



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS



**EFEITO HIPOCOLESTEROLÊMICO DO CUBIU
(*Solanum sessiliflorum* Dunal) EM RATOS**

JENIFFER REZENDE PATROCÍNIO MAIA

MANAUS
2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS



JENIFFER REZENDE PATROCÍNIO MAIA

**EFEITO HIPOCOLESTEROLÊMICO DO CUBIU
(*Solanum sessiliflorum* Dunal) EM RATOS**

Trabalho apresentado para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Amazonas.

ORIENTADORA: Dra. LUCIA KIYOKO OZAKI YUYAMA

CO-ORIENTADOR: Dr. EMERSON SILVA LIMA

MANAUS
2010

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M217e Maia, Jeniffer Rezende Patrocínio
Efeito hipocolesterolêmico do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal)
em ratos / Jeniffer Rezende Patrocínio Maia. 2010
40 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Lucia Kiyoko Ozaki Yuyama
Coorientador: Emerson Silva Lima
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. Cubiu. 2. Fibra alimentar. 3. Hipercolesterolemia. 4. Ciência de
Alimentos. I. Yuyama, Lucia Kiyoko Ozaki II. Universidade Federal
do Amazonas III. Título

*Aos meus pais Ramon Trumam Patrocínio e Marilene Gomes R. Patrocínio, sempre
fantásticos,
à minha irmã Paola Rezende Patrocínio, sempre querida,
ao meu irmão Ralph Rezende Patrocínio, sempre carinhoso,
e ao meu amor, Fábio Maia,
eu dedico e ofereço....*

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Dra. Lucia Yuyama e Dr. Emerson Lima que com paciência e dedicação estiveram sempre ao meu lado;

À minha querida amiga Maíra por ser sempre tão atenciosa, com valiosas palavras de incentivo e força e pela incansável ajuda na realização deste trabalho;

À minha mãe pelo constante incentivo e orações;

Ao meu pai e à minha irmã que sempre acreditaram em mim;

Ao meu amor Fábio pelas palavras de segurança e constante presença;

À equipe do biotério Central do INPA , em especial à D. Nice, pelo apoio e ajuda nos trabalhos mais cansativos;

À Rose pela ajuda inestimável nas análises bioquímicas;

À equipe do laboratório de Nutrição e Alimentação do INPA;

À Andréa pelo auxílio nas análises de colesterol fecal e hepático;

Ao pesquisador Jaime pela ajuda na análise química do cubiu;

Ao estatístico Edinho pela realização da análise estatística;

Aos colegas e professores do curso de Pós-graduação;

E a todos que colaboraram para a realização deste trabalho.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1	Fluxograma do Delineamento Experimental	20
-----------------	---	----

LISTA DE TABELA

Tabela 1	Composição das Dietas	16
-----------------	-----------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DCV	Doença cardiovascular
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
AVC	Acidente vascular cerebral
DAC	Doença arterial coronariana
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
ppm	Parte por milhão
°C	Grau celsius
kg	Quilograma
g	Gramma
n°	Número
ml	Mililitro
rpm	Rotações por minuto
CT	Colesterol total
TG	Triglicerídeo
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	13
2.1 Geral	13
2.2 Específicos	13
3. METODOLOGIA	14
3.1 Modelo de Estudo	14
3.2 Local do experimento	14
3.3 Farinha de cubiu	14
3.4 Ensaio biológico	15
3.5 Delineamento experimental	17
3.6 Análises bioquímicas	21
3.7 Estatística	21
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
5. APÊNDICES	26

1. INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular (DCV) é considerada grave problema de saúde pública no Brasil, tendo grande influência nos custos da assistência médica do país, com impacto significativo no orçamento do Ministério da Saúde, principalmente na atenção da alta complexidade (ARAÚJO; FERRAZ, 2005). Nos últimos trinta anos, o número de mortes causadas por DCV diminuiu na maioria dos países desenvolvidos, ao passo que nos países em desenvolvimento, dentre os quais o Brasil, aumentou significativamente (ÔUNPUU et al., 2001; SBC, 2007). A redução do LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) tornou-se o alvo terapêutico a ser atingido na busca do tratamento e da prevenção da DCV. Como consequência, a necessidade de um maior conhecimento desta doença e de como combatê-la, tem consumido grande soma de recursos destinados à pesquisa científica em todo o mundo, cujo objetivo máximo é a redução da elevada morbimortalidade cardio e cerebrovascular (MAGALHÃES et al., 2004).

A hipercolesterolemia está associadas à doença cardiovascular, principalmente o acidente vascular cerebral (AVC) e a doença arterial coronariana (DAC) (BOTREL et al., 2000), sendo responsável, juntamente com suas implicações, pela maioria das mortes precoces nos adultos (BRESLOW, 1997; NOBRE et al., 2006). A associação ente DCV, AVC e DAC está bem estabelecida e se fundamenta principalmente no papel do colesterol durante o desenvolvimento da aterosclerose (POSADAS-ROMERO, 1995). Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia-SBC (2007) os fatores de risco mais evidentes no panorama da saúde cardiovascular no Brasil são tabagismo,

hipertensão, diabetes mellitus, obesidade e dislipidemias.

A alimentação é um dos principais fatores determinantes da saúde humana e na constante busca da prevenção das doenças cardiovasculares tem papel de extrema importância (LAMPE, 1999). O consumo de alimentos ricos em colesterol e gorduras, principalmente a saturada, associado ao baixo consumo de alimentos fontes de substâncias antioxidantes e fibras, resultam em elevado teor de colesterol sérico e suas frações, representando um dos principais fatores de risco para a DCV (McNAMARA, 2000; RIQUE et al., 2002; SBC, 2007). Sendo assim, as pesquisas sobre os hábitos alimentares e as propriedades dos alimentos têm aumentado nos últimos anos a fim de fornecer proteção adicional na redução do risco de doenças crônicas, como as do aparelho circulatório (BERTASSO, 2001).

Estudos epidemiológicos apontam que o aumento no consumo de frutas e hortaliças está associado à redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (HU et al., 2000; FUNG et al., 2001), pois estes alimentos são importantes fontes de vitaminas, minerais e fibras (GARCIA, 2007).

A ingestão de fibra alimentar é uma alternativa para redução dos fatores de risco para as doenças cardiovasculares (CALLEGARO et al., 2005; LAIRON et al., 2005). Vários trabalhos realizados com ratos mostram que a ingestão de fibras solúveis em água, como a pectina e o farelo de aveia, produzem um decréscimo dos níveis de colesterol sérico e hepático (PIEIDADE; CANNIATTI-BRAZACA, 2003; RAMOS et al., 2007; SALGADO et al., 2008).

A Região Amazônica é rica pela sua imensa biodiversidade, possuindo recursos naturais promissores como frutos de alto valor nutritivo e elevado potencial econômico (YUYAMA et al., 2007; YUYAMA et al., 2008), que podem contribuir na melhora do

estado nutricional de grupos biologicamente vulneráveis, assim como na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (MACEDO, 1999). Paradoxalmente, estudos revelam que a alimentação da população amazônica é deficiente em vitaminas e minerais, sendo rica em carboidratos, baseando-se em baixo consumo de frutas, legumes, verduras e alto consumo de peixes, bem como de farinha de mandioca (SHRIMPTON; GIUGLIANO, 1979), necessitando, portanto, de ações que implementem a alimentação saudável e variada.

Dentre as espécies nativas da Amazônia, o cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) se destaca por apresentar possibilidades múltiplas de uso, fácil cultivo e elevada produtividade, podendo atingir 100 toneladas por hectare, com a possibilidade de se programar os plantios para se obter colheita durante o ano todo, permitindo constante fornecimento de matéria-prima para vários fins (SILVA FILHO; MACHADO, 1997; SILVA FILHO, 1998). O fruto pertence à família das Solanaceas (SILVA FILHO, 1997) e apresenta expressivos teores de fibras, principalmente as solúveis, como a pectina (PAHLEN, 1977).

O cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) está distribuído em toda a Amazônia brasileira, peruana, equatoriana, colombiana e venezuelana, nos Andes do Equador e Colômbia, nos vales andinos da Colômbia e litoral pacífico do Equador (SILVA FILHO, 1998). É também conhecido como topiro, cocona, orinoco apple, peach tomato, tomate de índio, maná, be-ta-ká, detwá, lulo, kukush e pupú (WHALEN et al., 1981; SALICK, 1989; SILVA FILHO, 1998);

Seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou na forma de geléias (YUYAMA et al., 2008), néctar (OLIVEIRA, 1999), doces, compotas e tempero de sopas de peixe. Pelas populações tradicionais é utilizado como cosmético e popularmente para controle

de coceiras de pele e redução dos níveis elevados de colesterol e ácido úrico no sangue (SILVA FILHO et al., 1997), necessitando ainda validar cientificamente a ação hipocolesterolêmica.. Seu efeito hipoglicemiante já foi comprovado em estudo utilizando ratos como modelo (YUYAMA et al., 2005).

Diante do exposto, o presente estudo foi proposto a fim de avaliar o efeito da farinha de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) sobre os níveis séricos de triglicérides, colesterol total e frações, em ratos Wistar hipercolesterolêmicos.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito da farinha de cubiu sobre a lipemia de ratos hipercolesterolêmicos.

2.2 Específicos

2.2.1 Avaliar a composição química do cubiu.

2.2.2 Avaliar o efeito da indução da hipercolesterolemia nos animais por meio de indicadores bioquímicos.

2.2.3 Verificar o potencial hipocolesterolêmico da farinha de cubiu.

2.2.4 Subsidiar pesquisas futuras.

3. METODOLOGIA

3.1 Modelo de Estudo

Trata-se de um estudo experimental primário realizado em animais para verificação do efeito hipocolesterolêmico da farinha de cubiu.

3.2 Local do estudo

O ensaio biológico foi realizado no biotério do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e o processamento da farinha de cubiu, análise química e formulação das rações no Laboratório de Alimentos e Nutrição do INPA. As análises bioquímicas foram realizadas no laboratório de Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

3.3 Farinha de cubiu

Para obtenção da farinha de cubiu foram utilizados frutos da mesma etnovariedade, coletados em estágio de amadurecimento comercial, oriundos da Estação Experimental do Ariau, do INPA. Os mesmos foram transportados em caixas de isopor até o Laboratório de Alimentos e Nutrição.

No laboratório de Alimentos Nutrição do INPA os frutos foram selecionados, e foram eliminados os que estavam deteriorados ou com algum outro tipo de injúria,

visando a seleção de frutos saudáveis adequados ao processamento. Posteriormente foram lavados em água corrente e retirados os pedúnculos, sementes e a placenta, ficando apenas o epicarpo e o mesocarpo. Após a lavagem, os frutos foram sanitizados com solução de hipoclorito à 200ppm por 30 minutos, enxaguados em água corrente, seguido do branqueamento térmico, à temperatura de 90°C por 3 minutos e choque térmico em banho de gelo. Na sequência, os frutos foram acondicionados em sacos de polietileno de 2 kg cada e congelados à temperatura de -15°C até o momento da secagem.

Os frutos foram secos em estufa com circulação de ar forçada a 60°C até peso constante. Após este período foram liquidificados, homogeneizados e acondicionados em sacos de polietileno de 2 kg e congelados à temperatura de -15°C até o momento de sua utilização. Uma alíquota em triplicata foi retirada, para fins de análise química.

3.4 Ensaio biológico

3.4.1 Dietas

As dietas foram preparadas de acordo com as recomendações de Reeves et al. (1993), e para torná-las hipercolesterolêmicas foram acrescidas de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. 3,5% de óleo de soja foi substituído por 3,5% de banha de porco para potencializar a indução da hipercolesterolêmica.

Nas dietas experimentais, 5, 25 e 50% do total de fibra alimentar recomendada, foi proveniente da farinha de cubiu. As dietas dos grupos *per feeding* foram formuladas tendo como fonte de fibra alimentar, celulose e pectina, nas mesmas proporções dos grupos experimentais (Tabela 1).

Tabela 1
Composição das dietas

DIETAS *							
Ingredientes	Grupo 1 - Dieta Hipercolest.	Grupo 2 - Dieta Hipercolest.	Grupo 3 - Dieta Hipercolest.	Grupo 4 - Dieta Hipercolest.	Grupo 5 - Dieta Hipercolest.	Grupo 6 – Dieta Hipercolest.	Grupo 7 – Dieta Hipercolest.
		5% de farinha de cubiu	25% de farinha de cubiu	50% de farinha de cubiu	Pectina e celulose 5%	Pectina e celulose 25%	Pectina e celulose 50%
Caseína ¹	200	200	200	200	200	200	200
Sacarose ²	100	100	100	100	100	100	100
Óleo de soja ³	35	35	35	35	35	35	35
Fibra (Celulose) ⁴	50	47,51	37,48	25	49,2	45,83	41,67
Mix Minerais ⁵	35	35	35	35	35	35	35
Mix Vitamínico ⁶	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina ⁷	3	3	3	3	3	3	3
Bitartarato de colina ⁸	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Farinha de cubiu	-	6,41	32,1	64,1	-	-	-
Pectina ⁹	-	-	-	-	0,83	4,17	8,33
Colesterol ¹⁰	10	10	10	10	10	10	10
Ácido Cólico ¹¹	1	1	1	1	1	1	1
Banha de porco ¹²	35	35	35	35	35	35	35
Amido ¹³	Para completar 1kg						

*Reeves et al. (1993) Rhosther¹; União²; Liza³; Vetec⁴; Rhosther⁵; Rhoster⁶; Rhoster⁷; Rhoster⁸; Vetec⁹; Sigma¹⁰; Sigma¹¹; Sadia¹²; Maizena¹³

3.4.2 Animais

Foram utilizados 80 ratos machos, adultos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus* var. *Albinus*), pesando aproximadamente 180g, provenientes do biotério do INPA. Todos procedimentos adotados durante o experimento estão de acordo com o que preconiza a Lei nº 11.794 de 2008 (BRASIL, 2008) que estabelece procedimentos para uso científico de animais.

3.4.3 Indução e manutenção da hipercolesterolemia

Para indução e manutenção da hipercolesterolemia foi utilizado o modelo experimental de indução a base de colesterol, ácido cólico e banha de porco, adicionados à dieta durante todo ensaio (MACHADO et al., 2003).

3.5 Delineamento experimental

3.5.1 Período pré-experimental

No período pré-experimental, os animais foram mantidos em grupos de seis ratos por gaiola, em ambiente com temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro-escuro de 12 horas, recebendo água e ração comercial Labina *ad libitum*, até atingirem o peso desejado.

Na última semana do período pré-experimental, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro-escuro de 12 horas, recebendo água e ração comercial Labina *ad libitum* para adaptação.

Os animais foram colocados em jejum 12 horas antes do início do experimento.

3.5.2 Período experimental

O ensaio foi dividido em duas etapas de monitoramento, sendo:

1ª Etapa: Indução da hipercolesterolemia

A indução da hipercolesterolemia foi realizada em 80 animais, que receberam dieta a base de caseína acrescida de colesterol, ácido cólico e banha de porco (dieta hipercolesterolêmica) de acordo com a metodologia preconizada por Machado et al. (2003), pelo período de 21 dias.

