}	63±4 ^c
TG (mg/dL)	133±5	126±3 ^{c,d}	286±9 ^{a,b,d}	185±6 ^{a,b,c}
Glicose (mmol/L)	5.6±0.2	5.4±0.1	5.8±0.3	5.5±0.1
Insulina (mU/mL)	2.8±0.2	2.5±0.2 ^{c,d}	6.1±0.8 ^{a,b,d}	4.3±0.3 ^{a,b,c}
Homa-ir	0.7±0.06	0,6±0.05 ^{c,d}	1.6±0.08 ^{a,b,d}	1.0±0.14 ^{a,b,c}
Proteína C-reativa (mg/dL)	6±0,4	4.8±0.6 ^{c,d}	14.8±0.8 ^{a,b,d}	8,7±1 ^{a,b,c}

Valores são expressos como média ± EPM. Diferentes letras indicam diferença significativa entre os grupos (p<0,05 – Teste de Tukey). C – dieta padrão; CCA - dieta padrão e óleo de cártamo; HL - dieta hiperlipídica; HLCA - dieta hiperlipídica e óleo de cártamo. P<0.05 vs C; ^b P<0.05 vs CCA; ^c P<0.05 vs HL; ^d P<0.05 vs HLCA.

Os níveis de insulina e Homa-ir dos grupos tratados com dieta hiperlipídica, bem como os níveis séricos de PCR, tiveram aumento quando comparados com os animais que receberam dieta padrão, indicando a presença de resistência à insulina e inflamação cardíaca, respectivamente. O óleo de cártamo preveniu parcialmente essa resistência (HLCA *versus* HL). Os níveis séricos de glicose não apresentaram diferenças.

Os resultados (Tabela 2 e Figura 1) demonstraram aumento (38,7%) da proporção do peso ventricular esquerdo (mg)/ peso do animal (g), ou seja, HVE (grupo HL *versus* demais grupos). Isso ocorreu em consequência do aumento do diâmetro dos cardiomiócitos e depósito de colágeno no miocárdio ventricular esquerdo. O óleo de cártamo preveniu totalmente essa HVE, atuando tanto no diâmetro dos cardiomiócitos quanto no depósito de colágeno, respectivamente (HLCA *versus* HL).

Tabela 2: Efeitos do óleo de cártamo sobre os parâmetros morfométricos do coração de camundongos LDL r-/-.

Grupos	C	CCA	HL	HLCA
Diâmetro dos cardiomiócitos (µm)	18±0,8	19±0.8 ^c	24±0,6 ^{a,b,d}	20±0.2 ^c
Colágeno (%)	4.8±0.2	4.7±0.6 ^{c,d}	11.2±0.8 ^{a,b,d}	6.9±0.8 ^c
VE peso (mg)/peso corporal (g)	3.1±0.19	3.2±0.11 ^c	4.3±0.12 ^{a,b,d}	3.5±0.44 ^c

Valores são expressos como média ± EPM. Diferentes letras indicam diferença significativa entre os grupos (p<0,05 – Teste de Tukey). C – dieta padrão; CCA - dieta padrão e óleo de cártamo; HL - dieta hiperlipídica; HLCA - dieta hiperlipídica e óleo de cártamo. P<0.05 vs C; ^b P<0.05 vs CCA; ^c P<0.05 vs HL; ^d P<0.05 vs HLCA.

Com relação aos parâmetros séricos e morfométricos entre os grupos C e CCA não foram observadas alterações.

