



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E NUTRIÇÃO
BIOQUÍMICA E FISILOGIA DA NUTRIÇÃO



EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVAIA (*Eugenia uvalha* Cambess) NO PERFIL LIPÍDICO E NO ESTRESSE OXIDATIVO DE RATAS HIPERCOLESTEROLÊMICAS

Juliana Márcia Macedo Lopes

OURO PRETO – MG
2014

JULIANA MÁRCIA MACEDO LOPES

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVAIA (*Eugenia uvalha* Cambess) NO PERFIL LIPÍDICO E NO ESTRESSE OXIDATIVO DE RATAS HIPERCOLESTEROLÊMICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Nutrição, área de concentração: Bioquímica e Fisiopatologia da nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Pedrosa

OURO PRETO – MG
2014

L864e

Lopes, Juliana Márcia Macedo.

Efeito da suplementação com suco de uvaia (eugenia uvalha cambes) no perfil lipídico e no estresse oxidativo de ratas hipercolesterolêmicas [manuscrito] : / Juliana Márcia Macedo Lopes. - 2014.

88 f.: il. color.; grafs.; tabs.

Orientador (es): Prof^o Dr Marcelo Eustáquio Silva.

Prof^a Dr^a Maria Lúcia Pedrosa.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

Área de concentração: Bioquímica e Fisiopatologia da Nutrição

1. Uvaia - Teses. 2. Estresse oxidativo - Teses. 3. Lipídios - Teses.
4. Hipercolesterolemia - Teses. 5. Antioxidantes - Teses. I. Silva, Marcelo Eustáquio. II. Pedrosa, Maria Lúcia. II. Universidade Federal de Ouro Preto
III. Título.

CDU: 612.397

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



Mestrado Saúde e Nutrição



Universidade Federal de Ouro Preto

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos catorze dias do mês de fevereiro de dois mil e catorze, às catorze horas, no Auditório da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, realizou-se a defesa da dissertação de mestrado da aluna **Juliana Márcia Macedo Lopes**. A banca examinadora, definida anteriormente, foi composta pelos Professores Lenice Kappes Becker de Oliveira (UFOP), Fabiano Kenji Haraguchi (UFES), Marcelo Eustáquio Silva (UFOP) e Maria Lúcia Pedrosa (UFOP). Dando início ao exame, a aluna apresentou sua dissertação de mestrado intitulada: “EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVAIA (*Eugenia uvalha Cambess*) NO PERFIL LIPÍDICO E NO ESTRESSE OXIDATIVO DE RATAS HIPERCOLESTEROLÊMICAS”. Após a apresentação, a candidata foi arguida pela banca que avaliou o domínio do conteúdo metodológico e teórico relacionado à dissertação. Após julgamento, os membros da banca decidiram por:



APROVAR



REPROVAR

Profa. Dra. Lenice Kappes Becker de Oliveira (UFOP),
Examinadora Interna.

Prof. Dr. Fabiano Kenji Haraguchi (UFES),
Examinador Externo.

Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva (UFOP),
Orientador.

Profa. Dra. Maria Lúcia Pedrosa (UFOP),
Coorientadora.

Juliana Márcia Macedo Lopes (UFOP),
Mestranda.

Dedico esta dissertação aos meus pais **Joana D'arc e Antônio Marcio** que sempre me educaram e me incentivaram na busca de meus objetivos.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao **Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva** e à **Prof^a. Dr^a Maria Lúcia Pedrosa** pela orientação, disponibilidade, sabedoria, dedicação, empenho, conselhos, motivação, ensinamentos e valores que levarei pra vida toda. Sou grata a vocês por terem me dado à oportunidade de desenvolver este trabalho, e pelos exemplos de profissionais que foram para mim durante esses anos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus** por ter me concedido o dom da vida e por abençoar sempre todos os meus passos.

Aos **Meus Pais**, pelo apoio incondicional, amor e dedicação e por serem meus exemplos de vida.

A minha irmã **Isabela**, pelo carinho e amizade.

Aos **Meus Avós** por sempre acreditarem em mim.

