



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

# FITOESTERÓIS E OS BENEFÍCIOS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS: UMA REVISÃO

**Manuela Cristina Breda**

**Orientador: Dra. Amélia Teresinha Henriques**

**Co-orientador: Ms. Rafaela Marin**

**Porto Alegre**

**2010**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

## FITOESTERÓIS E OS BENEFÍCIOS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS: UMA REVISÃO

Trabalho de Conclusão de Curso da  
Disciplina de Conclusão do Curso de  
Farmácia

Profa. Dra. Amélia Teresinha Henriques  
Orientadora

**Porto Alegre**  
**2010**

## RESUMO

Os alimentos funcionais ou formas farmacêuticas que apresentam em sua composição fitoesteróis têm sido utilizados para a prevenção e redução de sintomas provocados por doenças relacionadas ao envelhecimento. O uso destes compostos é mais frequente para o tratamento de dislipidemias, uma vez que está cientificamente comprovado que os fitoesteróis promovem a redução dos níveis de colesterol. Estes compostos químicos também podem ser usados em associação com medicamentos hipocolesterolemiantes como as estatinas, para tornar mais eficaz a redução que seria obtida com o uso exclusivo desses medicamentos. O consumo de produtos enriquecidos com fitoesteróis é incentivado pelas indústrias farmacêuticas e alimentícias. No entanto, os resultados dos estudos científicos que evidenciam o uso dos fitoesteróis como agentes terapêuticos para inúmeras patologias, muitas vezes são negligenciados ao consumidor. Desta forma, ao consumidor é transmitida uma idéia supervalorizada da eficácia dos fitoesteróis nos tratamentos das patologias propostas, fazendo que este se sinta intimado a adquirir tais produtos, independentemente dos preços a eles atribuídos. A idéia central do trabalho é, portanto, avaliar se há um embasamento científico que comprove, através dos aspectos relacionados à eficácia e segurança, o emprego disseminado pela mídia dos fitoesteróis. Por isso, o presente trabalho analisou as publicações científicas recentes que argumentam o uso dos compostos fitoesteróis (esteróis e/ou estanois) como potenciais agentes redutores dos níveis de colesterol total e colesterol LDL e como terapia de prevenção de doenças cardíacas. Analisou ainda a indicação do uso de fitoesteróis como potenciais agentes quimiopreventivos. A ação desses compostos sobre o estresse oxidativo, o qual está relacionado ao desenvolvimento da aterosclerose, é também apresentada no trabalho.

**Palavras-chave:** Fitoesteróis. Fitoestanois. Colesterol. Doenças cardiovasculares. Cânceres. Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

Functional foods or dosage forms that present phytosterols in their composition have been used to prevent and decrease symptoms caused by diseases related to elderly. The use of these compounds is more often in the treatment of dyslipidemia, since it is scientifically proved that phytosterols can lead to reduction of cholesterol levels. These phytochemical compounds can also be used in association with hypocholesterolemic agents such as statins, to improve the reduction that would be reached only with the use of medicines. The consume of products enriched with phytosterols is motivated by pharmaceutical and food industries that use the media to advertise such products. However, results of scientific studies which showed the use of phytosterols as therapeutical agents for several pathologies, many times are neglected from consumers. This way, an overrated efficacy of phytosterols in the treatments of mentioned pathologies is transmitted to the consumers, what intimidates them to purchase such products not taking into account their prices. The main purpose of this work is to evaluate if there is a scientific base that proves the disseminated use of phytosterols by media through aspects related to efficacy and safety. Thus, the present study analyzed the scientific reports that support the use of phytosterols (sterols and/or stanols) as potential reducing agents of total and LDL cholesterol levels like a therapy to prevent heart diseases. It was also analyzed the use of phytosterols as chemical preventive agents. The action of these compounds about oxidative stress, which is related to the development of atherosclerosis, is also presented in this review.

**Keywords:** Phytosterols. Phytostanols. Cholesterol. Heart diseases. Cancers. Oxidative stress.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA DA PESQUISA</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>FITOESTERÓIS</b> .....	<b>9</b>
3.1	DISTRIBUIÇÃO VEGETAL E PRINCIPAIS FONTES DE OBTENÇÃO .....	9
3.2	BIOSSÍNTESE VEGETAL, CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA E PRINCIPAIS FUNÇÕES .....	9
3.3	O USO COMO AGENTES TERAPÊUTICOS .....	12
3.3	A ABSORÇÃO .....	17
3.4	FITOESTEROLEMIA OU SITOSTEROLEMIA: UMA DOENÇA RARA QUE INTERFERE NA ABSORÇÃO DOS FITOESTERÓIS .....	18
3.5	OS POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO DOS FITOESTERÓIS .....	20
3.6	A ASSOCIAÇÃO DOS FITOESTERÓIS COM OS MEDICAMENTOS ESTATINAS .....	22
3.7	A EFICÁCIA DOS FITOESTERÓIS COMO AGENTES REDUTORES DOS NÍVEIS DE COLESTEROL TOTAL E COLESTEROL LDL .....	26
3.8	OS EFEITOS DOS FITOESTERÓIS NAS CONCENTRAÇÕES LIPÍDICAS DE PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 .....	30
3.9	OS EFEITOS DOS FITOESTERÓIS SOBRE OS ANTIOXIDANTES LIPOSSOLÚVEIS .....	31

<b>4</b>	<b>O USO DOS FITOESTERÓIS NA PREVENÇÃO DE CÂNCERES .....</b>	<b>33</b>
4.1	OS MECANISMOS DE AÇÃO DOS FITOESTERÓIS NA PREVENÇÃO DE CÂNCER .....	33
4.2	FITOESTERÓIS E A PREVENÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE CÂNCERES ESPECÍFICOS .....	35
4.2.1	Fitoesteróis e o câncer de cólon .....	35
4.2.2	Fitoesteróis e o câncer de mama .....	38
4.2.3	Fitoesteróis e o câncer de próstata .....	38
<b>5</b>	<b>FITOESTERÓIS E O ESTRESSE OXIDATIVO .....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>44</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A prevenção e o tratamento de doenças cardiovasculares são questões preocupantes em saúde pública, uma vez que, o aumento da expectativa de vida da atual sociedade, fatores relacionados aos hábitos alimentares, sedentarismo, obesidade, entre outros, são fatores responsáveis pelo aumento da incidência dessas doenças na população.

Na década de 50, demonstrou-se que os fitoesteróis presentes na soja poderiam ser usados para reduzir os níveis séricos de colesterol (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008). Desde então, pesquisas buscando dar embasamento para possíveis terapias e o desenvolvimento de produtos para esta finalidade, de maneira eficaz e segura, tem sido frequentes (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Estudos atuais têm demonstrado que os fitoesteróis podem ser usados com fins terapêuticos para a prevenção de outras doenças além das referentes ao sistema cardíaco e que, em geral, também acometem a população idosa, uma vez que estão relacionadas ao envelhecimento. Assim, o câncer e outras doenças relacionadas ao estresse oxidativo são exemplos de abordagens terapêuticas que tem despertado o interesse para o uso dos compostos fitoesteróis (RUDKOWSKA, 2010).

Com isso, os fitoesteróis passaram a ser indicados para a prevenção de algumas patologias relacionadas ao sistema cardíaco. Comercializados em formas farmacêuticas ou incorporados em alimentos, esses compostos também têm sido indicados em associação com medicamentos hipocolesterolemiantes, como as estatinas, uma vez que foi observado efeito sinérgico positivo nesta associação. Além disso, os efeitos adversos e desvantagens da monoterapia medicamentosa são, em geral, amenizados nesses casos (EUSSEN et al., 2010).

Os produtos desenvolvidos com fitoesteróis pelas indústrias farmacêuticas e alimentícias são muitas vezes comercializados de forma a despertar no consumidor a crença de que o uso dos mesmos não promova nenhum malefício à sua saúde, uma vez que estes compostos são de origem vegetal. Além disso, a mídia utiliza-se de resultados de estudos para incentivar o consumo desses produtos de uma forma supervalorizada, não revelando de forma concreta os dados evidenciados em

estudos clínicos prometem ao consumidor uma melhora expressiva ou prevenção de patologias. Ao consumidor, por sua vez, são negligenciados os aspectos relacionados à eficácia e segurança do uso desses compostos. Por isso, esse trabalho busca avaliar se o uso de fitoesteróis para a prevenção de doenças cardiovasculares e cânceres é argumentado por evidências científicas demonstradas em estudos.

Devido a essas observações, o presente trabalho tem como objetivo primário analisar as publicações científicas recentes que argumentam o uso dos compostos fitoesteróis (esteróis e/ou estanois) como potenciais agentes redutores dos níveis de colesterol total e colesterol LDL, relacionados à prevenção de doenças cardiovasculares, assim como agentes preventivos de cânceres. Aspectos relacionados à eficácia, segurança, e relação risco-benefício observada pelo uso dos fitoesteróis, serão os fatores decisivos para a sustentação de que os usos indicados para estes compostos estejam embasados nas evidências clínicas mais recentes.

## 2 METODOLOGIA DA PESQUISA

A importância do presente trabalho reside na comprovação, através de embasamento científico, de que os fitoesteróis podem ser usados como agentes terapêuticos para a prevenção de doenças cardiovasculares e cânceres. O uso de produtos que contêm fitoesteróis é bastante disseminado pela mídia, assim a investigação científica mostra-se relevante para comprovar se o seu uso condiz com as indicações propostas pelas indústrias farmacêuticas e alimentícias.

Para o presente trabalho realizou-se uma pesquisa nas bases de dados PubMed, SCOPUS e Science Direct, buscando por artigos que abordassem a temática proposta e que fossem fundamentados em pesquisas recentes – artigos referentes ao período entre 1990 e 2010. As palavras-chave utilizadas na busca dos artigos foram as seguintes: phytosterols, plant sterols, plant stanols, beta-sitostanol, beta-sitosterol, stigmasterol, em associação a hypercholesterolemia, heart disease, cancer, anticancer activity. Outras formas de referências também foram utilizadas para a elaboração desta revisão, como sites de órgãos reguladores e livros. Somente foram incluídos na revisão aqueles artigos que apresentavam dados pertinentes à temática abordada e que, de alguma forma, mostrassem resultados significativos nos estudos pré-clínicos e clínicos neles relatados.

### 3 FITOESTERÓIS

#### 3.1 DISTRIBUIÇÃO VEGETAL E PRINCIPAIS FONTES DE OBTENÇÃO

Os fitoesteróis têm ocorrência abundante em vegetais, inclusive nas espécies marinhas (CLIFTON, 2002). Podem ser encontrados em alimentos ricos em lipídios como nozes, amendoins, sementes de gergelim, além de legumes, frutas e grãos, em geral (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008). No entanto, as principais fontes de obtenção são as frações insaponificáveis de óleos vegetais, dentre os quais se destacam os óleos de soja, canola e girassol. A maioria dos óleos contém de 100-500mg de fitoesteróis/100g de óleo, sendo estes observados tanto na sua forma livre quanto esterificada. O óleo de soja contém 327 mg de fitoesteróis/ 100g de óleo, enquanto que o óleo de canola mostra uma concentração destes compostos duas vezes maior que a observada para o óleo de soja, correspondendo a 500 – 1100 mg fitoesteróis/100 g de óleo (média de 750 mg fitoesteróis/100 g de óleo). Os fitoesteróis correspondem a 30 - 60% da matéria insaponificável desses óleos, sendo o fitosterol  $\beta$ -sitosterol o composto presente em maior abundância, representando de 50 a 80% do conteúdo de óleo (ITO, 2007).

#### 3.2 BIOSÍNTESE VEGETAL, CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA E PRINCIPAIS FUNÇÕES

Os fitoesteróis são esteróis compostos por 27 a 29 átomos de carbono e estruturalmente semelhantes ao colesterol (C-27), diferenciando-se deste pelas configurações no núcleo ou na cadeia lateral ou, ainda, pelos seus grupos polares. As modificações geralmente estão relacionadas à adição de substituintes alquil tais como metil e etil, ou à inserção da dupla ligação nas posições C-24 ou C-22 (YANKAH, 2006). A figura 1 representa a estrutura molecular geral dos fitoesteróis.

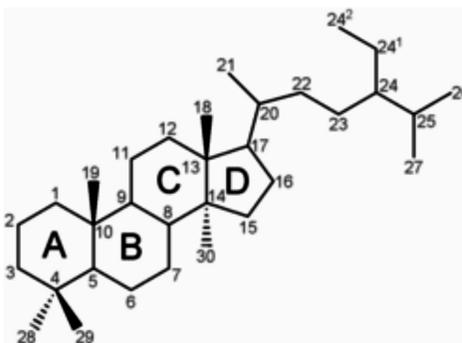


Figura 1: Estrutura molecular geral dos fitoesteróis.

