

KHARLA JANINNY MEDEIROS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA DIETA À BASE DE MEXILHÕES *Perna perna* (Linné, 1758) EM RELAÇÃO AOS TEORES DE COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS EM COBAIAS (*Cavia porcellus*)

**FLORIANÓPOLIS, SC
2001**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA DIETA À BASE DE MEXILHÕES *Perna perna* (Linné, 1758) EM RELAÇÃO AOS TEORES DE COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS EM COBAIAS (*Cavia porcellus*)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão

Co-orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia C. G. Tramonte

FLORIANÓPOLIS
2001

KHARLA JANINNY MEDEIROS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA DIETA À BASE DE MEXILHÕES *Perna perna* (Linné, 1758) EM RELAÇÃO AOS TEORES DE COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS EM COBAIAS (*Cavia porcellus*)

Dissertação aprovada como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina pela banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão

Co-orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte

Membro: Profa. Dra. Marilde T. B. Luiz:

Membro: Profa. Dra. Maria Alice Altemburg de Assis

Coordenadora: Dra. Roseane Fett

Florianópolis, Junho de 2001

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho. Especialmente dedico meus agradecimentos:

- ✓ À CAPES, pelo auxílio financeiro em todo o período de execução do trabalho;
- ✓ À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização desta pesquisa;
- ✓ Ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo apoio possibilitando a utilização do Laboratório de Nutrição Experimental;
- ✓ Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão, meu orientador, pela sua disposição e auxílio em todos os momentos em que solicitei sua ajuda;
- ✓ À Profa. Dra. Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte, do Departamento de Nutrição/UFSC, minha co-orientadora, por todos os momentos de auxílio, ensinamentos e, por toda a dedicação à pesquisa pois sem sua contribuição com certeza, muito não poderia ter acontecido;
- ✓ À Profa. Dra. e nutricionista Maria Alice Altemburg de Assis, do Departamento de Nutrição/UFSC, por toda a sua experiência na área de nutrição básica, em especial com doenças cardiovasculares, que muito contribuíram para a realização desta pesquisa;
- ✓ Ao Prof. Dr. Daniel Barrera Arrellano e Dr. Renato Grimaldi do Laboratório de Óleos e Gorduras da UNICAMP/SP, pela cortesia das análises dos mexilhões e auxílios prestados;
- ✓ Aos servidores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial à Sérgio de Souza pelo atendimento e amizade em todos os momentos; e à Alexandre da

Usina de Pescados, pela dedicação e amizade em ajudar em um dos momentos mais difíceis da realização deste trabalho;

✓ À Profa. Ana Maria Campa, da Universidade de São Paulo, pela atenção e fornecimento de informações imprescindíveis para a finalização da pesquisa;

✓ Ao Sr. José de Queiroz, do “Cantinho da Ostra”, em Santo Antônio de Lisboa/Florianópolis, pela confiança no meu trabalho, fornecimento dos mexilhões e disposição em ajudar sempre que necessário;

✓ Ao Bioquímico Luciano Valdomiro Gonzaga, do Laboratório de Físico-química/UFSC, pelo auxílio nos inúmeros momentos de dúvidas e pela realização de algumas análises físico-químicas;

✓ Ao Bioquímico e Técnico do Laboratório de Nutrição Experimental/UFSC, Gerson Luiz Faccin, por todos os ensinamentos, particularmente no ensaio biológico e análises bioquímicas;

✓ Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos especialmente, à Profa. Dra. Marilde T. B. Luiz, Edna R. Amante e Roseane Fett pela orientação e utilização dos laboratórios de Bioquímica; Frutas e Hortaliças e Bromatologia sempre que necessário;

✓ À médica veterinária Dra. Maria Aparecida C. A. Bello e à Chefe do Biotério Central da UFSC, Joanésia M. J. Rothestein, pela contribuição em fornecer suporte para a utilização de cobaias na pesquisa;

✓ Novamente à Profa. Dra. Marilde T. B. Luiz e à todos os alunos do Laboratório de Bioquímica de Alimentos, pela minha “adoção” desde o primeiro instante, e onde sempre pude me sentir à vontade;

✓ À amiga e Profa. Elane Scwinden Prudêncio, pelo incentivo, amizade e ajuda sempre e sempre;

- ✓ À todos os meus amigos da Pós-Graduação, em especial à Melissa Tensini Hering de Queiroz, pela troca de conhecimentos, críticas e companhia durante todo o período de Mestrado e à Marco Antônio da Silva, pela sua luz e sensibilidade sempre presentes;
- ✓ Ao acadêmico do curso de Nutrição Murilo Gonçalves, pela dedicação à pesquisa, principalmente no ensaio biológico;
- ✓ À acadêmica do curso de Nutrição e amiga, Carolina Dias Moriconi, pelo esforço, dedicação e responsabilidade em relação ao trabalho e à confiança que realmente pude depositar em todo e qualquer instante;
- ✓ À minha tia Ângela Albino, pelo incentivo, por acreditar em mim e por todo o amor dispensados;
- ✓ Ao meu amigo Dr. Glaycon Michels, pelos momentos de compreensão, amizade e apoio no meu progresso como profissional da área da saúde e confiança no meu trabalho;
- ✓ Ao meu amigo Hudson Mafra Júnior pela amizade, cumplicidade e auxílios em informática com que pude contar sempre;
- ✓ À minha família, pela compreensão, paciência, ajuda e pelo grande carinho quando estive ausente;
- ✓ À Deus e à Espiritualidade, que sem dúvida, me auxiliaram a chegar até aqui.

SUMARIO

	Página
LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
RESUMO	
SUMMARY	
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 Lipídeos.....	5
2.2 Ácidos graxos saturados.....	6
2.3 Ácidos graxos monoinsaturados.....	8
2.4 Ácidos graxos polinsaturados.....	8
2.5 Colesterol.....	12
2.6 Lipoproteínas.....	13
2.7 Metabolismo das lipoproteínas e do colesterol.....	15
2.8 A relação entre colesterol, aterosclerose e doenças cardiovasculares.....	16
2.9 Lipídeos marinhos na nutrição humana.....	23
2.10 Caracterização do mexilhão <i>Perna perna</i>	28
2.11 O cultivo de mexilhões.....	29
2.12 A escolha do animal experimental	31
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos.....	32

4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Material.....	33
4.1.1 Mexilhões.....	33
4.1.2 Animais.....	34
4.1.3 Delineamento experimental	35
4.1.4 Rações experimentais.....	36
4.1.4.1 Ração controle.....	36
4.1.4.2 Ração dieta carnes.....	37
4.1.4.3 Ração dieta mexilhões.....	38
4.2 Métodos.....	39
4.2.1 Preparo das amostras.....	39
4.2.2 Preparo das rações experimentais.....	40
4.2.3 Cuidado com os animais.....	40
4.2.4 Coleta das amostras de plasma dos animais experimentais.....	42
4.2.5 Análise da composição centesimal das rações experimentais.....	43
4.2.6 Análise do teor de colesterol.....	43
4.2.7 Análise da composição em ácidos graxos dos mexilhões.....	44
4.2.8 Análise do teor de colesterol, triglicerídeos e lipoproteínas das cobaias.....	44
4.2.9 Análise estatística.....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 Composição centesimal dos mexilhões <i>Perna perna</i>	46
5.2 Composição centesimal das rações experimentais.....	47
5.3 Composição em ácidos graxos de mexilhões <i>Perna perna</i>	49
5.4 Valor nutricional das rações experimentais.....	51
5.5 Ensaio biológico.....	55

5.5.1	Considerações.....	55
5.5.2	Variação de peso corporal e consumo de ração.....	57
5.5.3	Perfil de lipoproteínas dos animais experimentais.....	59
5.5.3.1	Colesterol total e Lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol).....	59
5.5.3.2	Lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) e Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL – colesterol).....	64
5.5.4.3	Triglicerídeos.....	67
5.6	Sugestões para futuros trabalhos.....	70
6	CONCLUSÕES.....	71
7	ANEXOS.....	74
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

LISTA DE TABELAS

i

Tabela 1. Ácidos graxos insaturados quanto ao tamanho da cadeia e posição das insaturações.....	10
Tabela 2. Valores de referência de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicerídeos plasmáticos em humanos	18
Tabela 3. Composição química de alguns frutos do mar em relação ao teor calórico, macronutrientes, gordura saturada, ácido graxo w-3 e colesterol/100g.....	25
Tabela 4. Composição da ração controle (AIN-93G).....	36
Tabela 5. Composição da ração dieta carnes.....	37
Tabela 6. Composição da ração dieta mexilhões.....	38
Tabela 7. Composição centesimal de mexilhões <i>Perna perna</i> macho e fêmea de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC.....	46
Tabela 8. Composição centesimal das rações experimentais (g/100g produto seco)....	48
Tabela 9. Composição em ácidos graxos (%m/m) de mexilhões <i>Perna perna</i> machos e fêmeas, de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC.....	49
Tabela 10. Teor de colesterol e ácidos graxos das dietas carnes e mexilhões.....	52
Tabela 11. Teor de fibras totais, fibra solúvel e fibra insolúvel das dietas carnes e mexilhões.....	53
Tabela 12. Composição nutricional das dietas carnes e mexilhões em relação aos micronutrientes Ca, Fe, Na, vit.C e vit. A	54
Tabela 13. Média e Desvio-padrão (\pm DP) de peso corporal (g) e consumo de ração (g/animal/dia) de cobaias <i>Cavia porcellus</i>	57
Tabela 14. Ganho médio de peso corporal de cobaias <i>Cavia porcellus</i> durante 21 dias de experimento.....	58
Tabela 15. Perfil de lipoproteínas de cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de consumo de dieta controle, carnes e mexilhões.....	59
Tabela 16. Intervalos de confiança, médias e desvio-padrão de triglicerídeos plasmáticos em cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de experimento.....	67

LISTA DE FIGURAS

ii

Figura 1. Estrutura química dos triglicerídeos.....	6
Figura 2. Ácido graxo saturado.....	7
Figura 3. Ácido graxo monoinsaturado.....	8
Figura 4. Posição das duplas ligações dos ácidos graxos w-3 e w-6.....	11
Figura 5. Estrutura química do colesterol	12
Figura 6. Composição das lipoproteínas.....	14
Figura 7. Mexilhões <i>Perna perna</i> fêmeas e machos	33
Figura 8. Cultivo de mexilhões em Santo Antônio de Lisboa, Fpolis/SC.....	34
Figura 9. Cobaias <i>Cavia porcellus</i>	34
Figura 10. Higienização dos mexilhões no local de cultivo	39
Figura 11. Acondicionamento dos animais durante o ensaio biológico.....	41
Figura 12. Caixas de polipropileno individualizadas para as cobaias no período experimental.....	41
Figura 13. Punção cardíaca das cobaias.....	42
Figura 14. Gráfico dos valores médios de colesterol total em cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de experimento.....	60
Figura 15. Gráfico de box-plot em relação ao colesterol total (mg/dL) em cobaias <i>Cavia porcellus</i>	60
Figura 16. Gráfico dos valores médios de LDL-colesterol em cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de experimento.....	62
Figura 17. Gráfico de box-plot em relação ao LDL-colesterol (mg/dL) em cobaias <i>Cavia porcellus</i>	62
Figura 18. Gráfico dos valores médios de HDL-colesterol em cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de experimento.....	64

Figura 19. Gráfico de box-plot em relação ao HDL-colesterol (mg/dL) em cobaias <i>Cavia porcellus</i>	65
Figura 20. Gráfico dos valores médios de VLDL-colesterol em cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de experimento.....	66
Figura 21. Gráfico de box-plot em relação ao VLDL-colesterol (mg/dL) em cobaias <i>Cavia porcellus</i>	66
Figura 22. Gráfico dos valores médios de triglicerídeos em cobaias <i>Cavia porcellus</i> após 21 dias de experimento.....	68
Figura 23. Gráfico de box-plot em relação ao triglicerídeos (mg/dL) em cobaias <i>Cavia porcellus</i>	68

AHA – American Heart Association – Associação Americana do Coração

AVC – Acidente Vascular Cerebral

AOAC – Association Official Analytical Chemists – (Assoc. Oficial de Química Analítica)

ACOS – American Oil Chemists Society – (Sociedade americana de química de óleos)

ANOVA – Análise de Variância dos Dados

CT – Colesterol total

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CPNEMB - Capacitação de Pessoal de Níveis Elementar e Médios em Biotérios

DCV – Doenças cardiovasculares

DHA – ácido docosahexaenóico

DAC – Doença Arterial Coronariana

EPA – ácido eicosapentaenóico

HPLC – High Performance Liquid Chromatography – (Cromatografia líquida de alta eficiência)

HDL – colesterol – high density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade)

LDL –colesterol – low density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade)

LPL – Lipoproteína-lipase

LCAT - lecitina-colesterol acil transferase

Lp(a) – Lipoproteína a

MUFA - Ácidos graxos altamente monoinsaturados

NCEP – National Cholesterol Education Program (Programa de Educação Nacional de Colesterol)

NCS - “noncholesterol sterols” – (Esteróis que não são colesterol)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PUFAs – Ácidos graxos polinsaturados

RDA - Recommended Dietary Allowances (Recomendação dietética diária)

VLDL-colesterol – very-low-density-lipoprotein (lipoproteína de muito baixa densidade)

USDA – United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)

WHO – World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

MEDEIROS, K. J. **Avaliação dos efeitos de uma dieta à base de mexilhões *Perna perna* (Linnè, 1758) em relação aos teores de colesterol, triglicerídeos e lipoproteínas em cobaias *Cavia porcellus*.** Florianópolis, 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina.

RESUMO

Nos últimos anos, as doenças cardiovasculares têm-se constituído a principal causa de morte no Brasil e no mundo, sendo as enfermidades mais frequentes a aterosclerose, infarto do miocárdio e hipertensão. A eficácia da prevenção ou tratamento da aterosclerose depende da eliminação dos fatores de risco modificáveis, estando a alimentação inserida como um dos principais componentes da categoria estilo de vida que necessitam de intervenção. A ingestão de lipídeos totais e colesterol têm relação direta sobre o desenvolvimento da aterogênese. Segundo recentes estudos, os frutos do mar, em especial os mexilhões, contêm baixos teores de colesterol e uma grande proporção de ácidos graxos polinsaturados, dentre eles o ω -3 relatado como protetor na redução do risco de doenças cardiovasculares. Os objetivos deste trabalho foram, determinar os teores de colesterol, triglicerídeos e ácidos graxos de mexilhões *Perna perna* da região de Florianópolis/SC e avaliar os efeitos de uma dieta à base de mexilhões em relação ao perfil lipídico (LDL-colesterol, VLDL-colesterol, HDL – colesterol, triglicerídeos e colesterol total) em cobaias *Cavia porcellus*, quando comparado à uma dieta tendo como fonte protéica a carne bovina. As cobaias foram divididas em 4 grupos(6 animais/grupo): 1.grupo zero (tempo zero do experimento); 2.grupo controle (dieta à base de caseína – AIN/93); 3.grupo carnes - recebendo dieta à base de carne bovina (AHA, II NCEP/1996) e 4.grupo mexilhões (dieta grupo carnes com substituição da carne bovina por mexilhões). Os animais foram anestesiados com éter etílico para a coleta das amostras de sangue através de punção cardíaca, no tempo zero e final do experimento após 12 horas de jejum. As análises de lipoproteínas, colesterol e triglicerídeos plasmáticos foram realizadas por método enzimático (Kit Labtest Diagnóstica e Wiener Lab). Os mexilhões foram analisados por HPLC (AOAC, 1989) para identificação do perfil de ácidos graxos. Não houve diferença em relação ao ganho de peso corporal e ingestão de alimentos entre os grupos após o experimento. Em relação ao perfil lipídico, os animais que receberam dieta contendo mexilhões, apresentaram valores de colesterol-total, triglicerídeos e LDL-colesterol menores do que os demais grupos, respectivamente 72,46 mg/dL, 81,19 mg/dL e 34,96 mg/dL. Para os valores de VLDL-colesterol e HDL-colesterol houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Sugere-se portanto, que a ingestão de mexilhões não alterou o perfil lipídico em cobaias, possivelmente pelo seu teor de ácidos graxos polinsaturados (ω -3) EPA (11,27%) e DHA (12,53%), apesar do elevado teor de colesterol (47,28 mg/100g). Assim, é possível a recomendação do consumo de mexilhões e incorporação em guias nutricionais para prevenção de doenças cardiovasculares desde que orientados em relação à quantidade, frequência de ingestão e modo de preparo deste alimento.

Palavras-chave: cobaias, lipídeos, mexilhões.

MEDEIROS, K.J. **Effects of a diet mussels *Perna perna* (Linnè, 1758) in relation to the levels of cholesterol, triacylglycerol and lipoproteins in Guinea pigs *Cavia porcellus*.** Florianópolis, 2001. (Dissertação de Mestrado- Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina.

SUMMARY

In the last years, the cardiovascular diseases have been constituting the main death cause in Brazil and in the world, being the most frequent illnesses the atherosclerosis, infarct of the miocardio and hypertension. The effectiveness of the prevention of treatment of the atherosclerosis depends on the elimination of the risk factors modified, being the nutrition inserted as one of the main components of the category lifestyle that must be changed. The ingestion of lipids and cholesterol have direct relationship on the development of the atherogenesis. As recent studies, the sea foods, especially the mussels, contain low cholesterol and a great proportion of polyunsaturated fatty acids, among them the ω -3 related as protector in the reduction of the risk of cardiovascular diseases. The objectives of this work were, to determine the cholesterol levels, triacylglycerols and fatty acids of mussels (*Perna perna*) of the Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC and to evaluate the effects of a diet to the base of mussels in relation to the lipoprotein profile (LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triacylglycerol and total cholesterol) in guinea pigs *Cavia porcellus*. The guinea pigs were distributed in 4 groups (6 animals/group): 1. group zero (time zero of the experiment); 2. group control (diet based in casein – AIN/93); 3. group meats receiving diet based on bovine meat (hipolipidic diet) and 4. group mussels (diet group meals with substitution of the bovine meat for mussels), for 30 days. The animals were anesthetized with ethyl ether for the collection of the samples of blood through heart puncture, in the time zero and in the end of the experiment after 12 hours of fast. The lipoproteins analyses, plasma cholesterol and triacylglycerol were examined by enzymatic method (Kit Labtest Diagnostica and Wiener Lab). The mussels were analyzed by HPLC (AOAC, 1989) for identification of the profile of fatty acids. No have difference in relation to increase of corporal weight and ingestion of foods in the groups after the experiment. In relation to the lipoprotein profile, the animals that received diet containing mussels, they presented values of total cholesterol, triacylglycerol and LDL-cholesterol smaller than the other groups, respectively 72,46mg/dL, 81,19mg/dL and 34,9mg/dL. For the values of VLDL-cholesterol and HDL-cholesterol there significant difference ($p < 0,05$). This suggests therefore, that the ingestion of mussels didn't alter the lipoprotein profile in guinea pigs, possibly because of the quantity of polyunsaturated fatty acids (ω -3) EPA (11,27%) and DHA (12,53%), cholesterol content (47,28mg/100g). Like this, it is possible the recommendation of this consumption and incorporation in guides of nutrition for prevention of cardiovascular diseases since oriented in relation to the amount and frequency of ingestion of this food.

Key words: guinea pigs, lipids, mussels.