2ª Etapa: Manutenção da hipercolesterolemia e monitoramento dos tratamentos

Após a indução, os ratos foram divididos em 7 grupos casualizados, com 8 animais cada, de acordo com os níveis séricos de CT. Nesta etapa foi mantida a dieta hipercolesterolêmica em todos os grupos, sendo que nos grupos 2, 3 e 4 foram acrescentados 5, 25 e 50% de farinha de cubiu respectivamente e nos grupos 5, 6 e 7 foram acrescentados 5, 25 e 50% de pectina e celulose respectivamente.

3.5.3 Coleta de sangue/fígado

Semanalmente, após jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (0,15ml/100g de peso) e cloridrato de xylasina (0,015ml/100g de peso) por via intraperitoneal, e por punção cardíaca foram coletadas amostras de sangue em tubos heparinizados e centrifugados por 15 minutos a 2500 rpm (rotações por minuto) para obtenção do plasma e posterior análise bioquímica. No final do experimento todos os animais, após jejum de 12 horas, foram anestesiados com cloridrato de cetamina (0,15ml/100g de peso) e cloridrato de xylasina (0,015ml/100g de peso) por via intraperitoneal e sacrificados para fins de coleta de sangue e fígado para determinação dos níveis de CT, TG, HDL-c e LDL-c.

3.5.4 Controle da ingestão alimentar e massa corporal

A ingestão alimentar foi mensurada subtraindo-se a quantidade de dieta que sobrava no comedouro e a que era desperdiçada, do quantitativo total de dieta oferecida. O cálculo do ganho/perda de peso foi realizado por meio da avaliação do peso no início do experimento e na data da pesagem.

3.5.5 Coleta de fezes

Durante todo o período experimental, as fezes dos animais foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos de 100g, devidamente identificados. No final do experimento, as fezes foram secas em estufa a 105°C até peso constante. Em seguida, foram moídas em moinho de facas e acondicionadas em potes plásticos individuais para cada animal, devidamente identificados para posterior análise.

O delineamento experimental está descrito na Figura 1.

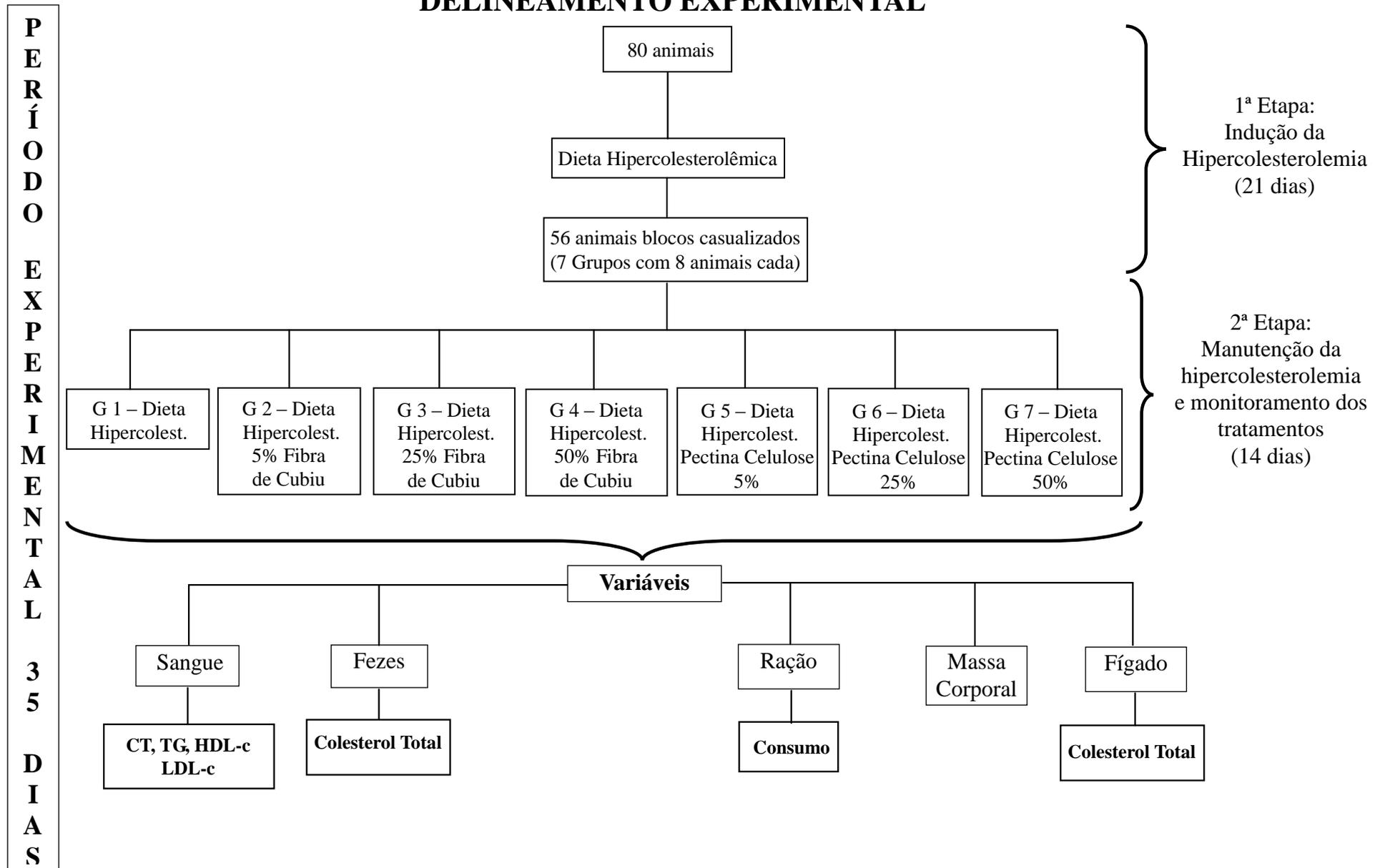


Figura 1 – Fluxograma do Delineamento Experimental

3.5.6 Análise Química

Os teores de umidade, proteína, lipídeos e cinza foram determinados de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1995). A fração fibra alimentar foi quantificada de acordo com o método enzimico-graviométrico de Asp et al. (1983) que emprega enzimas α -amilase, para promover a hidrólise do amido e pepsina, seguido de pancreatina para a degradação da proteína. O carboidrato foi calculado a partir da diferença das frações anteriores.

3.6 Análises bioquímicas

Determinação de CT, TG e HDL-c

Para determinação de CT, TG e HDL-c foram utilizados conjuntos de diagnósticos com princípios metodológicos enzimáticos da empresa Labtest Diagnóstica S.A., seguindo seus respectivos protocolos. A concentração de LDL-c foi calculada foi diferença.

Determinação de colesterol fecal e hepático

As concentrações de colesterol fecal e hepático foram determinadas a partir da metodologia de Haug e Hostmark (1987), utilizando-se kit enzimático da Labtest Diagnóstica S.A.

3.7 Estatística

Os dados foram analisados por meio do programa estatístico R com o teste de Shapiro-Wilk seguido do teste ANOVA para dados normais e para os demais dados o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, considerando um nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A.; REBÊLO, Y. S.; SHRIMPTON, R. Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. *Acta Amazônica*, v. 10, n. 4, p. 755-8, 1980.

AGUIAR, J. P. L. Tabela de composição de Alimentos da Amazônia. *Acta Amazônica*, v. 26, n. 1/2, p. 121-6, 1996.

ARAÚJO, D. V.; FERRAZ, M. B. Impacto Econômico do Tratamento da Cardiopatia Isquêmica Crônica no Brasil. O Desafio da Incorporação de Novas Tecnologias Cardiovasculares. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 85, n. 1, p. 1-2, 2005.

ASP, N. G.; JOHANSSON, C. G.; SILJESTRON, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.*, v. 31, p. 476-82, 1983.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. *Official Methods of Analysis*. 16 ed., Washington, 1995.

