

ARRASTE FECAL DE LIPÍDIOS EM RATOS Wistar ALIMENTADOS COM EXTRATOS DE AMORA-PRETA (*RUBUS SSP.*) E DE MIRTILO (*VACCINIUM SP.*)

LAMEIRO, Magna Da Gloria Silva¹; MACHADO, Maria Inês Rodrigues¹; BORGES, Lúcia Rota²; HELBIG, Elizabete²; ZAMBIAZI, Rui Carlos³.

¹ Doutoranda - Dept^o de Ciência e Tecnologia Agroindustrial — FAEM/UFPel; ² Doutora Faculdade de Nutrição/UFPel;

lameiro.magna@gmail.com

³ PhD- Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos/UFPel; zambiasi@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001), uma dieta rica em gordura saturada e colesterol pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Os hábitos alimentares têm sido relacionados a fatores determinantes para várias doenças, onde uma alimentação adequada exerce um papel fundamental na prevenção de inúmeras doenças crônicas não transmissíveis (FARIA, et al., 2008).

Tanto o mirtilo quanto a amora-preta apresentam compostos bioativos com a capacidade de atuarem como antioxidantes naturais, que pela ingestão adequada são capazes de minimizar alguns efeitos causados no organismo por espécies reativas de oxigênio, o que pode vir a prevenir a ocorrência de doenças degenerativas (SAKAKIBARA et al., 2003).

Frente a estas evidências, a investigação da ação antioxidante das pequenas frutas torna-se relevante, para posterior incentivo e incorporação aos hábitos alimentares saudáveis e assim tornarem-se aliados na prevenção e tratamento de diversas doenças crônicas. Contudo, estudos sobre metabolismo e excreção de lipídios têm importância significativa para o entendimento do comportamento dos compostos biativos, presentes nas pequenas frutas, no balanço energético e no perfil lipídico. Diante disso, objetivou-se avaliar a excreção fecal de lipídeos em ratos Wistar, alimentados com dietas hipercolesterolêmicas, suplementados com extratos de amora-preta e de mirtilo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nos laboratórios de Frutas e Hortaliças e de Cromatografia de Alimentos – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (FAEM), no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel).

2.1 POLPAS DILUIDAS DE AMORA-PRETA E DE MIRTILO

As polpas foram formuladas a partir de frutos de amora-preta (*Rubus spp.*) cv. Tupy e de mirtilo cv. Powderblue (*Vaccinium sp.*), ambos da safra 2009/2010. As polpas concentradas foram diluídas com água mineral nas proporções de 50% e 75% p/v (polpa:água), e mantidas congeladas até a sua utilização. Para a administração aos animais, as polpas diluídas foram retiradas do freezer na noite anterior e colocadas em geladeira para ocorrer o descongelamento.

2.2 ENSAIO BIOLÓGICO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel, durante o período de fevereiro a março de 2010. O

protocolo para a condução do ensaio biológico, número 23110.000491/2009-93, foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas.

2.2.1 ANIMAIS

Foram utilizados 30 ratos adultos machos (*Rattus Novergicus*) – cepas Wistar/UFPeI, com peso médio 275 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas.

O experimento foi conduzido num total em 35 dias, dos quais os primeiros 5 dias foram destinados à adaptação dos animais às condições do ambiente e à dieta padrão para roedores (AIN-93G) (REEVES et al., 1993), com modificações nas fontes e quantidade de gorduras. Foi oferecido diariamente 5 mL de polpa de fruta diluída, e somente após o consumo total da bebida foi ofertada a dieta e água *ad libitum*.

2.2.2 DIETAS

As dietas experimentais foram preparadas de acordo com dieta padrão para roedores AIN-93M, segundo Reeves *et al.* (1993). Modificada pela adição de colesterol cristalino ($1g.100g^{-1}$ de dieta) e ácido cólico ($0,1g.100g^{-1}$ de dieta), para a produção de hipercolesterolemia nos animais (Machado et. al. 2003).

O experimento foi conduzido com 5 grupos experimentais, sendo 6 animais em cada grupo, conforme descrição abaixo:

- Colesterol (C): animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) acrescida de 0,1% de ácido cólico e 1% de colesterol cristalino (p/p);
- Colesterol + Polpa diluída (CB^{A-1}): animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) acrescida de 0,1% de ácido cólico e 1% de colesterol cristalino (p/p) + 5mL de polpa diluída de amora-preta na proporção de 50% p/v (polpa:água);
- Colesterol + Polpa diluída (CB^{A-2}): animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) acrescida de 0,1% de ácido cólico e 1% de colesterol cristalino (m/m) + 5mL de polpa diluída de amora-preta na proporção de 75% p/v (polpa:água);
- Colesterol + Polpa diluída (CB^{M-1}): animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) acrescida de 0,1% de ácido cólico e 1% de colesterol cristalino (m/m) + 5mL de polpa diluída de mirtilo na proporção de 50% p/v (polpa:água);
- Colesterol + Polpa diluída (CB^{M-2}): animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) acrescida de 0,1% de ácido cólico e 1% de colesterol cristalino (m/m) + 5mL de polpa diluída de mirtilo na proporção de 75% p/v (polpa:água);

2.3 DETERMINAÇÃO DO PESO HEPÁTICO

Ao término do experimento, após a eutanásia, foi realizada a remoção e a pesagem dos fígados dos animais, estes envoltos em papel alumínio, armazenados congelados a $-80^{\circ}C$, para posterior realização de análises.

2.4 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS HEPÁTICOS

Para a análise dos lipídios hepáticos as amostras dos fígados dos animais foram maceradas, homogeneizadas utilizando-se alíquota por grupo. A análise foi realizada seguindo o método de Bligh & Dyer (1959) para extração dos lipídios totais.