A biossíntese dos fitoesteróis ocorre através da via metabólica que tem início na redução da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) ao mevalonato (YANKAH, 2006). A biossíntese destes compostos compartilha as mesmas reações observadas para a síntese dos terpenóides, uma vez que o triterpenóide escaleno é um intermediário comum nas duas vias metabólicas (ROBBERS, 1997).

Quimicamente, os fitoesteróis são subdivididos, em três grupos, de acordo com a sua estrutura química e biossíntese: esteróis 4-desmetil, esteróis 4 $\alpha$ -monometil e esteróis 4,4-dimetil. A subclasse mais abundante, a qual é atribuído o principal efeito hipocolesterolêmico, é a de esteróis 4-desmetil, que possui o  $\beta$ -sitosterol, campesterol e estigmasterol como principais representantes (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Os fitoesteróis também podem ser classificados de acordo com a presença ou ausência de insaturações, o que os subdivide em esteróis ou estanois, respectivamente. Na figura 2 estão representadas exemplos de estruturas dos estanois: sitostanol, campestanol e dos esteróis estigmasterol, campesterol e  $\beta$ -sitosterol. Quanto à origem, os estanois têm distribuição natural pouco observada, sendo, portanto, obtidos a partir do processo de hidrogenação dos esteróis ou por síntese. Um dos exemplos a ser citados é a saturação de fitoesteróis através de processos comerciais de hidrogenação, incluindo a saturação da dupla ligação do sitosterol e campesterol na posição 5 $\alpha$  do anel carbônico, a qual resulta na obtenção dos compostos fitoestanois, sitostanol e campestanol (CLIFTON, 2002).

A semelhança dos fitoesteróis ao colesterol não se deve somente aos seus aspectos estruturais, mas também ao fato destes compostos químicos exercerem nas plantas funções básicas similares às desempenhadas pelo colesterol em células animais. A função primária dos fitoesteróis está relacionada à sua capacidade de

interferir na fluidez da membrana vegetal e na sua permeabilidade à água (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008). Além disso, também são responsáveis pela estabilização da membrana, assim como apresentam um papel importante na sua rigidez, uma vez que esta mostra-se dependente da relação esteróis/fosfolípidos. Podem-se citar ainda sua ação como hormônios vegetais ou seus precursores (YANKAH, 2006).

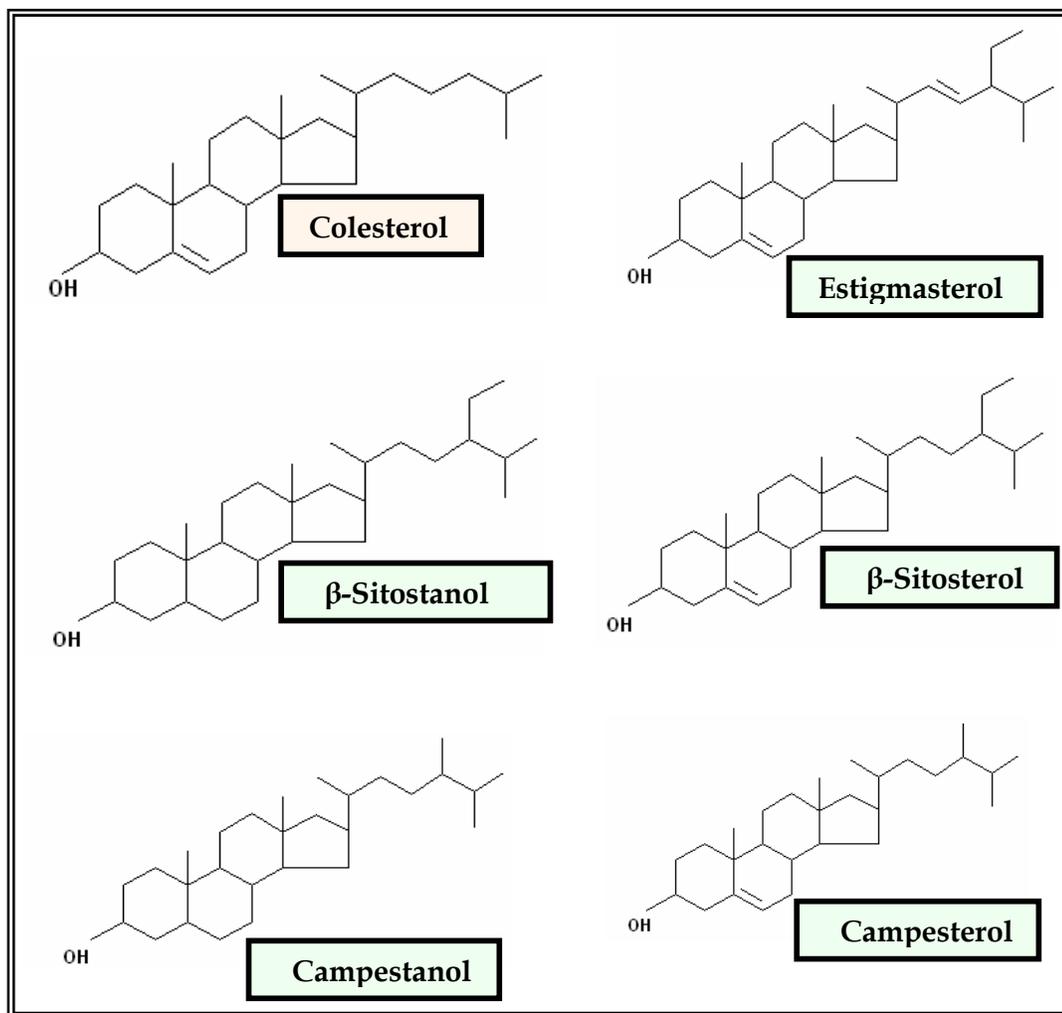


Figura 2: Estruturas moleculares do esterol animal – Colesterol - e dos principais compostos Fitoesteróis saturados e insaturados presentes nas plantas.

### 3.3 O USO COMO AGENTES TERAPÊUTICOS

A manutenção de níveis plasmáticos baixos de colesterol LDL em humanos é importante, pois o LDL elevado é o principal fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Intervenções dietéticas e farmacêuticas vêm sendo utilizadas com esse propósito ao longo de anos (YANKAH, 2006).

O uso de fitoesteróis com propósitos terapêuticos tem sido realizado através da ingestão de alimentos funcionais, produtos industrializados aos quais são incorporadas essas substâncias ou através da ingestão de formas farmacêuticas. Na forma livre, apresentam-se na forma de pós e devido à estrutura cristalina e à solubilidade limitada, por isso estes compostos precisam passar por processos prévios de homogeneização e emulsificação antes de serem incorporados aos alimentos (OLAGNERO, 2010). No entanto, a utilização na indústria alimentícia não teve sucesso devido a fatores relacionados à dose necessária e à palatabilidade desses compostos (SALO; WESTER, 2005). Quando esterificados com ácidos graxos, os fitoesteróis tem a sua solubilidade aumentada, o que permite a sua adição em alimentos gordurosos como derivados lácteos, margarinas e óleos (OLAGNERO, 2010).

A incorporação dos fitoesteróis em alimentos gordurosos, no entanto, vem sendo questionada ao longo dos anos, uma vez que o consumo desse tipo de alimentos não é indicado pelas diretrizes de saúde propostas para o tratamento de doenças cardiovasculares em indivíduos que apresentam hipercolesterolemia. Além disso, há a necessidade de longo tempo de consumo destes alimentos para que sejam observados benefícios expressivos (RUDKOWSKA, 2010).

Estudos recentes estão sendo desenvolvidos com o intuito de avaliar a eficácia dos esteróis ou estanois quando incorporados em produtos alimentares que apresentem menor teor de gordura. Além disso, a comunidade científica busca comprovar que a eficácia dos fitoesteróis na redução dos níveis de colesterol é independente da matriz alimentar utilizada. Em uma análise de três estudos clínicos que testaram três produtos diferentes - refeições prontas à base de carne, massa de trigo duro e iogurte líquido de baixo teor de gordura – aos quais foram incorporados ésteres de estanois, verificaram-se reduções significativas dos níveis séricos de colesterol total e colesterol LDL quando comparados aos obtidos para os grupos de

controle. As principais reduções observadas corresponderam a 6,8% ( $p<0,001$ ) no colesterol total e a 10,1% ( $p<0,01$ ) no colesterol LDL para o estudo cujo produto de análise eram as refeições prontas à base de carne; a 8,0% ( $p=0,01$ ) no colesterol total e a 10,9% ( $p=0,01$ ) no colesterol LDL para o estudo em que o produto avaliado era a massa de trigo duro; e a 10,4% ( $p<0,001$ ) no colesterol total e a 12,6% ( $p<0,001$ ) no colesterol LDL para o estudo no qual o produto era o iogurte líquido com baixo teor de gordura. Para todos os estudos avaliados, no entanto, nenhuma modificação foi observada em relação às concentrações de colesterol HDL e de triglicérides. A partir da análise desses ensaios demonstrou-se que, com o processo de esterificação dos estanois, as matrizes alimentares não precisam ter necessariamente uma composição gordurosa para serem efetivos produtos de transferência de fitoesteróis (SALO; WESTER, 2005).

Os dados do estudo supracitado que avaliou a eficácia dos esteróis/estanois quando incorporados em matrizes alimentares diferentes são apresentados no Quadro 1.

<b>Base de incorporação do</b>	<b>Número de amostra (n)</b>	<b>Idade média</b>	<b>Duração do estudo</b>	<b>Dose/ refeição</b>	<b>Redução do nível de colesterol LDL</b>
Ésteres de estanois incorporados em refeições prontas à base de carne.	60	20-65 anos	3 semanas	2g estanois/ refeição	Correspondente a 10,1% ( $p<0,01$ ).
Ésteres de estanois incorporados em massas de trigo duro.	40	20-65 anos	8 semanas	2g estanois/ refeição	Correspondente a 10,9% ( $p<0,01$ ).
Ésteres de estanois incorporados em iogurte líquido de baixo teor de gordura.	40	20-65 anos	8 semanas	2g estanois/ embalagem	Correspondente a 12,6% ( $p<0,001$ ).

Quadro 1: Resultados observados para os estudos clínicos randomizados, duplo-cegos e paralelos que avaliaram a eficácia da incorporação dos estanois na redução dos níveis de colesterol LDL ao comparar três matrizes alimentares diferentes. (SALO; WESTER, 2005).

Miettinen et al. (1995) realizaram um estudo duplo-cego de 12 meses de duração com 153 indivíduos que apresentavam hipercolesterolemia leve a fim de testar a aceitação e os efeitos sobre a redução dos níveis plasmáticos de colesterol LDL devidos o consumo de margarina enriquecida com éster de sitostanol. Os voluntários da pesquisa foram selecionados de forma randomizada, sendo que a 51 indivíduos foi fornecida a margarina sem incorporação de sitostanol (grupo controle) e aos outros 102 participantes foi administrada a margarina com sitostanol cujas doses desse composto correspondiam a 1,8g/dia ou a 2,6g/dia. Quanto à comparação em relação ao sabor da margarina sem a incorporação de sitostanol *versus* a margarina enriquecida com sitostanol, voluntários da pesquisa conseguiram perceber a diferença de sabor entre as margarinas, mas, no entanto, não houve um consenso de qual margarina apresentava um sabor mais agradável aos mesmos.

Em relação ao efeito redutor dos níveis de colesterol, o grupo que foi tratado com a margarina enriquecida com sitostanol demonstrou uma redução do nível sérico de colesterol total correspondente a 10,2% em relação ao aumento de 0,1% observado para o grupo controle. As reduções do nível de colesterol LDL, por sua vez, corresponderam, respectivamente, a 14,1% no grupo que consumiu a margarina enriquecida com sitostanol e a 1,1% no grupo controle. Os níveis séricos de triglicérides e colesterol HDL mostraram-se inalterados pelo tratamento com a margarina enriquecida com sitostanol. Entre os dois grupos que receberam a margarina com sitostanol, observou-se uma pequena, mas significativa, tendência de melhora dos níveis de colesterol LDL para o grupo que consumiu 2,6g/dia de sitostanol. Os valores correspondentes à redução dos níveis de colesterol LDL para esses grupos após 12 meses de tratamento eram de 138mg/dL para o grupo que consumia 1,8g de sitostanol por dia e de 134mg/dL para o grupo que consumia 2,6g de sitostanol por dia. A substituição do consumo de alimentos gordurosos por margarina enriquecida com sitostanol para pacientes com hipercolesterolemia leve mostrou, portanto, ser uma adequada estratégia para a redução dos níveis séricos de colesterol (MIETTINEN et al., 1995).