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) nos últimos anos têm-se constituído na principal causa de morte em todo o mundo. No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, em 1991, as DCV foram a primeira causa de morte da população brasileira, representando cerca de 34% dos óbitos totais do país. As enfermidades mais freqüentes são a aterosclerose e suas complicações, infarto do miocárdio e a hipertensão. A Organização Mundial de Saúde (OMS) (1990) e a American Heart Association (AHA) (1994) defendem a idéia de que a eficácia da prevenção ou tratamento da aterosclerose depende da eliminação dos fatores de risco modificáveis, o que se obtém com mudanças no estilo de vida. São considerados os principais fatores de risco modificáveis, por exercerem uma relação causal importante com a doença coronária e uma alta prevalência, a dislipidemia, a hipertensão arterial, o tabagismo, a obesidade, o sedentarismo e a alimentação. Portanto, dentro deste contexto, a dietoterapia é enfatizada como a principal linha de abordagem terapêutica pois, a alteração dos hábitos alimentares leva à reduções significativas do colesterol sérico e as demais lipoproteínas plasmáticas (Ministério da saúde, 1993; National Cholesterol Education Program (NCEP), 1994; Assis, 1997)..

A elevação do consumo de sal, gordura saturada e de colesterol, acompanhada da redução do consumo de gorduras polinsaturadas e de fibras alimentares é uma característica dos hábitos alimentares de populações com dislipidemias (De Angelis & Ctenas, 1993; Assis, 1997; Caggiula & Mustad, 1997). A importância da alimentação inadequada no desenvolvimento da doença coronariana é caracterizada por seus efeitos sobre os lipídios

séricos, hipertensão arterial, promoção da aterogênese e desenvolvimento do Diabetes mellitus (Piggot & Tucker, 1990; Ornish et al., 1990; Assis, 1997).

Recentemente, a AHA/2000 através de uma revisão realizada para as recomendações na prevenção de DCV reforçam os principais pontos a serem priorizados:

- Hábitos alimentares (educação nutricional);
- Manutenção do peso corporal adequado;
- Perfil de lipoproteínas;
- Pressão arterial

Especificamente, em relação à dieta, mantém-se as recomendações de ingestão de colesterol de 300mg/dia para indivíduos saudáveis e 200mg/dia para indivíduos com risco para DCV; bem como a redução de gordura saturada e ácidos graxos trans (encontrados em hidrogenados como margarinas e seus produtos). A maior ênfase está na recomendação dos grupos alimentares com suas respectivas porções de ingestão diárias objetivando modificações nos hábitos alimentares, do que a preocupação excessiva com percentuais de distribuição de nutrientes, quando trata-se de guias de orientações nutricionais para doenças cardiovasculares (AHA, 2000).

A cultura popular e vários profissionais de saúde vinculam os frutos do mar com alto teor de colesterol, sendo frequentemente eliminados da dieta de indivíduos com dislipidemias. No entanto, a maioria dos frutos do mar contém menos do que 10% do total de Calorias sob a forma de gordura saturada, uma maior proporção de ácidos graxos polinsaturados como o linolênico, o eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). Os mexilhões são considerados frutos do mar com baixo teor

de lipídeos quando comparados aos demais (King et al., 1983; Seafood Savvy NY, 1992; Molyneaux & Lee, 1988; Connor, 2000).

Em em um estudo que analisou o teor de zinco em mexilhões e ostras da região de Florianópolis/SC confirmou-se a alta concentração deste mineral nestes moluscos (Medeiros & Tramonte, 1996).

Posteriormente, em um ensaio biológico com ratos, em que houve a substituição das carnes pelos mexilhões, em dieta típica catarinense, para avaliar a biodisponibilidade de zinco, observou-se maiores valores na concentração deste mineral no fêmur e maior ganho de peso nos animais alimentados com mexilhões, sugerindo, portanto, boa biodisponibilidade de zinco dos mexilhões desta região (Medeiros & Tramonte, 1997).

Entretanto, neste estudo com mexilhões (Medeiros & Tramonte, 1997), no final do experimento observou-se uma grande quantidade de gordura visceral nos animais do grupo que recebeu dieta contendo mexilhões. Por isso, suspeitou-se que esta gordura pudesse conter uma quantidade considerável de colesterol, bem como de outros ácidos graxos, atribuídas portanto, às quantidades presentes nos mariscos ingeridos pelos animais. Tal fato levou à necessidade de uma maior definição e investigação dos ácidos graxos e colesterol nestes alimentos.

Portanto, a proposta deste trabalho foi de determinar os teores de colesterol e triglicéridios dos mexilhões *Perna perna* da região de Florianópolis/SC e avaliar o efeito de uma dieta à base de mexilhões em relação ao perfil lipídico (colesterol total, triglicérides, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e HDL-colesterol) em cobaias (*Cavia*

porcellus), comparada à uma dieta hipolipídica tendo como fonte protéica a carne bovina.. Além de ser um alimento abundantemente cultivado nas regiões litorâneas do Brasil, principalmente entre o Norte do Espírito Santo a Santa Catarina, a constatação de baixos teores de ácidos graxos saturados, colesterol e possivelmente altos teores de ω -3, serão de grande importância para a recomendação de ingestão destes alimentos em função de seus benefícios à saúde, além de serem de fácil acesso e aquisição pela população.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Lipídios

Os lipídios da dieta (gorduras e óleos) têm importante papel na nutrição, pois apresentam elevados valores energéticos, são fonte de ácidos graxos essenciais, atuam como transportadores de vitaminas lipossolúveis, além de aumentarem a palatabilidade dos alimentos. Pelo fato dos lipídios serem insolúveis em água e sendo o plasma um ambiente aquoso, o transporte dos lipídios é realizado através da associação de proteínas, lipídios anfipáticos (fosfolipídios e colesterol) e lipídeos não-polares (triglicerídeos e ésteres de colesterol) resultando nas lipoproteínas miscíveis em água (Nawar, 1993; Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995).

Os principais lipídios encontrados nos alimentos são os triglicerídeos, compostos por 3 ácidos graxos e uma molécula de glicerol (Fig. 1). Os ácidos graxos que fazem parte dos triglicerídios podem variar no comprimento da cadeia de carbonos e no grau de saturação. Os ácidos graxos nos triglicerídios das gorduras e óleos podem variar de saturado à altamente insaturado. Em geral, gorduras de fonte animal (carnes, ovos, leite e derivados) contêm um maior percentual de ácidos graxos saturados do que os óleos vegetais, com algumas notáveis exceções. Os óleos de palma e côco têm um alto grau de saturação enquanto que os de peixes e moluscos são altamente insaturados. Ácidos graxos monoinsaturados, encontrados especialmente em óleos de oliva, canola e amendoim contêm uma dupla ligação, enquanto os ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) têm várias

insaturações. A posição da primeira dupla ligação ao longo da cadeia do ácido graxo, a contar do final da cadeia ou do ômega (último carbono) de cada ácido graxo, determina a série da qual a molécula faz parte (ω -3, ω -6, ω -9) (Piggot & Tucker, 1990; Nawar, 1993; Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995).

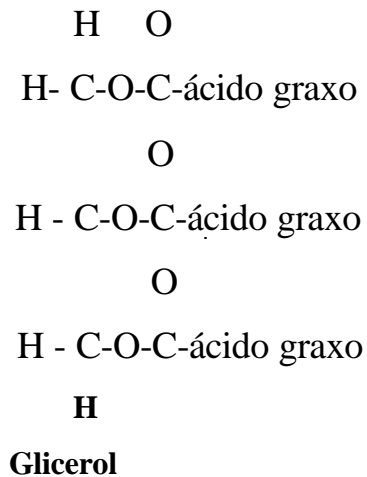


Figura 1. Estrutura química dos triglicerídeos

2.2 Ácidos graxos saturados

Entre os ácidos graxos saturados da dieta, o ácido láurico (12C) , ácido mirístico (14C) e o ácido palmítico (16C) (Fig. 2) são os que têm maior relação com o aumento do colesterol sérico. Estes aumentam as frações de LDL-colesterol, tendo pouco ou nenhum efeito sobre a fração lipoprotéica HDL-colesterol e triglicerídeos plasmáticos.(Mahan & Arlin, 1994; Assis, 1997; Caggiula et al., 1997; Griffin, 1999; Hu et al., 1999; Fornés et al., 2000).

As gorduras animais representadas pelo leite integral, manteiga, queijo, sorvetes e cremes, bem como carne bovina, frango, ovelha e porco são as principais fontes de ácidos graxos saturados (Mahan & Arlin, 1994; Kafatos et al., 1997; Kamath et al., 1999).

Os óleos vegetais provenientes do côco e da semente de palmeira também contêm ácidos graxos saturados, no entanto são consumidos em menor escala do que as gorduras animais (Mahan & Arlin, 1994; Assis, 1997; Caggiula & Mussad, 1997; Fornés et al., 2000).

O mecanismo pelo qual os ácidos graxos saturados aumentam os níveis de colesterol não é muito claro, mas considera-se que seja através da diminuição dos receptores hepáticos, reduzindo a depuração das LDL-colesterol e dos remanescentes da VLDL-colesterol, com a consequente elevação do nível sérico de colesterol (Wardlaw & Insel, 1995; Assis, 1997; Caggiula & Mustad, 1997; Dreon et al., 1999; Griffin, 1999; Hu et al., 1999).

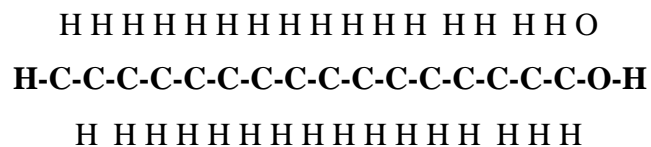


Figura 2. Ácido graxo saturado (ácido palmítico; C16:0)

2.3 Ácidos graxos monoinsaturados

Pesquisas recentes sugerem que o ácido oléico pode reduzir os níveis de LDL-colesterol, semelhante ao efeito do ácido linoléico (Fig. 3). O efeito dos ácidos graxos monoinsaturados pode estar associado à menor quantidade de oxidação do LDL-colesterol (Assis, 1997; Hu et al., 1999; Jones et al., 1999; Kris-Etherton et al., 1999).

O azeite de oliva é rico em ácido oléico, mas outros óleos como o de soja, canola e girassol também o contém (Fernandez & Macnamara, 1991; Mahan & Arlin, 1994; Nawar, 1993; Mayes, 1994; Ramirez-Tortosa et al., 1999).

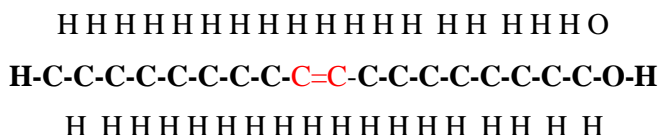


Figura 3. Ácido graxo monoinsaturado (ácido oléico; ω -9; C18:1)

2.4 Ácidos graxos polinsaturados

Há duas principais categorias de ácidos graxos polinsaturados, referidos como ω -6 e ω -3 (Fig. 4). O principal ácido graxo ômega-6 é o ácido linoléico, sendo relatado que sua adição à dieta em substituição às gorduras saturadas resulta em queda dos níveis de LDL-colesterol (Mayes, 1994; Fernandez et al., 1993; Caggiula et al., 1997; Dreon et al., 1999).

O mecanismo pelo qual o ácido linoléico reduz os níveis de colesterol parece estar relacionado com um aumento da excreção de colesterol, formando ácidos biliares. Acredita-se também haver uma redistribuição do colesterol entre o soro e os tecidos e por outro lado uma redução na capacidade de transporte de colesterol através da LDL-colesterol. A maior probabilidade é de que os ácidos graxos polinsaturados aumentem a quantidade de receptores para a LDL-colesterol, causando redução na concentração desta lipoproteína (Nawar, 1993; Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995; Assis, 1997; Griffin, 1999; Hu et al., 1999; Jones et al., 1999; Kris-Etherton et al., 1999).

Muitos óleos vegetais são ricos em ácido linoléico, citando-se o óleo de soja, milho, canola, semente de girassol, acafrão e nozes (Assis, 1997; Ramirez-Tortosa et al., 1999).

Os ômega- 3 são derivados do ácido linolênico, encontrado em óleos vegetais, peixes e carnes como a de peru (King e tal., 1983; Piggot & Tucker, 1990; Assis, 1997; Molineaux & Lee, 1998; Murphy et al., 1997; Murphy et al., 1999).

Os ácidos graxos ω -3 predominantes são o ácido eicosapentanóico (EPA) e o ácido docosa-hexanóico (DHA), cuja principal ação é a inibição da síntese de triglicerídeos à nível hepático. Altas ingestões de ácidos graxos ω -3 podem reduzir os níveis de triglicerídeos séricos substancialmente, muito mais do que as outras gorduras insaturadas (Vahouny et al., 1981; Mayes, 1994; Assis, 1997; Caggiula et al., 1997; Schaefer, 1997; Siscovick et al., 2000; Torres et al., 2000).

Os benefícios dos ácidos graxos ω -3 na redução de risco de doenças cardiovasculares podem estar relacionados à ações diferentes das exercidas sobre as lipoproteínas, pois são antiagregantes plaquetários e parece que retardam a proliferação

dos fibroblastos e de células musculares lisas como resposta a uma lesão da parede arterial. Pesquisas têm demonstrado que o consumo de ômega-3 pode diminuir os níveis de lipídios séricos e possivelmente de colesterol (Seafood Savvy NY, 1992; Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995; Assis, 1997; Caggiula et al., 1997; Schaefer, 1997; Siscovick et al., 2000; Torres et al., 2000; Visentainer et al., 2000).

Alguns peixes como a cavalinha, salmão, sardinha e outros de água salgada e fria são ricos em ω -3 (Piggot & tucker, 1990; Assis, 1997; Visantainer et al., 2000).

Tabela 1. Ácidos graxos insaturados quanto ao tamanho da cadeia e posição das insaturações

Ácido graxo	Número de carbonos	Duplas ligações	Posição da dupla (n)
Linoléico	18	2	6
Araquidônico	29	4	6
Linolênico	18	3	3
EPA	20	5	3
DHA	22	6	3

Fonte: Wardlaw, 1995.

Os ácidos graxos saturados têm sido associados com as doenças cardiovasculares em contraste com os ácidos graxos polinsaturados que causam redução de risco para estas doenças. Apesar da maioria dos óleos vegetais conterem altos teores de ácidos graxos polinsaturados, muitos deles possuem apenas 2 duplas ligações ou posições de insaturação (Piggot & Tucker, 1990; Wardlaw & Insel, 1995; Griffin, 1999; Connor, 2000).

Os óleos de fontes animais podem conter alguns ácidos graxos com mais de 4 duplas ligações, mas têm altos teores de ácidos graxos saturados (Piggot & Tucker, 1990; Wardlaw & Insel, 1995; Griffin, 1999; Connor, 2000). Somente os óleos marinhos têm longas cadeias de ácidos graxos com 5 ou 6 duplas ligações (Tabela 1). Estes óleos de moluscos e alguns peixes, podem conter até 50% de ácidos graxos polinsaturados. Portanto, os frutos do mar são considerados como a melhor fonte dietética de ácidos graxos ômega-3 (Piggot & Tucker, 1990; Wardlaw & Insel, 1995; Connor, 2000; Meydani, 2000).

A quantidade de ômega-3 pode variar de acordo com a espécie, quantidade de gordura e tipo de alimentação dos peixes ou moluscos, sendo os mexilhões classificados como alimentos com médio teor de ômega-3 (Seafood Savvy NY, 1992).

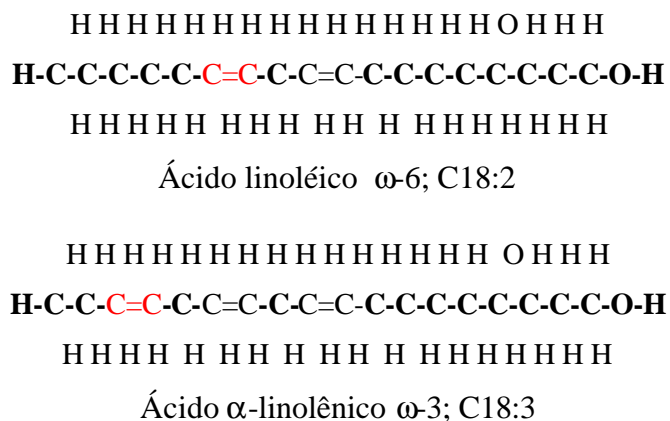


Figura 4. Posição das duplas ligações dos ácidos graxos ω -3 e ω -6

2.5 Colesterol

O colesterol é um componente essencial das membranas estruturais de todas as células e é o principal componente do cérebro e células nervosas (Fig. 6). É encontrado em altas concentrações nos tecidos glandulares e no fígado onde é sintetizado e armazenado. Além disso, o colesterol é um intermediário na biosíntese de vários esteróides importantes, incluindo os ácidos biliares, hormônios adrenocorticais, estrógenos e progesterona (Nawar, 1993; Mayes, 1994; Mahan & Arlin, 1994).

A contribuição de colesterol dietético em frutos do mar é pequena. Os peixes e moluscos contêm menos do que 100mg de colesterol/100g e alguns peixes mais “magros” possuem menos de 60mg/100g (Thomson et al., 1980; Vahouny et al., 1981; Piggot & Tucker, 1990; Molyneaux & Lee, 1998).

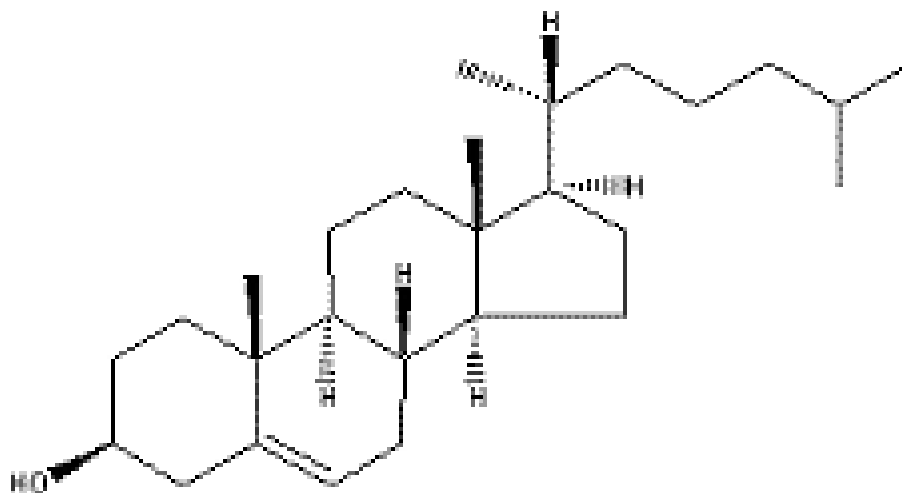


Figura 5 . Estrutura química do colesterol (Wardlaw & Insel , 1995)

2.6 Lipoproteínas

A gordura absorvida da dieta e os lipídeos sintetizados pelo fígado e tecido adiposo devem ser transportados para os vários tecidos e órgãos, para utilização e armazenamento. O transporte destes no plasma sanguíneo é realizado pelas lipoproteínas. A densidade das lipoproteínas varia conforme a proporção de proteína e lipídio, portanto, uma forma de separá-los do plasma é por centrifugação (Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995).

Desta forma, estas são classificadas em função de sua densidade, em 4 principais categorias (Fig. 6):

- **Quilomicrons** - derivados da absorção intestinal de triglicerídeos;
- **Lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL)** - são também chamadas de pré- β -lipoproteína, sendo derivadas do fígado de triglicerídeos que foram liberados;
- **Lipoproteínas de baixa densidade (LDL)** – ou β -lipoproteína, representando um estágio final do catabolismo da VLDL;
- **Lipoproteínas de alta densidade (HDL)** – ou α - lipoproteína, envolvidas no metabolismo das VLDL, quilomícrons e no metabolismo do colesterol.