BERTASSO, B. A. *O Consumo Alimentar em Regiões Metropolitanas Brasileiras - Análise da Pesquisa de Orçamentos Familiares / IBGE 1995-1996*. São Paulo: USP, 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências – Economia Aplicada), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2001.

BOTREL, T. E. A.; COSTA, R. D.; COSTA M. D.; COSTA, A. M. D. D. Doenças cardiovasculares: causas e prevenção. *Rev. Bras. Clin. Terap.*, v. 26, n. 3, p. 87-90, 2000.

BRASIL. Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. In. *Diário Oficial da União*, Brasília, n. 196, p 1-2, 9 de outubro de 2008.

BRESLOW, J. L. Cardiovascular disease burden increases, NIH funding decreases. *Nature Medicine*, v.3, n. 6, p. 600-1, 1997.

CALLEGARO M. G. K; DUTRA C. B.; HUBER L.; S.; BECKER L. V.; ROSA C. S.; KUBOTA, E. M.; HECKTHEUR, L. H. Determinação da fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados do milho. *Cienc. Technol. Aliment.*, v. 25, p. 271-4, 2005.

FUNG, T .T.; WILLETT, W. C.; STAMPER, M. J.; MANSON, J. E. ; HU, F. B. Dietary patterns and risk of coronary heart disease in women. *Arch. Intern. Med.*, v.161, n. 15, p. 1857- 62, 2001.

GARCIA, A. C. D. B. *Estudo do efeito do consumo de suco de laranja no perfil lipídico e nutricional de homens*. São Paulo: UNESP, 2007. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, 2007.

HAUG, A.; HOSTMARK, A. T. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J. Nutr.*, v.117, n.6, p.1011-7, 1987.

HU, F. B.; RIMM, E. B.; STAMPER, M. J.; ASCHERIO, A.; SPIEGELMAN, D.; WILLETT, W. C. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.72, p. 912-21, 2000.

LAIRO D.; ARNAULT N.; BERTRAI S., PLANELLS R.; CLERO E.; HERCBERG S.; BOUTRON-RUAULT M. C. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in french adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 82, p. 1185-94, 2005.

LAMPE, J. W. Health effects of vegetable and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 70 (suppl), p. 475S-90S, 1999.

MACEDO, S. H. M. *Caracterização físico-química e nutricional da polpa de cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal) para aproveitamento industrial*. Manaus, UA, 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos), Universidade do Amazonas, 1999.

MACHADO, D. F.; FERREIRA, C. L. L F.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, T. T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, n. 2, p. 270-5, 2003.

McNAMARA, D. J. Dietary cholesterol and atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of lipids*, v. 1529, n. 1-3, p. 310-20, 2000.

MAGALHÃES, M. E. C.; BRANDÃO, A. A.; FREITAS, E. V.; POZZAN, R.; BRANDÃO, A. P. Novas perspectivas no tratamento das dislipidemias. *Revista da SOCERJ*, v. 17, n. 2, p. 105-11, 2004.

NOBRE, M. R. C.; DOMINGUES, R. Z. L.; SILVA, A. R.; COLUGNATI, F. A. B.; TADDEI, J. A. A. C. Prevalência de sobrepeso, obesidade e hábitos de vida associados ao risco cardiovascular em alunos do ensino fundamental. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v. 52, n. 2, p. 118-24, 2006.

OLIVEIRA, H. P. *Elaboração de néctar de cubiu (Solanum sessiliflorum DUNAL) e avaliação das características físico-químicas e sensoriais durante o armazenamento*. Manaus, UA, 1999. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade do Amazonas, 1999.

ÔUNPUU, S.; NEGASSA, A.; YUSUF, S. INTER-HEART: A global study of risk factors for acute myocardial infaction. *Am. Heart. J.*, v. 141, p. 711-21, 2001.

PAHLEN, A. V. D. Cubiu [*Solanum topiro* (Humb. & Bonpl.)], uma fruteira da Amazônia. *Acta Amazônica*, v. 7, n. 3, p. 301-7, 1977.

PIEIDADE, J.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Comparação entre o efeito do resíduo do abacaxizeiro (caules e folhas) e da pectina cítrica de alta metoxilação no nível de colesterol sanguíneo em ratos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, n. 2, p. 149-156, 2003.

POSADAS-ROMERO, C. Cholesterol levels and prevalence of hypercholesterolemia in Mexican adult population. *Atherosclerosis*, v. 118, p. 275-84, 1995.

RAMOS, A. T.; CUNHA, M. A. L.; SABAA-SRUR, A. U. O.; PIRES, V. C. F.; CARDOSO, M. A. A.; DINIZ, M. F. M.; MEDEIROS, C. C. M. Uso de *Passiflora edulis f. flavicarpa* na redução do colesterol. *Rev. Bras. Farmacog.*, v. 17, n. 4, p. 592-7, 2007.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the formulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, v. 123, p. 1939-51, 1993.

RIQUE A. B. R.; SOARES, E. A.; MEIRELLES, C. M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. *Rev. Bras. Med. Esp.*, v. 8, n. 6, p. 244-254, 2002.

SALGADO, J. M.; CURTI, F.; MANSI, D. N. Effect of gala apples (*Malus domestica* Borkh) on lipidemia of hyperlipidemic rats. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 28, n. 2, p. 477-484, 2008.

SALICK, J. Cocona (*Solanum sessiliflorum*) production and breeding potentials of peach-tomato. In: WICKENS, N.H.; DAY, P. *New crops for food and industry*. 2. ed. Chapman and Hall, 1989.

SHRIMPTON, R.; GIUGLIANO, R. Consumo de alimentos de alguns nutrientes em Manaus-Amazonas. 1973-4. *Acta Amazônica*, v. 9, n. 1, p.117-41, 1979.

SILVA FILHO, D. F.; ANUNCIACÃO FILHO, C. J.; NODA, H.; REIS, O. V. Seleção de caracteres correlacionados em cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) empregando a análise de trilha. *Acta Amazônica*, v. 27, n. 4, p. 229-240, 1997.

SILVA FILHO, D. F.; MACHADO, F. M. Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). In: Cardoso, M. O. *Hortaliças não convencionais da Amazônia*. Brasília: Embrapa-SPI, Embrapa-CPAA, 1997.

SILVA FILHO, D. F. *Cocona (Solanum sessiliflorum Dunal): cultivo e utilización*. Caracas, Venezuela: Secretaria Pro-Tampore. Tratado de Cooperacion Amazonica, 1998.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA – SBC. IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Brás. Card.*, v.88, supl. I, p. 2-19, 2007.

WHALEN, M. D.; COSTICH, D. E. HEISER, C. B. Taxonomy of section *Lasiocarpa*. *Gentes Herbarum*, v. 12, n. 2, p. 41-129, 1981.

YUYAMA, L. K. O.; PEREIRA, Z. R. F.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA FILHO, D. F.; SOUZA, R. F. S.; TEIXEIRA, A. P. Estudo da influência do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) sobre a concentração sérica de glicose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 64, n. 2, p. 232-6, 2005.

YUYAMA, L. K. O.; MACEDO, S. H. M.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA FILHO, D. F.; YUYAMA, K.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M. B. A. Quantificação de macro e micro nutrientes em algumas etnovarietades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). *Acta Amazônica*, v.37, n. 3, p. 425-30, 2007.

YUYAMA, L. K. O.; PANTOJA, L.; MAEDA, R. N.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA, S. B. Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 28, n. 4, p. 929-34, 2008.

5. APÊNDICE

ARTIGO

Efeito hipocolesterolêmico do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) em ratos

Hypocholesterolemic effect of cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) in rats

Jeniffer Rezende Patrocínio MAIA,
Maíra Cássia SCHWERTZ, Risonilce Fernandes Silva de SOUSA,
Lucia Kiyoko Ozaki YUYAMA, Emerson Silva LIMA.