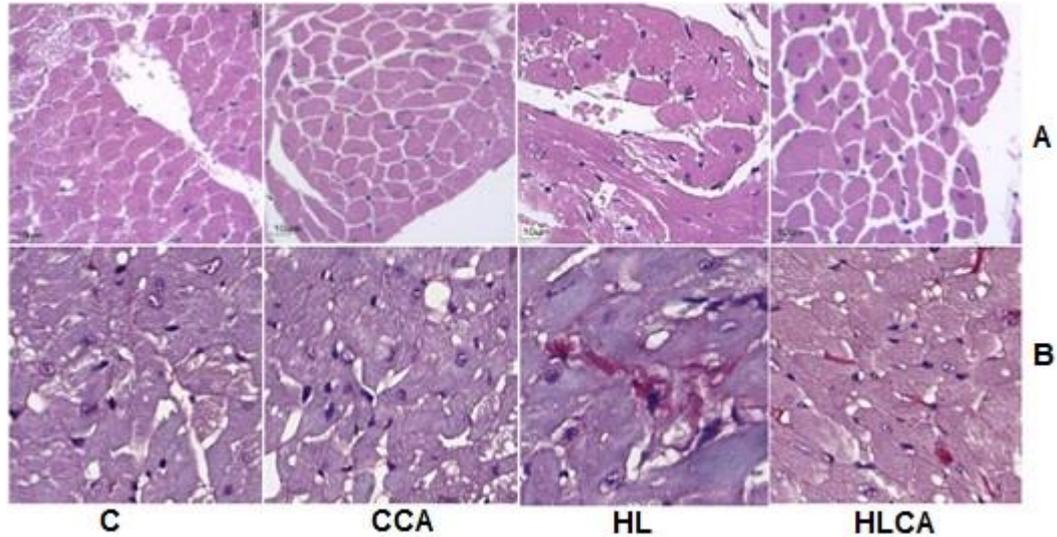


Figura 1. A – Fotomicrografia corada com hematoxilina/eosina representativa do ventrículo esquerdo mostrando o diâmetro dos cardiomiócitos. B – Fotomicrografia corada com picrosirius red mostrando a distribuição do colágeno intersticial (marcado em vermelho pela mancha) no miocárdio ventricular esquerdo dos camundongos. C – dieta padrão; CCA - dieta padrão e óleo de cártamo; HL - dieta hiperlipídica; HLCA - dieta hiperlipídica e óleo de cártamo (400x).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o tratamento com óleo de cártamo foi capaz de prevenir parcialmente a diminuição do HDL e o aumento do TG e do VLDL nos camundongos LDLr^{-/-} alimentados com dieta hiperlipídica. Além disso, o tratamento com óleo de cártamo também preveniu parcialmente a inflamação causada pela dieta hiperlipídica, prevenindo o aumento da PCR. A prevenção parcial da dislipidemia e da inflamação alcançada com o tratamento refletiu na prevenção total da HVE.

O consumo de óleo de cártamo pelo grupo HLCA pode ter aumentado a atividade da LPL no coração e no músculo, o que elevou a taxa de oxidação de gordura e, conseqüentemente deprimiu os níveis séricos de TG (24). A LPL encontra-se no revestimento do lúmen do endotélio capilar e sua primordial função é hidrolisar os triglicerídeos presentes no núcleo das lipoproteínas abundantes em triglicerídeos, assim como quilomícrons e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDLs), gerando ácidos graxos livres e glicerol que serão captados pelos tecidos (25-26). O aumento na atividade da LPL influencia as concentrações de lipídeos plasmáticos (27) podendo tal fato explicar a prevenção do aumento tanto de TG como VLDL no grupo HLCA comparado ao HL. Alguns estudos também destacam a ação do óleo de cártamo na melhora na concentração de lipídios plasmáticos, por meio da redução do LDL ou com incremento nos níveis de HDL (28, 29, 30, 31, 32).

Os efeitos do tratamento com o óleo de cártamo no perfil lipídico caracterizados pelas alterações no HDL, VLDL e TG devem-se principalmente aos derivados de serotonina, flavonas e lignanas que estão presentes nas sementes do açafraão. Isso porque a serotonina presente no extrato da semente do cártamo evita a oxidação do LDL e a aterosclerose em animais com deficiência em Apolipoproteína E (33- Koyama et al. 2006). Pode-se observar que houve aumento dos níveis de HDL no grupo HLCA comparado ao grupo HL, o que foi demonstrado também em estudos realizados com ratos ovariectomizados e ratos machos tratados com óleo de cártamo, respectivamente (34- Cho, Choi, Choi & Lee, 2000) (35- Moon et al., 2001).