Ao **Erick** pelo amor, dedicação e incentivo. Por me acompanhar nessa caminhada, sempre cuidando de mim. Obrigada pela compreensão e paciência.

Aos **Meus Tios e Primos**, que mesmo longe torceram por mim.

À **Narinha**, irmã e companheira de todas as horas. Fizemos esta caminhada juntas, e assim foi mais fácil vencermos todas as dificuldades. Obrigada pela amizade, pela disponibilidade e pelos conselhos.

À **Maísa, Joyce e Renata** pela amizade e companheirismo, pela ótima convivência e por sempre estarem dispostas a ajudar. A realização deste trabalho não seria possível sem vocês!

Aos demais colegas do Laboratório de Nutrição Experimental e Bioquímica Metabólica, em especial à, **Alice, Ana Maria, Mariana, Helena, Aline e Walesca**, pelo auxílio e a agradável convivência.

Às companheiras de república **Vanessa e Rafaella**, que compartilharam comigo esses dois anos. Obrigada pela amizade e companheirismo.

Ao **Jair** e ao **Clodoaldo** por sempre estarem disponíveis a ajudar no laboratório.

Ao **Programa de Pós- Graduação em Saúde e Nutrição** pela oportunidade de poder concluir a pós-graduação em um curso de ótima qualidade.

À **UFOP** pelo conhecimento adquirido e pela bolsa concedida.

A todos que de alguma maneira contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

Muito Obrigada!

RESUMO

O estresse oxidativo causado pelo aumento do colesterol tem sido sugerido como um dos principais fatores de risco para diversas doenças correlacionadas a hipercolesterolemia, como por exemplo, a aterosclerose. Estudos recentes caracterizam a uvaia, como fonte de compostos bioativos, além de possuir uma elevada capacidade antioxidante *in vitro*, características que sugerem um possível efeito positivo deste fruto no estresse oxidativo causado pela hipercolesterolemia. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do suco da uvaia sobre o perfil lipídico e o estresse oxidativo em ratos alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica. Primeiramente o fruto da uvaia foi analisado quanto a sua composição centesimal, conteúdo de polifenóis totais e a sua capacidade antioxidante *in vitro* e posteriormente foi conduzida a experimentação animal, onde ratos *Fischer* fêmeas foram alocadas em 4 grupos de 8 animais de acordo com o tratamento recebido: grupo controle (C), recebeu dieta AIN-93M padrão; controle uvaia (CUv), recebeu dieta AIN-93M padrão + 2 ml de suco de uvaia; hipercolesterolêmico (H), recebeu dieta hipercolesterolêmica e o grupo hipercolesterolêmico uvaia (HUv), recebeu dieta hipercolesterolêmica + 2 ml de suco de uvaia. Ao final de 10 semanas os animais foram anestesiados e eutanasiados e o sangue e os órgãos foram recolhidos e armazenados para posteriores análises. Os dados foram submetidos à análise de variância bivariada (ANOVA *two way*). Diferenças de $p < 0,05$ foram consideradas significativas. A uvaia apresentou um conteúdo considerável de compostos fenólicos e uma atividade antioxidante elevada. A suplementação com o suco de uvaia promoveu um efeito hipocolesterolêmico significativo, além de apresentar um efeito protetor contra os danos hepáticos e renais causados pela dieta hipercolesterolêmica. O suco de uvaia alterou a concentração do marcador de dano oxidativo, TBARS, apresentando, portanto ação antioxidante. Esses resultados sugerem que a suplementação com o suco apresentou um importante papel hipocolesterolêmico e antioxidante, favorecendo a saúde dos animais, principalmente, nas condições deletérias da hipercolesterolemia.

Palavras-chave: *Eugenia uvalha* Cambess, estresse oxidativo, hipercolesterolemia, antioxidante, lipídios.

