

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

**Estudo do extrato de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) na
dislipidemia de ratos hipercolesterolêmicos**

PESQUISADOR: Marcella de Almeida Sousa

Orientadora: Profa. MsC. Alessandra Alves da Silva Magalhães

MANAUS

Julho– 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**Estudo do extrato de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) na
dislipidemia de ratos hipercolesterolêmicos**

PESQUISADOR: Marcella de Almeida Sousa

Co-orientador: Profa. Denise Morais Lopes Galeno

Relatório final apresentado como requisito final ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC, sob orientação da Profa. MsC. Alessandra Alves da Silva Magalhães.

MANAUS

Julho - 2014

SUMÁRIO

1.0 RESUMO	7
2.0 INTRODUÇÃO	8
3.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 Animais de experimentação.....	11
3.1.1 Grupos experimentais.....	11
3.1.2 Desenho experimental.....	12
3.2 Preparação das dietas e controle de massa corpórea dos animais	13
3.2.1 Extrato de cubiu.....	13
3.2.2 Ração comum.....	14
3.2.3 Dieta de cafeteria.....	14
3.2.4 Determinação do consumo da dieta de cafeteria.....	15
3.2.5 Pesagem e índice de Lee.....	15
3.3 Determinações plasmáticas.....	16
3.3.1 Determinação da concentração de proteínas totais plasmáticas.....	16
3.3.2 Concentração de glicose plasmática.....	16
3.3.3 Concentração de triglicérides plasmática.....	16
3.3.4 Concentração de lipídios totais plasmáticos.....	16
3.3.5 Concentração de colesterol total plasmático.....	17
3.3.6 Concentração de HDL – colesterol plasmático	17
4.ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
5. RESULTADOS.....	18
5.1 Peso.....	18
5.2 Nasoanal	18
5.3 Índice de Lee.....	19
5.4 Consumo de ração.....	20
5.5 Gordura visceral.....	21
5.6 Gordura epididimal.....	22
5.7 Fígado e coração.....	22
5.8 Glicemia.....	23
5.9 Proteínas.....	23
5.10 Triglicerídeos.....	24

5.11 Colesterol Total.....	25
5.12 VLDL.....	26
6. DISCUSSÃO.....	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade dos componentes das rações utilizadas.....	15
Tabela 2: Comparação entre as gorduras viscerais dos grupos em gramas.....	21
Tabela 3: Comparação entre as gorduras epididimais.....	22
Tabela 4: Comparação entre os pesos do fígado em gramas.....	22
Tabela 5: Comparação entre os pesos do coração em gramas.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ganho ponderal entre os grupos ao longo de 8 semanas.....	18
Figura 2: Comparação entre as medidas nasoanal.....	19
Figura 3: Comparação entre os índices de Lee.....	20
Figura 4: Consumo dos grupos ao longo de 8 semanas.....	21
Figura 5: Comparação entre as glicemias.....	24
Figura 6: Comparação entre as medidas de proteínas.....	25
Figura 7: Comparação entre os triglicerídeos dos grupos.....	25
Figura 8: Comparação entre os colesteróis.....	26
Figura 9: Comparação entre VLDL.....	27

1. Resumo

Introdução: No Brasil vem aumentando as doenças cardiovasculares e isso vem se tornando um problema. O combate à dislipidemia é um fator importante para esse problema. E o cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) é um fruto que tem um potencial no tratamento da hipercolesterolemia. **Objetivo:** Estudar os efeitos do cubiu na dislipidemia de ratos hipercolesterolêmicos. **Metodologia:** 24 ratos Wistar foram divididos em 4 grupos durante um período de 8 semanas: 1º grupo controle; 2º dieta de cafeteria com gavagem com solução salina; 3º dieta de cafeteria com gavagem de sinvastatina; 4º dieta de cafeteria com gavagem de extrato de cubiu. Nesse estudo foram realizadas análises antropométricas e bioquímicas. **Resultados e Discussão:** A dieta não conseguiu induzir a hipercolesterolemia e nem aumentar o peso dos animais, porém conseguiu aumentar os depósitos de gordura visceral e epididimal. O cubiu se mostrou um ótimo cardioprotetor ao reduzir os níveis de colesterol dos animais.

Palavras chave: fruto – colesterol – dieta de cafeteria

2. Introdução

Durante os últimos trinta anos foi observada uma diminuição razoável da mortalidade por causas cardiovasculares em países desenvolvidos, enquanto elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido em países em desenvolvimento, dentre os quais o Brasil. De acordo com as projeções da Organização Mundial de Saúde (OMS), esta tendência de elevação da doença cardiovascular tende a continuar, agravando ainda mais o quadro de morbidade e mortalidade elevadas nestes países (SPOSITO *et al.*, 2007).

Segundo um estudo realizado pela American Heart Association divulgado em 2006, as doenças cardiovasculares corresponderam a 38,5% de todas as mortes em 2001. Os dados brasileiros revelam que as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte em mulheres e homens. São responsáveis por cerca de 20% de todas as mortes em indivíduos acima de 30 anos.

Foi divulgado pelo Ministério da Saúde que ocorreram 962.931 mortes em indivíduos com mais de 30 anos no ano de 2009. As doenças isquêmicas do coração foram responsáveis por 95.449 mortes e as doenças cerebrovasculares por 97.860. As causas cardiovasculares atribuíveis à aterosclerose foram responsáveis por 193.309 mortes (MANSUR *et al.*, 2012).