O Conselho responsável pelo tratamento adulto, do Programa Americano de Educação do Colesterol, indica que o consumo diário de fitoesteróis deve corresponder a 2g/dia e estar associado a outras mudanças de hábitos alimentares a fim de promover a adequada redução dos níveis de colesterol LDL. O Conselho estabelece que o consumo diário de 2 a 3g de ésteres de estanois ou esteróis seja

responsável por uma redução do nível de colesterol LDL equivalente a 6-15% (EUSSEN et al., 2010; EXPERT, 2002).

Conforme avaliação de uma meta-análise que envolveu 41 ensaios clínicos realizados com vários alimentos enriquecidos com fitoesteróis e cujo tempo de tratamento variava entre 1,4 semanas a 52 semanas, Katan *et al.* (2003) demonstraram que o consumo diário de 2g/dia de fitoesteróis promove uma redução correspondente a 10% do nível de colesterol LDL (KATAN et al., 2003).

Apesar da diferença observada nos resultados obtidos para a redução dos níveis de colesterol LDL, há um consenso bastante determinante, na maior parte dos artigos analisados nesse trabalho, de que o consumo diário de fitoesteróis recomendado deve corresponder a 2g/dia. Acredita-se que o consumo de doses superiores à recomendada não melhore a eficácia dos fitoesteróis quanto à redução dos níveis de colesterol, além de poder ser responsável pelo desencadeamento de efeitos adversos, com exceção no caso do uso de estanois, uma vez que a sua absorção é praticamente negligenciável (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Conforme Rudkowska (2010) um estudo evidenciou que os fitoesteróis são mais efetivos como agentes redutores dos níveis de colesterol quando consumidos com dietas de alto teor de gordura. Nesse estudo, AbuMweis, Barake e Jones (2008) demonstraram que esteróis/estanois incorporados em margarinas/geléias, maionese e molhos para saladas ou em leite e iogurte reduziram os níveis de colesterol LDL de forma mais pronunciada que a observada para outras matrizes alimentares. Comparados ao controle, os níveis de colesterol LDL foram reduzidos a 0,33mmol/L (95% CI, -0,38 a -0,28) para as margarinas/geléias, a 0,32 mmol/L (95% CI, -0,40 a -0,25) para a maionese e molhos para saladas, a -0,34mmol/L (95% CI, -0,40 a -0,28) para leite e iogurte e a 0,20mmol/L (95% CI, -0,28 a -0,11) para outras matrizes alimentares (ABUMWEIS; BARAKE; JONES, 2008).

No entanto, outro estudo não evidenciou diferenças entre a incorporação dos fitoesteróis em alimentos gordurosos *versus* alimentos de baixo teor de gordura. Contudo, um maior efeito foi observado para o consumo de alimentos sólidos do que alimentos líquidos, somente quando a estes forem incorporadas elevadas concentrações de fitoesteróis – doses superiores a 2g/dia. Nesse estudo, Demonty *et al.* (2009) demonstraram que o efeito entre o consumo de alimentos sólidos e o consumo de alimentos líquidos mostra significativa diferença quanto à eficácia na redução dos níveis de colesterol. Para altas doses, o efeito máximo estimado na

redução dos níveis de colesterol correspondente ao consumo de alimentos sólidos é 5,2% maior do que o observado para os alimentos líquidos. Contudo, em baixas doses, a curva dose-resposta foi mais acentuada para os alimentos líquidos do que para os sólidos, correspondendo a 0,86g/dia. De qualquer maneira, os fitoesteróis mostraram-se eficientes tanto quando incorporados em alimentos gordurosos quanto quando incorporados em outras matrizes alimentares de baixo teor de gordura. Desta forma, uma vez que a eficácia dos fitoesteróis mostra-se independente da matriz alimentar empregada, como anteriormente mencionado, sugere-se que os indivíduos que apresentam hipercolesterolemia priorizem o uso de alimentos de baixo teor de gordura, uma vez que devem administrar tais produtos por um período prolongado para evidenciar resultados expressivos na redução dos níveis de colesterol.

O consumo dos fitoesteróis com as refeições, contudo, mostra-se controverso. Brufau, Canela e Rafecas (2008) sugerem que os fitoesteróis não necessitam ser administrados com as refeições. Entretanto, Salo e Wester (2005) afirmam que os produtos aos quais são incorporados os fitoesteróis, devem sempre ser consumidos junto com as refeições para que uma maior eficácia na redução dos níveis de colesterol seja observada. A opinião de que os fitoesteróis devem estar associados às refeições é também apoiada por Rudkowska (2010) que acredita que um melhor desempenho na redução dos níveis de colesterol LDL, quando os compostos são administrados dessa forma, deva-se ao seu mecanismo de ação.

A frequência do consumo destes compostos também gera discussão entre os pesquisadores. Segundo Rudkowska (2010), os fitoesteróis devem ser administrados em 2 a 3 refeições, uma vez que poucos estudos demonstraram eficácia ao serem ingeridos em dose única. No entanto, Brufau, Canela e Rafecas (2008) demonstraram que o consumo diário de 2,5g de estanois em dose única mostra-se tão efetivo quanto à mesma quantidade de estanois consumida em 3 refeições fracionadas. O fato de ésteres de estanois e esteróis reduzirem os níveis de colesterol LDL de modo efetivo quando consumidos apenas uma vez ao dia sugere que não há um único mecanismo de ação responsável pela atividade hipocolesterolêmica desses compostos, mas sim vários mecanismos de ação que de forma integrada resultam na redução dos níveis de colesterol LDL.

### 3.3 A ABSORÇÃO

Os fitoesteróis apresentam absorção bastante reduzida em relação ao colesterol. Enquanto 45-55% do colesterol proveniente da alimentação é detectado na corrente sanguínea, menos de 20% do composto campesterol e 7% do composto  $\beta$ -sitosterol provenientes da alimentação são absorvidos (TALATI et al., 2010). Verifica-se uma pequena diferença de absorção entre os compostos esteróis e estanois, sendo a absorção dos compostos insaturados correspondente a 0,4-3,5%, enquanto a taxa de absorção dos compostos saturados mostra-se pronunciadamente inferior, correspondendo a 0,02-0,3% (DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003).

Assim como o colesterol, os fitoesteróis provenientes da alimentação são absorvidos pelo transportador identificado como *Niemann-Pick C1-Like 1 Protein* (NPC1L1), que está localizado na superfície dos enterócitos de absorção do jejuno proximal (BRAFORN; AWAD, 2007). Apesar da maioria dos fitoesteróis ser dessa forma transportada, observa-se uma baixa absorção devido à sua seletividade e ao seu rápido efluxo ao lúmen intestinal. Portanto, são fisiologicamente pouco absorvidos pelo organismo, uma vez que, após a sua entrada nos enterócitos pelo transportador NPC1L1, são direcionados através dos co-transportadores ABCG5 e ABCG8 para o lúmen intestinal (VERGÉS, 2009).

Ainda que o efluxo mostra-se um fator limitante da absorção desses compostos, observam-se níveis significativos de fitoesteróis na circulação sanguínea de pessoas que apresentam hábitos alimentares saudáveis e que consomem produtos enriquecidos com estes compostos. A concentração do  $\beta$ -sitosterol em humanos saudáveis atinge de 0,005 a 0,024mmol/L, dependendo da dieta. Em pacientes que sofrem de sitosterolemia, uma rara alteração metabólica, a média dos níveis circulantes basais de  $\beta$ -sitosterol e campesterol correspondem a 0,50 e 0,27mmol/L, respectivamente (BRAFORN; AWAD, 2007).

Podem-se observar diferenças acentuadas na absorção entre os compostos esteróis e estanois. Concentrações 10 a 30 vezes superiores dos esteróis em relação aos estanois podem ser observadas tanto em dietas alimentares normais quanto em dietas enriquecidas com fitoesteróis. O comprimento da cadeia lateral destes compostos e a presença da ligação dupla  $\Delta 5$  podem ser considerados fatores

interferentes e, dessa forma, os compostos que apresentam cadeias laterais de maior extensão, devido à sua natureza hidrofóbica, são aqueles menos absorvidos. Outros fatores, tais como mutações e polimorfismos nos genes dos co-transportadores ABCG5/ ABCG8 podem também ser responsáveis pelas alterações observadas na absorção dos fitoesteróis (DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003).

O consumo de fitoestanois, contudo, parece ser capaz de inibir não somente a absorção do colesterol, mas também a dos compostos esteróis. Estudos recentes comprovaram o efeito mencionado e pode-se citar como exemplo, um estudo cruzado realizado com pacientes hipercolesterolêmicos em que se observou elevação das concentrações plasmáticas do campesterol e  $\beta$ -sitosterol em 71,6% e 32,5% respectivamente, sendo a dose diária administrada de 1,84g de éster de sitosterol. No entanto, quando aos pacientes foi administrado 1,84g/dia de éster de sitostanol, observou-se o efeito contrário, ou seja, uma redução dos níveis plasmáticos de campesterol e  $\beta$ -sitosterol correspondentes a 27,9% e a 22,7%, respectivamente. Embora os níveis plasmáticos de campesterol e  $\beta$ -sitosterol podem ser modificados pelo consumo de sitosterol ou sitostanol, estes não modificam a absorção do colesterol e a consequente diminuição dos seus níveis plasmáticos (CLIFTON, 2002).

Na comparação entre os efeitos dos derivados ésteres de esteróis e estanois e placebo em relação à absorção de colesterol, foi demonstrado que, em curto período, os ésteres de esteróis são fracamente mais ativos do que os ésteres de estanois (36,2 versus 25,9% comparados com o controle,  $P < 0,05$ ). Em período de 21 dias, não foi observado diferença significativa entre as duas dietas. Nesse estudo, a biossíntese de colesterol teve um aumento recíproco pelas dietas tanto de ésteres de esteróis quanto de ésteres de estanois correspondendo, respectivamente a 53,3% e 37,8% ( $P < 0,05$ ). O resultado observado deveu-se a dois fatores: a supressão da absorção do colesterol, que foi o fator predominante e o aumento da biossíntese de colesterol, que foi uma ação secundária (CLIFTON, 2002).

### 3.4 FITOESTEROLEMIA OU SITOSTEROLEMIA: UMA DOENÇA RARA QUE INTERFERE NA ABSORÇÃO DOS FITOESTERÓIS

A sitosterolemia ou fitosterolemia é uma rara desordem autossômica recessiva e hereditária que está relacionada a mutações nos genes dos co-transportadores de fitoesteróis/colesterol ABCG5 e ABCG8 (DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003). Essas mutações promovem modificações no transporte dos fitoesteróis dos enterócitos para o lúmen intestinal e na secreção reduzida destes compostos na bile (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

As elevadas taxas de absorção 3 a 4 vezes superiores à observada para indivíduos normais e a baixa excreção biliar resultam no acúmulo de fitoesteróis no plasma e nos tecidos dos indivíduos portadores da doença. Os níveis plasmáticos dos fitoesteróis nesses pacientes correspondem de 7% a 16% da concentração plasmática total de colesterol (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Os sintomas como xantoma nos tendões e doença coronária prematura, artrite e artralguas são sintomas comuns à doença e resultam da formação de placas de lipídeos vasculares (VERGÉS, 2009). Além dessas manifestações, também podem ser citadas a forma anormal dos glóbulos vermelhos, trombocitopenia, hemólise e anemia hemolítica crônica. Estes efeitos estão possivelmente relacionados ao conteúdo anormal de esteróis nas membranas dos glóbulos vermelhos, uma vez que os mesmos são facilmente incorporados nas membranas celulares e, conseqüentemente, podem interferir na sua funcionalidade (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Conforme Vergés (2009), os pacientes com essa desordem metabólica apresentam um risco cardiovascular aumentado, tendo em vista que se observa um rápido desenvolvimento de placas de fitoesteróis lipídicos nas paredes das artérias. É indicado a estes pacientes que evitem o consumo de produtos enriquecidos de esteróis, mesmo quando associados à terapia com estatinas (EUSSEN et al., 2010).

Brufau, Canela e Rafecas (2008) discordam das recomendações discutidas anteriormente, pois em estudos realizados com modelos animais diferentes - em ratos com deficiência na apolipoproteína E, um modelo aceito para a avaliação da aterosclerose, em hamsters e em coelhos - e em humanos observa-se, na sua totalidade, uma redução da formação de lesões ou uma redução das dimensões de lesões existentes após o consumo de esteróis ou estanois.