ABSTRACT

Oxidative stress caused by increased cholesterol has been suggested as one of the major risk factors for various diseases correlated with hypercholesterolemia, such as atherosclerosis. Recent studies characterize uvaia as a source of bioactive compounds, in addition to having a high antioxidant capacity *in vitro*, characteristics that suggest a possible positive effect of this fruit in the oxidative stress caused by hypercholesterolemia. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of the uvaia juice on lipid profile and oxidative stress in rats fed a hypercholesterolemic diet. Primarily the fruit of uvaia was analyzed for its chemical composition, content of total polyphenols and their antioxidant capacity *in vitro* and subsequently was conducted animal experiments, where female *Fischer* rats were divided into 4 groups of 8 animals according to treatment received: control group (C) received AIN- 93M standard diet; control uvaia (CUv), received AIN-93M standard diet + 2 ml of uvaia juice; hypercholesterolemic (H) received hypercholesterolemic diet and hypercholesterolemic group uvaia (HUv) received hypercholesterolemic diet + 2 ml uvaia juice. At the end of 10 weeks the animals were anesthetized and euthanized and blood and organs were collected and stored for further analysis. The fruit of uvaia was analyzed for its chemical composition, polyphenol contents and its antioxidant capacity *in vitro*. Data were subjected to analysis of variance bivariate (*two-way* ANOVA). Differences of $p < 0.05$ were considered significant. The uvaia showed a considerable content of phenolic compounds and high antioxidant activity. Supplementation with juice uvaia caused a significant hypocholesterolemic effect, besides showing a protective effect against the liver and kidney damage hypercholesterolemic diet. The juice uvaia change the concentration of the marker of oxidative damage, TBARS, presenting therefore antioxidant action. These results suggest that supplementation with the juice showed a significant hypocholesterolemic and antioxidant role, promoting the health of animals, especially the deleterious conditions of hypercholesterolemia.

Keywords: *Eugenia uvalha* Cambess, oxidative stress, hypercholesterolemia, antioxidant

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Estrutura Química do Colesterol	19
FIGURA 2- Biossíntese do colesterol	20
FIGURA 3 - Árvore da uvalheira, fruto da uvaia maduro e fruto da uvaia maduro expondo as sementes.	28
FIGURA 4 - Principais polifenóis e flavonóides presentes na uvaia. Estrutura química do ácido gálico (A) e do quercetina (B).	29
FIGURA 5 - Estrutura química dos carotenóides luteína e β -caroteno (A) e ácido ascórbico (B).....	29

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Características das lipoproteínas plasmáticas.....	21
--	-----------

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição das dietas experimentais (g/1000g de dieta).....	37
TABELA 2 - Peso médio em gramas dos frutos da uvaia colhidos na região de Ouro Preto – MG, inteiro, polpa mais casca e semente.	48
TABELA 3 - Composição Centesimal em 100g do fruto da uvaia	48
TABELA 4 – Colesterol total no 14° e 28° dia dos animais alimentados com dieta controle e dieta hipercolesterolêmica	49
TABELA 5 – Peso corporal inicial e final, ganho de peso total, ingestão e excreção alimentar dos grupos experimentais.	50
TABELA 6 - Peso total dos órgãos e gorduras em gramas dos grupos de animais experimentais.....	51
TABELA 7 - Concentrações séricas do CT, colesterol não-HDL, colesterol HDL e TG de grupos de animais experimentais.....	52
TABELA 8 – Peso do Fígado e Concentração sérica de proteínas totais e albumina, atividade da ALT, AST e FA dos grupos experimentais.	53
TABELA 9 - Concentração sérica de creatinina e uréia de grupos de animais experimentais	54
TABELA 10 - Atividade arilesterásica e paraoxonase da enzima paraoxonase no soro de grupos dos animais experimentais	54
TABELA 11 - Concentração sérica de sulfidrila totais, TBARS e proteína carbonilada de grupos de animais experimentais.....	55
TABELA 12 – Teor de gordura hepática e fecal dos animais experimentais.....	56

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Percentual de inibição do radical DPPH, por diferentes concentrações do suco de uvaia e do antioxidante de referência Trolox após 30 minutos.49

LISTA DE ABREVIATURAS

Acetil-CoA: Acetil-coenzima A

AIN: *American Institute of Nutrition*

ALT: Alanina aminotransferase

ANOVA: Análise de variância

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST: Aspartato aminotransferase