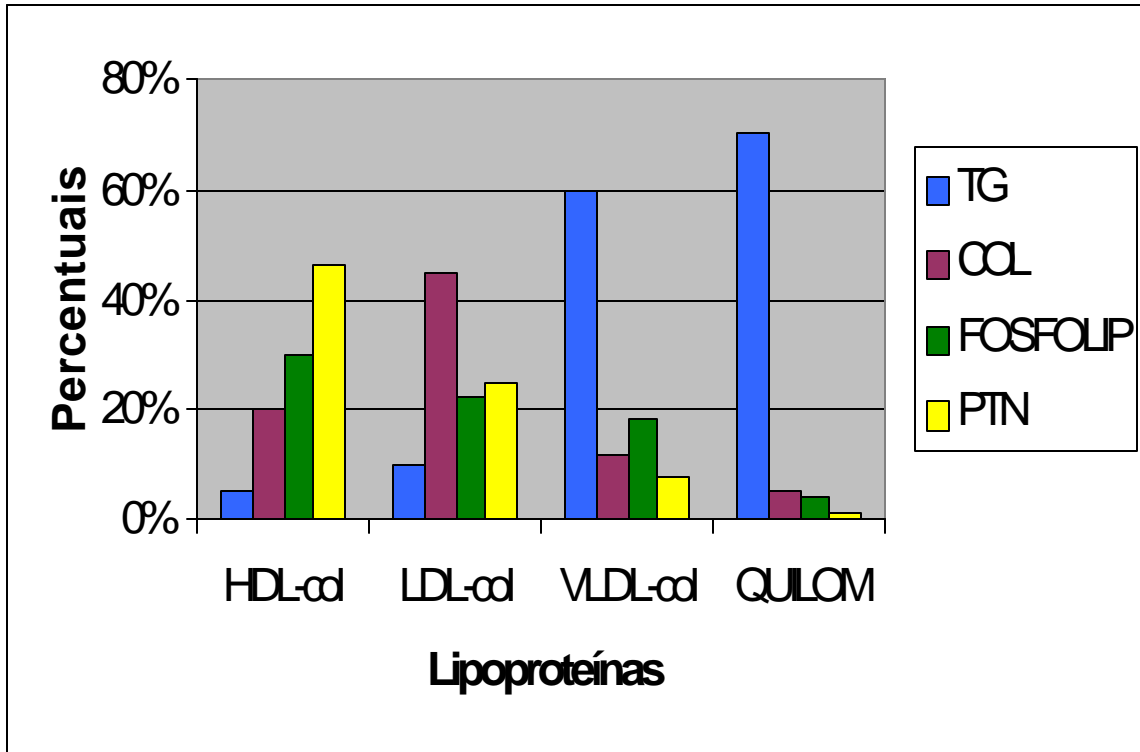


Figura 6. Composição das lipoproteínas (adaptado de Wardlaw & Insel, 1995)

Assim, cada lipoproteína é formada por um núcleo hidrofóbico contendo triglicerídeos e ésteres de colesterol em proporções variadas. Uma capa de fosfolídeos polares envolve este núcleo, tornando a partícula hidrossolúvel. A parte protéica das lipoproteínas é representada pelas apoproteínas ou apolipoproteínas que envolvem a partícula protéica, fazendo com que esta possa ligar-se a enzimas específicas ou proteínas de transporte em membranas celulares (Nawar, 1993; Mayes, 1994).

As apoproteínas constituem cerca de 60% da HDL-colesterol e 1% dos quilomícrons. Estas são identificadas pelas letras A, B, C e D baseado nas diferenças existentes em suas características químicas e metabólicas. Além do seu papel na manutenção da estrutura das lipoproteínas, algumas apoproteínas desempenham importantes funções regulatórias, servindo como co-fatores para enzimas do metabolismo das lipoproteínas como a apo C-II que ativa a Lipoproteína lipase e a apo A-I que ativa a Lecitina colesterol aciltransferase (Nawar, 1993; Mayes, 1994; Mahan & Arlin, 1994).

2.7 Metabolismo das lipoproteínas e do colesterol

Quase todos os lipídeos da dieta são absorvidos da mucosa intestinal para o sistema linfático. Apenas os ácidos graxos de cadeia média são absorvidos diretamente para a circulação portal (fígado). Os lipídeos advindos da alimentação sob a forma de triglicerídeos, são hidrolisados pela Lipoproteína-lipase (LPL) ou lipase lipoprotéica no duodeno, formando monoglicerídeos e ácidos graxos (Mahan & Arlin, 1994; Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995).

Na mucosa intestinal, os ácidos graxos e os monoglicerídeos são reesterificados a triglicerídeos, que juntamente com o colesterol são englobados pelos quilomícrons e transportados aos vasos linfáticos. Os quilomícrons são então conduzidos pelo sangue venoso até o fígado ou removidos do sangue para o tecido adiposo (Mahan & Arlin, 1994; Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995).

Os triglicerídeos são removidos dos quilomícrons pela LPL, e os fragmentos destes são recapturados pelo fígado e reprocessados. O colesterol é reconjugado para transporte no sangue como VLDL (Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995). A VLDL que é formada principalmente por triglicerídeo, circula para os tecidos periféricos onde se transforma em LDL pela ação da LPL, que remove uma parte dos triglicerídeos para utilização pelas células (Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995).

É então estabelecido um ciclo onde a LDL-colesterol leva o colesterol para as células extra-hepáticas (e paredes das artérias) enquanto que outra porção de colesterol é retornada ao fígado pela HDL-colesterol onde será excretado via bile. Dentro da HDL-colesterol o colesterol é ligado com ácidos graxos em um processo catalisado pela enzima Lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT). Uma grande fração dos produtos do colesterol resultantes da reação com a LCAT é transmitida para a LDL-colesterol (Mayes, 1994; Wardlaw & Insel, 1995; Assis, 1997).

2.8 A relação entre colesterol, aterosclerose e doenças cardiovasculares

A aterosclerose, em termos gerais, é definida como uma afecção das artérias de grande e médio calibres, caracterizada pela presença na camada íntima, de placas gordurosas denominadas ateroma. Está inserida como um dos tipos de arteriosclerose, que é

caracterizada como um conjunto de doenças comumente resultando em endurecimento da parede arterial com redução de sua elasticidade. As principais manifestações da aterosclerose são ligadas ao coração como a doença arterial coronariana (DAC) - infarto agudo do miocárdio, angina do peito e morte súbita; ao cérebro - acidente vascular cerebral (AVC) e isquemia cerebral transitória, e aos membros inferiores - insuficiência vascular periférica e gangrena (DeAngelis & Ctenas, 1993; Assis, 1997; Griffin, 1999).

A relação das dislipidemias principalmente, hipercolesterolemia com o desenvolvimento da aterosclerose e doença coronariana baseia-se em inúmeros estudos epidemiológicos, clínicos e experimentais destacando-se o estudo de *Famingham* que demonstrou a correlação positiva entre o nível de LDL-colesterol e a maior probabilidade de surgimento de doença coronariana , muito mais significativo do que os níveis de colesterol total (Ministério da saúde, 1993; Caggiula & Mustad, 1997; Kafatos et al., 1997; Assis, 1997).

As dislipidemias, como relatado por vários estudos, são classificadas entre os principais fatores de risco para doenças cardiovasculares com a hipercolesterolemia, mais especificamente os níveis elevados de LDL-colesterol (Ministérios da Saúde, 1993; Michelon & Moriguchi, 1999).

O termo dislipidemia é mais adequadamente utilizado, uma vez que as anormalidades podem ser tanto de natureza quantitativa como qualitativa. Particularmente no caso do HDL-colesterol a anormalidade está relacionada às baixas concentrações (Michelon & Moriguchi, 1999).

Os valores de referência vigentes para o diagnóstico de dislipidemia em humanos adultos foram apresentados pelo 2º Congresso Brasileiro sobre Dislipidemias (1996), sendo estes baseados no consenso americano NCEP-II (1993) sendo demonstrados na tabela 2.

Tabela 2 . Valores de referência de Colesterol total, LDL-Colesterol, HDL-Colesterol e Triglicerídeos plasmáticos

Lipídeos	Valores (mg/dL)		
	Desejáveis	Limítrofes	Aumentados
Colesterol total	< 200	200-239	>240
LDL-colesterol	< 130	130-159	>160
HDL-colesterol	>35	-	-
Triglicerídeos	<200	-	>200

Obs.: valores de referência para humanos adultos
 Fonte: Michelon & Moriguchi, 1999

Estas recomendações identificam o LDL-colesterol como a lipoproteína mais aterogênica e estudos clínicos comprovam que a redução do LDL-colesterol diminui a incidência e a mortalidade para DAC, bem como reduz a mortalidade total (Ministério da saúde, 1993; Fernandez, 1995; Assis, 1997; Berglund et al., 1999; Dreaon et al., 1999; Griffin, 1999; Hu et al., 1999; Jones et al., 1999; Michelon & Moruguchi, 1999; Siscovick et al., 2000).

Apesar das controvérsias que se criaram sobre os triglicerídeos em relação à sua associação como risco de DAC, atualmente, a hipertrigliceridemia está bem estabelecida como um fator de risco para DAC (Roche, 1999). Além de ser considerada um fator de

risco, a hipertrigliceridemia é também um marcador de outros fatores que aumentam o risco à DAC que são: resistência insulínica, hipertensão arterial e estado protrombótico. Os valores de referência mais específicos para triglicerídeos séricos em adultos são: normal - menor que 200mg/dL; limítrofe - 200 a 400mg/dL; aumentados - 400 a 1000mg/dL e muito aumentados - maiores que 1000mg/dL (Michelon & Moriguchi, 1999).

Segundo estudos recentes, o conceito de "estilo de vida", relaciona os hábitos alimentares, grau e frequência de atividade física, estresse emocional e o tabagismo com a doença coronariana (Lotufo & Lolio, 1985; Ornish et al., 1990; Ministério da saúde, 1993; Michelon & Moriguchi, 1999; Fornés et al., 2000).

Ornish e col. (1990) avaliaram em uma pesquisa a influência de modificações significativas no estilo de vida como; dieta vegetariana, abstinência ao tabagismo e atividade física regular, com coronariopatas. Após um ano de seguimento, a maior regressão e menor progressão das lesões ateroscleróticas ocorreu no grupo experimental. Portanto, como observado por Fornés et al. (2000), alterações no estilo de vida, especialmente a mudança nos hábitos alimentares representam significativas melhoras no perfil lipídico e conseqüentemente, na qualidade de vida.

Segundo Kris-Etherton et al., (1999) dietas com restrição de lipídios aumentam os valores de triglicerídeos plasmáticos e reduzem as concentrações de HDL-colesterol afetando os riscos para doenças cardiovasculares. Os ácidos graxos altamente monoinsaturados (MUFA) e dietas que contém baixos teores de colesterol não aumentam as concentrações de triglicérides ou reduzem o HDL-colesterol, entretanto pouco é conhecido sobre de que maneira alguns produtos á base de MUFA, afetam os riscos para doenças cardiovasculares (DCV).

A dieta é a base da prevenção e tratamento de DCV. Correntemente, O NCEP/AHA Estágio I ou Estágio II são tipicamente recomendados para redução de colesterol plasmático. O principal objetivo destas dietas é reduzir a gordura saturada (8-10% e <7% do VCT). A dieta Estágio I reduz o colesterol total e o LDL-colesterol em 5-7%. A dieta Estágio II pode reduzir o colesterol total e o LDL-colesterol em 3-7% adicionais. Nestas dietas as Calorias provenientes da gordura saturada são substituídas por carboidratos, resultando em uma dieta hipolipídica e hiperglicídica (Kris-Etherton et al., 1999).

O mecanismo pelo qual os MUFA desempenham efeito hipotrigliceridêmico não é bem esclarecida. Existem dois mecanismos supostos: - mudanças na composição de VLDL-colesterol; - mudanças nas atividades das enzimas e proteínas envolvidas no catabolismo e processamento intravascular de VLDL-colesterol (Kris-Etherton et al., 1999).

A composição dos ácidos graxos das VLDL-colesterol a qual é afetada pela composição dos ácidos graxos da dieta, é um determinante da conversão de VLDL-colesterol dentro de outras lipoproteínas e o metabolismo dos triglicérides. Assim, a produção de VLDL-colesterol e o clearance de triglicérides pode ser alterado como um resultado da quantidade e tipo da gordura na dieta (Kris-Etherton et al., 1999).

Numerosos estudos têm investigado os efeitos dos ácidos graxos da dieta no transporte de LDL-colesterol para determinar os mecanismos e qual ácido graxo específico altera os níveis plasmáticos de LDL-colesterol. Estudos da cinética do LDL-colesterol têm sugerido vários mecanismos metabólicos pelos quais os ácidos graxos polinsaturados reduzem os níveis de LDL-colesterol, incluindo uma velocidade maior de catabolismo de LDL-colesterol em humanos e animais ou redução da velocidade de fluxo das apolipoproteínas. A composição da gordura saturada têm sido demonstrada por influenciar

a velocidade de modificação do LDL-colesterol em cobaias, na qual a ingestão de ácidos graxos de cadeia longa (ácido esteárico e palmítico) resultam em maiores valores no catabolismo de LDL-colesterol do que em animais alimentados com ácidos graxos de cadeia curta (ácido láurico e mirístico) (Fernandez et al., 1993; Fernandez et al., 1994; McNamara et al., 1999; Metz et al., 1997).

Investigando os efeitos da redução de ingestão de gordura total e saturada em populações jovens e idosas em relação à subpopulações de HDL-colesterol observou-se que com a redução de gordura total e gordura saturada na dieta houve um decréscimo de ambas as subpopulações de HDL-colesterol, maiores e menores com uma redução mais pronunciada nas subpopulações mais densas e maiores (Berglund et al., 1999). O HDL-colesterol é um importante fator de risco negativo para doenças coronarianas. Isto é bem reconhecido que concentrações de HDL-colesterol são afetadas por modificações dietéticas, geralmente aumentando com dietas ricas em gordura saturada e colesterol ; reduzindo quando a gordura dietética é substituída por carboidratos(Berglund et al., 1999).

Um estudo de seguimento de mais de dez anos com humanos, observou-se associações entre a ingestão de alguns ácidos graxos saturados e suas fontes alimentares em relação ao risco para DCV. A ingestão de ácidos graxos de cadeia longa (12:0 - 18:0) foi associado com um menor aumento no risco de DCV. A proporção de gordura polinsaturada/saturada foi muito maior e inversamente associada com o risco para DCV. Em contrapartida, proporções maiores de consumo de carne vermelha/aves e peixes e consumo de laticínios integrais e desnatados foram associados com risco significativamente maior para DCV (Hu et al., 1999).

Uma distinção entre o ácido esteárico (18:0) e outros ácidos graxos não pareceu ser importante em recomendações dietéticas para reduzir o risco de DCV, em parte devido a

alta correlação entre o ácido esteárico e outros ácidos graxos saturados em dietas típicas das populações estudadas (Hu et al., 1999).

Estudos de migração e de comparações internacionais sugerem a grande associação positiva entre a ingestão de gordura saturada e risco para DCV. Em estudos metabólicos dietas ricas em gordura saturada e restritas em gordura insaturada aumentam as concentrações de colesterol sanguíneo. Entretanto, diferentes classes de ácidos graxos saturados podem ter diferentes efeitos nas concentrações de lípidios plasmáticos e lipoproteínas (Hu et al., 1999).

Especificamente, ácidos graxos saturados com 12 a 16 átomos de carbono tendem a aumentar as concentrações de colesterol total e LDL-colesterol, enquanto o ácido esteárico (18:0) não tem efeito de aumento do colesterol comparado com o ácido oleico (18:1). Entretanto, o ácido esteárico pode reduzir as concentrações de HDL-colesterol e aumentar as concentrações de lipoproteína a [Lp(a)]. Entre os ácidos graxos saturados que aumentam o colesterol, o ácido mirístico (14:0) parece ser mais potente do que o ácido láurico (12:0) ou ácido palmítico (16:0), mas os dados não são inteiramente consistentes (Hu et al., 1999).

A maior ingestão dietética de ácidos graxos saturados de cadeia longa, incluindo 12:0; 14:0; 16:0 e 18:0, foi associado com o risco aumentado de DCV, enquanto que a ingestão de ácidos graxos saturados de cadeia curta e média (4:0 - 10:0) não foram. Um maior consumo de carnes vermelhas e laticínios integrais, as principais fontes de ácidos graxos saturados na dieta, foram também associadas com maior risco. Em contraste, um maior consumo de aves, peixes e laticínios desnatados foram associadas com um menor risco (Hu et al., 1999).

Em um outro estudo realizado, obteve-se que as concentrações de triglicérides pós-prandiais foram maiores para uma dieta rica em gordura saturada, menor para uma dieta rica em gordura polinsaturada com ω -3 e intermediária para ω -6. Isso explica em parte os efeitos adversos dos ácidos graxos de cadeia longa no risco de DCV relacionado às respostas pós-prandiais à estes ácidos graxos. As variáveis estilo de vida, como atividade física, obesidade e outros aspectos da dieta como a ingestão de fibras também devem ser considerados. Em conclusão sugere-se a substituição da gordura saturada por gordura polinsaturada para reduzir substancialmente o risco de DCV (Hu et al., 1999).

2.9 Lipídios marinhos na nutrição humana

As mais de 200 espécies de peixes e frutos do mar disponíveis para o consumo humano oferecem quantidades significativas de proteína de alto valor biológico, uma variedade de vitaminas e minerais, ácidos graxos essenciais, acompanhados pelo baixo teor de lipídios e conseqüentemente reduzido valor calórico. O interesse nos benefícios à saúde advindos dos frutos do mar é especialmente devido ao conteúdo de óleos (ácidos graxos insaturados), principalmente dos ácidos graxos derivados do ácido linoléico, o qual apresenta-se, segundo pesquisas recentes, com efeitos nutracêuticos pelo seu teor de ácidos graxos polinsaturados (ω -3), sendo antiagregantes plaquetários e outros efeitos benéficos ao sistema cardiovascular. A contribuição de colesterol dietético em frutos do mar é pequena, sendo que novas pesquisas analíticas indicam que os mexilhões contém aproximadamente 50mg colesterol/100g, valores menores do que os níveis relatados em outros moluscos (Seafood Savvy NY, 1992; Holland et al., 1994; Molyneaux & Lee, 1998).

Os diferentes e vários tipos de lipídios encontrados em frutos do mar refletem as formas absorvidas do plâncton e outros alimentos ingeridos e/ou filtrados por peixes e moluscos bem como do metabolismo de lipídios destes seres. Os componentes metabólicos produzidos por eles e encontrados nas suas partes comestíveis são influenciados não somente pela alimentação, mas também pela temperatura da água e época do ano tendendo a ser menores durante a desova ou reprodução e quando seus alimentos estão menos abundantes. Portanto, peixes e moluscos alimentando-se de algas terão uma composição de lipídeos diferente daqueles frutos do mar que consomem alimentos de origem animal (Piggot & Tucker, 1990; Seafood Savvy NY, 1992).

Em relação aos mexilhões, poucos dados estão disponíveis quanto à sua composição em lipídios e ácidos graxos saturados e insaturados sendo considerados como alimentos com baixo teor de lipídios (2,5-5,0%) e médio teor de ω -3 (0,5-1,0g%). Por muitos anos, atribuiu-se aos moluscos um alto teor de colesterol. Métodos mais antigos de análise de colesterol medem outros esteróis encontrados nos moluscos além do colesterol e isso resultou por muitos anos em altos valores de colesterol total nestes alimentos. Pesquisas recentes têm demonstrado que os esteróis em moluscos podem ser colesterol ou esteróis marinhos que não são colesterol “noncholesterol sterols” (NCS). Os NCS não são usualmente encontrados em fontes animais e alguns estudos com ratos e humanos indicam que os NCS inibem ou competem com a absorção intestinal do colesterol semelhante aos esteróis de plantas (β -sitosterol) em dietas humanas (Piggot & Tucker, 1990; Seafood Savvy NY, 1992; Molyneaux & Lee, 1998).