Uma vez que os autores demonstram opiniões divergentes a respeito desse potencial efeito adverso dos fitoesteróis, são necessárias investigações mais

aprofundadas para se obter resultados mais consensuais (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

### 3.5 POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO DOS FITOESTERÓIS

O uso de fitoesteróis para a redução dos níveis de LDL é bastante amplo, embora o mecanismo de ação não tenha sido completamente elucidado. Sustentado pelas observações dos mecanismos de ação do colesterol e do medicamento ezetimibe, acredita-se que o principal efeito deve-se à redução da absorção do colesterol pela competição entre os fitoesteróis, colesterol da dieta e colesterol biliar pela solubilização nas micelas (EUSSEN et al., 2010). Uma vez que os fitoesteróis mostram-se mais lipofílicos que o colesterol, apresentam maior afinidade pela micela, o que resulta no deslocamento do colesterol do interior dessas para o lúmen intestinal. O colesterol livre que não é incorporado no interior das micelas é, então, eliminado através das fezes. A diminuição do colesterol livre no interior das micelas resulta, por sua vez, na diminuição da absorção de colesterol nos enterócitos (EUSSEN et al., 2010).

A menor absorção, no entanto, está associada ao aumento compensatório da síntese de colesterol e ao aumento da expressão do gene do receptor LDL e HMG-CoA redutase. A expressão gênica do receptor de LDL e HMG-CoA redutase, é controlada por proteínas reguladoras de ligação do elemento dos esteróis. Quando os níveis intracelulares de colesterol livre estão baixos, há o aumento da quantidade dessas proteínas, resultando no aumento da transcrição dos genes receptores de LDL e HMG-CoA redutase. O aumento da expressão pode não estar somente relacionado ao aumento da depuração de LDL da circulação, mas também da lipoproteína de densidade intermediária (IDL). Uma vez que o IDL é o precursor do colesterol LDL, este pode conseqüentemente promover uma diminuição na sua produção (DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003).

De Jong, Plat e Mensink (2003) demonstraram que quando são consumidos diariamente 2-2,5g de esteróis ou estanois vegetais, observa-se uma redução da absorção de colesterol, a qual se deve ao aumento da expressão do receptor LDL e ao aumento da síntese de colesterol endógeno, correspondente até 14%.

O resultado geral observado pela diminuição da absorção do colesterol, pelo aumento da expressão do receptor LDL e pelo aumento da síntese endógena de colesterol, é, portanto, a diminuição dos níveis séricos de colesterol total e do colesterol LDL (EUSSEN et al., 2010). O mecanismo de ação dos fitoesteróis está representado na figura 3.

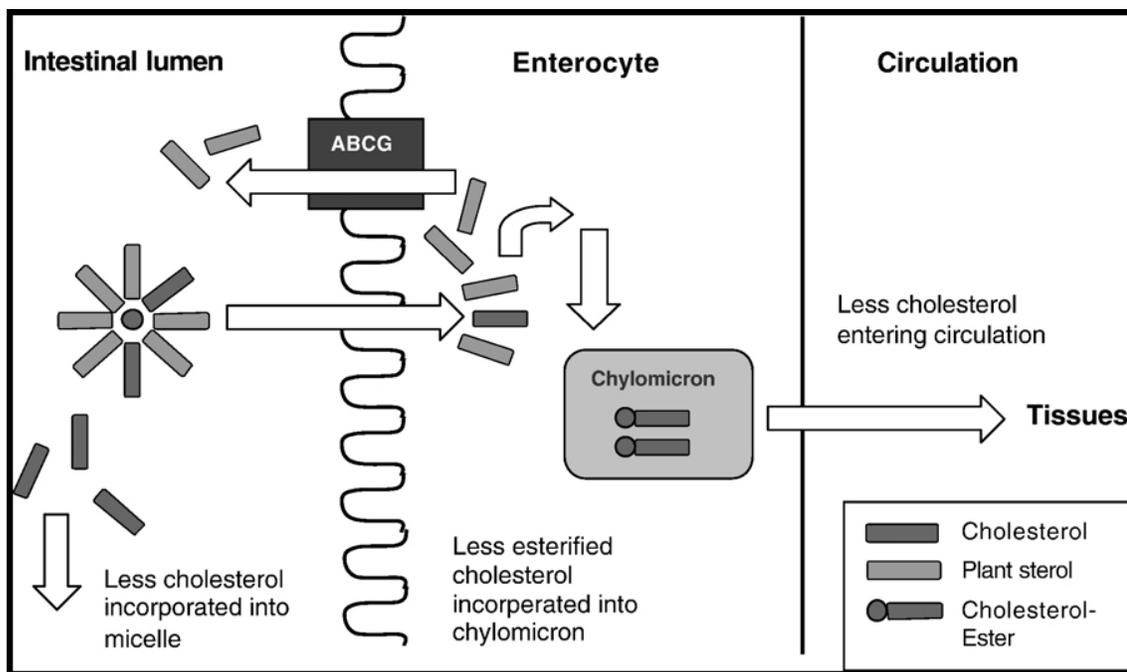


Figura 3: Representação esquemática do mecanismo de ação dos fitoesteróis em reduzir os níveis séricos de colesterol. Os fitoesteróis reduzem a quantidade de colesterol incorporada nas micelas. O excesso de fitoesteróis é deslocado para fora dos enterócitos pelas proteínas ABC, ABCG5 e ABCG8. Reproduzido de: MARINANGELI et al., 2006.

Contudo, outros possíveis mecanismos de ação são propostos, tais como a interferência no processo de hidrólise mediado pelos ésteres de colesterol, o qual é necessário para a absorção do colesterol, e/ou a estimulação da expressão dos transportadores ATP-binding cassette pelos fitoesteróis (EUSSEN et al., 2010).

### 3.6 A ASSOCIAÇÃO DOS FITOESTERÓIS COM OS MEDICAMENTOS ESTATINAS

Apesar do tratamento medicamentoso com estatinas ser a abordagem terapêutica atualmente preconizada para o tratamento de dislipidemias, nem sempre pode ser suficiente para alcançar as taxas das concentrações de colesterol ideais, mostrando ser necessário um tratamento mais intensivo com outros agentes terapêuticos que auxiliem na redução desses níveis. Como exemplo, pode-se mencionar o uso de produtos aos quais são incorporados fitoesteróis, aliado ao tratamento com as estatinas (REINER, 2010).

Além disso, alguns pacientes sofrem efeitos colaterais por necessitarem de doses elevadas do medicamento, o que pode desencadear efeitos adversos, em especial, relacionados à toxicidade muscular. Ainda pode-se citar a não-indicação da associação de tratamentos que envolvam as estatinas a outros medicamentos redutores dos níveis de colesterol, devido aos efeitos adversos que essa associação pode causar nos pacientes (EUSSEN et al., 2010). Embora sejam poucos, evidenciam-se pacientes que também apresentam intolerância ao uso de estatinas ou ao uso de altas doses desses medicamentos (REINER, 2010).

Enquanto as estatinas inibem a síntese hepática do colesterol, os fitoesteróis atuam reduzindo a absorção intestinal deste, como representado na figura 4. Acredita-se, portanto, que os mecanismos atuem de forma simultânea (EUSSEN et al., 2010). No entanto, a associação de fitoesteróis não é indicada para pacientes que utilizam o medicamento ezetimibe, uma vez que ambos atuam sobre a absorção de colesterol no intestino, e, assim, os efeitos resultantes não são complementares como os observados para a associação com as estatinas (RUDKOWSKA, 2010).

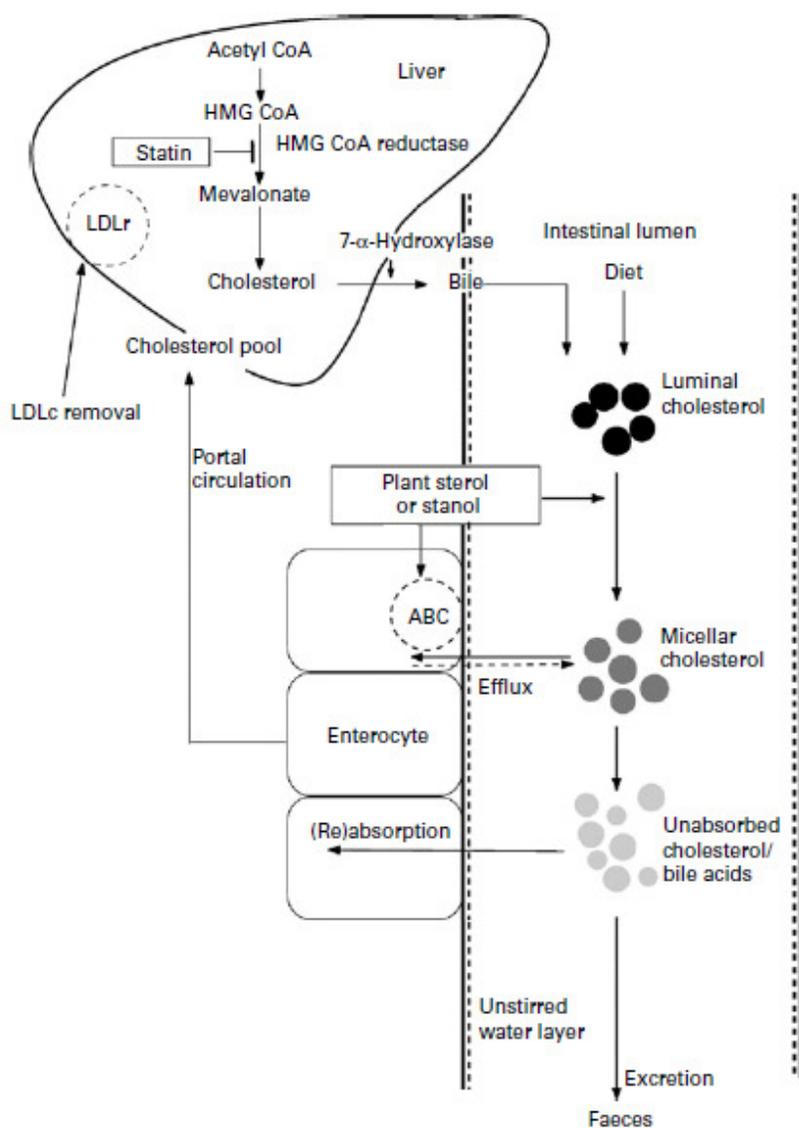


Figura 4: Representação dos mecanismos de ação dos fitoesteróis e estatinas em reduzir os níveis séricos de colesterol. As estatinas inibem a enzima HMG-CoA redutase, enquanto os fitoesteróis atuam sobre a absorção intestinal do colesterol. Adaptado de: EUSSEN et al., 2010.

A associação da terapia medicamentosa com suplementos alimentares contendo fitoesteróis, por sua vez, apresenta um efeito aditivo na redução dos níveis de colesterol total e colesterol LDL, proporcionando, desta forma, melhora dos riscos relacionados às doenças cardiovasculares. Além disso, apresenta vantagens em relação à monoterapia das estatinas, tais como: a maior adesão do paciente em substituir seus hábitos alimentares em relação à utilização de uma associação de

medicamentos e a redução da dose do medicamento administrado enquanto os níveis dos fatores de risco mostram-se inalterados (EUSSEN et al., 2010).

A eficácia da suplementação de fitoesteróis combinada à terapia medicamentosa de estatinas foi comprovada por estudos clínicos, uma vez que o consumo de produtos enriquecidos com fitoesteróis por usuários destes medicamentos resultou em uma redução adicional de aproximadamente 10% dos níveis de colesterol LDL e a associação foi bem tolerada por esses pacientes e mostrou-se segura. Além disso, o efeito parece persistir a longo prazo (REINER, 2010). Estudos clínicos recentes demonstraram ainda que o uso da associação tripla entre estatinas, fitoesteróis e colestiramina, reduz pronunciadamente os níveis de colesterol LDL em aproximadamente 67% (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Em uma meta-análise envolvendo oito estudos clínicos investigou-se os efeitos da adição de fitoesteróis, em forma de tabletes ou incorporados em alimentos, na redução dos níveis de colesterol em pacientes que usavam estatinas para controle dos níveis lipídicos. Verificou-se que em 7 estudos, nos quais a dose diária de consumo dos fitoesteróis variava entre 1,8g/dia e 6,0g/dia e o período de intervenção variava entre 4 e 16 semanas, os níveis de colesterol total sofreram uma redução de 6-10%, enquanto o observado para o colesterol LDL correspondeu a 6-15%. A maioria dos estudos, contudo, não apresentou nenhum efeito significativo dos fitoesteróis em relação aos níveis de colesterol HDL e de triglicerídeos, assim como não demonstrou existir diferença quanto à eficácia observada entre esteróis e estanois (EUSSEN et al., 2010).

No entanto, Ketomaki e colaboradores (2005 apud EUSSEN et al., 2010), demonstraram através de estudo envolvendo dois períodos de intervenção consecutivos correspondentes a 4 semanas de uso de ésteres de estanois ou ésteres de esteróis, que apenas durante o consumo dos ésteres de esteróis observou-se uma elevação significativa dos níveis de colesterol HDL. Ao mesmo tempo, observou-se uma redução expressiva dos níveis de triglicerídeos (EUSSEN et al., 2010).