Mesmo sendo de caráter multifatorial, é determinante a relação direta das dislipidemias na gênese da doença aterosclerótica, e consequentes riscos cardiovasculares e cerebrovasculares (MION; NOBRE, 1999). Os mais importantes fatores de risco são: hipercolesterolemia por aumento do colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade), hipertensão, tabagismo, diabetes mellitos, hereditariedade e obesidade (SANTOS *et al.*, 1999). Segundo os estudos Katzmarzyk *et al.*, (2011), foi

constatado que a elevação do índice de massa corporal (IMC) em pessoas com sobrepeso e obesas estavam relacionadas ao aumento da mortalidade .

Dislipidemia é um quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue. Em consequência desse excesso há formação de placas lipídicas (ateromas) que se depositam na parede arterial, podendo obstruir a luz dos vasos sanguíneos (GOTTO, 1998). Recentemente, inúmeros estudos confirmaram a relação de que a diminuição dos níveis de colesterol proporciona uma redução no risco de eventos coronarianos, seja na prevenção primária ou secundária. E essa redução dos níveis de colesterol pode ser feito através de medicamentos, atividade física e uma dieta balanceada (SANTOS *et al.*, 1999).

Estudos mostram que o consumo de dietas ricas em gorduras monoinsaturadas (ácido oleico), em substituição a gorduras saturadas, exerce seletivos efeitos fisiológicos sobre os humanos, reduzindo os níveis de colesterol total, de triglicerídeos e de LDL colesterol, sem alterar a fração HDL colesterol do plasma (REBOLLO *et al.*, 1998).

Conforme a OMS, 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% usam plantas ou preparações desta (OMS, 1978), ou seja, utilizam-se de fitoterápicos. A fitoterapia é o estudo de plantas medicinais e suas aplicações nos mais variados tratamentos.

Dentre as espécies que vem sendo estudadas, destaca-se o cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), um fruto encontrado na Amazônia e muito utilizado pelos índios como alimento, medicamento e cosmético. Tem se constituído uma importante matéria-prima para a agroindústria moderna, porque a planta é rústica, fácil de ser cultivada, muito produtiva dependendo do genótipo cultivado, podendo atingir 100 toneladas por hectare de frutos que podem ser utilizados de múltiplas formas tais como sucos, doces,

geleias, compotas, molhos para carnes, cosméticos e medicamentos caseiros ou industrializados com ação hipoglicêmica (YUYAMA *et al.*, 2005) e possivelmente ação hipocolesterolêmica devido a presença de fibras em sua composição. Somam-se ainda, a existência de alguns conhecimentos sobre suas características químicas e tecnológicas que permitem sua industrialização em maior escala. Por ser anual e bem adaptado aos solos das várzeas da Amazônia, é possível produzir frutos com pouco ou nenhum insumo (SILVA FILHO, 1996, 1998, 2002).

O mecanismo de ação das fibras solúveis é baseado em sua ação de retirar ácidos biliares do duodeno. Consequentemente, a excreção fecal de ácidos biliares é elevado nas fezes, reduzindo a quantidade que alcança o fígado pela via entero-hepática. Esse aumento de excreção leva à maior conversão do colesterol hepático em ácidos biliares, diminuindo a concentração intra-hepática de colesterol. Uma das conseqüências da redução do colesterol intracelular é o aumento dos receptores LDL do fígado, elevando o *clearance* dessa lipoproteína do sangue (FARMER *et al.*, 1995).

Vários tipos de fibras solúveis, como beta-glucana, pectina e goma-guar têm se mostrado eficientes na diminuição do colesterol (BAZZANO, 2008). Pires *et al.*, (2006) demonstrou que o cubiu, por apresentar cerca de 1,61% do teor de pectina, tem sido considerado um fruto rico em fibras, podendo auxiliar na diminuição da hipercolesterolemia. Estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que uma elevação do teor de fibra na alimentação poderia ajudar a reduzir o LDL e o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular. Haja vista o problema de saúde pública que é a dislipidemia e os possíveis efeitos benéficos que a inclusão do cubiu na dieta pode trazer, tal como a redução do colesterol, esse trabalho foi confeccionado para elucidar esse possível benefício.

3. Material e Métodos

3.1 Animais de experimentação

Foram utilizados 24 ratos Wistar pesando entre 180 a 260 gramas nos experimentos. Os ratos foram obtidos do biotério da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) mantidos em gaiolas de plástico sob o ciclo claro-escuro de 12 horas com livre acesso à ração comum (Labina Rat Chow®) ou dieta de cafeteria conforme os quatro grupos experimentais abaixo especificados, e água *livre*, sob condições adequadas de luz e temperatura.

O projeto foi realizado de acordo com a legislação federal pertinente ao uso científico de animais, foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA-UFAM) N°017/2013.

3.1.1 Grupos experimentais:

Grupo RC – Controle negativo (n=6): recebeu ração comum por 8 semanas.

Grupo RD – Controle positivo (n=6): recebeu dieta de cafeteria para indução da hipercolesterolemia e gavagem com solução salina a 0,9% por 8 semanas.

Grupo GS – Experimental (n=6): recebeu dieta de cafeteria e droga Sinvastatina (20mg/kg) por 8 semanas

Grupo GC – Experimental (n=6): recebeu dieta de cafeteria e extrato da polpa do cubiu (100mg/kg; v.o.) por 8 semanas.