Na tabela 3 pode-se observar e confirmar que os moluscos apresentam em sua porção comestível um alto teor protéico semelhante ao de peixes e crustáceos. O carboidrato encontrado nos moluscos está representado principalmente na forma de glicogênio. Em relação ao ácido graxo ω -3 , colesterol e gordura saturada apresenta-se bem próximo aos de salmão e atum (Antoniolli, 1999).

Tabela 3. Composição química de alguns frutos do mar em relação ao valor calórico, macronutrientes, gordura saturada , ácido graxo ômega-3 e colesterol/100g

Alimento	Calorias	Proteína (g)	Carboidrato (g)	Lipídios totais(g)	Gordura saturada(g)	Ômega -3 (g)	Colesterol (mg)
Salmão	150,0	22,0	0	7,0	1,0	0,9	50,0
Atum	120,0	25,0	0	1,0	0	0,2	50,0
Arenque	170,0	19,0	0	10,0	2,0	1,7	60,0
Camarão	110,0	22,0	0	2,0	0	0,3	130,0
Siri	90,0	19,0	0	1,0	0	0,4	80,0
Berbigão	130,0	22,0	4,0	2,0	0	0,2	60,0
Ostra	120,0	12,0	7,0	4,0	1,0	0,7	90,0
Mexilhões	150,0	20,0	6,0	4,0	1,0	0,7	50,0

Fonte: USDA, 1987.

Oliveira e Silva et al. (1996) estudaram os efeitos do consumo de camarão comparado ao consumo de ovos em relação às lipoproteínas plasmáticas e concluíram que o consumo moderado de camarão (300g/dia) em homens sem dislipidemia não afetou o perfil de lipoproteínas em relação ao LDL-colesterol. Vahouny et al. (1981) sugerem que os esteróis dos moluscos são pouco absorvidos e exercem um efeito semelhante aos esteróis de vegetais na redução da absorção dietética ou endógena de colesterol.

Em um estudo realizado com alguns moluscos ingeridos por homens com perfis lipídicos normais, observou-se que o consumo de mexilhões e ostras aumentaram os níveis de HDL-colesterol, reduziram a relação LDL/HDL-colesterol e resultaram em uma menor absorção de colesterol quando comparado à ingestão dos demais moluscos (Childs, et al., 1990).

Portanto, Childs et al. (1990) concluíram que quando consumidos com uma dieta restrita em gorduras, as ostras, mexilhões, berbigões e siris apresentaram efeitos benéficos em relação ao perfil lipídico em humanos.

O mercado americano para os nutracêuticos marinhos têm-se expandido na área de saúde-alimento/suplementos dietéticos com produtos tais como, óleos de peixe, cartilagem de tubarão, óleo de fígado de tubarão e mais recentemente, produtos de ácidos graxos e enzimas (Molyneaux & Lee, 1998). Esses produtos têm sido comercializados como medicamentos para sintomas de artrite, auxílio cardiovascular, desenvolvimento cerebral em crianças, e a cartilagem de tubarão especificamente pelas propriedades anti-angiogênese na terapia do câncer. O aumento do consumo destes produtos têm estimulado os fornecedores para este mercado. Os alimentos nutracêuticos são comercializados para o público geral indicados para "recuperação" ou como alimentos "medicinais" bem como alimentos para a "promoção da saúde". Os nutracêuticos marinhos representam uma pequena parte do mercado de nutracêuticos. As fontes incluem óleo de peixe rico em ω -3, EPA e DHA; óleo de algas enriquecidos com DHA; óleo de fígado de bacalhau e tubarão; cartilagem de tubarão; quitina e quitosana; pepinos marinhos; moluscos e algas (Molyneaux & Lee, 1998).

Os benefícios estão na terapia do câncer pela ação de sulfato de condroitina (componente bioativo da cartilagem de tubarão), além de alguns efeitos terapêuticos anti-inflamatórios no tratamento da artrite. A quitina e a quitosana são tidas no mercado como absorventes de gordura. É relatado que a glicosamina reconhecida, presente no "esqueleto" dos crustáceos é indicada para reduzir os sintomas de artrite. Os óleos de fígado de bacalhau e tubarão são ricos em vitamina A e ω -3. Os pepinos marinhos são conhecidos por serem ricos em mucopolissacarídeos, uma condroitina também encontrada na cartilagem de tubarão. Os moluscos têm um alto nível de condroitina e as algas também oferecem alguns efeitos terapêuticos tais como, fonte de β -carotenos, antioxidantes e outras substâncias bioativas (Molyneaux & Lee, 1998).

O camarão é um alimento com baixo teor de lipídeos totais, muito baixo em gordura saturada, mas seu consumo é reduzido devido ao seu alto conteúdo de colesterol dietético, sendo um dos maiores dentre os alimentos mais comumente consumidos. Entretanto, o camarão contém altos teores de ω -3, o qual têm efeitos potencialmente benéficos na aterosclerose e trombose (Oliveira e Silva et al., 1996). Em um outro estudo realizado por Childs et al.,(1990) , a proteína do camarão foi usada para substituir o proteína animal e os efeitos no padrão das lipoproteínas plasmáticas. De fato, a dieta com camarão diferiu pouco da dieta basal na quantidade de colesterol , mas foi 38% menor no total de gordura e teve uma diferente composição de ácidos graxos. Segundo este autor, houve uma surpreendente resposta com a dieta de alto teor de colesterol contendo camarão, a qual não alterou a proporção de LDL-colesterol/HDL-colesterol, comparado com a dieta controle, contudo reduziu a proporção de LDL-colesterol/HDL-colesterol em relação à dieta que continha ovos. Além disso, têm-se que a dieta contendo camarão apresentou maior quantidade de

ácidos graxos biologicamente ativos como ω -3 (EPA e DHA) mais do que as duas outras dietas estudadas (Molyneaux & Lee, 1998).

Estudos prévios têm mostrado que dietas suplementadas com ω -3 em quantidades maiores ou iguais a 1,5g/dia podem reduzir as concentrações de triglicerídeos plasmáticos, especialmente em indivíduos com hipertrigliceridemia. Algumas explicações para estas observações: - O colesterol dietético no camarão pode não ser eficientemente absorvido visto que, este é essencialmente insolúvel em água e a absorção para dentro das células epiteliais do intestino requerem que o colesterol esteja presente na forma micelar. A reduzida quantidade de gordura do camarão, com sais biliares e gorduras, pode resultar em um microambiente de colesterol do camarão que é desfavorável para a formação de micelas e portanto absorção de colesterol;

- os esteróis sem colesterol pouco absorvidos no camarão podem competir com o colesterol pela absorção. Isso tem sido postulado por ser o caso dos moluscos como os berbigões, scallops e mexilhões, nos quais o colesterol incluem apenas 1/3 do total de esteróis (Oliveira e Silva et al., 1996).

2.10 Caracterização do mexilhão *Perna perna*

Mexilhão é o termo oficial utilizado na língua portuguesa para denominar as diversas espécies de moluscos bivalves da família Mytilidae, sendo os gêneros mais comuns o *Mytilus*, *Perna* e *Mytella*. De acordo com a região do Brasil e da espécie, os mexilhões recebem diversos nomes populares como marisco, marisco-preto, marisco das pedras, sururu e “ostra de pobre”. Em Santa Catarina é conhecido popularmente como “marisco” (Rosa, 1998).

O mexilhão *Perna perna* é um molusco bivalve classificado da seguinte maneira:

Filo - Mollusca (Linné, 1758)
Classe - Bivalvia (Linné, 1758)
Ordem - Mytiloida (Férussac, 1822)
Família - Mytilidae (Rafinesque, 1815)
Gênero - Perna (Retzius, 1788)
Espécie - perna (Linné, 1758)

O mexilhão, como os demais moluscos bivalves, é um animal que não possui esqueleto interno e tem o corpo contido em uma concha, formada por duas partes iguais (valvas) unidas medianamente por uma estrutura conhecida como ligamento e contendo delicadas linhas de crescimento. Exceto alguns casos de hermafroditismo, o mexilhão *Perna perna* é uma espécie dióica, com indivíduos apresentando sexos separados. Não há dimorfismo sexual externo, de forma que somente após a abertura das valvas com observação das gônadas dos animais sexualmente maduros é que são diferenciados. Nos machos as gônadas apresentam coloração branco-leitosa e as fêmeas vermelho-alaranjado. Estes moluscos podem produzir uma grande quantidade de gametas, sendo liberados na água do mar ocorrendo a fecundação (Magalhães, 1985; Routledge, 1996; Suplicy, 1998).

Todas as espécies de mexilhões são sésseis e filtradores, alimentando-se de fitoplâncton, micro-zooplâncton e matéria orgânica em suspensão (Suplicy, 1998).

2.11 O cultivo de mexilhões

O cultivo de mexilhões é conhecido pelo termo “mitilicultura” ou maricultura , tendo iniciado à partir da década de 40 na Espanha. Desde então, este tipo de atividade passou a ser desenvolvida em países da Europa, Ásia e América (Andreu, 1990, apud Suplicy, 1998; Rosa, 1998).

No Brasil, os projetos de cultivos de mexilhões tiveram início na década de 70, principalmente nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Em Santa Catarina, as pesquisas com mexilhões iniciaram em 1986. O litoral catarinense possui excelentes condições para o cultivo de mexilhões nativos como a espécie *Perna perna* (Linné, 1758) (Ferreira & Magalhães, 1997, apud Suplicy, 1998; Hernandes, 1990 e Magalhães et al. 1987, apud Rosa, 1997).

Os mexilhões podem formar densas populações em estuários e em costões rochosos marinhos, tanto em locais de forte arrebentação, como em áreas mais abrigadas. São comumente encontrados em águas pouco profundas do litoral (30-40m de profundidade) sobrevivendo em salinidades entre 19-49% (eurihalinos) (Fernandes, 1985; Magalhães, 1985; Routledge, 1996).

Segundo Szidat (1963) e Sawaya (1965), apud Suplicy (1998), a mitilicultura é citada como uma opção para exploração dos recursos marinhos e de desenvolvimento da América Latina sem destruição ambiental, desde a década de 60.

Existem atualmente mais de 600 produtores de mexilhões no estado de Santa Catarina com uma produção anual variando de 5000 a 6000 toneladas, sendo

comercializado o molusco "in natura" ou cozido, sem a concha e congelado (Ferreira, 1997, apud Suplicy, 1998; Rosa, 1998).

Devido ao fato deste cultivo marinho ser bastante econômico, não necessitando de grandes investimentos iniciais, permite que esse seja adotado por pescadores artesanais e pequenos produtores, como acontece no litoral de Santa Catarina. Esta atividade tem garantido a subsistência da população ligada à pesca artesanal, tanto em termos de consumo como de comércio (Suplicy, 1998).

2.12 A escolha do animal experimental

Existe uma grande dificuldade em se definir um animal de laboratório que seja metabolicamente semelhante ao homem e sensível o suficiente para estudar efeitos de dietas ou drogas nos níveis de lipídios plasmáticos (Fernandez & Mcnamara, 1991; Fernandez et al., 1999).

Coelhos alimentados com colesterol têm sido utilizados como modelo de aterosclerose humana pelo rápido desenvolvimento de lesões aórticas; porém estes animais têm a maior proporção do seu colesterol na fração VLDL-colesterol, situação diferente dos humanos. O uso de ratos está em declínio devido às grandes diferenças em relação aos humanos incluindo respostas à dieta, resistência à aterosclerose e seu principal transportador de colesterol no plasma ser o HDL-colesterol (Shefer et al., 1992).

As cobaias vêm sendo utilizadas em experimentos com lipídios pois são animais que apresentam seu metabolismo semelhante ao do homem, possuem a maior parte de seu colesterol sob a forma de LDL-colesterol e respondem positivamente em relação aos efeitos de dietas hiperlipídicas. São portanto, utilizadas em experimentos relacionados à nutrição,

farmacologia, imunologia, radiologia, entre outras áreas (Thomson et al., 1980; Committee on Lab. An. Diet, 1979; COBEA, 1996; Smith, 1998; Fernandez et al., 1999; Murphy et al., 1997 e 1999).

Quando utiliza-se modelos animais para o estudo de fatores de risco para DCV, é importante o uso de um animal que mais se assemelhe às propriedades fisiológicas e metabolismo de humanos. Os porcos são extremamente aceitos como modelos nos estudos de hipercolesterolemia e aterosclerose devido à sua similaridade aos humanos sendo também conhecido por desenvolverem aterosclerose espontaneamente quando alimentados com dieta aterogênica. Esta aterosclerose é positivamente correlacionada com as concentrações séricas de colesterol como em humanos. Entretanto, há uma necessidade de um animal de menor tamanho, com menor custo e de mais fácil manipulação para utilização em estudos preliminares mais rápidos com hiperlipidemia (Sullivan et al., 1993).

Os ratos são utilizados em grande escala para estudos em vários tipos de metabolismo e em estudos de efeitos dietéticos nas concentrações de lipídeos séricos. Contudo, existem muitas limitações nas informações obtidas destes estudos devido às diferenças no metabolismo lipídico entre humanos e ratos (Sullivan et al., 1993; Fernandez et al., 1999; Murphy et al., 1999).

Um estudo utilizando "hamsters", "camundongos" e cobaias fêmeas foram alimentados com dietas hipercolesterolêmicas com adição de 10% de óleo de côco e 1% colesterol, e dieta controle, sendo subdivididos em grupos com privação de alimentos por 12 horas e no final de 7 dias; e grupo que recebeu dieta durante todo o experimento. Nas cobaias, a privação de alimentos não resultou em efeito significativo na concentração de colesterol plasmático em relação à animais recebendo dieta rica em colesterol. Estes dados sugerem que as cobaias são o modelo mais apropriado de roedores para estudos com

hipercolesterolemia devido ao aumento moderado da concentração de colesterol sem afetar a concentração pré-prandial de triglicerídeos quando receberam dieta com alto teor de colesterol. Isto é importante pois a forma mais comum de hiperlipidemia em humanos é a variedade tipo IIa, a qual é caracterizada pelo aumento da concentração de colesterol, porém concentrações normais de triglicerídeos (Sullivan et al., 1993).

Outro fator relacionado ao estudo de lipídeos séricos é o desenvolvimento da aterosclerose arterial. As cobaias portanto, são conhecidas por desenvolverem rapidamente lesões ateroscleróticas em resposta à diferentes tratamentos sendo consideradas excelentes modelos para pesquisas com aterosclerose. Além disso, estes animais são levemente maiores do que os demais roedores, possibilitando uma análise mais detalhada das lesões relacionadas à aterosclerose, especialmente no interior dos vasos sanguíneos (Sullivan et al., 1993, Fernandez et al., 1997e 1999; Murphy et al., 1999).

Interações da saturação da gordura dietética com o colesterol dietético em relação à homeostase do colesterol em cobaias, foram estudados com a administração de dietas com gordura saturada, mono e polinsaturadas com adição de colesterol farmacológico. O colesterol total e o LDL-colesterol aumentaram significativamente com o aumento do colesterol dietético sendo pronunciado esta alteração com a dose farmacológica excedendo-se o nível de síntese endógena de colesterol. Além disso, a gordura saturada e o colesterol dietético farmacológico aumentaram as concentrações de HDL-colesterol, o oposto ocorrido com a ingestão de gordura polinsaturada. O colesterol dietético impediu a atividade da HMG-CoA redutase em todos os níveis de ingestão de colesterol. Os resultados sugerem que quantidades fisiológicas de colesterol dietético desempenham um "papel-chave" na regulação aguda das concentrações de colesterol plasmático (feedback na síntese de colesterol endógeno), enquanto a saturação da gordura pode ter um efeito mais

crônico (pools de colesterol regulatório, expressão do receptor de LDL-colesterol) (Lin et al., 1992; Nicolosi, 1997).

Portanto, optou-se por utilizar as cobaias como animais experimentais nesta pesquisa para a obtenção de uma maior fidedignidade dos resultados em relação ao perfil lipídico e às doenças cardiovasculares.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de uma dieta à base de mexilhões *Perna perna* (Linné, 1758) de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC, em relação aos teores de colesterol, triglicerídeos e lipoproteínas no plasma de cobaias *Cavia porcellus*.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar o teor de colesterol e perfil de ácidos graxos de mexilhões *Perna perna* de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC;
- Analisar a composição centesimal dos mexilhões e das rações experimentais;
- Analisar a variação de peso e ingestão de ração dos animais durante o período de experimento;
- Determinar o teor de colesterol, lipoproteínas (HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol) e triglicerídeos no plasma dos animais experimentais;
- Correlacionar os valores do perfil lipídico, variação de peso e ingestão de ração nas cobaias alimentadas com dieta contendo mexilhões em substituição à carne bovina em relação aos demais grupos experimentais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Mexilhões

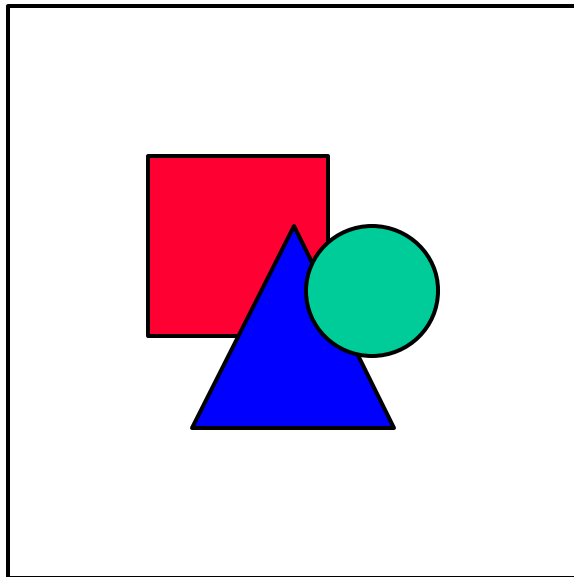


Figura 7. Mexilhões *Perna perna* fêmea (E) e macho (D)

Os mexilhões *Perna perna* (Linné, 1758) foram obtidos do cultivo de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis, (parte centro-oeste, de frente para a baía norte da Ilha de Santa Catarina), nos meses de janeiro/2000, com temperatura da água a 25°C.



Figura 8. Cultivo de mexilhões em Santo Antônio de Lisboa, Fpolis/SC

4.1.2 Animais

Foram utilizados cobaias da linhagem *Cavia porcellus*, cepa inglesa, machos, com aproximadamente 30 dias e peso médio de 300g, procedentes do Biotério Central da UFSC.



Figura 9. Cobaia *Cavia porcellus*

4.1.3 Delineamento experimental

A verificação dos efeitos de uma dieta à base de mexilhões em relação aos teores de colesterol, triglicerídeos e lipoproteínas plasmáticas das cobaias foi realizado através de um ensaio biológico com duração de 21 dias.

Ensaio biológico com cobaias

Os animais(18 cobaias) foram distribuídos em três grupos:

↳ **controle (6 cobaias)** - que receberam dieta á base de caseína (AIN-93G);

↳ **carne (6 cobaias)** – recebendo dieta à base de carne bovina, hipolipídica para prevenção de aterosclerose;

↳ **mexilhões (6 cobaias)** - receberam uma dieta com base na dieta carne sendo substituída por mexilhões.

No início do experimento 6 animais foram agrupados (grupo zero) para o registro do perfil lipídico no início do experimento, os quais não participaram do experimento sendo sacrificados após a coleta de sangue.

O ensaio biológico foi conduzido de acordo com as normas de utilização com animais de laboratório (COBEA, 1996) e os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina.