As alterações no perfil de HDL ocorrem porque ele atua como molécula cardioprotetora ao realizar o transporte reverso do colesterol e agir como agente anti-inflamatório (35), através do mecanismo pelo qual o HDL aumenta o efluxo do colesterol na parede arterial (36). O HDL também possui papel antioxidante, ações estas atribuídas a apolipoproteína A-I (apo A-I), apolipoproteína A-II (apo A-II) e, principalmente, em decorrência da presença de paraoxonase (33-37), o que, em nosso estudo, pode ter reduzido a produção de mediadores e citocinas cardiovasculares, LDL oxidada e estresse oxidativo, demonstrado no grupo HLCA onde houve prevenção do aumento sérico da PCR.

Nossos resultados mostram que os camundongos LDL r/- alimentados com dieta hiperlipídica e óleo de cártamo apresentaram redução da hipertrofia ventricular esquerda (HVE), por meio da redução do diâmetro dos cardiomiócitos, depósito de colágeno e insulina. Essas alterações morfometabólicas observadas estão associadas ao aumento plasmático de HDL e sua função cardiovascular protetora antioxidante e anti-inflamatória (38), o que favoreceu a redução do processo inflamatório cardiovascular e resistência à insulina no grupo HLCA.

Destaca-se que a glicemia no presente trabalho não teve influência da adição do óleo de cártamo na dieta, o que também foi observado em estudos feitos por Campanella et al. (39), quando avaliaram o efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre peso corporal, perfis lipídico e glicídico e capacidade da atividade antioxidante enzimática em ratos Wistar induzidos à obesidade por dieta hiperlipídica. Tal fato pode ter ocorrido, em razão de alguns fatores como o tempo do estudo, da quantidade de óleo adicionada ou do tipo de produto derivado do óleo de cártamo em que foi testado (40-41).

A resistência à insulina se encontra associada à dislipidemia e, essa associação se torna fator importante para o desenvolvimento de HVE. A resistência à insulina nos adipócitos conduz ao aumento da hidrólise intracelular de TG e liberação de ácidos graxos livres (AGL) na circulação. Em razão da elevação dos AGL no fígado, há o aumento na produção e secreção de VLDL e TG circulantes (42). A prevenção da resistência à insulina observada no grupo HLCA pode ser atribuída à redução da glicólise associada à diminuição da oxidação do piruvato intramuscular e aumento da oxidação de gordura (43). Tal fato pode ser explicado pela presença de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) no óleo de cártamo que influencia na homeostase energética, através do impacto que possui na expressão gênica e sinalização da insulina que é realizada pela atividade hipotalâmica.

CONCLUSÕES

Conclui-se, com o presente estudo, que o óleo de Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) preveniu os processos inflamatórios e a resistência insulínica decorrentes da dislipidemia. Portanto, ele tem efeito hipolipidêmico e protetor cardíaco.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro no desenvolvimento deste projeto e a UNIFENAS – Alfenas pela parceria no desenvolvimento deste projeto juntamente com o IFSULDEMINAS.

REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial da Saúde. Doenças Cardiovasculares. http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839. Acesso Setembro de 2019.
2. Sales RL, Peluzio MCG, Costa NMB. Lipoproteínas: uma revisão do seu metabolismo e envolvimento com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*. 2003; 25:71-86.
3. Carvalho DF, Paiva AA, Melo ASO. Perfil lipídico e estado nutricional do adolescente. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2007; 10: 491-8.
4. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A, et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2017; 109:1-76.
5. Yoshida WB. Radicais livres na síndrome da isquemia e reper-fusão. *Cir Vasc Angiol*. 1996; 12: 82-95.
6. Martínez RS, Avendano MS, García RAB, et al. Reciprocal relationship between reactive oxygen species and cyclooxygenase-2 and vascular dysfunction in hypertension. *Antioxid Redox Signal*. 2012.
7. Samuelsson AM, Bollano E, Mobini R, Larsson BM, Omerovic E, Fu M, et al. Hyperinsulinemia: effect on cardiac mass/function, angiotensin II receptor expression., and insulin signaling pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 291: 787-796.
8. Hunter JJ, Chien KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *N Engl J Med*. 1999; 341: 1276-83.
9. Isoyama, S. Coronary vasculature in hypertrophy. In: SHERIDAN, D. J. (Ed.). *Left ventricular hypertrophy*. 1998. 29-36.
10. Garcia, JAD, Incerpi, EK. Fatores e mecanismos envolvidos na hipertrofia ventricular esquerda e o papel anti-hipertrofico do óxido nítrico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2008; 90: 443-450.
11. Khalil NAA, Dagash YM, Yagoub SO. Effect of sowing date, irrigation intervals and fertilizers on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) yield. *Discourse Journal of Agriculture and Food Sciences*. 2013; 1: 97-102.
12. Oelke EA, et al. Safflower. *Alternative Field Crops Manual*, 1992; 8.
13. Ekin Z. Resurgence of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Utilization: A global view, *Journal of Agronomy*. 2005; 4: 83-87.
14. Mundel HH, et al. Safflower Production on the Canadian Prairies: revisited in 2004. *Alberta: Agriculture and Agri-Food Canada*, Lethbridge Research Center. 2004; 43.
15. Bellé RA, Rocha EK, Backes FAAL, Neuhaus M, Teixeira N, Schwab NT. Cártamo cultivado em diferentes épocas de semeadura e densidades de plantas. *Ciência Rural*. 2012; 42: 2145-2152.
16. Streck NA, et al. Estimando a taxa de aparecimento de folhas e filocrono em cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). *Ciência Rural*. 2005; 35: 1448-1450.

17. Hwang EY, Yu MH, Jung YS, Lee SP, Shon JH, Lee SO. Defatted safflower seed extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes and improves lipid profiles in C57BL/6J ob/ob mice fed a high-fat diet. *Nutrition Research*, Tarrytown, 2016; 36: 995-1003.
18. Hedrick CC, Castellani LW, Wong H, Lusic AJ. In vivo interactions of apoA-II, apoA-I, and hepatic lipase contributing to HDL structure and antiatherogenic functions. *The Journal of Lipid Research*. 2001; 42: 563-570.
19. Shin S, Ajuwon KM. Effects of Diets Differing in Composition of 18-C Fatty Acids on Adipose Tissue Thermogenic Gene Expression in Mice Fed High-Fat Diets. *Nutrients*. 2018; 10: 256.
20. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of preparatory ultracentrifugation. *Clin Chem*. 1972. 18: 499-502.
21. Tian J, Pei H, Sanders JM, Angle JF, Sarembock IJ, Matsumoto AH, et al. Hyperlipidemia is a major determinant of neointimal formation in LDL receptor-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006. 345: 1004-9.
22. Armstrong AT, Binkley PF, Baker PB, Myerowitz PD, Leier CV. Quantitative investigation of cardiomyocyte hypertrophy and myocardial fibrosis over 6 years after cardiac transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 1998; 32: 704–710.
23. Shirani J, Pick R, Roberts WC, Maron BJ. Morphology and significance of the left ventricular collagen network in young patients with hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *J Am Coll Card*. 2000; 35: 36–44.
24. Pintão AM, da Silva IF. A verdade sobre o açafrão. In: Workshop Plantas Mediciniais e Fitoterapêuticas nos Trópicos [Internet]. Cuétara: IICT /CCCM; 2008. p. 19.
25. BEISIEGEL U, et al. A lipase lipoproteica aumenta a ligação dos quilomícrons à proteína relacionada ao receptor de lipoproteína de baixa densidade. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88:8342-8346.
26. SEO T, et al. A captação seletiva mediada por lipoproteína e lipoproteína da lipoproteína de baixa densidade requer proteoglicanos da superfície celular e é independente do receptor sequestrador classe B tipo 1. *J Biol Chem*. 2000; 275:30355–30362.
27. Olszewer E, de Araújo Júnior LM. Manual de Fitoterápicos em Obesidade. 1. ed. Olszewer E, de Araújo Júnior LM, editors. São Paulo: Ícone; 2012. 456 p.
28. An BK, Nishiyama H, Tanaka K, Ohtani S, Iwata T, Tsutsumi K, Kasai M. Dietary safflower phospholipid reduces liver lipids in laying hens. *Rev Poult Sci*. 1997; 76:689-95.
29. Cox C, Sutherland W, Mann J, Jong S, Chisholm A, Skeaff M. Effects of dietary coconut oil, butter and safflower oil on plasma lipids, lipoproteins and lathosterol levels. *Eur J Clin Nutr*. 1998; 52:650-54.
30. Herbel BK, Mcguire MK, Mcguire MA, Shultz TD. Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*. 1998; 67:332–7.
31. Moon KD, Back SS, Kim JH, Jeon SM, Lee MK, Choi MS. Safflower seed extract lowers plasma and hepatic lipids in rats fed high-cholesterol diet. *Rev Nutr Res*. 2001;21(6):895-904.