AOAC: *Association of Official Agricultural Chemists*

BHT: Butil-hidroxi-tolueno

C: Grupo controle

CUv: Grupo controle uvaia

CT: Colesterol total

CYP7A1: 7 α -hidroxilase

DCV: Doença cardiovascular

DNPH: 2,4-dinitrofenil-hidrazina

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

DTNB: 5,5-ditio-bis-2-nitro-benzóico

EDTA: Ácido etilenodiaminotetracético

EROs: Espécies reativas de oxigênio

FA: Fosfatase alcalina

FDN: Fibra detergente neutro

GAE: Equivalentes de ácido gálico

GPx: Glutathione peroxidase

GR: Glutadione redutase

H: Grupo hipercolesterolêmico

HDL: Lipoproteína de densidade alta

HMG-CoA: 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA

HUv: Grupo hipercolesterolêmico uvaia

IAL: Instituto Adolfo Lutz

IDL: Lipoproteína de densidade intermediária

LABNEX: Laboratório de Nutrição Experimental

LDL: Lipoproteínas de densidade baixa

LPL: Lípase lipoproteica

MDH: Malato desidrogenase

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

PON: Paraoxonase

SDS: Dodecilssulfato de sódio

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA: Ácido tricloroacético

TG: Triglicérides

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

VLDL: Lipoproteínas de densidade muito baixa

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I - Certificado de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais	86
--	-----------

SUMÁRIO

RESUMO.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE QUADROS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	IX
LISTA DE GRÁFICOS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
LISTA DE ANEXOS.....	XIII
1 – INTRODUÇÃO.....	17
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 – Metabolismo do Colesterol.....	19
2.2 – Hipercolesterolemia.....	23
2.2.1 – Hipercolesterolemia em Modelo Animal.....	24
2.3 – Estresse Oxidativo e Hipercolesterolemia.....	25
2.4 - Caracterização do Fruto da Uvaia (<i>Eugenia uvalha</i> Cambess).....	27
2.5 – O fruto da Uvaia como Fonte Antioxidante Natural.....	28
2.5.1 – Compostos Fenólicos.....	30
2.5.2 – Flavonóides.....	30
2.5.3 – Carotenóides.....	31
2.5.4 – Ácido Ascórbico.....	31
3 – OBJETIVOS.....	32
3.1 – Objetivo Geral.....	32
3.2 – Objetivo Específico.....	32
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1 - Medidas Biométricas dos Frutos.....	33
4.2 - Composição Centesimal.....	33
4.3 - Suco da Uvaia.....	34
4.4 - Conteúdo de Polifenóis Totais do Suco da Uvaia.....	34
4.5 - Capacidade Antioxidante <i>in vitro</i> (DPPH).....	35
4.7 – Dietas.....	36
4.8.1 – Período de Adaptação às Dietas.....	37
4.8.2 – Experimento.....	38

4.9 – Obtenção do Soro e do Plasma	38
4.10– Análises Bioquímicas	38
4.10.1 – Colesterol Total.....	39
4.10.2 - Colesterol-HDL.....	39
4.10.3 – Triglicérides	39
4.10.4 – Creatinina	40
4.10.5 – Uréia	40
4.10.6 - Alanina Aminotrasferase	40
4.10.7 - Aspartato Aminotrasferase.....	40
4.10.8 – Fosfatase Alcalina	41
4.10.9 - Proteínas Totais.....	41
4.10.10 – Albumina.....	41
4.10.11 – Sulfidrilas	41
4.10.12 – Paraoxonase – Atividade Arilesterase.....	42
4.10.13 - Paraoxonase – Atividade Paraoxonase	43
4.11 – Dosagens de Biomarcadores do Estresse Oxidativo no Soro	43
4.11.1 – Peroxidação Lipídica.....	43
4.11.2 – Proteína Carbonilada.....	44
4.12 – Determinação de Gordura no Fígado	45
4.13 – Determinação da Gordura nas Fezes.....	46
4.14 – Análise Estatística.....	46
5.1 – Biometria dos Frutos e Rendimento do Suco da Uvaia	48
5.2 - Composição Centesimal do Fruto da Uvaia	48
5.3 – Conteúdo de Polifenóis Totais do Suco da Uvaia.....	49
5.4 - Capacidade Antioxidante <i>in vitro</i> (DPPH).....	49
5.6 – Peso Inicial, Peso Final, Ganho de Peso, Ingestão e Excreção dos Animais Experimentais.	50
5.8 - Perfil Lipídico Sérico.....	51
5.9 - Peso do Fígado, Concentração Sérica de Proteínas Totais e Albumina e Atividade da ALT, AST e FA.	52
5.10 - Concentração Sérica de Creatinina e Uréia.	53
5.11 - Atividade Arilesterásica e Paraoxonase da Enzima Paraoxonase.	54
5.12 - Concentração Sérica de Sulfidrilas Totais, TBARS e Proteína Carbonilada.	55
5.13 - Teores de Lipídios Hepático e Fecal	55