RESUMO

Estudos com frutas e hortaliças ricas em fibra alimentar tem demonstrado efeito redutor das concentrações sanguíneas de colesterol total, atuando de forma preventiva contra a hipercolesterolemia. O objetivo do presente trabalho foi analisar a composição química do do cubiu e avaliar o efeito de seu consumo sobre a lipemia de ratos hipercolesterolêmicos. Foram utilizados 8 animais para cada tratamento, em 7 grupos sendo: 1 controle; 3 experimentais com 5%, 25% e 50% da recomendação de fibras (AIN-93) provenientes da farinha de cubiu; e 3 grupos *per feeding* tendo como fonte de fibra alimentar celulose e pectina, nas mesmas proporções dos grupos experimentais. Ao final do ensaio foi verificado que não houve variação significativa no consumo dos animais e no ganho de massa corporal no decorrer do experimento. Os tratamentos com farinha de cubiu foram responsáveis por reduzir as concentrações de colesterol total (-21,6%), LDL-c (-56,8%), aumentar a excreção de colesterol fecal (+116%) e diminuir o colesterol hepático (-32,1%). Nenhum dos tratamentos promoveu alteração significativa nas concentrações de triglicérides. Os tratamentos com pectina e celulose demonstraram resultados semelhantes aos do cubiu. Os resultados observados servem como base para futuros estudos visando o aproveitamento biotecnológico

deste fruto.

Palavras-chave: cubiu, fibra alimentar, hipercolesterolemia.

ABSTRACT

Studies with fruit and vegetables rich in dietary fiber have shown lowering effect of blood concentrations of total cholesterol (TC), acting preventively against hypercholesterolemia. The aim of this study was to analyze the chemical composition of cubiu and evaluate the effect of the consumption of cubiu flour on lipemia of Wistar rats with hypercholesterolemia. There were used 8 animals for each treatment, in 7 groups: control; 3 experimental groups with 5%, 25% and 50% of the recommended fiber (AIN-93) from cubiu flour; 3 groups *per feeding* with pectin and cellulose as source of dietary fiber, in the same proportions of the experimental groups. At the end of the assay was verified that were not significant variation in the consumption of animals and the body weight during the experiment. Treatments with cubiu flour were responsible for reducing concentrations of total cholesterol (-21.6%), LDL-c (-56.8%), increase the excretion of fecal cholesterol (+116%) and lower liver cholesterol (-32.1%). None of the treatments altered significantly triglyceride concentrations. Treatments with pectin and cellulose shown results similar to cubiu. The observed results can be used in further studies aimed at the biotechnological exploitation of this fruit.

Keywords: cubiu, dietary fiber, hypercholesterolemia.

INTRODUÇÃO

A hipercolesterolemia é responsável pela maioria das mortes precoces em adultos e está associada a doenças cardiovasculares (DCV), principalmente o acidente vascular cerebral e a doença arterial coronariana¹. O estilo de vida moderno onde se tem a diminuição da prática de atividade física, ingestão aumentada de alimentos ricos em colesterol e gorduras e o baixo consumo de vegetais fontes de antioxidantes e fibras, contribuem para o aparecimento da

hipercolesterolemia e conseqüentemente para o surgimento das DCV. Tratamentos com drogas hipocolesterolemiantes tem demonstrado efeito regulatório das concentrações de colesterol, no entanto nem todos os pacientes toleram este tipo de tratamento. Em alguns casos esses medicamentos podem causar efeitos colaterais e também elevar os custos com a saúde^{2,3}. Estudos epidemiológicos revelaram que o consumo de frutas e hortaliças é responsável por importantes efeitos na redução das concentrações de colesterol sanguíneo e também na redução da absorção intestinal de lipídeos, devido a esses alimentos serem fontes de fibras^{4,5}. Contudo, poucas pesquisas foram realizadas com frutos amazônicos para verificar seus possíveis efeitos sobre os níveis lipídicos.

Dentre os frutos nativos da Amazônia, o cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) se destaca por conter expressivo teor de fibra alimentar⁶, apresenta possibilidades múltiplas de uso, fácil cultivo e elevada produtividade⁷. Seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou na forma de geléias, néctar, doces, compotas e tempero de sopas de peixe. Popularmente o cubiu é utilizado para redução dos níveis de colesterol e de ácido úrico⁸, porém é importante validar cientificamente sua ação hipocolesterolêmica, uma vez que seu efeito hipoglicemiante já foi comprovado em estudo tendo ratos como modelo experimental⁹. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da farinha de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) sobre a lipemia de ratos hipercolesterolêmicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção da farinha de cubiu

Foram utilizados frutos da mesma etnovariedade, coletados em estágio de amadurecimento comercial, oriundos da Estação Experimental do Ariau, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Os mesmos foram transportados em caixas de isopor até o Laboratório de Alimentos e Nutrição do INPA onde foram selecionados apenas frutos

saudáveis, adequados ao processamento. Posteriormente, os frutos foram lavados em água corrente, retirados os pedúnculos, sementes e a placenta. Após a lavagem, os frutos foram sanitizados com solução de hipoclorito à 200ppm por 30 minutos, enxaguados em água corrente, seguido do branqueamento térmico, à temperatura de 90°C por 3 minutos e choque térmico em banho de gelo. Na sequência, os frutos foram colocados em estufa com circulação de ar forçada a 60°C até peso constante. Os frutos secos foram liquidificados, homogenizados e acondicionados em sacos de polietileno de 2 kg e congelados a temperatura de -15°C até o momento de sua utilização. Uma alíquota em triplicata foi retirada, para fins de análises química.

Análise química da farinha de cubiu

Os teores de umidade, proteína, lipídeos e cinza foram determinados de acordo com a metodologia descrita pela AOAC¹⁰. A fração fibra alimentar foi quantificada pelo método enzimico-graviométrico proposto por ASP et al.¹¹. Os carboidratos foram calculados a partir da diferença das frações anteriores.

Ensaio biológico

Preparo das dietas

As dietas foram preparadas de acordo com o *American Institute of Nutrition AIN-93*¹², modificadas pela substituição de 3,5% de óleo de soja por banha de porco (obtida no mercado local), como fonte de gordura saturada e para potencializar seu efeito hipercolesterolêmico foram acrescentados 1% de colesterol (C8503, Sigma, Alemanha) e 0,1% de ácido cólico (C1129, Sigma, Alemanha) às rações. Nas dietas experimentais, 5%, 25% e 50% do total de fibra alimentar recomendada pela AIN-93 (12) foi proveniente da farinha de cubiu. As rações dos grupos *per feeding* foram formuladas tendo como fonte de fibra alimentar pectina (Vetec, Brasil) e celulose (Rhoster, Brasil), nas mesmas proporções dos grupos experimentais (Tabela 1).

Tabela 1: Composição das dietas (g/100 g de dieta).

Ingredientes	Dietas/Grupos						
	Controle	5% farinha de cubiu	25% farinha de cubiu	50% farinha de cubiu	5% pectina e celulose	25% pectina e celulose	50% pectina e celulose
Caseína	20	20	20	20	20	20	20
Sacarose	10	10	10	10	10	10	10
Óleo de soja	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Banha de porco	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Colesterol	1	1	1	1	1	1	1
Ácido Cólico	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Celulose	5	4,75	3,75	2,5	4,92	4,58	4,17
Pectina	-	-	-	-	0,083	0,417	0,833
Farinha de cubiu	-	0,64	3,21	6,41	-	-	-
Mix de Minerais	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mix Vitamínico	1	1	1	1	1	1	1
L-cistina	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido	Para completar 100g						

Delineamento e grupos experimentais

O ensaio biológico foi realizado conforme os princípios éticos da experimentação animal descritos na Lei nº 11.794 de 2008¹³, aprovado pelo comitê de ética em pesquisas animais da Universidade Federal do Amazonas, sob o protocolo 004/2010-CEEA.