Foi utilizado o método de gavagem, pois, assim há certeza de que o animal recebeu a quantidade preconizada. A dieta de cafeteria foi ofertada durante todo o estudo para que não houvesse viés. A sinvastatina foi escolhida como droga padrão, pois sua ação farmacológica já é bem conhecida e estabelecida para o tratamento da hipercolesterolemia. Seu efeito no organismo é de diminuição do colesterol LDL, triglicerídeos e aumento do colesterol HDL (POLONINI *et al.*, 2011). Nesse estudo foi administrado o extrato de cubiu e a sinvastatina preventivamente, a partir do primeiro dia da indução da hipercolesterolemia e, posteriormente se comparou os grupos (PACHALY, 2001; MACEDO, 2010; JINDAL *et al.*, 2011).

3.1.2 Desenho experimental

Dia 1 do experimento: o grupo RC recebeu ração comum; o grupo RD recebeu dieta de cafeteria e gavagem com solução salina à 0,9%; o grupo GS recebeu dieta de cafeteria e gavagem com sinvastatina; e o grupo GC recebeu dieta de cafeteria e gavagem com extrato da polpa do cubiu.

Dia 2 ao dia 55 do experimento: cada grupo manteve sua dieta iniciada no dia 1 e os ratos foram pesados três vezes por semana.

Dia 56 do experimento: A coleta de sangue dos animais submetidos aos experimentos foi feita por punção cardíaca ventricular após laparotomia mediana, com os animais anestesiados com Isoflurano. (WAYNFORTH; FLECKNELL, 1980; COLMAN *et al.*, 2002). Após foram realizados exames bioquímicos para determinação plasmática de proteínas totais, lipídeos totais, glicose, triglicerídeos, HDL, LDL e colesterol total. Foi feita a retirada dos tecidos: coração, fígado, gorduras epididimal e visceral e sua pesagem. Porém não foi executada a seguinte determinação da lipogênese

descrita: A taxa de lipogênese “in vivo” nos tecidos adiposos brancos retroperitoneal e epididimal, fígado, coração, tecido adiposo marrom interescapular, músculo gastrocnêmio e carcaça, será avaliada a partir da incorporação de água triciada nas moléculas de lipídios, através do método descrito por Robinson e Williamson (1978) *apud* Couto (1995).

Foi alterado o anestésico de xilazina e quetamina para o anestésico inalatório isoflurano devido à falta de recursos para a compra dos anestésicos, haja vista que o isoflurano havia disponível no laboratório. O fácil manuseio do isoflurano associado ao fato da xilazina e da quetamina serem anestésicos que causam hipoglicemia (KIELING, 2012) o que poderia desencadear um viés para a pesquisa pontuaram positivamente para essa troca. Essa troca não alterou a aprovação no comitê de ética devido ao alto uso desses anestésicos em roedores.

3.2 Preparações das dietas e controle da massa corpórea dos animais

3.2.1 Extrato de cubiu

Os frutos do cubiu foram fornecidos pelo Instituto de Pesquisa da Amazônia (INPA) e processados para a elaboração da farinha de cubiu, o extrato foi elaborado pelo Laboratório Qbioma da UFAM.

A farinha foi acondicionada em sacos plásticos, embalada e armazenada em freezer com temperatura -16° C, até o momento da obtenção do extrato. O extrato hidroetanólico a 70% foi obtido a partir da maceração da farinha de cubiu (10g) em etanol (70 mL) e água (30 mL). Posteriormente, a mistura foi colocada no ultrassom por 10 minutos para homogeneização. O extrato foi filtrado três vezes a vácuo em filtro de Buchner em papel de filtro descartável e concentrado em rotaevaporador rotatório sob

pressão de 500 mmHg com banho termostatizado a 56°C até que aparentemente o álcool fosse eliminado. Em seguida, o extrato foi concentrado em liofilizador e armazenado em frasco âmbar em geladeira a -11 °C (SINGI *et al.*, 2005).

3.2.2 Ração comum

A ração LABINA, ração para animais de laboratório, procedente da Agribands do Brasil Ltda de Paulínia – SP, utilizada no Biotério Central da UFAM, constituiu a ração base para a preparação das dietas experimentais, sendo também utilizadas para alimentação do grupo controle.

3.2.3 Dieta de cafeteria

Dieta de cafeteria, previamente padronizada por Estadella *et al* (2004) é composta por 46% de carboidrato, 17% de proteína e 23% de lipídios. A dieta foi constituída por uma mistura de alimentos hipercalóricos na seguinte proporção: 15g de ração comercial (LABINA), 10g de amendoim torrado, 10g de chocolate ao leite e 5g de biscoito do tipo maisena (Tabela 1). Estes ingredientes foram moídos, misturados e oferecidos na forma de péletes.

Tabela 1: Quantidade dos componentes das rações utilizadas.

Componentes	Ração Labina	Dieta de cafeteria
Carboidrato	57%	46%
Proteína	22%	17%
Lipídios	4%	23%

Fonte: Oliveira, T.W.S. Dieta hiperlipídica na gestação e lactação: efeitos sobre parâmetros metabólicos e do consumo alimentar em ratos adultos, 2010, 86 F. Dissertação, (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde), Escola de Nutrição, UFBA, Salvador, 2010.

3.2.4 Determinação do consumo da dieta de cafeteria

A taxa de ingestão da dieta pelos animais foi monitorada três vezes por semana. A ingestão alimentar foi definida como a diferença entre a quantidade de ração ofertada e as sobras, divididos pelo número de animais por gaiola (RAVAGNANI et al., 2012).

3.2.5 Pesagem e Índice de Lee

Os ratos foram pesados três vezes por semana durante todo o período do estudo. Ao final do experimento foi calculado o Índice de Lee ($\text{Peso corporal}^{1/3}(\text{g})/\text{Comprimento naso-anal}(\text{cm}) \times 1000$) para constatação da obesidade. Comparando-se o grupo controle com os grupos experimentais foi possível determinar a obesidade dos ratos.