A eficácia do efeito de esteróis e estanois em pacientes que utilizam e que não fazem uso de estatinas como terapia para modificar seus níveis lipídicos, foi avaliada a partir de meta-análise envolvendo três estudos clínicos. Como resultado observou-se que a combinação de esteróis e estanois à terapia medicamentosa é

vantajosa, uma vez que a associação promove um efeito similar ou ainda melhor quando comparado ao uso isolado dos fitoesteróis (EUSSEN et al., 2010).

Em outra avaliação os resultados obtidos referiam-se a estudos clínicos em que não houve diferenciação entre usuários e não-usuários de estatinas. Além disso, o uso desses medicamentos não foi quantificado e os efeitos dos fitoesteróis sobre a redução dos níveis de colesterol LDL em pacientes normais, hipercolesterolêmicos ou que apresentam hipercolesterolemia familiar, foram paralelamente avaliados. Todos os estudos revelaram significativas reduções nos níveis de colesterol total e colesterol LDL, sugerindo que tanto esteróis quanto estanois são efetivos agentes redutores dos níveis de colesterol em pacientes que fazem ou não uso de estatinas (EUSSEN et al., 2010).

Ao analisar os resultados dos estudos que envolveram fitoesteróis em associação às estatinas, pode-se concluir que a associação das terapias pode ser considerada um eficiente método terapêutico para promover a redução dos níveis de colesterol total e colesterol LDL em pacientes que apresentam hipercolesterolemia ou hipercolesterolemia familiar e que fazem uso desses medicamentos para estabilizar seus níveis lipídicos. No entanto, o uso dos medicamentos de forma isolada não mostra resultados tão eficientes quanto os observados com a associação.

Outro aspecto que reforça a associação dos fitoesteróis/fitoestanois à terapia medicamentosa com estatinas é o fato de não terem sido observados, em nenhum estudo, efeitos adversos relacionados a essa associação (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008). Entretanto, o tratamento a longo prazo com elevadas doses de estatinas promove o aumento das concentrações séricas de esteróis e alguns estudos propõem que a elevação dos níveis séricos destes compostos pode contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares de forma prematura. Ainda não há evidências conclusivas se a elevação dos níveis séricos deve-se ao aumento da absorção dos esteróis ou à diminuição da sua depuração (DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003). Apesar da hipótese da elevação dos níveis séricos de esteróis em promover o desenvolvimento de doenças cardiovasculares ser questionada em alguns estudos, são necessárias maiores investigações para comprovar a sua evidência clínica (REINER, 2010).

O uso de fitoesteróis associado ao uso de estatinas pode, portanto, ser utilizado para fins terapêuticos por pacientes cujo tratamento medicamentoso

mostra-se insuficiente para promover a redução dos níveis de colesterol de forma adequada. No entanto, devido à falta de comprovação clínica de que essa associação esteja relacionada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares prematuras e à necessidade de investigações que avaliem outros aspectos relacionados à segurança do uso de doses e do período de uso adequados, a associação deve ser proposta segundo avaliação e orientação médica. Caso sejam observados quaisquer efeitos adversos possivelmente relacionados à associação de terapias, deve-se procurar orientação médica para avaliação da conduta a ser adotada.

### 3.7 A EFICÁCIA DOS FITOESTERÓIS COMO AGENTES REDUTORES DOS NÍVEIS DE COLESTEROL TOTAL E COLESTEROL LDL

O uso de ésteres de estanois e esteróis demonstraram efeitos redutores não somente sobre os níveis de colesterol total e colesterol LDL, mas também uma tendência de melhora nos níveis de colesterol HDL (REINER, 2010). A observação de que os esteróis apresentam uma maior biodisponibilidade em relação aos compostos saturados, sugere que estes podem demonstrar diferenças no deslocamento do colesterol e que os dois grupos apresentem diferenças na eficácia (TALATI et al., 2010).

Estudos desenvolvidos, tanto em ratos como em humanos, indicaram maior eficácia dos estanois em inibir a absorção do colesterol e diminuir os seus níveis plasmáticos. No entanto, estudos clínicos recentes que compararam de maneira pronunciada estes compostos demonstraram uma eficácia similar entre esteróis e estanois quanto à diminuição dos níveis do colesterol LDL em 8-13% para o consumo de 1,8g a 2,5g de esteróis ou estanois/dia. A diferença significativa observada em relação aos lipídeos circulantes consiste no nível de sitosterol plasmático, o qual é elevado em 0,6 a 1,7 vezes pelo consumo de margarina enriquecida com esteróis, enquanto é diminuído pelo consumo de margarina enriquecida com estanois (CLIFTON, 2002).

Estudos pré-clínicos indicaram que o uso de fitoesteróis pode apresentar um efeito positivo sobre lesões ateroscleróticas, e sugerem ainda que a associação

destes compostos à vitamina niacina promove um aumento dos níveis colesterol HDL (REINER, 2010). Em um estudo realizado com ratos que apresentam deficiência da apoE e que foram alimentados com uma mistura de fitoesteróis derivados de “tall-oil” – um derivado vegetal obtido da fração lipossolúvel de um hidrolisado – Moghadasian et al (1999) demonstraram uma redução nos níveis plasmáticos de colesterol total, redução na formação de lesões ateroscleróticas e prevenção da xantomatose.

Em um estudo realizado com humanos, verificou-se redução significativa dos níveis de colesterol plasmático total e colesterol LDL a partir do consumo, por um período correspondente a 21 dias, dos ésteres de esteróis (13.4 e 12.9%, respectivamente) em relação aos ésteres de estanois (10.2 e 7.9%, respectivamente). O grupo de controle foi submetido ao consumo de margarina sem incorporação de fitoesteróis (6.0 e 3.9%, respectivamente), ( $P < 0,05$ ). Quanto aos níveis plasmáticos de colesterol HDL e de triglicédeos, não se observou alterações significativas devido ao uso de fitoesteróis (CLIFTON, 2002).

Conforme Vergés (2009), a similaridade da eficácia dos esteróis/estanois na redução do nível de colesterol LDL depende do tempo de administração. Assim, quando o tratamento é administrado por um curto período de tempo (correspondente a dois meses), as reduções do nível de colesterol LDL mostram-se similares, enquanto que, no tratamento a longo prazo, o efeito de redução observado para os estanois é mais pronunciado do que o dos esteróis.

Em uma meta-análise de 14 ensaios randomizados, envolvendo um total de 531 voluntários, avaliou-se o efeito dos fitoestanois versus o efeito dos fitoesteróis quando foram administradas as doses que variavam entre 0,6g a 2,5g/dia a indivíduos saudáveis e a indivíduos hipercolesterolêmicos durante um período que variava de 3 a 16 semanas. Os resultados observados demonstram que não há diferença significativa de eficácia entre os compostos analisados quanto aos níveis de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL ou triglicédeos. A diferença média ponderada correspondente a  $-1,11\text{mg/dL}$  [ $-0,0286\text{mmol/L}$ ] e um intervalo de confiança de 95% correspondendo de  $-4,12$  a  $1,90$ , ( $P = 0,94$ ) para o nível de colesterol total, a diferença média ponderada correspondente a  $-0.35\text{mg/dL}$  [ $-0,0091\text{mmol/L}$ ] e um intervalo de confiança de 95% correspondendo de  $-2.98$  a  $2,28$ , ( $P = 0,79$ ) para o nível de colesterol LDL, a diferença média ponderada correspondente a  $-0.28\text{mg/dL}$  [ $-0,00073\text{mmol/L}$ ] e um

intervalo de confiança de 95% correspondendo de -1.18 a 0,62 ( $P = 0,54$ ) para o nível de colesterol HDL e a diferença média ponderada correspondente a -1,80 mg/dl [0,0203mmol/L] e um intervalo de confiança de 95% correspondendo de -6.80 a 3.21 ( $P = 0,48$ ) para o nível de triglicédeos. Os resultados, portanto, demonstram que não há diferenças significativas, tanto estatística quanto clinicamente, entre os esteróis e estanois quanto às suas propriedades em modificar os níveis de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL ou triglicédeos. E assim, a escolha de emprego de esteróis ou estanois deve basear-se na segurança de uso (TALATI et al., 2010).

Apesar das comprovações em alguns estudos clínicos de que os fitoesteróis são capazes de reduzir os níveis de colesterol, ainda não há evidências que comprovem, de maneira conclusiva, que os fitoesteróis, quando incorporados em alimentos, sejam responsáveis pela redução do risco cardiovascular, sendo por isso não recomendado o uso dos mesmos com fins terapêuticos (VERGÉS, 2009).

Quanto à preocupação com a segurança, diversos estudos relataram não evidenciar importantes efeitos adversos do uso de fitoesteróis – tanto para os estanois, quanto para os esteróis - sendo estes administrados de forma isolada ou em associação às estatinas. Em avaliação contínua, Hepburn, Horner e Smith (1999) avaliaram a segurança dos fitoesteróis ou dos seus óxidos. Nenhum efeito tóxico ou genotóxico foi evidenciado. O estudo foi realizado com ratos alimentados com ésteres de fitoesteróis ( $\beta$ -sitosterol, [48,7%], campesterol [25.8%] e estigmasterol [26.7%]) nas proporções correspondentes a 0,1%, 1,0%, 2,2% e 5,0% (peso/peso) por durante 90 dias. Foram realizados exames sanguíneos e pesagem de tecidos para avaliar o teste. Nenhuma alteração relacionada ao tratamento foi observada (HEPBURN; HORNER; SMITH, 1999).

Em estudo sobre reprodução também não foi evidenciado qualquer efeito adverso proveniente da administração oral de fitoesteróis em duas gerações sucessivas de ratos Wistar. Além disso, não foi evidenciada indicação de efeitos estrogênicos, nem qualquer efeito sobre os níveis de hormônios reprodutivos em mulheres que participaram de um estudo. Os ésteres de fitoesteróis provenientes da alimentação não demonstraram ter efeito nas enzimas bacterianas ou nos ácidos graxos de cadeia curta fecais em homens. Os resultados dos estudos de toxicidade mostraram-se semelhantes para os ésteres de fitoesteróis e de fitoestanois (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

O Comitê Científico de Alimentos Europeu estabelece como seguros para consumo humano os produtos enriquecidos com fitoesteróis em que o nível máximo de fitoesteróis não-esterificados é de 8% (30-65% de  $\beta$ -sitosterol, 10-40% de campesterol, 6-30% de estigmasterol e 5% de outros fitoesteróis). Também, ressalta que os pacientes que utilizam medicamentos para reduzir os níveis de colesterol deveriam somente consumir os produtos enriquecidos sob orientação e supervisão médica (European Union Science Committee on Food, 2000).

Brufau, Canela e Rafecas (2008) citam que a dose diária de consumo de fitoesteróis deve estar limitada a 8,6g/dia, uma vez que informações clínicas relatadas em humanos sobre níveis superiores de consumo não foram suficientemente conclusivas. Entretanto, devido ao aumento do número de consumidores de alimentos que contenham os fitoesteróis em sua composição, verifica-se uma maior probabilidade de serem evidenciados efeitos adversos relacionados ao seu consumo e, portanto, é necessária uma maior vigilância quanto ao uso desses produtos para fins terapêuticos. Apesar de serem relatados alguns efeitos adversos nas concentrações plasmáticas de nutrientes antioxidantes lipossolúveis e nos níveis de fitoesteróis circulantes, o uso de fitoesteróis na forma de alimentos funcionais, com a finalidade de reduzir as concentrações sanguíneas de colesterol, é considerado seguro e efetivo (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconiza o uso dos fitoesteróis como auxiliares na redução da absorção de colesterol, mas orienta que o consumo de produtos que contenham estes compostos deve ser associado a uma alimentação equilibrada e a hábitos de vida saudáveis. A porção do produto pronto para o consumo deve fornecer no mínimo 0,8g de fitoesteróis na sua forma livre. No entanto, permite que quantidades inferiores sejam utilizadas desde que comprovadas na matriz alimentar. Quanto ao consumo diário desses produtos, recomenda 1 a 3 porções, as quais garantam a ingestão de 1 a 3g de fitoesteróis livres por dia. Conforme a regulamentação proposta, não são evidenciados benefícios adicionais pelo consumo de doses superiores a 3g/dia de fitoesteróis. Além disso, orienta aos indivíduos com níveis elevados de colesterol que procurem orientação médica (ANVISA, 2010). A ausência de evidências clínicas que comprovem de maneira contundente a segurança do uso desses compostos químicos, inclusive por gestantes, lactentes e

crianças, pode ser a razão da orientação estabelecida pela ANVISA de que os produtos que contenham fitoesteróis devem apresentar a advertência de que tais indivíduos não devam consumir esse tipo de produto.

Os requisitos impostos pela ANVISA para a comercialização de produtos que apresentam fitoesteróis na sua composição são condizentes com a dosagem apoiada pelos estudos mencionados no presente trabalho.