4.1.4 Rações experimentais

4.1.4.1 Ração controle

Esta foi composta com ingredientes de acordo com as recomendações do AIN-93G para utilização em experimentos de laboratório com roedores. A composição da ração controle pode ser observada na tabela 4.

Tabela 4. Composição da ração controle (AIN-93G)

Ingredientes	Quantidade (g)
Caseína	200
DL-cistina	3,0
Celulose	50
Mistura salina	35
Mistura vitamínica	10
Óleo de soja	70
Sacarose	100
Amido	532
Benzoato de sódio/Bitartarato de colina	0,014
Total	1000

Fonte: Reeves et al., 1993.

Devido ao fato das cobaias não sintetizarem a vitamina C, foi oferecido um “capim verde” fresco (3x/sem), rotina do Biotério Central /UFSC para esses animais, durante o período do experimento (COBEA, 1996).

O cálculo da ração para 40 dias de experimento com cobaias, cada animal consumindo em média 50g de ração/dia pode ser visto a seguir;

1 dia – 50g de ração 2000g de ração – 6cobaias (grupo controle)
40 dias – x Total - 12000g = **12kg de ração controle**
x = 2000g de ração

Obs.: A quantidade calculada de 12kg de ração corresponde também a mesma quantidade para as demais rações (dieta carne e ração à base de mexilhões) totalizando em 36kg de ração.

4.1.4.2 Ração dieta carnes

A ração dieta carnes (tabela 5) foi confeccionada com os ingredientes de uma dieta para 2300Kcal/dia (Anexo) hipoteticamente calculada para um adulto de 1,70m e 70Kg em relação à ingestão diária de proteínas, lipídios, carboidratos e colesterol. A adequação nutricional da dieta foi calculada através do Software NUT (2000).

Tabela 5. Composição da ração dieta carnes

Ingredientes*	Quantidade (g)	Ingredientes	Quantidade (g)
Arroz	100,0	Batata inglesa	80,0
Feijão	150,0	Banana	60,0
Macarrão espaguete	120,0	Laranja	140,0
Leite em pó desnatado	40,0	Maçã	116,0
Biscoito salgado	26,6	Cebola	15,0
Carne bovina	120,0	Sal	6,0
Alface	30,0	Iogurte desnatado	250,0
Agrião	30,0	Beterraba	108,0
Açúcar	6,0	Cenoura	18,0
Óleo de soja	10,0	Ricota	19,0
Margarina	6,0	Amido de milho**	17,0
Azeite de oliva	15,0		
Pão integral	84,0		
Tomate	15,0	Total	1786,6

*Peso cozido e/ou Peso líquido

** Adição para confecção dos "pellets"

4.1.4.3 Ração dieta mexilhões

Composta pelos mesmos ingredientes da **dieta carnes**, com mexilhões (mistura aleatória de machos e fêmeas) em substituição à carne bovina, na quantidade equivalente em gramas àquela recomendada para ingestão de carnes, sendo demonstrado na tabela 6.

Tabela 6. Composição da ração dieta mexilhões

Ingredientes *	Quantidade (g)	Ingredientes	Quantidade (g)
Arroz	100,0	Batata inglesa	80,0
Feijão	150,0	Banana	60,0
Macarrão espagueti	120,0	Laranja	140,0
Leite em pó desnatado	26,6	Maçã	116,0
Biscoito salgado	14,0	Cebola	15,0
Mexilhões	120,0	Sal	6,0
Alface	30,0	Iogurte desnatado	250,0
Agrião	30,0	Beterraba	108,0
Açúcar	6,0	Cenoura	18,0
Óleo vegetal	10,0	Ricota	19,0
Margarina	6,0	Amido de milho	17,0
Azeite de oliva	15,0		
Pão integral	84,0		
Tomate	15,0	Total	1786,6

* Peso cozido e/ou Peso líquido

** Adição para confecção dos " pellets"

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo das amostras

Os mexilhões foram previamente higienizados no local de obtenção das amostras (Fig.10) e então transportados em caixas de isopor com o auxílio de gelo e encaminhados até o Laboratório de Nutrição Experimental/UFSC onde foram novamente higienizados e desconchados. Uma parte foi submetida às análises da composição centesimal; teor de colesterol, triglicerídeos e ômega-3. O restante foi utilizado no preparo da ração à base de mexilhões.



Figura 10. Higienização dos mexilhões no local de cultivo

4.2.2 Preparo das rações experimentais

A **ração controle** foi confeccionada segundo as recomendações do AIN-93G. Em relação à **ração dieta carnes**, esta foi preparada da forma habitual de preparo de alimentos para o consumo humano de acordo com as preparações elaboradas no cardápio (Anexo). Após a cocção e secagem, os ingredientes das rações sofreram trituração para melhor homogeneização das rações. Para a **ração dieta mexilhões**, o preparo da ração deu-se da mesma forma que a ração dieta carne porém, com a substituição por mexilhões preparados para serem ingeridos como "Mexilhões no vapor".

Todas as rações foram dessecadas em estufa ventilada à 35°C, confeccionadas sob a forma de "pellets", acondicionadas em embalagens plásticas hermeticamente fechadas e mantidas sob refrigeração até o momento de sua utilização. Alíquotas das rações confeccionadas foram submetidas às análises da composição centesimal.

4.2.3 Cuidado com os animais

Durante o experimento, as cobaias foram mantidos individualmente em caixas de polipropileno, recebendo água e alimentação *ad libitum*, sendo registrados o consumo de ração e variação de peso três vezes por semana. Os demais cuidados como temperatura do ambiente, ciclo claro-escuro entre outros, foram realizados conforme as normas de cuidados para animais de laboratório respeitando as peculiaridades das cobaias (Committee on Laboratory Animal Diets, 1979; CPNEMB, 1994; COBEA, 1996).



Figura 11. Acondicionamento dos animais durante o ensaio biológico



Figura 12. Caixas de polipropileno individualizadas para as cobaias no período experimental

4.2.4 Coleta das amostras de plasma dos animais experimentais

As amostras do plasma das cobaias foram coletadas no tempo zero (início do experimento- **grupo zero**) e após 4 semanas de experimento. Para esse procedimento os animais foram previamente anestesiados com éter etílico, e após privação da alimentação por 12 horas, através de punção cardíaca, colocados em tubos de ensaio heparinizados, separado o plasma das hemácias por centrifugação durante 10 minutos e então, submetidos às análises de colesterol total, triglicerídeos, LDL- colesterol, HDL-colesterol e VLDL-colesterol.



Figura 13. Punção cardíaca das cobaias

4.2.5 Análise da composição centesimal das rações e dos mexilhões

As rações experimentais (controle, carnes e mexilhões) foram analisadas em triplicata em cada um dos itens abaixo segundo normas da AOAC, 1989. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Experimental e Laboratório de Bioquímica de Alimentos, UFSC.

- Determinação da umidade;
- Determinação de lipídeos ou extrato etéreo;
- Determinação das cinzas;
- Determinação do nitrogênio total;
- Determinação de Fibra bruta

O cálculo dos carboidratos nos mexilhões e nas rações experimentais foi realizado por diferença segundo a Portaria n. 41 da Vigilância Sanitária, 1998.

4.2.6 Análise do teor de colesterol

Foram realizadas determinações do teor de colesterol nos mexilhões por segundo normas do Instituto Adolfo Lutz, 1985 no Laboratório de Físico-química, UFSC. Posteriormente, foram relacionados aos teores de lipídios nos mexilhões, a ingestão pelas cobaias e, a influência no perfil lipídico dos animais experimentais.

4.2.6 Análise da composição em ácidos graxos dos mexilhões

As análises dos teores de ácidos graxos foram realizadas nos mexilhões através do método Oficial da American Oil Chemists's Society (ACOS Ce 1f-96), 1997 por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) no Laboratório de Óleos e Gorduras, FEA (UNICAMP).

4.2.7 Análise do teor de colesterol, triglicerídeos e lipoproteínas das cobaias

A determinação do teor de colesterol plasmático, lipoproteínas (HDL-colesterol, VLDL-colesterol) e triglicerídeos das cobaias foram realizadas através de método enzimático com a utilização de kits LABTEST Diagnóstica S.A. Para as análises do LDL-colesterol foi utilizado o kit da Wiener Lab. Posteriormente, foram realizadas análises estatísticas da significância dos dados em relação aos valores das lipoproteínas após a ingestão de dieta à base de mexilhões.

4.2.8 Análise estatística

Inicialmente, foi realizada uma análise estatística descritiva, com os parâmetros estatísticos básicos (médias e desvio-padrão) e representações gráficas dos resultados.

Em seguida foi então realizada a análise de variância dos dados (ANOVA), baseando-se nas hipóteses H_0 e H_1 onde, $H_0: \mu_1 = \mu_2$ (não existe diferença entre as médias) e $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$ (existe diferença entre pelo menos duas médias). O nível de significância 95% ($p < 0,05$) foi considerado para todas as análises.

Testes de comparações múltiplas através de Contraste de médias foram utilizados para as análises de lipoproteínas e composição centesimal da rações. A correlação (r) foi realizada para o relação entre o peso corporal e consumo de ração pelos animais experimentais após o ensaio biológico.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com auxílio do Software Statística 5.0 (1996) for Windows, Stat Soft Co.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal dos mexilhões *Perna perna*

A tabela 7 apresenta a composição centesimal de mexilhões machos e fêmeas, onde observa-se a diferença entre os sexos quanto ao teor de lipídeos sendo maior nas fêmeas e, em relação à proteína são maiores nos machos. Contudo, não observou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para umidade, carboidrato e cinzas.

Tabela 7. Composição centesimal de mexilhões *Perna perna* macho e fêmea de amostras coletadas em Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC

Amostra	Calorias (Kcal)	Proteína (g%)	Lipídeo (g%)	Umidade (g%)	Carboidrato (g)	Cinzas (g)
Machos	406,28 ^a	59,20 ^a	7,96 ^a	80,77 ^a	24,46 ^a	11,68 ^a
Fêmeas	406,63 ^a	55,56 ^b	10,59 ^b	80,22 ^a	22,27 ^a	11,70 ^a
Média	406,45	57,38	9,27	80,49	23,36	11,69

Os valores são apresentados como médias

As médias dos valores tendo a mesma identificação alfabética não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) determinado pela ANOVA e Teste de comparação múltipla.

Os resultados da composição centesimal dos mexilhões apresentam-se maiores em relação à literatura ou seja, encontra-se respectivamente 150Kcal/100g de mexilhões, 20,0g de proteínas e 4,0g de lipídeos totais de acordo com os dados segundo a USDA, 1987. Em relação aos carboidratos, não é possível realizar uma análise comparativa dos valores em função do método de análise dos carboidratos para os frutos do mar diferir em relação à análise de carboidratos totais pois, deve-se considerar o conteúdo de glicogênio presente em grandes quantidades nestes alimentos (Piggot & Tucker, 1990; Antonioli, 1999). Além disso, o teor de glicogênio não contribui para o valor calórico total dos alimentos, não expressando portanto a realidade quando compara-se com os dados apresentados na literatura (Piggot & Tucker, 1990; Antonioli, 1999).

É importante ressaltar que, a época do ano, a temperatura da água, o período reprodutivo e o local de cultivo influenciam diretamente na composição centesimal dos

frutos do mar (Magalhães, 1985; Piggot & Tucker, 1990). Portanto, explica-se a diferença encontrada para os mexilhões analisados.

5.2 Composição centesimal das rações experimentais

A análise da composição centesimal das rações experimentais (tabela 8) revela que o teor de lipídeos apresentou-se maior ($p < 0,05$) para a ração mexilhões quando comparado às rações carnes e controle. Quanto ao teor de proteínas, entre todas as rações oferecidas aos animais não houve diferença estatisticamente significativa. Contudo, os teores de carboidratos, fibra bruta, umidade e cinzas, na ração controle mostraram-se diferentes, sendo maiores em relação aos carboidratos e fibra bruta, e menor para umidade e cinzas em relação às dietas carnes e mexilhões. O maior teor de cinzas na ração contendo mexilhões, provavelmente reflete o alto conteúdo de minerais nos frutos do mar e especialmente, destes moluscos (Piggot & Tucker, 1990; Ninikoski et al., 1997).

Tabela 8. Composição centesimal das rações experimentais (g/100g produto seco)

Ração	VCT (Kcal)	PTN*	LIP	CHO	Umidade	Cinzas	Fibra bruta
Controle	380,69 ^a	16,73 ^a	5,85 ^a	65,28 ^a	5,75 ^a	2,58 ^a	3,99 ^a
Carnes	383,01 ^b	17,38 ^a	6,37 ^a	64,04 ^b	7,06 ^b	3,72 ^b	1,43 ^b
Mexilhões	383,03 ^b	18,81 ^a	6,95 ^b	61,31 ^b	6,70 ^b	4,47 ^b	1,76 ^b

Os valores são apresentados como médias

As médias dos valores tendo a mesma identificação alfabética não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) determinado pela ANOVA e Teste de comparação múltipla

*N total x 6,25

Para uma melhor interpretação dos resultados, o teor de fibras totais, fibra solúvel e insolúvel das dietas carnes e mexilhões foram calculados por valores retirados de tabelas de

composição de alimentos (Mendes et al., 1995), em função de que a análise de carboidratos da composição centesimal deu-se por diferença e, isso inclui as frações fibra solúvel e insolúvel, o que não representa na realidade o teor de fibras das dietas. Assim, o valor calórico total das rações e/ou dietas foram calculados através dos valores obtidos de lipídeos, proteínas e carboidratos reduzindo-se os teores de fibras da dieta.

5.3 Composição em ácidos graxos de mexilhões *Perna perna*

Tabela 9 - Composição em ácidos graxos (g/100g) de mexilhões *Perna perna* machos e fêmeas, de amostras coletadas em Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC

Ácido Graxo		Macho**	Fêmea**
C14:0	Mirístico	6,29	6,71
C15:0	Pentadecanóico	1,12	1,29
C16:0	Palmítico	23,56	22,90
C16:1t	Palmitoelaídico	1,04	1,50
C16:1	Palmitoléico	6,74	8,70
C17:0	Margárico	4,27	3,87
C17:1	Margaroléico	0,25	0,62
C18:0	Esteárico	7,16	4,97
C18:1	Oléico (ω -9)	5,70	4,57
C18:2	Linoléico (ω -6)	4,40	2,56
C20:0	Araquídico	0,48	0,32
C18:3	Linolênico (ω -3)	5,93	6,78
C18:4*	Estearidônico(ω -3)	2,22	2,86
NI	Não identificado	-	0,50
C20:3*	Eicosatrienóico(ω -6)	-	0,27
C20:4	Araquidônico (ω -6)	2,74	1,87
NI	Não identificado		0,51
NI	Não identificado	1,72	1,66
C20:5	EPA (ω -3)	10,35	12,20
NI	Não identificado	-	0,61
NI	Não identificado	0,60	0,69
NI	Não identificado	1,05	0,82
C22:5	Docosapentaenóico (ω -3)	1,16	1,39
C22:6	DHA (ω -3)	13,22	11,84

* Identificação não confirmada

**Média de triplicata.

Nos últimos anos, vários estudos revelaram a importância dos lipídeos presentes em peixes e frutos do mar, por serem fontes de ácidos graxos polinsaturados, principalmente os ω -3 EPA e DHA (O'Dea & Sinclair, 1982; Murphy et al., 1999; Ramirez-Tortosa et al., 1999; Siscovick et al., 2000 e Visentainer et al., 2000). Na tabela 9 pode-se confirmar estas observações, com uma grande proporção de EPA (11,27%) e DHA(12,53%) no óleo de mexilhões para ambos os sexos quando comparado aos demais ácidos graxos

polinsaturados. Contudo, também é visível a presença do ácido palmítico (C16:0) em grande quantidade, aproximadamente 22 g/100g do total de ácidos graxos; sendo considerado aterogênico em função de ser um ácido graxo altamente saturado (Mahan & Arlin, 1994; Assis, 1997; Caggiula, 1997).

Portanto, a presença de altas concentrações de ácidos graxos polinsaturados ω -3, principalmente EPA e DHA nos mexilhões de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/SC, confirmam os dados de recentes pesquisas que identificam os frutos do mar como fontes de ω -3, apesar de seu conteúdo em ácidos graxos saturados. Além disso, é importante salientar a relação positiva com o perfil lipídico e a prevenção de doenças cardiovasculares com a ingestão destes alimentos fonte destes ácidos graxos (Van Tol et al., 1991; Murphy et al., 1997; Meydani, 2000; Siscovick et al., 2000; Torres et al., 2000; Visantainer et al., 2000).

Na tabela 9 observa-se também a diferença entre os sexos quanto aos ácidos graxos ω -3 (DHA) e ω -6 (ácido linoléico), sendo maior em machos para ambos os ácidos graxos. Em relação ao EPA, as fêmeas apresentaram maiores teores ($p < 0,05$) em relação aos machos. Esses resultados indicam o que ocorre na realidade, ou seja, a ingestão mista de mexilhões (machos e fêmeas) acarretará os benefícios dos ácidos graxos presentes nestes moluscos. Isso ocorrerá independente da escolha por sexo em função de sua composição em ácidos graxos pois, ambos contêm ω -3 (EPA e DHA). Vale ressaltar a importância da recomendação de ingestão associada ao modo de preparo dos alimentos, como os mexilhões preparados na dieta, sendo utilizado “mexilhões no vapor” ou mais popularmente conhecido como “mexilhões ao bafo”, no qual não é acrescentado gordura, o que não altera seu valor calórico além de acentuar seu sabor no momento da degustação.

5.4 Valor nutricional das rações experimentais

Inicialmente, calculou-se uma dieta com aproximadamente 2300Kcal/dia (Anexo), hipolipídica através do software NUT/2000. estes ingredientes sofreram o processo de cocção e/ou preparo de acordo com o cardápio elaborado e em seguida foram desidratados para então serem transformados em pó através da trituração dos ingredientes e/ou preparações, peletizados e constituindo desta forma, as rações carnes e mexilhões. Com a análise da composição centesimal (tabela 8) das rações experimentais e com o cálculo dos macronutrientes destas demonstrados na tabela 8, observa-se que todas as rações são hiperprotéicas (30% proteínas em relação ao valor calórico total).

Em relação aos lipídeos, as dietas oferecidas às cobaias do grupo carnes e mexilhões contêm de 25-27,4% de lipídeos, não sendo estatisticamente diferentes, contudo são dietas hipolipídicas de acordo com as recomendações nutricionais para indivíduos com dislipidemias (OMS, 1990; NCEP, 1994).

O teor de carboidratos, como citado anteriormente, fica comprometido em função da presença das frações solúveis e insolúveis das fibras dietéticas. Com isso, todas as dietas ficaram aquém das recomendações para carboidratos. Sabe-se, em contrapartida que, as dietas carnes e mexilhões contêm uma maior proporção de carboidratos complexos (amido e cereais integrais) sobre os carboidratos simples (glicose, frutose e sacarose). Entretanto, o conteúdo de carboidratos em mexilhões é representado na sua grande maioria por glicogênio, forma de depósito de carboidrato presente nos frutos do mar, como citado anteriormente, além do teor de glicogênio não interferir no valor calórico total da dieta (Piggot & tucker, 1990; Holland et al., 1994; Antonioli, 1999).