3.3 Determinações plasmáticas

3.3.1 Determinação da concentração de proteínas totais plasmáticas

Para determinação da concentração de proteínas totais plasmáticas, foram utilizados métodos espectrofotométricos com kits Proteínas Totais da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Avaliamos esse item para descartar possíveis toxicidades renais e hepáticas devido à utilização do extrato de cubiu. A determinação plasmática das proteínas totais auxilia nas informações sobre o funcionamento hepático, pois o fígado é um dos responsáveis pela produção destas proteínas (FERNANDES et al., 2002). Auxilia também na identificação da toxicidade renal, já que o rim deve filtrar essas proteínas de tal forma que elas não sejam eliminadas na urina (ALMEIDA, 2009).

3.3.2 Concentração de glicose plasmática

Para determinação da concentração de glicose plasmática, foram utilizados métodos espectrofotométricos com kits Glicose Enzimática Líquida da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

3.3.3 Concentração de triglicérides plasmática

Para determinação da concentração de triglicérides plasmática, foram utilizados métodos espectrofotométricos com kits Triglicérides Enzimático Líquido da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

3.3.4 Concentração de lipídios totais plasmáticos

Para determinação da concentração de lipídios totais plasmáticos, foram utilizados métodos espectrofotométricos com kits Lipídios Totais da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

3.3.5 Concentração de colesterol total plasmático

Para determinação da concentração de triglicerídeos plasmáticos, foram utilizados métodos espectrofotométricos com o kit Colesterol Enzimático Líquido da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

3.3.6 Concentração de HDL – colesterol plasmático

Para determinação da concentração de HDL – Colesteróis plasmáticos foram utilizados os kits Colesterol - HDL Enzimático e Colesterol Enzimático, ambos da In Vitro Diagnóstica S/A, utilizando-se a técnica Semi-micro.

4. Análise Estatística

Foram analisadas a existência de valores discrepantes (outliers), em seguida, os dados foram testados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (ZAR, 1999). De acordo com essas análises, foram utilizados testes paramétricos ou não paramétricos. As análises foram feitas utilizando testes T de Student pareado ou não pareado para comparar dois grupos, também foi utilizado o teste paramétrico Teste One Way ANOVA seguido do teste Tukey ou Dunnet para comparações múltiplas ou Teste Two way ANOVA quando houve a necessidade de comparação dos dados com duas

variáveis seguidos pelo Teste Bonferroni. Todas as análises foram feitas utilizando o teste Graphpad Prism 6.0. Foi considerado $p \leq 0,05$ para significância estatística.

5. Resultados

5.1 Peso

Uma das análises antropométricas realizadas foi o peso dos animais. Houve ganho ponderal ao longo do tempo pelo envelhecimento dos animais (**Figura 1**).

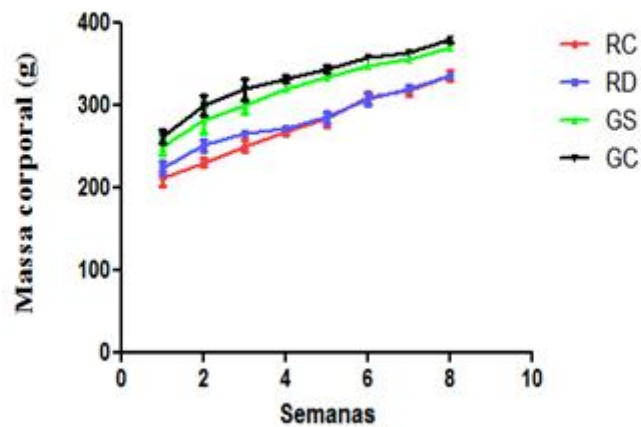


Figura 1: Comparação do ganho ponderal entre os grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Análise estatística do peso: $p > 0,05$, ou seja, não houve diferença significativa entre os grupos pelo teste t de Student.

5.2 Nasoanal

A segunda análise antropométrica realizada foi a medição e comparação entre os comprimentos nasoanal. Não houve diferenças significativas entre os grupos ($p>0,05$) segundo Teste OneWay Anova seguido do pos-teste Tukey. (**Figura 2**)

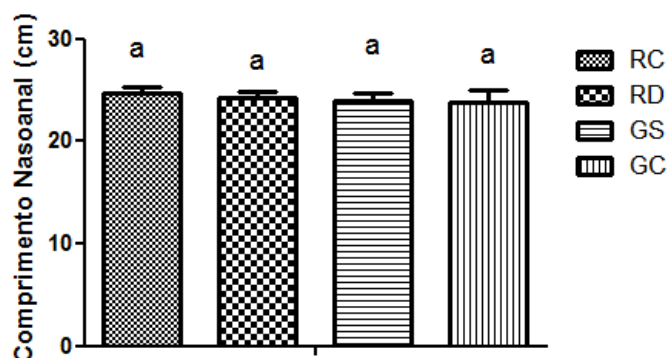


Figura 2: Comparação entre as medidas nasoanal entre os grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras iguais significa não haver diferença estatística entre os grupos ($p>0,05$), através do teste Teste One-Way ANOVA seguido do pos-teste de Tukey para múltiplas comparações.