32. Asp M.L, Collene AL, Norris LE, Cole RM, Stout MB, Tang SY, Hsu JC, Belury MA. Time-dependent effects of safflower oil to improve glycemia, inflammation and blood lipids in obese, post-menopausal women with type 2 diabetes: A randomized, double-masked, crossover study. *Rev Clin Nutr.*2011;1-7.
33. Koyama N, Kuribayashi K, Seki T, Kobayashi K, Furuhashi Y, Suzuki K, Ishii K. Serotonin derivatives, major safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed antioxidants, inhibit low-density lipoprotein (LDL) oxidation and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2006; 54(14): 4970-4976.
34. Cho, S.-H., Choi, S.-W., Choi, Y., & Lee, W.-J. (2000). Effects of defatted safflower and perilla seed powders on lipid metabolism in ovariectomized female rats fed high cholesterol diets. *Journal-Korean Society of Food Science and Nutrition*, 30(1), 112e118
35. Moon, K.-D., Back, S.-S., Kim, J.-H., Jeon, S.-M., Lee, M.-K., & Choi, M.-S. (2001). Safflower seed extract lowers plasma and hepatic lipids in rats fed highcholesterol diet. *Nutrition Research*, Tarrytown, 21(6), 895e904.
36. Khalid N et al. A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient - A review. *Trends in Food Science & Technology.* 2017; 66:176-186.
37. Moo KD, Back SS, Kim JH, Jeon SM., Lee MK, Choi MS. Safflower seed extract lowers plasma and hepatic lipids in rats fed highcholesterol diet. *Nutrition Research*, Tarrytown, 2001; 21(6): 895-904.
38. Holvoet P. Relations between metabolic syndrome, oxidative stress and in inflammation and cardiovascular disease. *Verh K Acad Geneesk Belg.* 2008; 70:193-219.
39. Campanella LCA, Silva AC, Freygang J, Dal-Magro DD. Efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre o peso corporal, perfil lipídico, glicídico e antioxidante de ratos wistar induzidos a obesidade. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, 2014; 35(1):141-147.
40. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory Properties of HDL. *Circulation Research.* 2004; 95: 764-772.
41. Serrato M, Marian AJ. A variant of human paraoxonase/ arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Inves.* 1995; 96(6): 3005-8.
42. Fernandes MF, Tache MC, Klingel SL, Leri F, Mutch DM. Safflower (n-6) and flaxseed (n-3) high-fat diets differentially regulate hypothalamic fatty acid profiles, gene expression, and insulin signalling. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2018; 128:67-73.
43. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Investigation.* 2000; 106:453-458.

ANEXO A- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)

PARECER N.º 05A/2011

A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA –, da UNIFENAS, tendo analisado, nesta data, o protocolo do projeto de pesquisa intitulado **O EFEITO DO ÓLEO DE CÂRTAMO (CARTHAMUS TINCTORIUS L.) NA DISLIPIDEMIA E NA HIPERTOFIA VENTRICULAR ESQUERDA EM CAMUNDONGOS DISLIPIDÊMICOS**, de autoria do Prof. José Antonio Dias Garcia, resolveu enquadrá-lo na categoria de aprovado

Alfenas, 19 de maio de 2011.

Prof. Dra. Maria Cristina da Costa Resck
Coordenadora do CEUA

Data para apresentação do Relatório Final: 01/11/2011 01/05/2012**Modelo do Relatório Final e Parcial: <http://www.unifenas.br/pesquisa/>**Comitê de Ética em Pesquisa- UNIFENAS – (35) 3299-3137 comitedeetica@unifenas.br