Tabela 10. Teor de colesterol e ácidos graxos das dietas carnes e mexilhões

Alimentos	Colesterol (mg)	AG Sat (g)	AG Mono (g)	AG Polinsat (g) w-3
Dieta carnes* ¹	116,01 ^a	18,45 ^a	27,73 ^a	12,88 ^a
Dieta mexilhões	62,65 ^b	11,66 ^b	15,19 ^b	17,28 ^b

Fonte: 1 Holland et al., 1994

*Anexo

As amostras de mexilhões machos analisados quando comparada às amostras de mexilhões fêmeas apresentaram respectivamente, 24,90mg/100g e 69,66mg/100g de colesterol. Portanto, as fêmeas contêm maiores teores de colesterol ($p < 0,05$). Com a adição de mexilhões na dieta, pode-se observar na tabela 10, estando presente em 116,01mg na dieta oferecida aos animais do grupo carnes e 62,65mg na dieta mexilhões. Com isso, apesar do maior teor de colesterol ter sido encontrado nos mexilhões fêmeas, a introdução destes na dieta não excedeu as recomendações nutricionais para dislipidemia, além do fato de ter sido menor em relação à dieta carnes ($p < 0,05$).

Quanto aos ácidos graxos, têm-se uma maior proporção de ácidos graxos monoinsaturados sobre os demais ácidos graxos. Contudo, observa-se também que o teor de ácidos graxos saturados é superior aos ácidos graxos polinsaturados na ração carnes, em função da presença da carne bovina. Na dieta mexilhões a composição em ácidos graxos fica em vantagem quando comparada à dieta carnes pois apresenta uma maior proporção de ácidos graxos polinsaturados representados pelo EPA e DHA (tabela 9). Apesar, do elevado teor de gordura saturada na dieta mexilhões, os animais que receberam esta dieta não apresentaram alterações de suas lipoproteínas após 21 dias de experimento devido ao efeito protetor dos ácidos graxos ω -3, também observado por Murphy et al. (1997 e 1999) e

Ramirez-Tortosa et al. (1999) quando suplementaram óleos de peixe em cobaias ou observando a relação com doenças cardiovasculares, perfil lipídico e ingestão de gordura polinsaturada de peixes.

Tabela 11. Teor de fibras totais, fibra solúvel e fibra insolúvel das dietas carnes e mexilhões

Alimentos	Fibra total (g)	Fibra solúvel (g)	Fibra insolúvel (g)
Dietas carnes/mexilhões	38,58	16,05	22,53
%		41,60	58,39
Adequação	171,8%	166,4%	77,85%

Fonte: Mendes et al., 1995

Recomendação NCEP/1994 (20-30g/dia – sendo 25% fibra solúvel)

A composição das dietas carnes e mexilhões quanto ao teor de fibras pode ser observada na tabela 11, sendo realizado o mesmo cálculo para as duas dietas pois a diferença entre elas está na substituição da carne bovina por mexilhões, alimentos que não contêm fibras. Assim, têm-se que do total de fibras da dieta, 41,6% encontra-se sob a forma de fibra solúvel estando além dos valores recomendados (20-30g de fibras/dia).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a fibra dietética atua como protetora contra os riscos de doenças coronarianas. Numerosos estudos clínicos e com a utilização de animais experimentais (cobaias), mostram que a ingestão de fibras solúveis reduzem as concentrações de LDL-colesterol e a relação CT/HDL (Jenkins et al., 1997; Andreson & Hanna, 1999; Fernandez et al., 1999, Lampe , 1999).

Fernandez et al. (1994 e 1997) observaram que a presença de fibras solúveis resultou na redução do colesterol plasmático em cobaias. Tal fato pode também ter contribuído para os resultados de colesterol plasmáticos nas cobaias dos grupos carnes e mexilhões após o período experimental em função do alto teor de fibras solúveis nas respectivas dietas.

Tabela 12. Composição nutricional das dietas carnes e mexilhões em relação aos micronutrientes Cálcio, Ferro, Sódio, Vit.C e Vit. A

Alimento	Ca (mg)	Fe (mg)	Na (mg)	Vit. A (mgRE)	Vit. C (mg)
Dieta carnes*	1542,02	27,39	3455,74	1427,90	269,43
Adequação	128,5%	273,9%	115,2%	142,8%	449,05%
Dieta mexilhões	1765,35	32,13	3622,41	1427,9	269,43
Adequação	147,11%	321,3%	120,75%	142,79%	449,05%

Fonte: Software NUT

* Anexo

A composição nutricional das dietas carnes e mexilhões em relação aos micronutrientes demonstra que segundo as recomendações nutricionais de 1200mg/dia para o Cálcio; 10mg/dia para o Ferro; entre 500-3000mg/dia de Sódio; 1000 RE para a vit. A e 60mg/dia de vit.C , ambas as dietas conseguiram adequar-se às recomendações (Tabela 12) e até mesmo ultrapassaram os valores de ingestão diária determinados para um adulto saudável, os quais são os mesmos para indivíduos com dislipidemias (RDA, 1989).

5.5 Ensaio Biológico

5.5.1 Considerações

Inicialmente, foi realizado um ensaio biológico preliminar com as cobaias para a verificação da adaptação do animal às condições do experimento obtendo-se bons resultados com os animais que seriam utilizados. Iniciado o ensaio biológico definitivo, com os animais divididos em grupo recebendo dietas à base de carne bovina, mexilhões e caseína (controle), houve à partir do 21º dia de experimento começaram a ocorrer perdas de animais, tendo algumas hipóteses para estas observações:

- As cobaias são extremamente suscetíveis às condições estressantes devido às alterações das condições ambientais, como simples modificações na ração, comedouro, água e bebedouro, quando podem passar a recusar alimento e água. Isso implica em dizer que a manipulação desta espécie deve ser realizada com paciência e muito cuidado. Apesar de ter sido realizado um ensaio biológico preliminar (teste piloto), é sempre possível a dificuldade na adaptação do animal (CPNEMB, 1994; COBEA, 1996).
- A escolha aleatória dos animais para a divisão dos grupos experimentais pode ter selecionado animais mais “resistentes”, o que resultou em sua permanência até o final de 30 dias para alguns grupos;
- Para a maior homogeneidade do experimento, foram solicitados animais (cobaias) com a mesma idade, machos, pesando entre 300-400g. Em função da dificuldade do Biotério central da UFSC em atender estas condições, algumas cobaias precisaram ser adquiridas de outros Biotérios, as quase passaram por um tratamento emergencial para a

eliminação de patógenos (piolhos) por um período de 15 dias que antecederam o experimento. Estes fatores são extremamente importantes em relação ao estado inicial dos animais no ensaio biológico pois, aqueles animais que passaram pelo tratamento estavam de uma certa maneira debilitadas imunologicamente, o que já os diferencia dos demais também em relação à absorção e utilização de nutrientes a que foram submetidos.

- Deficiência de vitamina C nas dietas experimentais, visto que estes animais não a sintetizam e os suplementos utilizados (folhas verdes) podem não ter sido suficientes para as necessidades nutricionais deste micronutriente. E ainda, possíveis perdas de vitaminas ocorridas no momento do preparo ou acondicionamento das rações experimentais. Estas condições podem ter ocasionado alterações metabólicas com a debilitação do estado geral e conseqüente morte dos animais antes do final do experimento;
- Inexperiência com a manipulação destes animais com estudos de nutrição em relação aos lipídeos;

Na tentativa de confirmação de algumas das hipóteses citadas acima, realizou-se então um ensaio biológico com as mesmas dietas oferecidas às cobaias e mesmo período de duração do experimento. A diferença ocorreu com a utilização de ratos Wistar, animais clássicos em estudos de nutrição, para a verificação dos mesmos efeitos propostos com as cobaias tendo novamente a presença de cobaias separadas em grupos carnes e mexilhões.

Ao final do experimento, observou-se que:

- Não houve perda de nenhum animal experimental (ratos e/ou cobaias);
- A curva de variação de peso dos ratos apresentou-se semelhante à das cobaias.

À partir destes resultados, conclui-se que não houve evidências de alterações e/ou deficiências vitamínicas nas dietas oferecidas aos animais a ponto de causar a perda dos animais em virtude da dieta. Tal acontecimento seria evidenciado se ocorresse também com os ratos após a ingestão das rações experimentais. Portanto, a sensibilidade do animal e a debilidade imunológica foram provavelmente as responsáveis pelo curto período de resistência das cobaias no ensaio biológico inicial.

5.5. 1 Variação de peso corporal e consumo de ração

Tabela 13. Média e Desvio-Padrão (\pm DP) de peso corporal (g) e consumo de ração (g/animal/dia) de cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

Grupo	Peso (g)	Consumo (g)
Controle	314,89 ^a \pm 38,67	37,14 ^a \pm 19,17
Carnes	304,70 ^a \pm 51,64	29,54 ^a \pm 19,69
Mexilhões	314,93 ^a \pm 50,92	34,99 ^a \pm 20,27

As médias dos valores apresentados tendo a mesma identificação alfabética não são significativamente diferentes ($p < 0,05$) determinado pela ANOVA e Teste de Comparação múltipla

As médias dos pesos corporais e consumo de ração da cada grupo experimental são demonstrados na tabela 13, onde não observou-se diferença estatisticamente significativa

entre os grupos após o período experimental ($p=0,49$), sendo portanto, que o peso corporal e o consumo de ração dos grupos carnes e mexilhões foram semelhantes ao grupo controle.

Estes resultados conferem com Sullivan et al. (1993); Fernandez et al. (1999) e Murphy et al. (1999) , os quais trabalharam com cobaias e hiperlipidemias. Além disso, a não significância dos dados pode ser explicada pela grande variância dos dados, o que dificultou a visualização de diferença entre os grupos.

Contudo, foi possível observar correlação entre o peso corporal e o consumo de ração com um coeficiente de correlação ($r = 0,782$), o que indica que o consumo de ração está correlacionado ao aumento de peso corporal ao longo do experimento porém, não apresentando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,39$). Isso também é devido ao fato de haver grande variância dos dados experimentais.

Tabela 14. Ganho médio de peso corporal de cobaias *Cavia porcellus* durante 20 dias de experimento

Grupo	Ganho de peso (g/semana)	DP
Controle	24,15 ^a	± 28,44
Carnes	- 1,88 ^a	± 67,37
Mexilhões	34,72 ^a	± 58,46

As médias dos valores apresentados tendo a mesma identificação alfabética não são significativamente diferentes ($p<0,05$) determinado pela ANOVA e Teste de Comparação múltipla

Em relação ao ganho médio de peso corporal das cobaias durante o período do experimento, foi possível observar um ganho médio maior para o grupo controle quando

comparado aos grupos carnes e mexilhões, porém não sendo estatisticamente significativo entre esses dois grupos (Tabela 14).

A semelhança em ganho de peso de peso corporal entre os grupos carnes e mexilhões após o experimento deu-se devido à grande variabilidade individual dos animais, com perda de peso observada durante as semanas iniciais do experimento em função da adaptação destes a uma diferente alimentação. Assim, apesar da correlação existente entre consumo de ração e peso corporal, os animais não diferenciaram-se entre os grupos quanto ao ganho médio de peso corporal após 21 dias de experimento.

5.5.2 Perfil de lipoproteínas dos animais experimentais

Tabela 15. Perfil de lipoproteínas de cobaias *Cavia porcellus* consumindo dieta, controle, carnes e mexilhões

Grupo	CT (mg/dL)	LDL-col (mg/dL)	HDL-col (mg/dL)	VLDL-col (mg/dL)
Zero	57,97 ^a ± 12,96	24,45 ^a ± 7,24	10,30 ^a ± 1,15	7,59 ^a ± 1,23
Controle	103,86 ^a ± 38,25	71,48 ^b ± 17,92	13,22 ^b ± 1,97	14,12 ^b ± 0,47
Carnes	101,45 ^a ± 63,18	53,72 ^b ± 54,10	15,64 ^c ± 0,57	14,68 ^c ± 1,04
Mexilhões	72,46 ^a ± 31,31	34,96 ^b ± 19,93	13,04 ^d ± 0,71	10,14 ^a ± 3,41

Os valores são apresentados como médias e DP

As médias dos valores tendo mesma identificação alfabética não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) determinado pela ANOVA e Teste de comparação múltipla.

5.5.2.1 Colesterol total e Lipoproteína de baixa densidade

A tabela 15 apresenta a média das concentrações de Colesterol total (CT), Lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), Lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) e Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-colesterol) plasmáticos das cobaias para cada grupo estudado, os quais serão explicados sob a forma de gráficos a seguir.

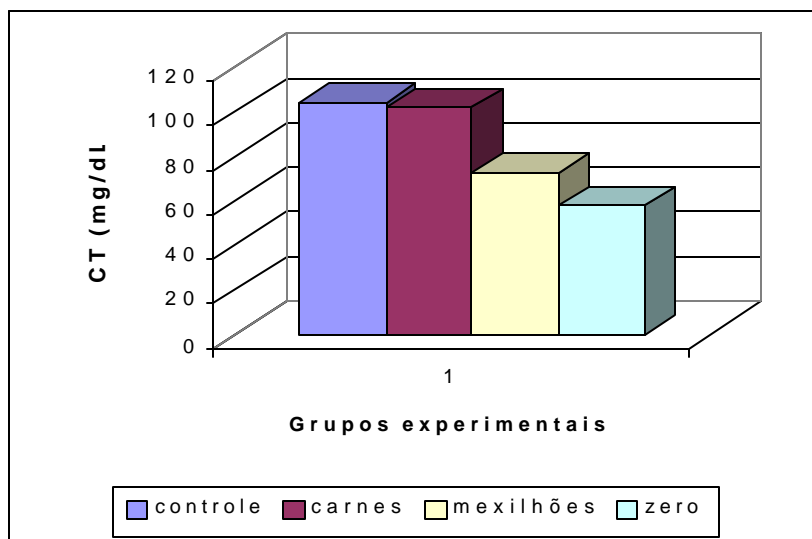


Figura 14. Gráfico dos valores médios de Colesterol total em cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

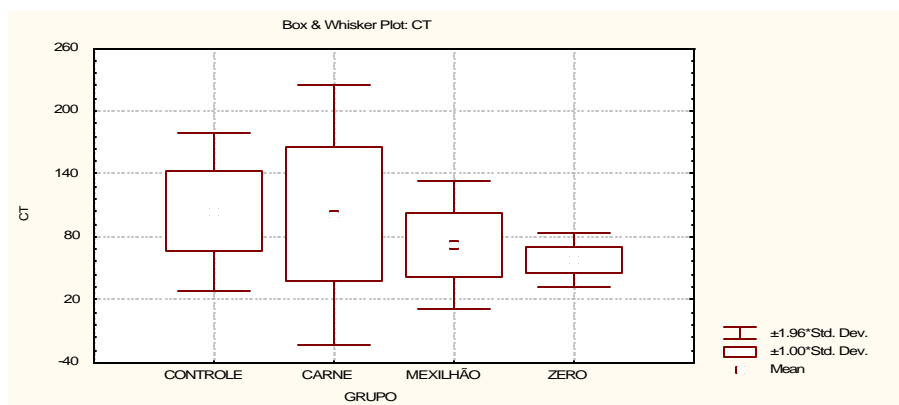


Figura 15. Gráfico de Box-plot em relação ao colesterol total (mg/dL) de cobaias *Cavia porcellus*

Em relação ao CT e LDL-colesterol houve uma grande variância dos resultados, sendo obtido valores menores para o grupo mexilhões durante o período experimental. Estes resultados foram também observados por Sullivan et al. (1993) e Fernandez et al. (1999), que obtiveram hipercolesterolemia significativa entre os grupos experimentais utilizando a adição de colesterol em doses farmacológicas nas dietas; o que difere deste trabalho pois o objetivo principal desta pesquisa foi de observar o perfil lipídico das cobaias quando substituindo a carne bovina por mexilhões em uma dieta nutricionalmente balanceada para prevenção de aterosclerose. Nas figuras 15 e 16 através dos gráficos pode-se observar os valores médios de CT entre os grupos e sua relação quando demonstra-se os desvio-padrões, explicando portanto, a igualdade estatística em relação a esta lipoproteína apesar de ter sido observado valores absolutos menores em relação ao grupo mexilhões quando comparado aos grupos carnes e controle.

Os animais experimentais iniciaram o ensaio biológico com hipercolesterolemia (>43mg/dL) segundo Puppione et al. (1971). Contudo, o grupo mexilhões apresentou ao final do experimento valores 24,9% menores que os demais grupos, não sendo estatisticamente significativo quando comparado aos demais grupos experimentais.

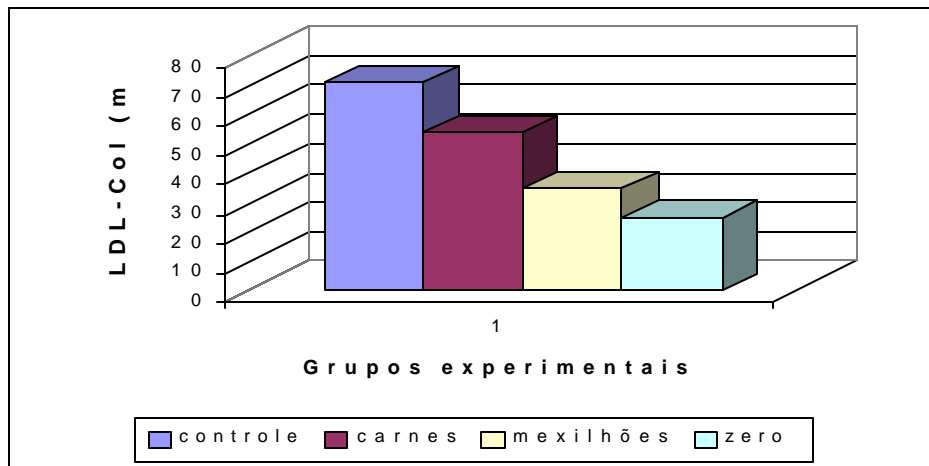


Figura 16. Gráfico dos valores médios de LDL-colesterol em cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

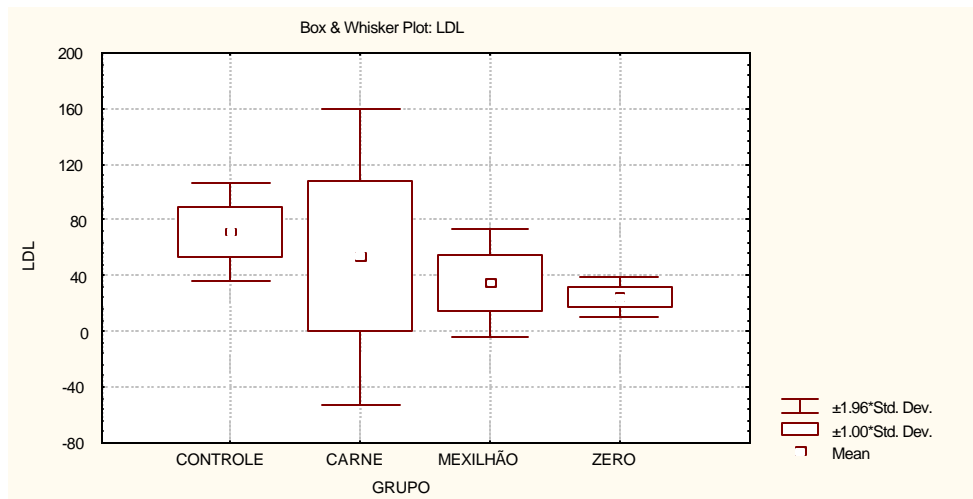


Figura 17. Gráfico de Box-plot em relação aos valores de LDL-colesterol (mg/dL) de cobaias *Cavia porcellus*

Nas figuras 17 e 18 os resultados da lipoproteína LDL-colesterol são apresentados sob a forma de gráficos dos valores médios e Box-Plot para melhor visualização da variância dos dados com o desvio-padrão de cada grupo. Assim, observa-se que entre os grupos experimentais não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), apesar do grupo mexilhões apresentar resultados absolutos menores do que os grupos controle e carnes. Isso pode evidenciar que a LDL-colesterol, lipoproteína aterogênica, não foi alterada com a ingestão da ração contendo mexilhões, confirmando os achados de que os frutos do mar atuam como protetores do sistema cardiovascular devido à presença de ácidos graxos polinsaturados ($\omega-3$), que também foi observado nos mexilhões que fizeram parte das rações experimentais (Oliveira e Silva et al., 1996; Murphy et al., 1997 e 1999; Ramirez-Tortosa et al., 1999; Meydani, 2000; Siscovick et al., 2000; Torres et al., 2000; Visantainer et al., 2000).