5.3 Índice de Lee

A terceira análise antropométrica avaliada foi o índice de Lee que ao compararmos os grupos GC, GS e RC com o RD não houve diferença estatisticamente significativa quanto à análise do índice de Lee ($p>0,05$) baseado no Teste OneWay Anova seguido do pos- teste Dunnet. (**Figura 3**)

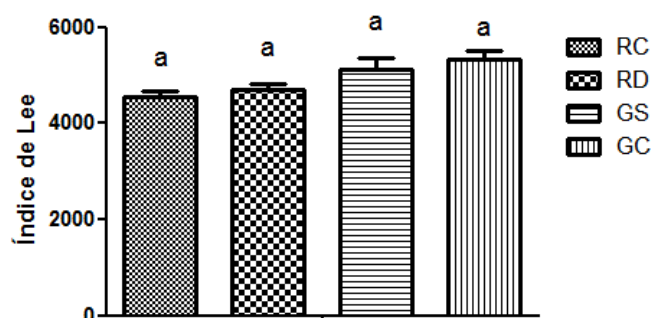


Figura 3: Comparação do índice de Lee entre os grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras iguais significa não haver diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$), através do teste Teste One-Way ANOVA seguido do pos-teste de Dunnet para múltiplas comparações.

5.4 Consumo de ração

Ao compararmos os grupos RC com RD não houve diferenças significativas entre eles ao longo das semanas estudadas ($p > 0,05$) segundo Teste Two-Oneway ANOVA seguido do pos-teste Bonferroni. (**Figura 4**)

Ao compararmos os grupos RD com GS e RD com GC também não evidenciamos redução do consumo da ração ($p > 0,05$) baseado no Teste Two-Oneway ANOVA seguido do pos- teste Bonferroni. (**Figura 4**)

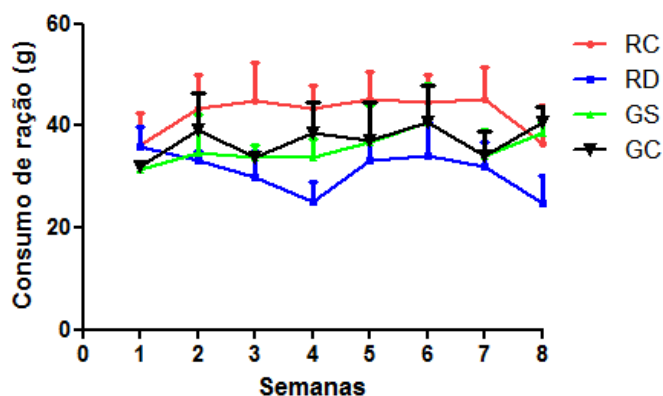


Figura 4: Comparação entre o consumo de ração dos grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu) ao longo de oito semanas. Não houve diferença estatística entre o consumo segundo Teste Two-Oneway ANOVA seguido do pos-teste Bonferroni ($p>0,05$).

5.5 Gordura visceral

Comparando o RC com o RD ($p<0,05$), houve diferença estatisticamente significativa segundo teste T de Studart devido ao efeito da dieta. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa ao compararmos os GS e GC com o RD ($p>0,05$) baseado no Teste OneWay Anova seguido do pos test Dunnet. (**Tabela 2**)

Tabela 2: Comparação entre as gorduras viscerais dos grupos em gramas, apesar da diferença entre os grupos controle e dieta positivo, não houve diferença entre os grupos sinvastatina e cubiu

GRUPO	GORDURA VISCERAL (g)
-------	----------------------

RC	6,0631
RD	6,74415
GS	10,04085
GC	9,990133

5.6 Gordura epididimal

Ao comparar RC com RD, houve diferença estatisticamente significativa. ($p < 0,05$) segundo o teste T de Studart. Mas essa diferença significativa não se aplicou a comparação entre o RD com GS e nem entre RD com GC ($p > 0,05$). (**Tabela 3**)

Tabela 3: Comparação entre as gorduras epididimais, apesar das diferenças entre o grupo controle e o controle positivo, não houve diferença entre o grupo sinvastatina e o cubiu.

GRUPO	GORDURA EPIDIDIMAL (g)
RC	2,94275
RD	5,490933
GS	9,6319
GC	11,0712

5.7 Fígado e coração

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$) segundo o Teste OneWay Anova seguido do pos test Tukey. (Tabelas 4 e 5)

Tabela 4: Comparação entre os pesos do fígado em gramas dos grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu), não houve diferença entre nenhum dos grupos

GRUPO	FÍGADO (g)
RC	9,023133
RD	8,115233
GS	9,16375
GC	9,4037

Tabela 5: Comparação entre os pesos do coração em gramas dos grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu), não houve diferença entre nenhum dos grupos analisados

GRUPO	CORAÇÃO (g)
RC	1,0029817
RD	0,921817
GS	0,969783
GC	0,97635

5.8 Glicemia

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) ao utilizamos o Teste One-Way Anova seguido do Pos Test Tukey (**Figura 5**).

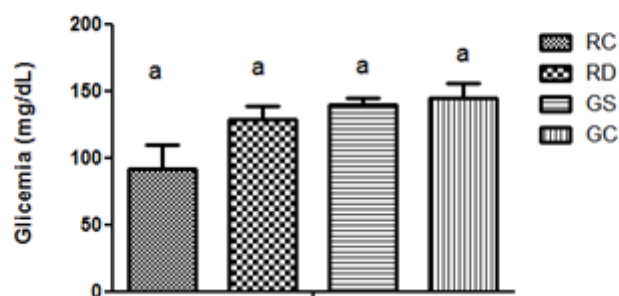


Figura 5: Comparação da glicemia entre os grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras iguais significa não haver diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$), através do teste Teste One-Way ANOVA seguido do pos-teste de Tukey para múltiplas comparações.