Foram utilizados ratos machos, adultos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), pesando aproximadamente 180g, provenientes do Biotério Central do INPA. Durante todo o experimento os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro-escuro de 12 horas. O período experimental foi dividido em 2 etapas: etapa de indução da hipercolesterolemia, onde foram utilizados 80 animais que receberam, durante 21 dias, dieta hipercolesterolêmica e água *ad libitum*; e etapa de tratamentos e monitoração das variáveis, onde foram selecionados 56 animais hipercolesterolêmicos divididos aleatoriamente em 7 grupos: controle (dieta hipercolesterolêmica), 5%, 25% e 50% da recomendação de fibra alimentar da AIN-93 proveniente da farinha de cubiu e 3 grupos *per feeding*, com as mesmas concentrações de fibras – solúvel (pectina) e insolúvel (celulose) – dos grupos experimentais, 5%, 25% e 50%.

A massa corporal, ingestão e excreção fecal foram mensuradas durante todo o período do ensaio. No primeiro dia da etapa de tratamento (Dia 1) e ao final do experimento (Dia 14), foram coletadas amostras de sangue via punção cardíaca de todos os animais, previamente anestesiados e analgésicos com cloridrato de cetamina (1,5ml/Kg massa corporal; Syntec, São Paulo-Brasil) e cloridrato de xylasina (0,15ml/Kg massa corporal; E.H.G. Agroframa; São Paulo-Brasil). Após a última coleta de sangue, os animais foram sacrificados e rapidamente procedeu-se a coleta dos fígados.

Para determinação das concentrações de colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e triglicerídeos (TG) plasmáticos foram utilizados kit enzimáticos da Labtest Diagnóstica S.A (Brasil) e o analisador bioquímico automatizado Cobas Mira Plus (Roche, Alemanha). A lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi calculada a partir da equação Friedewald¹⁴. As concentrações de colesterol fecal e hepático foram determinadas a partir da metodologia de Haug e Hostmark¹⁵, utilizando-se kit enzimático da Labtest Diagnóstica S.A. (Brasil).

Análise estatística

Para análise estatística foi realizado primeiramente o teste da normalidade de Shapiro-Wilk. Em seguida para dados normais procedeu-se o teste ANOVA e para os demais o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa R, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise química do cubiu demonstrou alto teor de umidade e baixa concentração de proteínas, resultados que corroboram os apresentados por Yuyama et al.¹⁶. Já o teor de lipídeos encontrado foi inferior aos encontrados por Yuyama et al.¹⁷ e Yuyama et al.⁹ e o de carboidratos, superior aos resultados encontrados por Pires et al.¹⁸. O valor de fibra alimentar

encontrado está dentro da faixa observada na literatura^{9,17}, sendo a fração predominante a insolúvel com 66,6% e a solúvel com 33,3% (Tabela 2). Desta forma o cubiu pode ser considerado um fruto altamente dietético, sendo uma opção para nortear a alimentação de indivíduos com sobrepeso, obesidade e também aqueles com restrição calórica¹⁶.

Tabela 2: Composição química do cubiu em matéria fresca (g/100 g)

Composição química*						
Umidade	Proteína	Lipídeos	Cinza	Fibra solúvel	Fibra insolúvel	Carboidratos
90,18 ± 0,44	0,57 ± 0,01	0,31 ± 0,00	0,45 ± 0,02	1,3 ± 0,00	2,6 ± 0,00	8,49 ± 0,02

*Valores foram expressos como média ± desvio padrão.

Os valores médios verificados após a avaliação do consumo alimentar e do ganho de massa corporal dos animais, não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Alguns estudos relatam um aumento na saciedade e na redução do apetite após o consumo de dietas ricas em fibras, no entanto os resultados obtidos no presente estudo não demonstraram esta associação, possivelmente pelo fato de que o conteúdo de fibras alimentares das dietas oferecidas não ultrapassaram as recomendações. El-Arab¹⁹ utilizou ratos wistar alimentados com dieta acrescida de colesterol (0,25%) e vegetais folhosos como fontes de fibra alimentar (jew's mallow) para avaliar a evolução do perfil lipídico de ratos, e também não foi verificada diferença significativa no consumo das dietas e no ganho de massa corporal. Silva et al.²⁰ não verificaram diferença no consumo e no ganho de peso de ratos ingerindo dietas com 5%, 10% e 15% de farelo de aveia, como fonte de fibra solúvel e farelo de trigo, fonte de fibra insolúvel. Também não foram observadas diferenças significativas entre o consumo de dietas e ganho de massa corporal no estudo de Eufrásio et al.²¹, utilizando ratos alimentados com dietas contendo diferentes tipos de fibras (pectina, goma guar e celulose).

Após 21 dias de indução, a concentração média de CT dos animais foi cerca de 96,9% maior do que a descrita pela literatura como concentração normal de CT para ratos²², o que demonstra que o método de indução foi eficaz, apesar dos mecanismos fisiológicos

responsáveis pela hipercolesterolemia induzida por dieta ainda não terem sido sistematicamente investigados²³.

A Tabela 3 demonstra a concentração média de CT, HDL-c, LDL-c e TG no plasma dos animais, no primeiro dia (Dia 1) e no 14º dia (Dia 14) de tratamento com as dietas experimentais.

Tabela 3: Concentração plasmática de colesterol total, triglicerídeos, HDL-c e LDL-c.

Grupos	Colesterol total (mg/dL)*		TG (mg/dL)*		HDL-c (mg/dL)*		LDL-c (mg/dL)*	
	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14
Controle	132,9 ^a ±31,1	187,1 ^a ±22,7	95,4 ^a ±13,9	83,6 ^a ±18,0	38,0 ^c ±4,1	32,1 ^b ±2,2	75,8 ^a ±28,2	138,2 ^a ±22,4
5% farinha de cubiu	131,2 ^a ±34,6	111,2 ^b ±15,8	71,5 ^a ±16,6	63,9 ^a ±42,3	40,4 ^{bc} ±3,0	55,2 ^a ±6,0	76,6 ^a ±34,0	43,3 ^b ±19,6
25% farinha de cubiu	131,2 ^a ±41,3	107,5 ^b ±41,5	67,7 ^a ±13,1	54,9 ^a ±25,7	45,3 ^{ab} ±7,4	53,9 ^a ±5,6	72,4 ^a ±37,6	42,7 ^b ±39,6
50% farinha de cubiu	130,7 ^a ±32,2	102,5 ^b ±8,8	79,1 ^a ±25,7	81,9 ^a ±27,5	50,2 ^a ±7,7	58,4 ^a ±6,9	64,1 ^a ±31,9	27,7 ^b ±10,2
5% pectina e celulose	130,2 ^a ±32,2	100,5 ^b ±10,8	81,2 ^a ±28,5	72,1 ^a ±27,3	49,9 ^a ±7,9	55,0 ^a ±9,7	64,6 ^a ±33,5	31,1 ^b ±12,4
25% pectina e celulose	118,1 ^a ±24,7	112,8 ^b ±16,8	87,7 ^a ±18,1	88,9 ^a ±49,7	49,7 ^a ±9,1	52,6 ^a ±6,9	50,9 ^a ±26,6	42,6 ^b ±22,0
50% pectina e celulose	123,1 ^a ±29,1	114,8 ^b ±19,3	94,1 ^a ±34,2	91,5 ^a ±31,4	49,7 ^a ±6,9	53,3 ^a ±4,1	54,6 ^a ±27,7	43,2 ^b ±22,6

* Valores expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p<0,05).