Os valores de LDL-colesterol, não estiveram acima dos valores de referência para as cobaias segundo Puppioni et al. (1971) desde o início do experimento ($< 125\text{mg/dL}$). Entretanto, houve diferença entre o grupo zero, que apresentou menores valores em comparação aos grupos controle, carnes e mexilhões ($p < 0,05$), como já era esperado pois, são valores obtidos da coleta inicial, quando ainda não haviam recebido as dietas experimentais.

5.5.2.2 Lipoproteína de alta densidade e Lipoproteína de muito baixa densidade

Em contrapartida aos resultados de CT e LDL-colesterol, as lipoproteínas HDL-colesterol (figuras 19 e 20) e VLDL-colesterol (figuras 21 e 22) apresentaram-se diferentes entre os grupos. Em relação à HDL-colesterol quando comparado aos demais grupos experimentais (controle, carnes e mexilhões) o grupo zero foi menor ($p < 0,05$) ou seja, após o experimento houve um aumento de HDL-colesterol em todos os grupos experimentais.

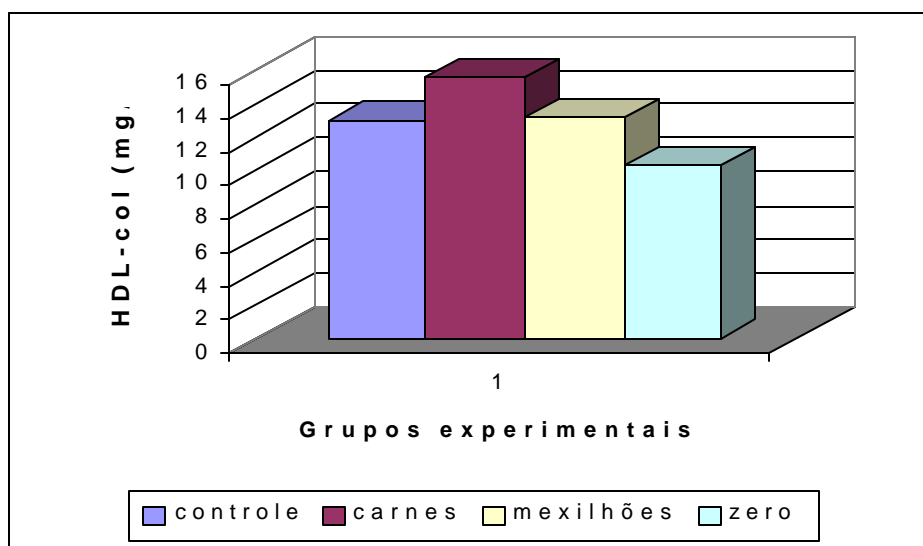


Figura 18. Gráfico dos valores médios de HDL-colesterol total em cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

Esses resultados demonstram que com a ingestão das dietas houve um aumento dos valores plasmáticos de HDL-colesterol sendo benéfico pois, quanto maior os valores desta lipoproteína, menores são os riscos de doenças coronarianas devido à sua função em

excretar o LDL-colesterol e o colesterol total através da bile (DeAngelis & Ctenas, 1993; Mayes, 1994; Berglund et al., 1999; Griffin, 1999; Michelon & Moriguchi, 1999).

A lipoproteína HDL-colesterol após o experimento apresentou alterações para os grupos carnes e mexilhões em relação aos valores de referência de lipoproteínas em cobaias (Puppioni et al., 1971). Quando comparado ao grupo zero, observou-se diferença significativa entre os grupos, sendo que os valores apresentaram-se acima dos considerados como referência (> 10 mg/dL).

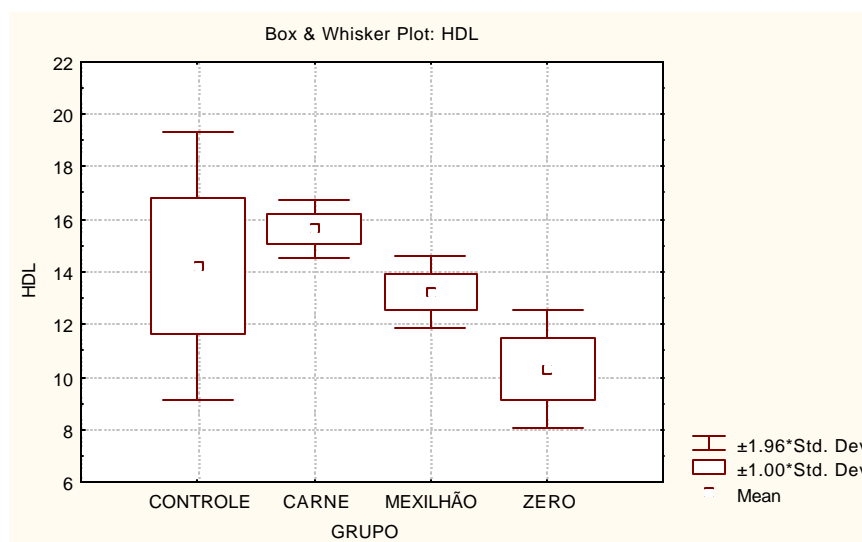


Figura 19. Gráfico de Box-plot em relação aos valores de HDL-colesterol (mg/dL) em cobaias *Cavia porcellus*

Quanto ao VLDL-colesterol (figuras 21 e 22) evidenciou-se a diferença significativa entre os grupos após o experimento devido à menor variância dos dados. Todavia, os grupos controle e carnes apresentaram maiores valores do que o grupo mexilhões após 21 dias de experimento. Assim, foram obtidos melhores resultados em relação à VLDL-colesterol, com o grupo que recebeu dieta à base de mexilhões.

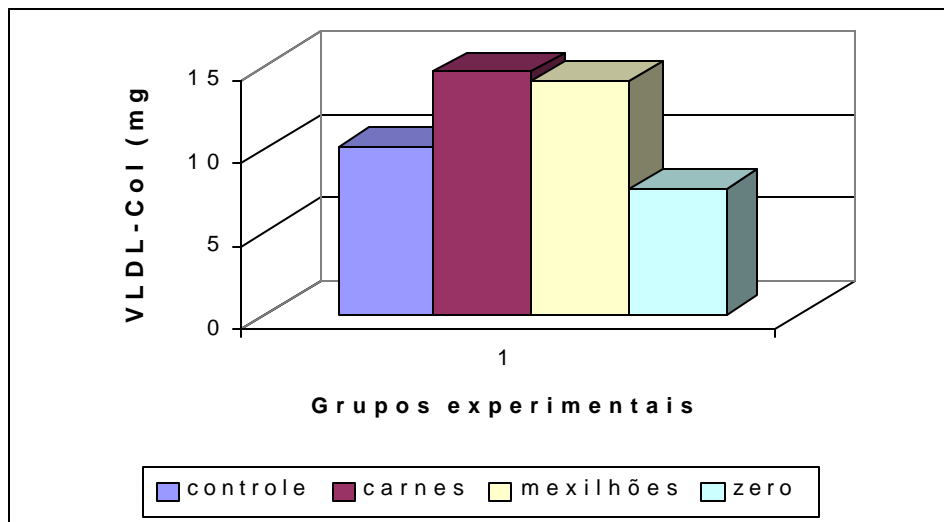


Figura 20. Gráfico dos valores médios de VLDL-colesterol total em cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

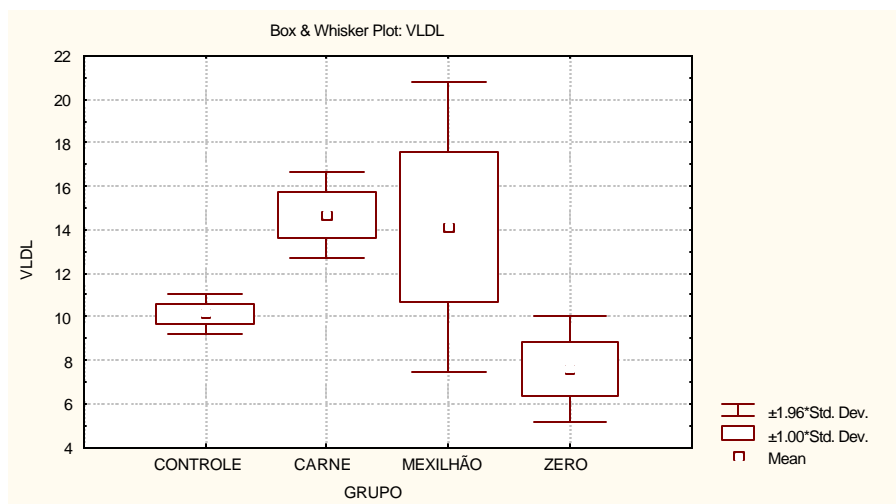


Figura 21. Gráfico de Box-plot em relação aos valores de VLDL-colesterol (mg/dL) em cobaias *Cavia porcellus*

Em relação aos valores de referência de lipoproteínas em cobaias comparados aos resultados obtidos ao final do período de experimento têm-se que, a lipoproteína VLDL-

colesterol não apresentou-se acima dos valores-padrões de referência (35mg/dL) segundo Puppione et al., 1971; desde o início do período experimental.

5.5.2.3 Triglicerídeos

Tabela 16. Intervalos de confiança, médias e desvio-padrão de triglicerídeos plasmáticos em cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

Grupos	Médias (mg/dL)	Intervalos de confiança
Zero	71,22 ±16,81	48,3 – 94,1
Controle	96,86 ± 38,41	74,0 – 119,8
Carnes	91,16 ± 19,74	58,8 – 123,6
Mexilhões	81,19 ± 16,33	53,1 – 109,3

A tabela 16 mostra os valores médios, desvio-padrão e intervalos de confiança de triglicerídeos para os grupos zero, controle, carnes e mexilhões. Não houve evidência estatística de diferença ($p < 0,05$) entre os grupos após o experimento que também podem ser visualizados nas figuras 23 e 24. Os intervalos de confiança apresentados na tabela 16 foram bastante amplos. Portanto, quanto maior a variância dos dados, menor é a chance de obtenção de homogeneidade dos valores obtidos.

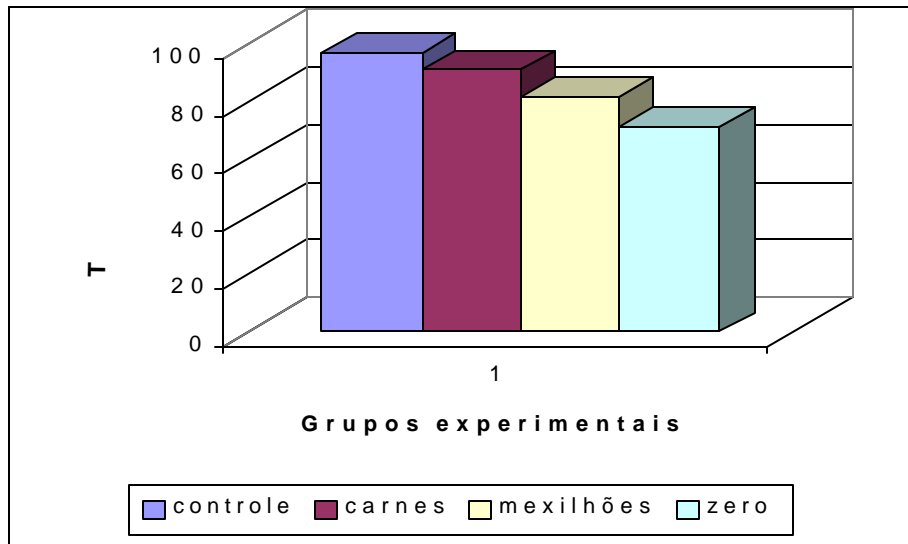


Figura 22. Gráfico dos valores médios de triglicerídeos em cobaias *Cavia porcellus* após 21 dias de experimento

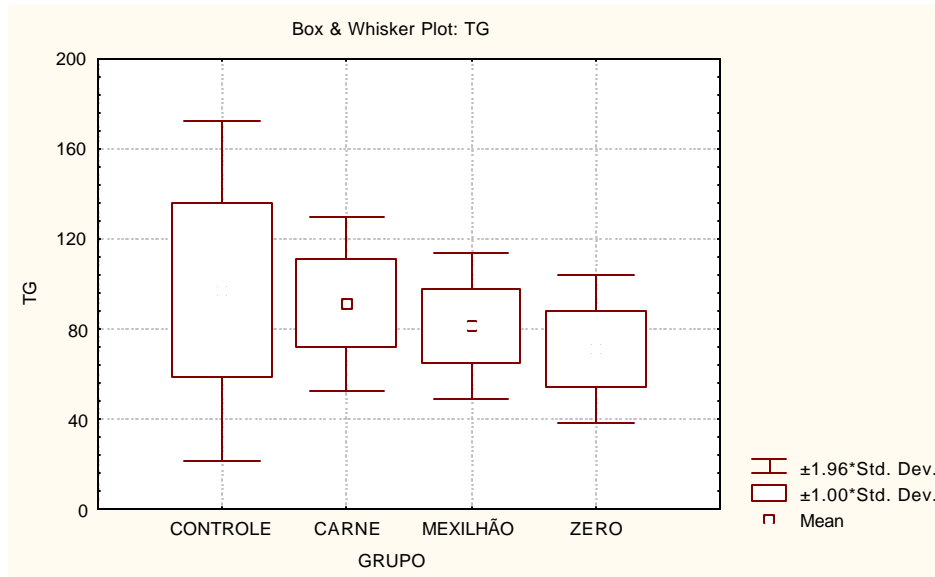


Figura 23. Gráfico de Box-plot em relação aos triglicerídeos plasmáticos de cobaias *Cavia porcellus*

A figura 24 mostra o gráfico de Box-plot em relação aos valores plasmáticos de triglicérides podendo-se observar que houve uma maior variação dos dados nos grupos controle e carnes, seguido dos grupos mexilhões e zero. Portanto, o grupo mexilhões apresentou-se próximo aos valores obtidos no início do experimento (zero) ou seja, com a ingestão da ração com mexilhões houve pequena alteração dos triglicérides plasmáticos. Esses resultados são benéficos, pois a hipertrigliceridemia está inserida nas dislipidemias e conseqüentemente como fator de risco para doenças cardiovasculares, o que não foi ocasionado com a ingestão de mexilhões (Michelon & Moriguchi, 1999).

À partir dessas observações, pode-se afirmar o que Vahouny et al. (1981); Piggot & Tucker (1990); Oliveira e Silva et al. (1996) e Murphy et al. (1999), observaram onde relatam a presença de esteróis que não são colesterol em moluscos; mas que nas análises de colesterol são considerados como um todo identificando hipercolesterolemia. Além disso, estes esteróis parecem competir com a absorção intestinal do colesterol semelhante aos fitosteróis. Estas hipóteses podem ser confirmadas pelos valores obtidos de LDL-colesterol, lipoproteína considerada aterogênica, que desde o início do experimento não apresentou alterações que evidenciassem o efeito aterogênico da dieta com mexilhões oferecida aos animais e sendo menor do que os demais grupos após o ensaio biológico. Ainda, é importante considerar que, a LDL-colesterol é uma lipoproteína que faz parte do colesterol total, portanto, para o grupo mexilhões apresenta um menor valor como citado anteriormente. Assim, do total de colesterol presente no plasma, o LDL-colesterol representa uma pequena porção do total de lipídeos circulantes é representada pelo LDL-colesterol. O HDL-colesterol, apresentando altos valores faz com que a relação CT/HDL diminua e com isso também reduza o risco de surgimento de lesões ateroscleróticas. Isso

pôde ser observado no grupo mexilhões após o período que os animais receberam a dieta por 21 dias.

Os ácidos graxos polinsaturados presentes nos mexilhões , principalmente como ω -3, provavelmente propiciaram os efeitos redutores no perfil de lipoproteínas das cobaias, sendo também observado por Murphy et al. (1999) após a ingestão destes ácidos graxos e/ou alimentos considerados fonte de ω -3. Os efeitos do alto teor de ácidos graxos saturados (ácidos palmítico e mirístico) nos mexilhões possivelmente foi inativado pela ação do ω -3, sendo evidente nos resultados do perfil lipídico dos animais do grupo mexilhões.

5.5 Sugestões para futuros trabalhos

Devido à grande variabilidade individual quanto aos valores das lipoproteínas, existe a possibilidade de que os dados encontrados para o grupo zero não reflitam a média dos valores plasmáticos dos animais que participaram dos grupos experimentais alimentados com as diferentes rações. Por isso, talvez neste caso, seria interessante analisar os valores iniciais das lipoproteínas de todos os animais que participariam do ensaio biológico. Tal procedimento não foi efetuado no presente estudo devido a possibilidade de perda dos animais após a punção cardíaca inicial, também em função de serem extremamente sensíveis a qualquer situação de estresse.

Portanto, para tentar reduzir a grande variabilidade dos dados, pode-se controlar melhor as variáveis interferentes no experimento tais como:

- Melhor controle da ingestão individual de ração;

- Ambiente adequado para os animais no período de experimento;
- Análises das lipoproteínas dos animais que participarão do experimento;
- Melhor conhecimento do comportamento e necessidades nutricionais dos animais experimentais.

6 CONCLUSÕES

- Em relação à composição centesimal dos mexilhões, as fêmeas apresentaram maior teor de lipídeos e os machos maior teor de proteínas. Esses resultados foram maiores do que os encontrados na literatura em relação à Calorias, proteínas e lipídeos;
- A ração mexilhões apresentou um maior teor de lipídeos do que as rações controle e carnes, não sendo estatisticamente diferente para os demais itens analisados.
- Os mexilhões de Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis/Sc são boas fontes de ácido graxo polinsaturado ω -3 principalmente EPA e DHA. A proporção de ácido graxos polinsaturados é maior que a de saturados (ac. Palmítico C 16:0). E ainda, os mexilhões fêmeas apresentaram maior teor de colesterol do que os machos não influenciando negativamente nos resultados obtidos;
- As rações experimentais foram hipolipídicas, hiperprotéicas e normoglicídicas não excluindo-se a importante relação com as fibras solúveis e insolúveis presentes nas dietas carnes e mexilhões; o que contribuiu para bons resultados no perfil lipídico das cobaias após o ensaio biológico;
- A composição centesimal das dietas carnes e mexilhões quanto aos micronutrientes cálcio, ferro, sódio, vitamina C e vitamina A, apresentou-se adequada de acordo com as recomendações nutricionais para dislipidemias e na prevenção de aterosclerose

(OMS/1995;AHA/2000, NCEP/1994), indicando apenas um pequeno excesso de sódio (intrínseco);

- A dieta mexilhões apresentou menores valores de colesterol e maior teor de ω -3 quando comparada à dieta carnes, bem como a quantidade de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, devido à quantidade destes nutrientes encontrados nos mexilhões que foram adicionados à dieta. Portanto, os melhores resultados encontrados para esse grupo evidenciam o efeito benéfico dos ácidos graxos polinsaturados apesar da presença de gordura saturada;

- Houve correlação entre o ganho de peso corporal e o consumo de ração pelas cobaias durante o período de experimento ou seja, o ganho de peso corporal foi proporcional ao consumo de ração pelos animais entre os grupos experimentais;

- O grupo de animais que recebeu a dieta mexilhões não apresentou diferença no perfil lipídico quanto à lipoproteína aterogênica LDL-colesterol possivelmente, devido aos efeitos benéficos do ω -3 e das fibras solúveis na redução da utilização do colesterol e gordura saturada;

- Apesar das intercorrências com a sensibilidade dos animais experimentais, a pioneira utilização e conseqüente ausência de habilidade com as cobaias, foi possível obter bons resultados com a substituição de mexilhões em dietas à base de carne bovina para

correlação com o perfil lipídico e aterosclerose, tendo as cobaias se mostrado como um animal sensível e adequado para utilização em pesquisas com lipídeos e nutrição;

- É possível, portanto, a recomendação do consumo de mexilhões como fonte de ácido graxo polinsaturado ω -3 e a incorporação destes em guias de orientações nutricionais para prevenção de doenças cardiovasculares, desde que sejam orientados em relação à quantidade e frequência de ingestão, bem como o modo de preparo deste alimento.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN OIL CHEMISTS`S SOCIETY - ACOS Ce, 1f-96, 1997.