5.9 Proteínas

Análise estatística não foi significativa segundo o Teste OneWay Anova seguido do pos test Tukey. ($p > 0,05$). (**Figura 6**)

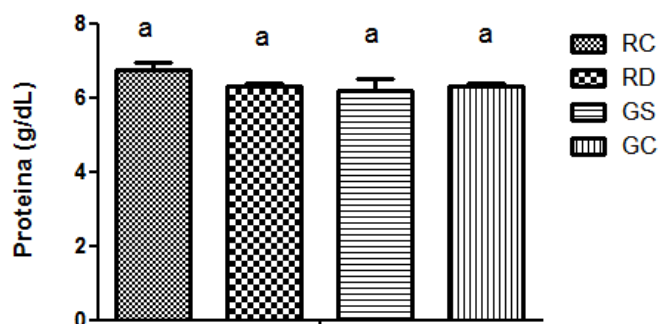


Figura 6: Comparação entre as medidas de proteínas entre os grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras

iguais significa não haver diferença estatística entre os grupos ($p>0,05$), através do teste Teste One-Way ANOVA seguido do pos-teste de Tukey para múltiplas comparações.

5.10 Triglicerídeos

A dieta aumentou os triglicerídeos comparando-se RC com RD segundo o Teste t de Studart ($p<0,05$). A sinvastatina baixou os triglicerídeos comparando-se RD com GS segundo Teste t de Studart ($p<0,0001$). O cubiu não alterou os triglicerídeos comparando-se RD com GC segundo o Teste t de Studart ($p>0,05$) (**Figura 7**).

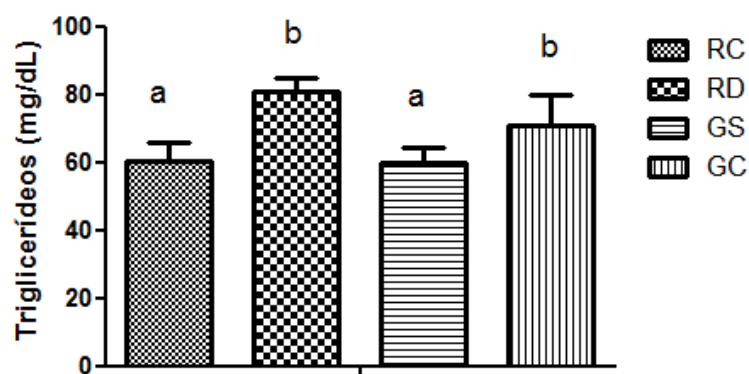


Figura 7: Comparação entre os triglicerídeos dos grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre os grupos ($p<0,05$), através do teste Teste t de Studart.

5.11 Colesterol Total

Segundo o Teste t de Studart foi significativo o aumento no colesterol comparando-se RC com RD ($p<0,05$), também foi significativo a redução do colesterol

em GS comparando com RD ($p<0,01$) e em GC comparando com RD ($p<0,05$). (**Figura 8**).

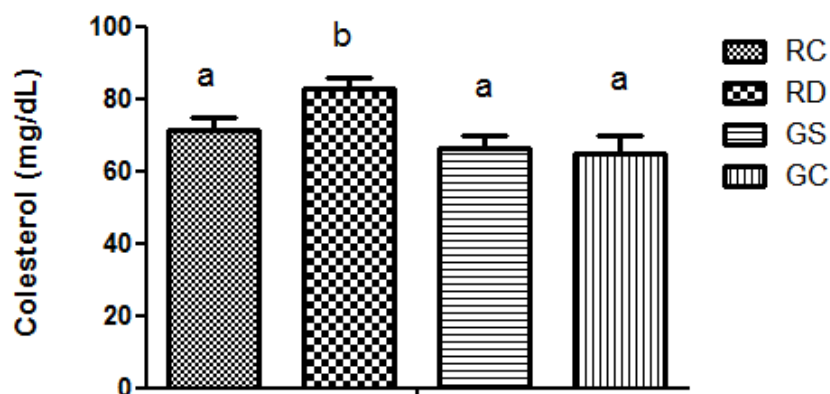


Figura 8: Comparação do colesterol entre os grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre os grupos ($p<0,05$), através do teste Teste t de Studart.

Os valores de referência utilizados para o colesterol total foram baseados no trabalho de Afonso (2010) ao realizar a avaliação do efeito do extrato aquoso e da fração fenólica livre do Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estado antioxidante e o perfil lipídico em ratos com hipercolesterolemia induzida pela dieta.

5.12 VLDL

Segundo o Teste t de Studart foi significativo o aumento de VLDL em RD comparando-se com RC ($p<0,05$). Também foi significativo a diminuição do mesmo em GS comparando-se com RD ($p<0,01$), porém não foi significativo comparando-se RD com GC ($p>0,05$) (**Figura 9**).

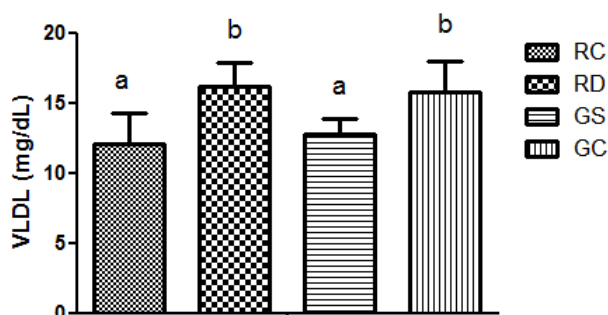


Figura 9: Comparação entre VLDL dos grupos (RC= controle negativo; RD= controle positivo; GS= grupo sinvastatina; GC= grupo cubiu). Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre os grupos ($p < 0,05$), através do teste Teste t de Studart.