2.5 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS FECALIS

Na determinação de lipídios totais fecais, as fezes foram maceradas, homogeneizadas e desumidificadas em estufa a $50^{\circ}C$ por 4 horas, utilizando-se

alíquota por grupo. A análise foi realizada seguindo o método de Bligh & Dyer (1959) para extração dos lipídios totais.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das avaliações foram analisados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ao nível de significância de 5%, através do programa STATISTICA versão 7.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados (média \pm desvio padrão) dos lipídeos hepáticos, fecais (base seca) e peso do fígado dos ratos machos Wistar/UFPel, alimentados durante 30 dias, com dietas experimentais hipercolesterolêmicas.

Tabela 1. Lipídeos totais hepáticos, fecais e peso do fígado dos ratos machos Wistar/UFPel alimentados durante 30 dias com as dietas hipercolesterolêmicas

Grupo*	Lipídeos-Fígado (g.100g ⁻¹)	Lipídeos-Fezes (g.100g ⁻¹)	Peso do fígado (g)
1 – CC	13,21 \pm 1,59 ^a	7,82 \pm 0,45 ^c	16,09 \pm 0,96 ^a
2 – CB ^{A-1}	12,72 \pm 1,10 ^a	12,31 \pm 0,61 ^{a,b}	14,96 \pm 1,11 ^{a,b}
3 – CB ^{A-2}	12,48 \pm 1,44 ^a	12,78 \pm 1,59 ^{a,b}	14,66 \pm 1,40 ^{a,b}
4 – CB ^{M-1}	11,04 \pm 1,31 ^b	11,12 \pm 1,54 ^b	14,40 \pm 3,22 ^{a,b}
5 – CB ^{Mb-2}	8,49 \pm 0,91 ^c	13,67 \pm 1,39 ^a	12,98 \pm 0,89 ^b

Os valores representam as médias de 6 repetições \pm desvio padrão; Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias pelo teste de Duncan, em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$);

CC – colesterol controle; CBA-1 – colesterol bebida amora %...

Os dados da tabela 1 demonstram que os grupos que receberam o suco das polpas de frutas com uma dieta hipercolesterolêmica, demonstraram redução significativa nos teores de lipídios hepáticos, com exceção dos grupos que ingeriram polpa de amora-preta 50% e 75% (CB^{A-1}; CB^{A-2}); esta diferença foi confirmada na excreção de lipídeos fecais e no peso do fígado para todos os grupos que ingeriram polpa de frutas.. O grupo de animais que consumiu polpa de mirtilo 75% apresentou os melhores resultados para os parâmetros analisados. Isto pode ter sido ocasionado pela ação que determinados compostos fenólicos exercem sobre o metabolismo lipídico, aumentando a excreção de sais biliares nas fezes (ARAÚJO, 2009). De acordo com Yamamoto et al. (1999) a redução do peso hepático ocasionaria menor deposição de lipídeos no fígado, comportamento similar foi observado em nosso estudo para o grupo de animais que ingeriu ração com polpa de mirtilo 75%, o qual apresentou menor peso hepático.

De acordo com Raseira & Antunes (2004) os frutos da amoreira-preta, assim como as demais frutas cuja película é consumida conjuntamente, apresentam teores de fibra bruta em torno 2%, o que sugere benefícios relacionados à sua ingestão

como uma possível regulação do trato intestinal. Pode-se observar neste estudo que os animais que ingeriram polpa de frutas, associado à dieta hipercolesterolêmica, obtiveram diferença significativa para o teor de gordura excretada.

Segundo Helbig (2007), a importância da excreção fecal de lipídeos e colesterol não está somente na contribuição da regulação dos níveis séricos de colesterol e frações, mas também na prevenção de determinadas patologias. Alguns dos fatores dietéticos mais importantes que parecem predispor a grande incidência de câncer colo-retal são os baixos conteúdos de ingestão fibras alimentares e a ingestão de altos teores de gordura (FORMAN et al., 2004).

4. CONCLUSÕES

A polpa de mirtilo em dietas hipercolesterolêmicas promoveu maior excreção de lipídeos fecais, menor acúmulo de lipídeos hepáticos, e proporcionou fígados com menores pesos em ratos Wistar.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, P.F. **Atividade antioxidante de néctar de amora-preta (*Rubus* spp.) e sua influência sobre os lipídios séricos, glicose sanguínea e peroxidação lipídica em hamsters (*Mesocricetus auratus*) hipercolesterolêmicos.** 2009. 123f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Ciências e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian J of Biochem and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.
- FARIAS ES, GUERRA-JUNIOR G, PETROSKI EL. Estado nutricional de escolares em Porto Velho, Rondônia. **Rev Nutr**; v.21, p.401-9, 2008.
- FORMAN, M. R., HURSTING, S. D., UMAR, A. and BARRET, J. C. Nutrition and cancer prevention: a multidisciplinary perspective on human trials. **Annual Rev of Nutrition**, v. 24, p.223-254, 2004.
- HELBIG E., **Efeitos do teor de amilose e da parboilização do arroz na formação do Amido resistente e nos níveis glicêmico e lipêmico de ratos wistar.** 2007. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- REEVES, P.G.P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.N. 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-76. **Rodent diet Nutrition**. v. 123, n.11, p. 467-72; 1993.
- SAKAKIBARA, H., et al.,. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. **J Agric Food Chem**, v.51, p.571-581, 2003.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol**, 77(supl III):1-48, 2001.
- YAMAMOTO, Y.; et al. In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. **The J of Nutrit Biochem**, New York, v. 10, n.2, p.13-18, 1999.