Conforme descrito na Tabela 3, após 14 dias de tratamento observou-se elevação de 40,7% na concentração de CT dos animais do grupo controle ao passo que nos animais dos grupos experimentais e *per feeding* houve redução em relação a concentração inicial. Nos animais dos grupos que receberam o cubiu, a redução da concentração de CT foi de 15,2%, 18% e 21,6% para os grupos que receberam respectivamente dietas com 5%, 25% e 50% de farinha e inversamente, os grupos que receberam tratamento com 5%, 25% e 50% de pectina e celulose obtiveram redução de 22,8%, 4,5% e 6,7%. Apesar da redução significativa de CT obtida com os tratamentos, pode-se observar na tabela 3 que em nenhum deles a concentração do CT alcançou os valores normais. Resultados semelhantes foram apresentados na pesquisa de Nicolle et al.²⁴ utilizando o alface como fonte de fibras. Silva et al.²⁰ observaram redução de 7% da concentração de CT em ratos que receberam, durante 63 dias, dietas com 15% de farelo de aveia. Em estudo, utilizando ratos alimentados com dietas contendo 7,5% de banha

de porco e diferentes doses de resíduo do abacaxizeiro e de pectina, Piedade e Canniati-Brazaca²⁵ observaram redução em torno de 21,5% na concentração de CT dos animais que receberam 25% de resíduo e redução de 56% nos que receberam 25% de pectina, após 45 dias de tratamento. A administração de dieta hipercolesterolêmica adicionada de 25% de maçã gala demonstrou redução de 20,7% da concentração de CT em ratos, após 30 dias de tratamento²⁶. Comparando-se os resultados aqui apresentados, com a literatura nota-se que a redução da concentração de CT obtida com a administração de farinha de cubiu por 14 dias se aproxima bastante às obtidas após a administração de outros frutos por período superiores, indicando que com a administração de cubiu os efeitos hipocolesterolêmicos são apresentados mais rapidamente.

Diversas pesquisas realizadas com animais e também humanos tem demonstrado que as fibras solúveis agem favoravelmente à redução da concentração de colesterol sanguíneo. Alguns autores atribuem a ação das fibras solúveis na redução do CT à capacidade físico-química que elas tem de se ligar aos ácidos biliares carregando-os para as fezes, impedindo sua absorção pelo fígado, obrigando o fígado a sintetizar novos sais biliares a partir do colesterol sanguíneo. A fibra solúvel pode também reduzir as concentrações de colesterol sanguíneo pela formação de uma estrutura viscosa que reduz a absorção de compostos como lipídeos e colesterol do intestino delgado^{27,28,29,30}. A fermentação das fibras pelas colônias de bactérias que existem no intestino grosso acaba por produzir ácidos graxos de cadeia curta podendo também influenciar a lipemia. Os ácidos graxos de cadeia curta influenciam a absorção de lipídeos e o metabolismo das lipoproteínas no fígado, promovendo consequentemente à utilização de colesterol sanguíneo³¹.

Não foram verificadas variações significativas nas concentrações de TG entre os grupos experimentais e o grupo controle ($p > 0,05$) (Tabela 3). Nos grupos dos animais que receberam tratamento com 50% de farinha de cubiu e 25% de pectina e celulose, foram

observadas elevações das concentrações de TG sanguíneos. Nos animais que receberam os demais tratamentos, inclusive o controle, houve redução dessas concentrações. O grupo que recebeu dieta com 25% de farinha de cubiu apresentou a maior redução, em torno de 18,9%. Em estudo realizado com fibra oriunda do feijão foram apresentados resultados semelhantes aos deste trabalho, não havendo reduções significativas nas concentrações de TG nos grupos testados³². Luján et al.³³ também não verificaram diferenças significativas nas concentrações de TG, em pesquisa realizada com ratos alimentados com diferentes variedades de feijão. Por outro lado, vários estudos registraram diminuição das concentrações de TG pela administração de diferentes fontes de fibras alimentares. O consumo de fibras solúveis promove o retardo do esvaziamento gástrico, levando a uma diminuição dos níveis de TG após a ingestão de refeições gordurosas. Elas podem também diminuir a absorção intestinal de triglicerídeos, provocando ligeiro aumento na gordura fecal contribuindo assim para a redução dos TG sanguíneos²⁷. No entanto, os resultados apresentados nesse estudo, não demonstraram tais efeitos, o que pode indicar que as doses testadas foram insuficientes para promover redução dos TG.

A concentração de HDL-c apresentou-se significativamente maior nos grupos testados em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Os grupos que receberam a 5%, 25% e 50% farinha de cubiu obtiveram melhores resultados em relação às concentrações de HDL-c, apresentando aumento de 36,6%, 18,9% e 16,3% respectivamente (Tabela 3). Analisando os resultados é possível se afirmar que os tratamentos foram eficazes na redução do risco de doenças cardiovasculares, uma vez que em estudos epidemiológicos realizados, a alta concentração de HDL-c sanguíneo é tida como efeito protetor contra as DCV³⁴.

As concentrações de LDL-c foram reduzidas significativamente ($p < 0,05$) nos animais dos grupos que receberam os tratamentos com farinha de cubiu e com pectina e celulose. As dietas com 25% e 50% de pectina e celulose foram responsáveis pelas maiores reduções das

concentrações de LDL-c, 83,7% e 79,1% respectivamente (Tabela 3). As fibras solúveis são capazes de formar um composto altamente viscoso no organismo que pode afetar o favoravelmente o metabolismo lipídico por meio de várias vias, como pela aumento da excreção de ácidos biliares e diminuição da absorção de lipídeos³⁵.

Tabela 4: Colesterol fecal e hepático.

Grupos	Colesterol fecal (mg/dL)*	Colesterol hepático (mg/dL)*
Controle	89,5 ± 4,9	240,91 ± 4,2
5% farinha de cubiu	160,1 ± 3,8	167,28 ± 17,3
25% farinha de cubiu	192,1 ± 11,0	163,57 ± 12,7
50% farinha de cubiu	193,8 ± 14,4	164,33 ± 14,1
5% pectina e celulose	150,4 ± 9,1	171,13 ± 13,3
25% pectina e celulose	194,6 ± 12,3	193,21 ± 15,1
50% pectina e celulose	196,9 ± 12,6	167,05 ± 12,0

* Valores expressos como média ± desvio padrão.

Analisando a Tabela 4 é possível verificar que todos os tratamentos testados reduziram o colesterol hepático em relação ao grupo controle. Os melhores resultados foram obtidos com as dietas contendo 25% e 50% de farinha de cubiu, onde a redução de colesterol hepático foi de 32,1% e 31,7%. A diminuição das concentrações de colesterol hepático observadas devem ser devido a ingestão das fibras alimentares as quais reduzem a absorção de sais biliares pelo fígado promovendo depleção do colesterol hepático, como substrato da síntese de novos ácidos biliares que foram perdidos nas fezes³⁶.

Os animais que receberam tratamento com farinha de cubiu e com pectina e celulose apresentaram excreção de colesterol fecal aumentada em relação ao grupo controle, sendo o maior valor encontrado nos animais dos grupos que receberam dieta com 25% e 50% pectina e celulose.