HDL E LDL não foram possíveis de serem analisados devido às análises bioquímicas terem resultado em números negativos apesar de terem sido refeitas.

6 Discussão

O peso, comprimento nasoanal e índice de Lee não tiveram diferenças estatísticas significantes ($p > 0,05$), essa indiferença no índice de Lee também foi demonstrada do trabalho de Menezes (2010) apesar de no mesmo trabalho ter sido demonstrado diferença significativa entre o peso. Essa discrepância entre a dissertação de Menezes (2010) em relação ao peso pode ser explicada devido a um problema no biotério que enviou os ratos dos grupos GS e GC com peso inicial bem acima do peso dos grupos RC e RD. Outros fatores que talvez possam ter interferido no aumento de peso são o número de animais por caixa que não deve ultrapassar o número de 4, diferentemente do

experimento no qual eram 6 animais por gaiola, pequenos aumentos na temperatura ambiente e no tempo de escuro do foto período, fatores que dependiam do biotério. O aumento da temperatura diminuiria o gasto energético do animal para manter sua temperatura, justificando um aumento de peso. E como os roedores possuem hábitos noturnos, se houvessem um aumento nesse tempo, poderia haver uma maior ingestão da dieta de cafeteria. A idade do animal também pode interferir nesse aumento de peso, já que os animais mais jovens tendem a ganhar peso mais facilmente. (ROSINI et al., 2012)

Não houve diferença significativa no consumo ($p>0,05$) conforme já havia demonstrado Borba (2008). Talvez tenha havido uma diferença na palatabilidade da dieta de cafeteria que não inferiu um aumento nesse consumo. Essa dieta também não induziu os animais a obesidade e a dislipidemia diferentemente do que demonstrou Estadella *et al* (2004) e isso não ocorreu devido a administração precoce de sinvastatina e cubiu pois nem no grupo controle positivo houve indução da hipercolesterolemia. Isso talvez tenha ocorrido devido a um possível erro na produção da dieta ou uma diferença na palatabilidade da ração devido ao clima quente de Manaus. Um projeto piloto não foi realizado devido a inexperiência da orientanda. Apesar da indiferença no consumo, isso não deveria afetar a indução da hipercolesterolemia, haja vista que mesmo os ratos consumindo a mesma quantidade de ração, a ração de cafeteria era muito mais calórica que a comum. E por isso mais estudos devem ser realizados a cerca da relação das proporções adequadas dos ingredientes da ração de cafeteria.

A dieta de cafeteria aumentou significativamente a gordura visceral e epididimal ($p<0,05$) semelhante a Menezes (2010), porém não houve redução nem com o uso da sinvastatina o que já era esperado, pois essa droga reduz apenas os níveis de colesterol e

lipídio no sangue e nem com o uso do cubiu ($p>0,05$). Isso ocorreu provavelmente devido ao tempo do tratamento, talvez com um tempo de tratamento maior isso tivesse ocorrido e para tal comprovação mais estudos devem ser realizados.

Não houve diferenças significativas no fígado e nem no coração entre os grupos ($p>0,05$) conforme já havia demonstrado Borba (2008). Talvez seja preciso um tempo maior para dieta fazer efeito nesses órgãos.

Apesar de empiricamente o cubiu ser utilizado para controle da glicemia, triglicerídeos e VLDL e Yuyama *et al.*, (2005) ter demonstrado redução da concentração sérica de glicose, isso não pôde ser comprovado através deste trabalho já que o cubiu não se mostrou estatisticamente relevante nessa redução ($p>0,05$). Porém mais estudos devem ser feitos para essa comprovação, haja vista que a dieta de cafeteria não surtiu o efeito desejado e isso pode ter implicado na negativa do resultado dessa bioquímica.

Já o colesterol foi reduzido com o uso do cubiu ($p<0,05$) conforme já descrito por Pires *et al* (2006). Isso demonstra um efeito cardioprotetor do cubiu que deve ser mais pesquisado, haja vista que um fruto como esse tão abundante na região norte (SILVA FILHO, 1996, 1998, 2002) se tiver esse efeito cardioprotetor poderia trazer muitos benefícios, já que uma das principais causas de morte é devido a doenças cardiovasculares (SPOSITO *et al.*, 2007).

7 Referências Bibliográficas

1. Afonso, M.S. 2010. *Avaliação do efeito do extrato aquoso e da fração fenólica livre do Alecrim (Rosmarinus officinalis L.) sobre o estado antioxidante e o perfil lipídico em ratos com hipercolesterolemia induzida pela dieta*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos, São Paulo, São Paulo. 109p.