O órgão regulador norte-americano Food and Drug Administration (FDA) também permite a alegação de proteção cardiovascular para aqueles alimentos que contenham esteróis e estanois esterificados. Esta alegação pode ser utilizada sempre que os produtos alimentares contenham uma porção de, no mínimo, 0,65g/porção de esteróis esterificados (0,4g de esteróis livres) ou 1,7g/porção de estanois esterificados. Quanto ao consumo diário, recomenda a ingestão desses alimentos, junto às refeições, duas vezes ao dia. A dose mínima diária preconizada corresponde a 1,3g de esteróis esterificados e a 3,4g de estanois esterificados (ELETRONIC..., 2010).

### 3.8 OS EFEITOS DOS FITOESTERÓIS NAS CONCENTRAÇÕES LIPÍDICAS DE PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2

Baker, Baker e Coleman (2009) realizaram uma meta-análise que envolveu cinco ensaios randomizados e placebo-controlados a fim de verificar o impacto que a administração dos compostos esteróis/estanois promove nos níveis plasmáticos de lipídios em pacientes com diabetes *Mellitus* tipo 2, uma vez que estes pacientes apresentam resposta anti-hiperlipidêmica alterada frente aos fitoesteróis. Os autores observaram que o uso dos fitoesteróis reduziu de forma significativa os níveis de colesterol total e LDL com nenhum efeito aparente sobre os triglicerídeos e demonstrou uma tendência de aumento dos níveis de colesterol HDL (BAKER; BAKER; COLEMAN, 2009). De Jong, Plat e Mensink (2003) concordam com os resultados observados e afirmam que isto afeta a aterosclerose de maneira positiva. Este efeito positivo, contudo, não foi totalmente esclarecido, mas acredita-se estar relacionado aos distúrbios do metabolismo lipoprotéico observados em diabéticos tipo 2, como o aumento das concentrações de TGA ou da produção de VLDL.

A atualização mais recente das orientações dos programas de saúde estabelece que uma redução de 1% no risco relativo do desenvolvimento de doença cardíaca coronária é atingida com a redução do nível de colesterol LDL correspondente a 1mg/dL. Uma vez que se observou, na meta-análise realizada por Baker, Baker e Coleman (2009), uma redução significativa no nível de colesterol LDL com o consumo de fitoesteróis correspondente a aproximadamente 12mg/dL, acredita-se que esta evidência apresente uma importância clínica relevante.

### 3.9 OS EFEITOS DOS FITOESTERÓIS SOBRE OS ANTIOXIDANTES LIPOSSOLÚVEIS

Da mesma forma que os fitoesteróis promovem o deslocamento do colesterol das micelas, também podem promover o deslocamento de outros compostos lipofílicos, tais como nutrientes antioxidantes lipossolúveis (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Estudos randomizados demonstraram que os fitoesteróis são os responsáveis pela redução dos níveis sanguíneos de  $\beta$ -caroteno em aproximadamente 25%, de  $\alpha$ -caroteno em 10% e de vitamina E em 8% (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008; VERGÉS, 2009). No entanto, uma vez que esses antioxidantes exercem um efeito protetor do colesterol LDL ao evitar sua oxidação, e os fitoesteróis reduzem as concentrações plasmáticas desse colesterol, as alterações nas concentrações sanguíneas desses antioxidantes devem ser ajustadas de acordo com as concentrações de colesterol LDL. Com o ajuste, as concentrações de vitamina E permanecem inalteradas, mas as correspondentes ao  $\beta$ -caroteno são reduzidas de 8% a 19%. Este efeito adverso, contudo, pode ser amenizado com o aumento do consumo de alimentos enriquecidos em carotenos (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008).

Entretanto, a redução da biodisponibilidade observada para outros carotenóides e tocoferóis, devido ao uso de fitoesteróis, mostra-se controversa entre os autores. De Jong, Plat e Mensink (2003) apresentam como resultado de um estudo, no qual foram administrados de 3,8 a 4,0g de fitoesteróis consumidos na forma de ésteres de ácidos graxos durante oito semanas, a significativa redução

das concentrações séricas de vários carotenóides e tocoferóis. Parte dessa redução pode ser explicada pela diminuição do número de partículas LDL na circulação, a qual é responsável pelo transporte desses antioxidantes. Foi demonstrado também que a redução dos carotenóides hidrocarbonetos lipofílicos, depois do consumo dos fitoesteróis, estava relacionada à diminuição da absorção de colesterol, enquanto as modificações nas taxas de carotenóides oxigenados (como a luteína, zeaxantina e criptoxantina) e dos tocoferóis estavam relacionadas às reduções das concentrações séricas do colesterol LDL. As evidências observadas sugerem que esteróis/estanois interferem em especial na incorporação destes compostos nas micelas e/ou na absorção dos carotenóides.

Brufau, Canela e Rafecas (2008) também comprovaram que as taxas plasmáticas de carotenóides hidrocarbonetos são reduzidas pelos fitoesteróis. Contudo, demonstraram que os compostos carotenóides oxigenados não apresentam alterações nos seus níveis plasmáticos, o que pode estar relacionado à distribuição desses antioxidantes nas micelas, tendo em vista que os carotenóides de hidrocarbonetos apolares são solubilizados no núcleo das micelas, enquanto os carotenóides oxigenados o são na superfície. Isto sugere que os fitoesteróis podem substituir não apenas o colesterol do núcleo das micelas, como também outros compostos presentes nas mesmas.

Todavia, a respeito das concentrações sanguíneas de vitamina D, vitamina A e vitamina K, os autores concordam que os estudos que avaliaram esses parâmetros não evidenciaram alterações nos seus níveis plasmáticos devido ao consumo dos compostos fitoesteróis (BRUFAU; CANELA; RAFECAS, 2008; DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003). As vitaminas lipossolúveis, cujo transporte não é realizado por lipoproteínas, não demonstram, portanto, ser afetadas quanto à sua absorção e síntese pelos compostos fitoesteróis da mesma forma que a observada para os outros nutrientes oxidantes (DE JONG; PLAT; MENSINK, 2003).

## 4 O USO DOS FITOESTERÓIS NA PREVENÇÃO DE CÂNCERES

### 4.1 OS MECANISMOS DE AÇÃO DOS FITOESTERÓIS NA PREVENÇÃO DE CÂNCER

Estudos epidemiológicos sugerem que o uso de fitoesteróis pode ser associado com a redução da incidência de cânceres comuns como câncer de pulmão, estômago, cólon, mama e próstata (RUDKOWSKA, 2010). Estima-se, de modo geral, que o consumo de dietas enriquecidas com fitoesteróis pode reduzir significativamente o risco de câncer em até 20%. (BRAFORF; AWAD, 2007).

No entanto, o mecanismo de ação dos fitoesteróis sobre o desenvolvimento de cânceres não foi completamente elucidado. Sugere-se que devam atuar sobre o sistema hospedeiro afetando a sobrevivência do tumor ou agindo direta ou indiretamente sobre o ciclo biológico deste (RUDKOWSKA, 2010).

Esses metabólitos vegetais podem inibir de forma direta o crescimento do tumor, através de efeitos que incluem a desaceleração da progressão do ciclo celular, a indução de apoptose, e a inibição da metástase do tumor (RUDKOWSKA, 2010). Estudos em culturas de células MDA-MB-231 de carcinoma de mama humano demonstraram que a administração de  $\beta$ -sitosterol afeta a cinética do ciclo celular devido à retenção da transcrição da fase G2 para a fase M. Depois de continuada suplementação com o  $\beta$ -sitosterol, observou-se que 42% dessas células encontravam-se na fase G2 comparadas a 12% e 24% observados nas células tratadas com colesterol e veículo suplementar, respectivamente (AWAD; WILLIAMS; FINK, 2001). Efeitos similares foram também observados com células de adenocarcinoma de próstata PC3, no qual ficou evidenciado que 32% das células PC3 tratadas com  $\beta$ -sitosterol estavam na fase G2 enquanto somente 16% das células tratadas com controle encontravam-se nessa fase do ciclo celular. No entanto, apesar de estes compostos aparentemente serem eficientes em inibir a progressão do ciclo celular, eles não se mostram tão potentes quanto às drogas antineoplásicas (BRAFORF; AWAD, 2007).

A indução da apoptose e a estimulação de cascatas de ceramidas têm sido observadas em linhagens de células transformadas *in vitro*. Estes efeitos ficaram

evidentes em estudos que envolveram linhagens de células humanas específicas para os cânceres de mama, de próstata e de cólon. (AWAD et al., 2004). Observações experimentais sugerem ainda que a ativação da esfingomielinase e do ciclo da esfingomielina podem ser os fatores responsáveis pela redução da esfingomielina e pelo aumento da produção de ceramidas e que estes, por sua vez, podem ser fundamentais para a promoção da apoptose mediada por  $\beta$ -sitosterol na transformação de células. Em estudo com células humanas de tumor de cólon HT-29, por exemplo, verificou-se que o tratamento com o  $\beta$ -sitosterol promove o estímulo da apoptose, além de serem observados a redução da esfingomielina e o aumento dos níveis de ceramidas (TAPIERO; TOWNSEND; TEW, 2003).

Estudos evidenciam a ação dos fitoesteróis quanto à inibição do desenvolvimento de metástases. Em um estudo *in vitro*, no qual foram utilizadas células humanas de câncer de mama MDA-MB-231, observou-se que o pré-tratamento destas com o  $\beta$ -sitosterol é capaz de inibir a invasão celular através do matrigel, assim como inibe a sua aderência às placas revestidas com colágeno, fibronectinas e lamininas (AWAD; WILLIAMS; FINK, 2001). Em estudo com camundongos com imunodeficiência de linfócitos B e T foi administrado uma dieta mista a 2% de fitoesterol e implantadas células humanas cancerígenas de próstata PC-3. Evidenciou-se redução no número e nas dimensões dos tumores nas metástases nos nódulos linfáticos e nos pulmões (redução de 50%) (AWAD et al., 2001). Nas mesmas condições experimentais, foram implantadas células humanas de câncer de mama MDA-MB-231 e os resultados observados foram semelhantes (AWAD et al., 2000). Outro efeito interessante observado é que os fitoesteróis podem promover a expressão ou a atividade de inibidores endógenos da angiogênese, a qual é necessária para o crescimento do tumor e para o avanço metastático de cânceres (QUESADA; MUÑOZ-CHAPULI; MEDINA, 2007).

Um terceiro mecanismo de ação proposto é a ação dos fitoesteróis como promotores de alterações nos sistemas imunológicos hospedeiros por potencialmente apresentar respostas anticancerígenas mais contundentes, incluindo a melhora do reconhecimento imunológico do câncer, fator que pode influenciar no crescimento hormônio-dependente de tumores endócrinos (RUDKOWSKA, 2010). A hipótese de ação imunomoduladora é sustentada pela observação de melhora na sensibilidade dos linfócitos T em estudos *in vitro* e *in vivo* com administração de mistura de esteróis. Bouic *et al.* (1996) relataram estudos indicando que a mistura de

$\beta$ -sitosterol e seu derivado glicosídeo foi estimuladora da proliferação de linfócitos sanguíneos *in vitro*, e ainda, que esta foi acompanhada pela secreção de citocina, sugestivo de um efeito seletivo sobre as células auxiliares T<sub>H1</sub>. (BOUIC et al., 1996). Estudos demonstraram, posteriormente, que houve um aumento das atividades citotóxicas e líticas das células citotóxicas espontâneas (NK) após a incubação destas com a mistura citada anteriormente frente às linhagens de células transformadas. Pode-se citar também o efeito dos fitoesteróis sobre a função macrófaga, uma vez que o  $\beta$ -sitosterol demonstrou reduzir a liberação de óxido nítrico induzido por éster de forbol em macrófagos RAW 264.7. Esta redução está potencialmente relacionada com a deficiência induzida da óxido nítrico sintase e com a ativação de NF- $\kappa$ B (MORENO, 2003). O  $\beta$ -sitosterol demonstrou ser responsável pela inibição do crescimento de macrófagos P388D<sub>1</sub>/MAB e pela liberação do pró-inflamatório PGE<sub>2</sub> (AWAD; TOCZEK; FINK, 2004).

Outro mecanismo de ação proposto é o aumento da atividade das enzimas antioxidantes e da conseqüente redução do estresse oxidativo, o qual pode provocar o desenvolvimento de cânceres (RUDKOWSKA, 2010). Células cancerígenas podem estar sujeitas ao elevado estresse oxidativo devido aos altos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) gerados intracelularmente. A redução do estresse oxidativo, por sua vez, age suprimindo a proliferação das células tumorais e induzindo a apoptose (BASKAR et al., 2010).