CONCLUSÃO

A administração da farinha de cubiu reduziu as concentrações de colesterol total, LDL-c e colesterol hepático, e aumentou a excreção de colesterol pelas fezes e o HDL-c, em ratos hipercolesterolêmicos. Os resultados observados confirmam o uso popular do fruto como hipocolesterolemizante e podem servir como base para futuros estudos visando o aproveitamento biotecnológico da espécie estudada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o financiamento recebido pelo Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) através de recursos do Edital CT-Amazônia. Também ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e ao estatístico Edson da Fonseca de Lira da Fundação de Hematologia e Hematoterapia do Estado do Amazonas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TOSHIMA, S.; HASEGAWA, A.; KURABAYASHI, M.; ITABE, H.; SUGANO, J.; SHIMAMURA, K.; KIMURA, J.; MICHISHITA, I.; SUZUKI, T; NAGAI, R. Circulating oxidized low density lipoprotein levels: A biochemical risk marker for coronary heart disease. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.20, n.10, p.2243-2247, 2000.
2. BHATNAGAR, D. Lipid-lowering drugs in management of hyperlipidemia. **Pharmacol. Ther.**, v.79, p.205-230, 1998.
3. WARD, S.; LLOYD, J.; PANDOR, A.; HOLMES, M.; ARA, R.; RYAN A.; YEO, W.; PAYNE N. A systematic review and economic evaluation of statins for the prevention of coronary events. **Health Technol. Assess.**, v.11, n.14, p.1-160, 2007.
4. HU, F. B.; RIMM, E. B.; STAMPER, M. J.; ASCHERIO, A.; SPIEGELMAN, D.; WILLETT, W. C. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.72, p.912-921, 2000.
5. FUNG, T .T.; WILLETT, W. C.; STAMPER, M. J.; MANSON, J. E. ; HU, F. B. Dietary patterns and risk of coronary heart disease in women. **Arch. Intern. Med.**, v.161, n15, p.1857-1862, 2001.

6. PAHLEN, A. V. D. Cubiu [*Solanum topiro* (Humb. & Bonpl.)], uma fruteira da Amazônia. **Acta Amazônica**, v.7, n.3, p.301-7, 1977.
7. SILVA FILHO, D. F. **Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal): cultivo e utilização**. Caracas, Venezuela: Secretaria Pro-Tampore. Tratado de Cooperacion Amazonica, 1998.
8. SILVA FILHO, D. F.; ANUNCIACÃO FILHO, C. J.; NODA, H.; REIS, O. V. Seleção de caracteres correlacionados em cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) empregando a análise de trilha. **Acta Amazônica**, v.27, n.4, p.229-240, 1997.
9. YUYAMA, L. K. O.; PEREIRA, Z. R. F.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA FILHO, D. F.; SOUZA, R. F. S.; TEIXEIRA, A. P. Estudo da influência do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) sobre a concentração sérica de glicose. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.64, n.2, p.232-6, 2005.
10. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16 ed., Washington, 1995.
11. ASP, N. G.; JOHANSSON, C. G.; SILJESTRON, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **J. Agric. Food Chem.**, v.31, p.476-482, 1983.
12. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the formulation of the AIN-76A rodent diet. **J. Nutr.**, v.123, p.1939-51, 1993.
13. BRASIL. Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. In. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.196, p.1-2, 9 de outubro de 2008.
14. FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, v.18, n.6, p. 499-502, 1972.
15. HAUG, A.; HOSTMARK, A. T. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. **J. Nutr.**, v.117, n.6, p.1011-1017, 1987.
16. YUYAMA, L. K. O.; MACEDO, S. H. M.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA FILHO, D. F.; YUYAMA, K.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M. B. A. Quantificação de macro e micro nutrientes em algumas etnovarietades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Acta Amazônica**, v.37, n.3, p. 425-30, 2007.
17. YUYAMA, L. K. O.; PANTOJA, L.; MAEDA, R. N.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA, S. B. Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.28, n.4, p.929-934, 2008.

18. PIRES, A. M. B.; SILVA, P. S.; NARDELLI, P. M.; GOMES, J. C.; RAMOS, A. M. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). **Ceres**, v.53, n.307, p.309-316, 2006.
19. EL-ARAB, A. M. E. A diet rich in leafy vegetable fiber improves cholesterol metabolism in high-cholesterol fed rats. **Pak. J. Biol. Sci.**, v.12, n.10, p.1299-1306, 2009.
20. SILVA, M. A. M.; BARCELOS, M. F. P.; SOUSA, R. V.; LIMA, H. M.; FALCO, I. R.; LIMA, A. L.; PEREIRA, M. C. A. Efeito das fibras dos farelos de trigo e aveia sobre o perfil lipídico no sangue de ratos (*Rattus norvegicus*) wistar. **Ciênc. Agrotec.**, v.27,n.6, p.1321-1329, 2003.
21. EUFRÁSIO, M. R.; BARCELOS, M. F. P., SOUSA, R. V.; ABREU, W. C.; LIMA, M. A. C., PEREIRA, M. C. A. Efeito de diferentes tipos de fibras sobre frações lipídicas do sangue e fígado de ratos wistar. **Ciênc. Agrotec.**, v.33,n.6, p.1608-1614, 2009.
22. MOUNDRAS, C.; BEHR, S. T.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. **J. Nutr.**, v.127, n.6, p.1068-1076, 1997.
23. WANG, Y-M.; ZHANG, B.; XUE, Y.; WANG, J-F.; XUE, C-H; YANAGITA, T. The mechanism of dietary cholesterol effects on lipids metabolism in rats. **Lipids in Health and Disease**, v.9, n.4, 2010.
24. NICOLLE, C.; CARDINAULT, N.; GUEUX, E., JAFFRELO, L.; ROCK, E.; MAZUR, A.; AMOUROUX, P.; RÉMÉSY, C.; Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. **Clin. Nutr.**, v.23, n.4, p.605-614, 2004.
25. PIEDADE, J.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Comparação entre o efeito do resíduo do abacaxizeiro (caules e folhas) e da pectina cítrica de alta metoxilação no nível de colesterol sanguíneo em ratos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 2, p. 149-156, 2003.
26. SALGADO, J. M.; CURTI, F.; MANSI, D. N. Effect of gala apples (*Malus domestica* Borkh) on lipidemia of hyperlipidemic rats. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.28, n.2, p.477-484, 2008.
27. NISHINA, P. M.; FREEDLAND, R. A. The effects of dietary fiber feeding on cholesterol metabolism in rats. **J. Nutr.**, v.120, n.7, p.800-805, 1990.
28. SEMBRIESA, S.; DONGOWSKI, G.; MEHRLÄNDER, K.; WILL, F.; DIETRICH, H. Dietary fiber-rich colloids from apple pomace extraction juices do not affect food intake and blood serum lipid levels, but enhance fecal excretion of steroids in rats. **J. Nutr. Biochem.**, v.15, n.5, p.296-302, 2004.
29. SHRIVASTVA, S.; GOYAL G. K. Therapeutic benefits of pro and prebiotics: a review. **Indian Food Ind.**, v.26, n.2, p.41-49, 2007.

30. GARCIA-DIEZ, F.; GARCIA-MEDIAVILLA, V.; BAYON, J. E.; GONZALEZ-GALLEGO, J. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. **J. Nutr.**, v.126, p.1766-1771, 1996.
31. MARCIL, V.; DELVIN, E.; SEIDMAN, E.; POITRAS, L.; ZOLTOWSKA, M.; GAROFALO, C.; LEVY, E. Modulation of lipid synthesis, apolipoprotein biogenesis, and lipoprotein assembly by butyrate. **Am. J. Physiol.**, v.283, pG340-G346, 2002.
32. ROSA, C. O. B.; COSTA, N. M. B.; NUNES, R. M.; LEAL P. F. G. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **ALAN**, v.48, n.4, p.299-310, 1998.
33. LUJÁN, D. L. B.; LEONEL, A. J.; BASSINELLO, P. Z.; COSTA, N. M. Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídeos sanguíneos em ratos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.28(sulp.), p.142-149, 2008.
34. MAGALHÃES, C. C; CHAGAS, A. C. P.; LUZ, P. L. Importância do HDL-colesterol como preditor de risco para eventos cardiovasculares **Rev. Soc. Cardiol.**, v.12, n.4, p.560-568, 2002.
35. CHAWLA, R.; PATIL, G. R. Soluble dietary fiber. **Comp. Rev. Food Sci. Food Safety**, v.9, p.179-194, 2010.
36. CAMIRE, M. E.; DOUGHERTY, M. P. Raisin dietary fiber composition and in vitro bile acid binding. **J. Agric. Food Chem.**, v.51, n.3, p.834-837, 2003.