2. Almeida, F. 2009. *Avaliação gastrotóxica e toxicological pré-clínica da alga Lithothamnion calcareum*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Belo Horizonte, Minas Gerais. 76p.
3. American Heart Association. Heart disease and stroke statistics – 2006 Update. Dallas: AHA/ASA; 2006.
4. Bazzano LA. Effects of soluble dietary fiber on low-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease risk. *Current Atherosclerosis Report*. Dec; 10(6):473-7. 2008.
5. Borba, A.J.2008. *Efeito da dieta hiperlipídico-protéica no metabolismo de ratos wistar adultos*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Programa de pós-graduação em Patologia, Uberaba, Minas Gerais. 66p.
6. Couto, G. E. C. *Efeito do exercício físico contínuo sobre o metabolismo lipídico de ratos tornados obesos pelo tratamento com glutamato monossódico (MSG)*. Dissertação de Mestrado, Escola Paulista de Medicina-UNIFESP, 1995.
7. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 20(2):218-24. 2004.
8. Farmer JA, Gotto AM, JR. Currently available hypolipidaemic drugs and future therapeutic developments. *Baillieres Clinical Endocrinology and Metabolism*. 9(4):825-47. 1995.
9. Fernandes, A.A.H., Bordon, J. G., Batistella, R.F., Nascimento, S.M., Silva, M.S., Alves, M.J.Q.F. Avaliações bioquímicas séricas e hepáticas do extrato de Yacon (*Polymnia sonchifolia*) Poepp. & Endl. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.4, n.2, p.30-34, 2002
10. Gotto AM JR. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *American Journal of Cardiology*. 82: 22Q-25Q. 1998.
11. Jindal V, Dhingra D, Sharma S, Parle M, Harna RK. Hypolipidemic and weight reducing activity of the ethanolic extract of *Tamarindus indica* fruit pulp in cafeteria diet and sulpiride-induced obese rats. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2(2); 80-84. 2011.

12. Katzmarzyk PT, Craig CL, Bouchard C. Original article underweight, overweight and obesity: relationships with mortality in the 13-year follow-up of the Canada Fitness Survey. *Journal of Clinical Epidemiology*. 54: 916-20. 2001.

13. Kieling, Carlos Oscar et al . The effects of anesthetic regimen in 90% hepatectomy in rats. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo , v. 27, n. 10, Oct. 2012 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502012001000006&lng=en&nrm=iso>.access on 04 July 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502012001000006>

14. Macedo, I. C. *Estresse crônico associado à dieta hipercalórica em ratos wistar: parâmetros ponderais e bioquímicos*. Rio Grande do Sul, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

15. Mansur, A. P.; Favarato, D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, v. 99, n. 2, Aug. 2012 .

16. Menezes, E.F. 2010. *Efeito da indução de obesidade pela dieta de cafeteria a partir dos 21 dias de idade sobre a estrutura e o desenvolvimento folicular de ratas wistar*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 55p.

17. Mion, J. D, Nobre, F. Risco Cardiovascular Global. São Paulo: *Lemos Editorial*, 4:66-74 / 6:103-6. 1999.

18. Organização Mundial da Saúde (OMS). Alma-Ata 1978 – Cuidados primários de saúde. Relatório da conferência internacional sobre cuidados primários de saúde. Brasília: Organização Mundial da Saúde/Fundo das Nações Unidas para a Infância; 1979.

19. Pachaly JR, Brito HFV. Interspecific Allometric Scaling. In: Fowler ME, Cubas PR. *Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals*, Ames. Iowa University Press: 475-81. 2001.

20. Pires AMB, Silva OS, Nardelli PM, Gomes JC, Ramos AM. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). *Ceres*, p. 309-316, 2006.

21. Polonini, H. C., Santos, F. C., Vaz, U. P., Brandão, M. A. F., Raposo, N. R. B., Ferreira, A. O. (2011). Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação do teor de sinvastatina em cápsulas magistrais. *Química Nova*, 34(3), 516-519.

22. Rebollo, A. J. G., Botejara, E.M., Cansado, A. O., Morales, P.J., Bellido, M. M., Sanchez, A. F., Arias, P. M., Alvarez, J. E. C.. Effects of consumption of meat

- product rich in monounsaturated fatty acids (the ham from the Iberian pig) on plasma lipids. *Nutrition Research*, v. 18, n. 12, p. 743-750, 1998.
23. Robinson, A. M.; Williamson, D. H. Control of glucose metabolism in isolated acini of the lactating mammary gland of the rat; effects of oleat on glucose utilization and lipogenesis. *Biochemistry Journal* 170, 609-613. 1978.
 24. Rosini, T.C., Silva, A. S. R., Moraes, C.. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo de roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 58(3):383-387. 2012.
 25. Santos, J. E., Guimaraes, A. C., Diament, J.. Consenso Brasileiro Sobre Dislipidemias Detecção, Avaliação e Tratamento. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica*, São Paulo, v. 43, n. 4, Aug. 1999.
 26. Silva Filho, D.F., Anunciação Filho, C.J., Noda, H., Reis, O.V. Variabilidade genética em populações naturais de cubiu da Amazônia. *Horticultura Brasileira*. 14(1):9-15. 1996.
 27. Silva Filho, D.F. *Cocona (Solanum sessiliflorum Dunal): Cultivo y utilizacion*. Caracas, Venezuela: Secretaria Pro-Tempore. Tratado de Cooperacion Amazonica. 114p. 1998.
 28. Silva Filho, D.F. *Discriminação de etnovarietades de cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal Solanaceae) da Amazônia, com base em suas características morfológicas e químicas*. 2002. 117p. Tese de Doutorado INPA/UFAM. Manaus, AM. Tese de Doutorado. 117 p. 2002.
 29. Sposito, A. C., Caramelli, B., Fonseca, F. A. H, Bertolami, M.C.. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, São Paulo, 2007.
 30. Waynforth, H.B., Flecknell, P.A.. Experimental and surgical technique in the rat: *Academic Press London*; 1980.
 31. Yuyama L.K.O., Pereira, Z.R.F., Aguiar, J.P.L., Silho, D.F.S., Souza, R.F.S., Teixeira, A.P.. Estudo da influência do cubiu (*Solanum sessiliflorum Dunal*) sobre a concentração sérica de glicose. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 64 (2), p. 232-236, 2005.
 32. Zar, J.H. *Biostatistical Analysis*, 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 1999. 662 pp., plus appendices.