ANDERSON, J.W.; HANNA, T.J. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. *J. Nutr.*, v. 129 (suppl.), p. 1457-1466, 1999.

ANTONIOLLI, M. A. Vida útil do mexilhão *Perna perna* (L.) processado e mantido sob refrigeração. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Ciência dos Alimentos, Universidade Federal da Santa Catarina, 1999.

ASSIS, M. A . A . Consulta de nutrição: controle e prevenção do colesterol elevado. Florianópolis: Insular, 1997. 168p.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 14 ed. Arlington, 1999. 1141p.

BERGLUND, L.; OLIVER, E.H.; FONTANEZ, N.; HOLEERAN, S.; MATTEWS, K.; ROHEIM, P.S.; GINSBERG, H.N.; RAMAKRISHNAN, R.; LEFEVRE, M. HDL-subpopulation patterns in response to reductions in dietary total and saturated fat intakes in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr., Bethesda*, v. 70, p. 992-1000, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Doenças caridovasculares no Brasil. Sistema Único de Saúde - SUS. Brasília, 36p, 1993.

CAGGIULA, A. W.; MUSTAD, V. A. Effects of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total and lipoprotein cholesterol concentrations: epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutrition, Bethesda*. v. 65, n. 5, 1997.

CHILDS, M.T.; DORSETT, KING, I.B.; OSTRANDER, J.G.; YAMANAKA, W.K. Effects of shellfish consumption on lipoproteins in normolipidemic men. *Am. J. Clin. Nutrition, Bethesda*. v. 51, n. 6, p. 1020-1027, 1990.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – COBEA. Manual para técnicos de biotério. FINAP – Escola Paulista de Medicina. São Paulo: Winner Graph, 1996. 1 ed., 220p.

COMMITTEE ON LABORATORY ANIMAL DIETS/ ASSEMBLY OF LIFE SCIENCES NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Control of diets in Laboratory animal experimentation. *Nutr. Abstr. Rev.*, Slough, v. 49, p. 413-419, 1979.

CONNOR, W.E. Importance of n-3 fatty acids in the health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 71 (suppl.), n.1, p. 171-175, 2000.

DeANGELIS, R. C., CTENAS, M.L.B. Boletim Sadia de Cuidados Nutricionais Cardiovasculares. Santa Catarina: Sadia, 1993. p.1-20.

DREON, D.M.; FERNSTOM, H.A.; WILLIAMS, P.T.; KRAUS, R.M. A very low fat diet is not associated with improved lipoprotein profile in men with a predominance of large low density lipoprotein. *Am.J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 69, p. 411-418, 1999.

FERNANDES, F .C.Mitilicultura. Parte A – Enfoque bioecológico. In: *Manual de Maricultura*. Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas da Marinha, cap. V; 24p. 1985.

FERNANDEZ, M.L. Distinct mechanisms of plasma LDL lowering by dietary fiber in the guinea pigs: specific effects of pectin, guar gum, and psyllium. *J. Heip. Res. Tucson.*, v.36, p. 2394-2404, 1995.

FERNANDEZ, M.L.; ABDEL-FATTAH, G.; McNAMARA, D.J. Dietary fat sturation modifies the metabolism of LDL subfractions in Guinea pigs. *Arterioscler.Tromb.*; v. 13; p. 1418-1428, 1993.

FERNANDEZ, M.L. ; McNAMARA, D.J. Regulation of cholesterol and lipoprotein metabolism in guinea pigs mediated by dietary fat quality and quantity. *J. Nutr.* , v. 121, p. 934-943, 1991.

FERNANDEZ, SUN, D.M.; TOSCA, M.A .; McNAMARA, D.J. Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism: A dose-response study in guinea pigs. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 59, p. 869-878, 1994.

FERNANDEZ, M.L.; VERGARA-JIMENEZ, M.; CONDE, K.; BEHR, T.; ABDEL-FATTAH, G. Regulation of apolipoprotein B-containing lipoproteins by dietary soluble fiber in guinea pigs. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 65, p. 814-822, 1997.

FERNANDEZ, M.L.; WILSON, T.A. ; CONDE, K.; VERGARA-JIMENEZ, M.; NICOLOSI, R.J. Hamsters and Guinea pigs differ in their plasma lipoprotein cholesterol distribution when fed diets varying in animal protein, soluble fiber, or cholesterol content. *J.Nutr.*, v. 129, p. 1323-1332, 1999.

FORNÉS, N.S.; MARTINS, I.S.; HERNAN, M.; VELASQUEZ-MELÉNDEZ, G.; ASCHERIO, A. . Freqüência de consumo alimentar a níveis séricos de lipoproteínas na população de Cotia, SP, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 34, n. 4, 11p, 2000.

GRIFFIN, B. A .Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. *Proc. Nutr. Soc.*, v. 58, p. 163-169, 1999.

HOLLAND, B.; WELCH, A . A .; UNWIN, I.D.; BUSS, D.H.; PAUL, A . A .; SOUTHGATE, D. A . T. McCance and Widdowson's. *The Composition of Foods*. Cambridge. 50^a ed. *Royal Society of Chemistry Ministry of Agriculture, Fisheries and Food*, 1994. 462p.

HU, F.B.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; ASCHERIO, A .; COLDITZ, G.^a; SPEIZER, F.E.; HENNERENS, C.H.; WILLETT, W.C. Dietary saturated fats and their

food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am. J. Clin. Nutr., Bethesda*, v. 70, p. 1001-1008, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 3ed., São Paulo, 1985, v. 1, 533p.

JENKINS, D. J. A .; POPOVICH, D.G.; KENDAL, C.W.C.; VIDGEN, E.; TARIG, N.; RANSON, T.P.P; WOLEVER, T.M.S.; VUKSAN, V.; MEGLING, C.C.; BOCTOR, D.L.; BOLOGNESI, C.; HUANG, J.; PATTEN, R.. Effect of a diet high in vegetables, fruit and nuts on serum lipids. *Metabolism*, v. 46, n. 5, p. 530-537, 1997.

JONES, P.J.H.; NTANIOS, F.Y.; RAEINI-SARTAZ, M.; VANSTONE, C.A .Cholesterol-lowering efficacy of a sistanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *Am. J.Clin. Nutr., Bethesda*, v. 69, p. 1144-1150, 1999.

KAFATOS, A. ; DIACATOU, A. ; VOUKIKIARIS, G.; NIKOLAKAKIS, N.; VIACHONIKOLIS, J.; KOUNALI, D.; MAMALAKIS, G.; DONTAS, A . S. Heart disease risk-factor status and dietary changes in the Cretan population over the past 30 y: Seven Countries Study. *Am. J. Clin. Nutrition, Bethesda*. v. 65, n. 6, 1997.

KAMATH, S.K.; HUSSAIN, E.A .; AMIN, D.; MORTILLARO, E.; NUEST, B.; PETERSON, C.T.; ARYEE, F.; MURILLO, G.; ALEKEL, D.L. Cardiovascular disease risk factors in 2 distinct ethnic groups: Indian and Pakistani compared with American premenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr., Bethesda*, v. 69, p. 621-631, 1999.

KING, I.; CHILDS, M.T.; DORSETT, C.; OSTRANDER, J.G.; MONSEN, E.R. Shellfish: proximate composition, minerals, fatty acids, and sterols. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, Washington, v. 75, n.2, p.221-232, 1983.

KRIS -ETHERTON, P.M.; PEARGON, T.A . ; WAN, Y.; HARGRONE, R.L.; MORIARTY, K.; FISHELL, V.; ETHERTON, T.D. *Am. J. Clin. Nutr., Bethesda*, v. 70, p. 1009-1015, 1999.

LAMPE, J. W. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am. J. Clin. Nutr.* , Bethesda, v. 70 (suppl.), p. 475-490, 1999.

LIN, E.C.K.; FERNANDEZ, M.L.; McNAMARA, D.J. Dietary fat type and cholesterol quantity interact to affect cholesterol metabolism in Guinea pigs. *J. Nutr.*, v. 122, p. 2019-2029, 1992.

LOTUFO, P.A .; LOLIO, C. A .Tendência de evolução da mortalidade por doenças cardiovasculares: o caso do estado de São Paulo. In: MONTEIRO, C.A . Velho e novos males da saúde no Brasil – A evolução do país e de suas doenças. São Paulo: HUCITEC-NUPENS/USP, 1985, p. 279-288.

MAGALHÃES, A . R. M. Teor de proteínas do mexilhão *Perna perna* (Linné, 1758) em função do ciclo sexual. São Paulo:USP, 1985. 177p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1985.

MAHAN, K.L.; ARLIN, M.T. Lipídeos. In: MAHAN, K.L.; ARLIN, M.T. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia. 8^a ed. São Paulo: Roca, 1994. P. 45-46.

_____, _____. Nutrição na doença aterosclerótica cardiovascular. In: MAHAN, K.L.; ARLIN, M.T. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia. 8^a ed. São Paulo: Roca, 1994. P. 377-408.

MANUAL PARA TÉCNICOS EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO. Capacitação de Pessoal de níveis elementar e médios em biotérios – CPNEMB. Departamento de Biotério/BIO – Manguinho, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1994, 132p.

MAYES, P.A. Transporte e armazenamento de lipídeos. In: MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P.A; RODWELL, V. W. Harper: bioquímica. São Paulo: Atheneu, 1994. P. 245-61.

McNAMARA, D.J.; KOLB, R.; PARKER, T.S.; BATWIN, H.; SAMUEL, P.; BROWN, C.D.; AHRENS Jr, E.H.; Heterogeneity of cholesterol homeostasis in man. *J. Clin. Invest.*, New York, v.79, p. 1729-1739, 1999.

MEDEIROS, K.J. ; TRAMONTE, V.L.C.G. Determinação do teor de zinco de mariscos e ostras de Santa Catarina. *Anais do VI Seminário Catarinense de Iniciação Científica da UFSC, Florianópolis/SC*, 1996.

MEDEIROS, K.J.; TRAMONTE, V.L.C.G. Biodisponibilidade de zinco de mariscos da região de Florianópolis,SC. *Anais do VII Seminário de Iniciação Científica da UFSC, Florianópolis/SC, 1997.*

MENDES, M. H. M.; DERIVI, S.C.N.; RODRIGUES, M. C. R.; FERNANDES, M. L. Tabela de Composição de Alimentos. EDUFF (Universidade Federal Fluminense), Niterói, Rio de Janeiro, 1995. 13p.

METZ, J.A . ; KRIS-ETHERTON , P. M.; MORRIS, C.D.; MUSTAD, V.A .; STERN, J.S.; OPARIL, S.; CHAIT, A.; HAYNES, R.B.; RESNICK, L.M.; CLARK, S.; HATTON, D.C.; McMAHON, M.; HOLCOMB, S.; SNYDER, G.W.; PI-SUNYER, F.X.; McCARRON, D.A. Dietary compliance and cardiovascular risk reduction with a prepared meal plan compared with a self-selected diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.66, n.2, p. 373-385, 1997.

MEYDANI, M.Omega-3 fatty acids alter soluble markers of endothelial function in coronary heart disease patients. *Nutr. Rev.*, v. 58, n.2, p. 56-59, 2000.

MICHELON, E.; MORIGUGHI, E. Dislipidemias. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 56, p. 117-129, 1999.

MOLYNEAUX, M.; LEE, C.M. The U.S Market for marine nutraceutical products. *Food Technology*, v. 52, n.6, p. 56-57, 1998.

MULLER, M.S.; CORNELSEN, J.M. Normas para teses, dissertações e monografias. Londrina:UEL, 2 ed., 1999, 52p.

MURPHY, M.G.; WRIGHT, V.; ACKMAN, R.G.; HARACKOVA, M. Diets enriched in menhaden fish oil, seal oil, or shark liver oil have distinct effects on the lipid and fatty-acid composition of guinea pig heart. *Mol. Cel. Biochem.*, canada, v. 177, p. 257-269, 1997.

MURPHY, M. G.; WRIGHT, V.; SCOTT, J.; TIMMINS, A.; ACKMAN, R.G. Dietary menhaden , seal, and oils differentially affect lipid and ex vivo eicosanoid and thiobarbituric acid-reactive substance generation in the Guinea pig. *Lipid*, v. 34, n.2, p. 115-124, 1999.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM. Second report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation*, v. 89, n.3, p. 1364-1384, Mar. 1994.

NAWAR, W. W. Lipídeos. In: FENNEMA, O . R. Química de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1993. P. 157-274.

NINIKOSKI, H.; KOSKINEN, P.; PUNNONEN, K.; SEPPANEN, R.; VIKARI, J.; RONNEMAA, K.I.; SIMELL, O. Intake and indicators of iron and zinc status in children consuming diets low in saturated fat and cholesterol: the STRIP baby study. *Am. J. Clin. Nutrition, Bethesda*. v. 66, n. 3, 1997.

O'DEA, K.; SINCLAIR, A .J. Increased proportion of arachidonic acid in plasma lipids after 2 weeks on a diet of tropical seafood. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 36, p. 868-872, 1982.

ORNISH, D.; BILLINGS, J.H.; ARMSTRONG, W.T.; PORIS, T.A.; MCLANAHAN, S.M.; KIRKEEIDE, R.L.; BRAND, R.J.; GOULD, K.L. Can lifestyle changes coronary disease? *Lancet*. v. 336, p. 129-133, 1990.

OLIVEIRA e SILVA, E.R.; SEIDMAN, C.E.; TIAN, J.J.; HUDGINS, L.C.; SACKS, F.M.; BRESLOW, J.L. Effects of shrimp consumption on plasma lipoproteins. *Am. J. Clin. Nutrition, Bethesda*. v . 64, n. 5, p. 712-717, 1996.

PIGOTT, G.M.; TUCKER, B.W. Seafood: Effects of Tecnology on Nutrition. New York: Marcel Dekker, 1990. 331p.

PUPPIONE, D.L.; SARDET, C.; YAMANAKA, W.; OSTWALD, R.; NICHOLS, A. V. *Biochem. Viophys. ACTA*, p. 231-295, 1971.

RAMIREZ-TORTOZA, C.; LOPEZ-PEDROZA, J.M.; SUAREZ, A . ; ROS, E.; MATAIX, J.; GIL, A . Olive oil and fish enriched diets modify plasma lipids and susceptibility of LDL to oxidative modification in free-living mate patients peripheral vascular disease: the Spanish Nutrition Study; *Brit. J. Nutr.*, v.82, p.31-39, 1999.

RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCES, 10 a ed., c. 1989. National Academy of Sciences, Washington.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. JR.. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee the reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. J. Nutr., v. 123, p. 1939-1951.

ROCHE, H.M. Dietary carbohydrates and triacylglycerol metabolism. Proc. Nutr. Soc., v. 58, p.201-207, 1999.

ROSA, R. C. C. O impacto do cultivo de mexilhões nas comunidades pesqueiras de Santa Catarina. Florianópolis, 1997. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

ROUTLEDGE, E.A . B.; SILVEIRA JR., N., BROGNOLI, F.F.; SILVA, F.C. Desenvolvimento de cultivo larval de mexilhão *Perna perna* (Linné, 1758). In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, Lagoas – MG (resumo), 1996.

SATO, K.; TAKAHASHI, Y.; SHIONO, H.; KOTOH, N.; AKIBA, Y. Preparation of chylomicrons and VLDL with monoacid-rich triacylglycerol and characterixation of kinetic parameters in lipoprotein lípase-mediated hydrolysis in chickens. J. Nutr., v. 129, p. 126-131, 1999.

SCHAEFER, E. J. Effects of dietary fatty acids on lipoproteins and cardiovascular disease risk: summary. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 65 (suppl), n.5, p. 1655-66, 1997.

SEAFOOD SAVVY, NY Sea Grant /Cornell Cooperative Extension Bulletin 104IB226, 1992.

SHEFER, S. L.; NGUYEN, B.; SALEN, G.; NESS, C.; CHOWDHARY, I.R.; LERNER, S., BATA, A .K. & TINT, G.S. Differing effects of cholesterol and taurocholate on steady state hepatic HMG-CoA reductase and cholesterol 7 α -hydrolase activities and mRNA levels in the rat. *J. Lipid. Res.* v.33, p.1193-1200, 1992.

SISCOVICK, D.S.; RAGHUNATHAN, T.E.; KING, I.; WEINMANN, S.; BOVBJERG, V.E.; KUSHI, L.; COBB, L.A .; COPASS, M.K; PSATY, B.M; LEMAITRE, R.; RETZLAFF, B.; KNOPP, R.H. Dietary intake of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v. 71, p. 208-212, 2000.

SMITH, D.R. Animal models: nutrition and lipoprotein metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.*, v. 9, n. 1, p. 3-6, 1998.

SULLIVAN, P.M.; CERDA, J.J.; ROBBINS, F.L.; BURGIN, C.W.; BEATTY, R.J. The gerbil, hamster and guinea pigs as rodent models for hyperlipidemia. *Laboratory Animal Science, Florida*, v. 43, n. 6, p. 575-578, 1993.

SUPLICY, F.M. Ensaio sobre a depuração do mexilhão Perna perna (L.,1758). Florianópolis, 1998. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

THOMSON, A .B.; HOTKE, C. A .; O'BRIEN, B.D.; WEINSTEIN, W.M. Intestinal uptake of fatty acids and cholesterol in four animals species and man: role of unstirred water layer and bile salt micelle. *Lab.Anim.Sci*,v. 30, n. 2, p. 174-179, 1980.

TORRES, I.C. ; MIRA, L.; ORNELAS, C.P.; MELIN, A . Study of effects of dietary fish intake on serum lipids and lipoproteins in two populations with different dietary habits. *Brit. J. Nutr.*, v. 83, p. 371-379, 2000.

USDA – United States Department Agriculture, 1987. <http://www.usda.gov>

VAHOUNY, G.V.; CONNOR, W.E.; ROY, T.; LIN, D.S.; GALLO, L.L. Lymphatic absorption of shellfish sterols and their effects on cholesterol absorption. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.34, p.507-513, 1981.

VAN TOL, A .; VAGENT, T.; SCHEEK, L.M; GROENER, J.E.M.; SASSEN, L.M.A .; LAMERS, J.M.J.; VERDOUW, P.D. Lipoproteins structure and metabolism during progression and regression of atherosclerosis in pigs fed with fish oil-derived fatty acids. *Adv. Exp. Med. Biol. New York*, v.285, p. 417-421, 1991.

VISENTAINER, J.V.; CARVALHO, P.O.; IKEGARI, M.; PARK, Y.K.
Concentração de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. *Ciência e tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.20, n.1, p. 90-93, 2000.

WARDLAW, G.M.; INSEL, P.M. Lipídeos. In: WARDLAW, G.M.; INSEL, P.M. Perspectives in nutrition. 3^a ed. EUA: Mosby-Year Book, 1995. P.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: technical report series 797, Geneve: WHO, 1990, p.55.