## 4.2 FITOESTERÓIS E A PREVENÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE CÂNCERES ESPECÍFICOS

### 4.2.1 Fitoesteróis e o câncer de cólon

Em um estudo com animais, Baskar *et al.*, (2010) avaliaram o potencial anticancerígeno do  $\beta$ -sitosterol em um modelo experimental de câncer de cólon DMH-induzido, a fim de verificar se este composto poderia ser utilizado como um agente terapêutico contra este tipo de câncer. O experimento foi realizado de forma que os animais, ratos machos albinos Wistar, foram divididos em 6 grupos e a estes

foram administradas dietas alimentares de diferente composição e dosagem conforme especificado no quadro 2.

---

Grupo 1	Dieta pellet modificada e intubação intragástrica de carboximetilcelulose 0,1% por 16 semanas
Grupo 2	Dieta pellet modificada e 20mg/kg por peso corporal da suspensão de $\beta$ -sitosterol em 0,1% CMC, vo, por 16 semanas.
Grupo 3	Carcinógeno DMH 20mg/kg por peso corporal, via subcutânea, uma vez por semana nas 4 primeiras semanas.
Grupo 4	Carcinógeno DMH 20mg/kg por peso corporal, uma vez por semana nas 4 primeiras semanas e $\beta$ -sitosterol 5mg/kg por peso corporal por 16 semanas.
Grupo 5	Carcinógeno DMH 20mg/kg por peso corporal, uma vez por semana nas 4 primeiras semanas e $\beta$ -sitosterol 10mg/kg por peso corporal por 16 semanas.
Grupo 6	Carcinógeno DMH 20mg/kg por peso corporal, uma vez por semana nas 4 primeiras semanas e $\beta$ -sitosterol 20mg/kg por peso corporal por 16 semanas.

---

Quadro 2: Esquema da composição do tratamento administrado aos ratos machos albinos Wistar no modelo experimental de câncer de cólon DMH-induzido.

A redução, de modo dose-dependente, na formação de focos de criptas aberrantes (ACF), lesões pré-neoplásticas de câncer de cólon evidenciou que o composto possui potencial efeito anticancerígeno para este tipo de tumor. Em todos os grupos foi observada uma redução na formação das lesões, como pode ser observado no quadro 3, mas aquele que recebeu dose correspondente a 20mg/kg por peso corporal foi o que demonstrou maior percentual de inibição, correspondente a 73,6% (BASKAR et al., 2010).

Grupos	Inibição da formação de ACF (%)
DMH + $\beta$ -sitosterol (5mg/kg)	38,2
DMH + $\beta$ -sitosterol (10mg/kg)	52,8
DMH + $\beta$ -sitosterol (20mg/kg)	73,6

Quadro 3: Representação do efeito de  $\beta$ -sitosterol no desenvolvimento de ACF induzido por DMH.

No estudo, a administração de  $\beta$ -sitosterol diminuiu significativamente a expressão de  $\beta$ -catenin e PCNA, os quais são marcadores da atividade proliferativa de câncer de cólon, em células humanas COLO 320 DM. O  $\beta$ -catenin apresenta um importante papel como componente de complexo de adesão celular e a sinalização deste composto ativado incentiva a proliferação celular, além de exercer um efeito anti-apoptótico em uma variedade de cânceres. O excesso deste composto promove ainda a acumulação do ativo p53, a qual favorece a sobrevivência das células em vez da apoptose. O PCNA, por sua vez, é uma proteína auxiliar da DNA polimerase que se acumula no núcleo durante o final da fase G1 e início da fase S do ciclo celular. A fração de células que expressam o PCNA é, portanto, usado como um indicador da síntese de DNA e da proliferação celular (BASKAR et al., 2010).

Além disso, o  $\beta$ -sitosterol foi avaliado quanto à sua toxicidade frente a várias linhagens de células humanas cancerígenas, dentre as quais, as células de câncer de cólon COLO 320 DM e um rim normal de macaco VERO. O composto demonstrou apresentar efeitos citotóxicos específicos sobre as células cancerígenas COLO 320 DM (BASKAR et al., 2010).

Outros estudos com animais também evidenciaram que dietas suplementadas com fitoesteróis oferecem proteção contra o câncer de cólon (BRAFORN; AWAD, 2007). Raicht *et al.* (2007) realizaram estudos pioneiros na área e mostraram que uma mistura de 2% de  $\beta$ -sitosterol (95% de  $\beta$ -sitosterol, 4% de campesterol e 1% de estigmasterol) na dieta reduziu em um terço a incidência dos tumores de cólon induzidos por N-metil-N-nitrosourea (MNU).

#### 4.2.2 Fitoesteróis e o câncer de mama

Awad *et al.* (2000) utilizaram camundongos fêmeas com imunodeficiência de linfócitos B e T (SCID) ou apenas a ausência de linfócitos T aos quais foram administrados dietas suplementadas com 2% de fitoesterol, 2% de colesterol ou 0.2% do veículo ácido cílico. Após duas semanas, injetou-se o estrogênio receptor-negativo de células humanas de câncer de mama MDA-MB-231 nas bolsas gordurosas das suas glândulas mamárias. Depois de 8 semanas constatou-se uma redução de 33% nos tamanhos dos tumores para aqueles camundongos alimentados com fitoesteróis em relação aos animais que receberam dieta com o colesterol. A análise patológica evidenciou que as células do tumor tinham se metastizado nos nódulos linfáticos e nos pulmões em 71% dos animais alimentados com o colesterol comparado a somente 57% para aqueles alimentados com fitoesteróis (AWAD *et al.*, 2000). Em estudos similares em que camundongos atímicos e sem ovário receberam estrogênio receptor positivo de células humanas de câncer de mama MCF-7 constatou-se uma redução de 32% a 42% no tamanho do tumor nos animais que receberam dieta enriquecida com  $\beta$ -sitosterol (JU *et al.*, 2004).

#### 4.2.3 Fitoesteróis e o câncer de próstata

A proteína CAVEOLIN-1 (CAV-1) tem sido identificada como um sinalizador de câncer de próstata agressivo, a qual promove a progressão para o fenótipo metastático. Essa está associada ao colesterol das membranas plasmáticas das células e apresenta um papel na transdução de sinal devido à presença de um microdomínio de 20 aminoácidos que pode unir uma variedade de proteínas de sinal, levando à redução dos eventos de sinalização. A co-localização desta proteína e do seu receptor andrógeno na membrana plasmática é importante para a promoção do crescimento das células pelos esteróis (GODWIN *et al.*, 2009).

Godwin *et al.* (2009) realizaram um estudo que tinha por objetivo comprovar a hipótese sugerida em estudos anteriores de que os esteróis regulam o crescimento

de células de próstata por promover ou reprimir a transcrição de *cav-1* e, conseqüentemente, interferir na sua sinalização. Ensaio de viabilidade foram empregados para estimar os efeitos do tratamento com veículo, colesterol e fitoesteróis na sobrevivência das células. Após 48h transcorridas do experimento, não se constatou nenhuma diferença significativa no número de células viáveis observadas para todos os tratamentos. Entretanto, o tratamento com colesterol demonstrou promover um aumento da mitose nas células de câncer de próstata PC3, enquanto uma menor população de células mitóticas foi observada para as células tratadas com fitoesteróis. As reduções das subpopulações de células mitóticas observadas em ambas as linhagens de células de câncer de próstata, PC3 e DU145, referentes a esses compostos correspondiam respectivamente a 27,71% e 17,37%.

Os resultados evidenciados nesse estudo demonstraram, portanto, que ocorre um aumento mais pronunciado na expressão do gene *cav-1* quando as linhagens de células cancerígenas mencionadas são tratadas com fitoesteróis em relação às células suplementadas com colesterol. Dessa forma, como sugerido em estudos anteriores, acredita-se que os fitoesteróis possam ser considerados efetivos inibidores do crescimento das células PC3 e DU145 por induzir a detenção dessas células nas fases G1/S do ciclo celular. Além disso, através de ensaio de imunofluorescência evidenciou-se que o tratamento com fitoesterol induziu as células à apoptose. A toxicidade dos esteróis também foi investigada para as diferentes opções de tratamento e observou-se que não ocorreram células adversas, bem como não se observou significativa necrose das células (GODWIN et al., 2009).

Usando linhagens de células de câncer de próstata andrógeno-insensíveis, Godwin *et al.* (2009) observaram que à alta expressão de *cav-1* induzida por fitoesteróis corresponde uma reduzida expressão do proto-oncogene, PCGEM-1. Essa evidência sugere que o *cav-1* é um supressor do crescimento celular e pode melhorar comparativamente a baixa sensibilidade andrógena durante o tratamento com fitoesterol. Foi relatado que a alta expressão de PCGEM-1 está relacionada ao crescimento celular em câncer de próstata humano, sugerindo que o proto-oncogene possa ser usado como um biomarcador para o elevado risco de desenvolvimento desse tipo de câncer. Estudos muito recentes afirmam ainda que a elevada expressão de PCGEM-1 no modelo experimental de cultura da célula LNCap inibe a apoptose. O uso dos fitoesteróis, por sua vez, como demonstrado no estudo

mencionado, promove a diminuição da expressão do PCGEM-1, o que corrobora para o fato de que os mesmos inibem o crescimento celular (GODWIN et al., 2009).

Estudos realizados por Awad *et al.* (2001) os quais envolveram camundongos com imunodeficiência de linfócitos B e T (camundongos SCID) examinaram o potencial efeito protetor dos fitoesteróis contra a proliferação e a metástase de células humanas de câncer de próstata PC3. Ao final de um período de 8 semanas de tratamento, observou-se uma redução correspondente a 40-43% no tamanho do tumor nos animais alimentados com fitoesteróis em relação aos alimentados com colesterol. Em relação ao desenvolvimento de metástases, evidenciou-se uma taxa de redução correspondente a 50% na metástase de pulmão, fígado e nódulos linfáticos comparados àqueles que receberam dieta rica em colesterol (AWAD et al., 2001).

## 5 FITOESTERÓIS E O ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é produzido quando há um desequilíbrio entre as substâncias pró-oxidantes (radicais livres e espécies reativas de oxigênio) e as substâncias antioxidantes (enzimas e vitaminas), em que observa um predomínio das primeiras (BAÑULS et al., 2010). Hovenkamp *et al.* (2008) acreditam que a oxidação da cadeia lateral dos compostos fitoesteróis deva-se a reações enzimáticas.

A oxidação do colesterol LDL mostrou interferir no pré e pós estágios da aterosclerose. O ataque de espécies reativas de oxigênio contra as biomembranas ou lipoproteínas conduz à destruição oxidativa de ácidos gordurosos poliinsaturados que poderiam formar os ateromas responsáveis pelo desenvolvimento da doença. O processo pelo qual as espécies reativas de oxigênio agem é a peroxidação lipídica e, sendo o malonaldeído um dos produtos desse processo, este pode servir como indicador do estresse oxidativo em células e tecidos (BAÑULS et al., 2010). Ferretti *et al.* (2010) demonstraram, através de um estudo *in vitro*, que os compostos fitoesteróis  $\beta$ -sitosterol, campesterol e estigmasterol apresentam efeito protetor sobre a peroxidação do colesterol LDL (FERRETTI et al., 2010). Mannarino *et al.* (2009) também demonstraram um efeito positivo do consumo de fitoesteróis sobre o estresse oxidativo. O estudo demonstrou uma redução dos níveis plasmáticos dos marcadores do estresse oxidativo, 8-isoprostanos, após 6 semanas de tratamento com produtos enriquecidos com fitoesteróis.

No entanto, em relação aos oxi-fitoesteróis, Tomoyori *et al.* (2004 apud HOVENKAMP et al., 2008) demonstraram que esses compostos não promovem o desenvolvimento de aterosclerose em ratos ApoE deficientes aos quais era administrada uma dieta aterogênica (HOVENKAMP et al., 2008).

Por um lado é possível que a diminuição da concentração sérica das vitaminas lipossolúveis associada à ingestão de fitoesteróis enfraqueça as defesas antioxidantes e, por isso, promova o estresse oxidativo. Por outro lado, uma vez que a dieta suplementada com fitoesteróis promova a redução dos níveis de colesterol LDL, o desenvolvimento de aterosclerose é mais improvável de ocorrer (BAÑULS et al., 2010).

## 6 DISCUSSÃO

A utilização de fitoesteróis para a redução dos níveis de colesterol, conforme evidenciado nos estudos pré-clínicos e clínicos mencionados nesse trabalho, mostrou-se eficiente, uma vez que se observou um consenso entre os estudos de que o consumo destes compostos promove uma redução de aproximadamente 10% do nível de LDL. Quanto à eficácia dos estanois *versus* esteróis na redução dos níveis de colesterol LDL, evidências contraditórias foram observadas a partir dos estudos, uma vez que alguns autores apontam para uma superioridade de eficácia de um dos grupos sobre o outro, enquanto que outros afirmam que não há diferenças significativas entre a eficácia dos compostos. Vérgees (2009), contudo, afirma que a diferença de eficácia pode estar relacionada ao tempo de administração dos compostos, sendo que em um curto período de tempo observa-se uma similaridade da eficácia entre os compostos saturados e insaturados, mas que o tratamento a longo prazo, demonstra uma superioridade dos compostos saturados. Contudo, mesmo que haja uma diferença quanto aos efeitos desses compostos, o uso tanto de um como de outro grupo mostrou apresentar atividade antihipercolesterolêmica significativa.

Em relação à segurança do uso dos fitoesteróis, não foram relatados efeitos adversos importantes, nem efeitos tóxico ou genotóxico provenientes do emprego desses compostos. Entretanto, apesar dos resultados evidenciarem que o uso dos fitoesteróis é seguro, é preciso cautela, pois são necessárias maiores evidências clínicas que comprovem qual é a dose segura para a administração desses compostos. Por isso, assim como preconizado pela ANVISA, crianças, gestantes e lactentes devem evitar o consumo de produtos enriquecidos com fitoesteróis.

O modo de administração dos fitoesteróis gera divergências entre os autores. Assim, aspectos relacionados à frequência, ao consumo associado ou não às refeições, ao tipo de matriz alimentar utilizada para a incorporação dos compostos, mostram-se controversos.

Os fitoesteróis, no entanto, podem ser utilizados não somente para o tratamento de doenças cardiovasculares, mas também para a prevenção do desenvolvimento de cânceres. Os estudos referidos no trabalho demonstram que os compostos fitoesteróis apresentam um potencial efeito quimiopreventivo, sugerindo

que estes podem ser utilizados para a prevenção de inúmeros cânceres. No entanto, maiores investigações são necessárias para que se evidencie a eficácia e segurança destes compostos como agentes anticancerígenos.

Os fitoesteróis podem ser empregados ainda para a prevenção da aterosclerose por interferirem sobre o estresse oxidativo, o qual está relacionado com o desenvolvimento dessa doença. No entanto, o efeito potencial do consumo diário de fitoesteróis sobre os níveis de estresse oxidativo ainda precisa ser estabelecido.

De forma geral, os fitoesteróis mostraram ser efetivos para o tratamento de doenças relacionadas ao envelhecimento, como as doenças cardiovasculares e cânceres. No entanto, é necessária cautela quanto ao uso desses compostos como agentes terapêuticos, uma vez que os aspectos relacionados, principalmente, à dose diária de consumo recomendada precisam ser melhor estabelecidos por estudos clínicos.

## 7 CONCLUSÃO

A utilização de compostos fitoesteróis com fins terapêuticos para promover a prevenção do desenvolvimento de doenças cardiovasculares é conhecido desde a década de 50 e muitos avanços tecnológicos, ao longo desses anos, têm sido propostos para que a eficácia dos produtos farmacêuticos ou alimentícios desenvolvidos com estes compostos seja cada vez mais efetiva. A pesquisa científica e o interesse comercial, nesse sentido, contribuíram para a disseminação do emprego dos fitoesteróis como agentes redutores dos níveis de colesterol e, fizeram destes compostos produtos de interesse para a prevenção das doenças cardiovasculares.

Estudos pré-clínicos e clínicos comprovaram a eficácia e segurança dos fitoesteróis na redução dos níveis de colesterol LDL, principal fator de risco para doenças cardiovasculares. Os compostos fitoquímicos mostram-se eficazes tanto quando usados isoladamente quanto em associação a outros agentes hipocolesterolêmicos, como os medicamentos estatinas.

Os fitoesteróis podem ser usados com fins terapêuticos para a prevenção de outras doenças além das relacionadas ao sistema cardíaco e que, em geral, também acometem a população idosa, uma vez que estão relacionadas ao envelhecimento. Estudos prévios demonstraram um potencial efeito quimiopreventivo dos fitoesteróis, principalmente para o câncer de mama, câncer de cólon e câncer de próstata. Além disso, estes compostos demonstraram efeitos sobre o estresse oxidativo, que está relacionado ao desenvolvimento da aterosclerose. Contudo, uma vez que os resultados evidenciados nesses estudos mostram-se controversos e pouco conclusivos, maiores investigações a respeito dessas patologias são requeridas para a confirmação do uso dos fitoesteróis na sua prevenção.

A análise geral dos estudos referidos no trabalho evidenciou que os fitoesteróis mostram-se eficientes e seguros agentes de prevenção de doenças cardiovasculares, uma vez que promovem a redução dos níveis de colesterol LDL. Entretanto, o uso desses compostos na prevenção de cânceres exige maior número de estudos que comprovem a eficácia e segurança dos mesmos no tratamento dessas patologias.

## REFERÊNCIAS

ABUMWEIS, S. S.; BARAKE, R.; JONES, P. J. Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Food Nutrition Research**, Bålsta, v. 52, 2008.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 22 nov. 2010.

AWAD, A. B. et al. Targeting ceramide by dietary means to stimulate apoptosis in tumor cells. **Current Topics of Nutraceutical Research**, New Orleans, v. 2, n. 2, p. 93-100, May, 2004.

AWAD, A. B. et al. Dietary phytosterol inhibits the growth and metastasis of MDA-MB-231 human breast cancer cells grown in SCID mice. **Anticancer Research**, Athens, v. 20, n. 2A, p. 821-824, Mar./Abr., 2000.

AWAD, A. B. et al. In vitro and in vivo (SCID mice) effect of phytosterols on the growth and dissemination of human prostate cancer PC-3 cells. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v. 10, n. 6, p. 507-513, Dec., 2001.

AWAD, A. B.; TOCZEK, J.; FINK, C. S. Phytosterols decrease prostaglandin release in cultured P388D1/MAB macrophages. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Edinburgh, v. 70, n. 6, p. 511-520, Jun., 2004.

AWAD, A. B.; WILLIAMS, H.; FINK, C. S. Phytosterols reduce *in vitro* metastatic ability of MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Nutrition and Cancer**, Philadelphia, v. 40, n. 2, p. 157-164, 2001.

BAKER, L. William; BAKER, L. Erica; COLEMAN, I. Craig. The effect of plant sterols and stanols on lipid parameters in patients with Type 2 Diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v. 84, n. 2, p. e33-e37, May, 2009.

BAÑULS, Celia et al. Evaluation of cardiovascular and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic subjects on a standard healthy diet including low-fat milk enriched with plant sterols. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 21, n. 9, p. 881-886, Sept., 2010.

BASKAR, Albert et al. Chemopreventive potential of  $\beta$ -Sitosterol in experimental colon cancer model: an In vitro and In vivo study. **Complementary & Alternative Medicine**, London, v. 10, p. 24, Jun., 2010.

BOUIC, P. J. D. et al. Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. **International Journal of Immunopharmacology**, Oxford, v. 18, n. 12, p. 693-700, Dec., 1996.

BRAFORD, G. Peter; AWAD, B. Atif. Phytosterols as anticancer compounds. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 51, n. 2, p. 161-170, Feb., 2007.

BRUFAU, Gemma; CANELA, Angel Miguel; RAFECAS, Magda. Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties. **Nutrition Research**, New York, v. 28, n. 4, p. 217-225, Feb., 2008.

CLIFTON, Peter. Plant sterol and stanols – comparison and contrasts. Sterols versus stanols in cholesterol-lowering: is there a difference? **Atherosclerosis Supplements**, Amsterdam, v. 3, n. 3, p. 5-9, Oct., 2002.

DE JONG, de Ariënne; PLAT, Jochum; MENSINK, P. Ronald. Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review). **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Maastricht, v. 14, n. 7, p. 362-369, Jul., 2003.

DEMONTY, I. et al. Continuous dose-response relationship of the LDL-cholesterol-lowering effect of phytosterol intake. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 139, n. 2, p. 271-284, Dec., 2009.

ELETRONIC Code of Federal Regulations. Disponível em:

<<http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-index?c=ecfr;sid=502078d8634923edc695b394a357d189;rgn=div8;view=text;node=21%3A2.0.1.1.2.5.1.14;idno=21;cc=ecfr>>. Acesso em: 22 nov. 2010.

European Union Science Committee on Food (2000). Opinion of the Scientific Committee on Food on a Request for the Safety Assessment of the Use of Phytosterol Esters in Yellow Fat Spreads.  
[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out56\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out56_en.pdf)

EUSSEN, Simone et al. Support of drug therapy using functional foods and dietary supplements: focus on statin therapy. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 9, p. 1260-1277, Mar., 2010.

EXPERT Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **Circulation - Journal of the American Heart Association**, Dallas, v. 106, n. 25, p. 3143-3421, Dec., 2002.

FERRETTI, Gianna et al. Effect of phytosterols on copper lipid peroxidation of human low-density lipoproteins. **Nutrition**, Burbank, v. 26, n. 3, p. 296-304, Mar., 2010.

GODWIN, Ifere et al. Differential effects of cholesterol and phytosterols on cell proliferation, apoptosis and expression of a prostate specific gene in prostate cancer cell lines. **Cancer Detection and Prevention**, Atlanta, v. 32, n. 4, p. 319-328, Dec., 2008.

HEPBURN, P. A.; HORNER, S. A.; SMITH, M. Safety evaluation of phytosterols esters: part 2. subchronic 90-day oral toxicity on phytosterols esters – a novel functional food. **Food Chemical Toxicology**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 521-532, May, 1999.

HOVENKAMP, Egbert et al. Biological effects of oxidized phytosterols: a review of the current knowledge. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 37-49, Oct., 2007.

ITO, Vanessa Mayumi. **Concentração de tocoferóis e fitoesteróis a partir do destilado desodorizado de óleos vegetais através do processo de destilação molecular**. 2007. 262 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química)–Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

JU, Y. H. et al. Beta-sitosterol, beta-sitosterol glucoside, and a mixture of beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside modulate the growth of estrogen-responsive breast cancer cells *in vitro* and in ovariectomized athymic mice. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, n. 5, p. 1145-1151, May 2004.

KATAN, Martijn et al. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. **Mayo Clinic Proceedings**, Rochester, v. 78, n. 8, p. 965-978, Aug. 2003.

MANNARINO, E. et al. Effects of phytosterol-enriched dairy product on lipids, sterols and 8-isoprostane in hypercholesterolemic patients: a multicenter Italian study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular diseases**; Chichester, v. 19, n. 2, p. 84-90, Feb. 2009.

MARINANGELI ,P.F. Cristopher et al. Plant sterols combined with exercise for the treatment of hypercholesterolemia: overview of independent and synergistic mechanisms of action. **Journal of Nutritional Biochemistry**; Québec, v. 17, p.217-224, 2006.

MIETTINEN, Tatu et al. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 333, n. 20, p. 1308-1312, Nov., 1995.

MOGHADASIAN, MH; FROHLICH, JJ. Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence. **The American Journal of Medicine**, v. 107, p. 588-594, Dec., 1999.

MORENO, J. J. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 35, n. 9, p. 1073-1081, Nov., 2003.

OLAGNERO, G. **Esteroles y estanoles vegetales**. Disponível em: <<http://www.danonesaludactiva.com.ar/index.php/component/content/article/36-material-cientifico/70-esteroles-y-estanoles-vegetales>>. Acesso em: 22 Nov. 2010.

QUESADA, A. R.; MUÑOZ-CHAPULI, R.; MEDINA, M. A. Antiangiogenic drugs: from bench to clinical trials. **Medicinal Research Reviews**, New York, v. 26, n. 4, p. 483-530, Jul., 2006.

RAICHT, R.F. et al. Protective effect of plant sterols against chemically-induced colon tumors in rats. **Cancer Research**, v. 40, p. 403-405, Feb.,1980.

REINER, Zeljko. Combined therapy in the treatment of dyslipidemia. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, Paris, v. 24, n. 1, p. 19-28, Feb., 2010.

ROBBERS, E. James. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, 1997.

RUDKOWSKA, Iwona. Plant sterols and stanols for healthy ageing. **Maturitas**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 158-162, June 2010.

SALO, Pia; WESTER, Ingmar. Low-fat formulations of plant stanols and sterols. **The American Journal of Cardiology**, New York, v. 96, n. 1A, p. 51D-54D, July 2005.

TALATI, Ripple et al. The comparative efficacy of plant sterols and stanols on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 110, n. 5, p. 719-726, May 2010.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. Phytosterols in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, New York, v. 57, n. 8, p. 321-325, Oct. 2003.

VERGÉS, Bruno. Les Phytostérols: quels bénéfices? Quels risques? **Medecine des maladies Métaboliques**, Issy-les-Moulineaux, v. 3, n. 6, p. 589-593, déc. 2009.

YANKAH, V. V. Lipids phytosterols and human health. In: AKOH, Casimir C. **Handbook of functional lipids**. New York: CRC, 2006. cap. 18, p. 403-418.