6- DISCUSSÃO	57
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1 – INTRODUÇÃO

O aumento do risco de doenças cardiovasculares (DCV) está altamente associado à hipercolesterolemia, sendo que este é um dos principais fatores de risco para lesões arterioscleróticas em humanos.

Neste contexto espécies reativas de oxigênio (EROs) têm demonstrado um importante papel na patogênese da hipercolesterolemia. A formação de EROs é o resultado de processos metabólicos normais e é importante para manter a homeostase nos tecidos. No entanto, a superprodução de radicais livres juntamente com a desordem no sistema de defesa antioxidante, resulta em um desequilíbrio, levando ao dano oxidativo celular, denominado estresse oxidativo.

O estresse oxidativo causado por uma dieta rica em lipídios pode ser detectado através das modificações nos mecanismos de defesa antioxidante enzimático como, por exemplo, a diminuição da atividade das enzimas antioxidantes e também através da elevação dos marcadores de dano oxidativo como, por exemplo, a peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas, resultando na produção de intermediários tóxicos. Isto pode ocorrer devido ao estímulo causado pela hiperlipidemia sobre a expressão da NADPH oxidase e consequente geração de EROs.

Alimentos são fontes de defesas antioxidantes não enzimáticas como, por exemplo, o ácido ascórbico (vitamina C), carotenóides, tocoferol (vitamina E) e os compostos fenólicos como as antocianinas. Tais compostos podem amenizar o processo patogênico causado pelo acúmulo de colesterol devido a suas propriedades de impedir a formação dos radicais livres ou espécies não radicais, interrompendo a ação destes ou ainda favorecendo a restauração das estruturas biológicas lesadas por estes.

A capacidade antioxidante dos frutos está associada ao conteúdo desses compostos bioativos. Neste contexto, a uvaia, fruto nativo do Brasil, apresenta elevada capacidade

antioxidante demonstrada por vários estudos, esta capacidade se deve ao seu conteúdo. O fruto é rico em ácido ascórbico, possui uma quantidade considerável de polifenóis totais, além de ter um alto teor de carotenoides totais, principalmente luteína e β -caroteno, sendo este último considerado um composto com propriedades antioxidantes, especialmente pela sua capacidade de interagir com radicais livres. Portanto, devido aos seus compostos, a uvaia pode ser um potencial candidato a amenizar os efeitos deletérios causados pela hipercolesterolemia.

Sendo assim o objetivo do presente estudo é investigar o efeito da suplementação com suco de uvaia no perfil lipídico e o estresse oxidativo de ratas alimentadas com dieta hipercolesterolêmica.

Todos os átomos de carbono da cadeia de colesterol são derivados a partir do acetil-coenzima A (acetil-CoA). A primeira etapa da biossíntese de colesterol no organismo ocorre pela reação de três moléculas de acetil-CoA para formação de 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reação catalisada pela HMG- CoA sintetase. Pela ação de outra enzima, a HMG-CoA redutase, o HMG-CoA é reduzido a ácido mevalônico. Esta é etapa limitante para síntese de colesterol, sendo a HMG CoA redutase enzima-chave dessa reação (SHEPHERD, 2001; WIVIOTT; CANNON, 2006. CAMPO; CARVALHO, 2007; SABARENSE; PELUZIO, 2008).

Nas etapas seguintes ocorre a formação do pirofosfato de isopentenila, a ciclização do esqualeno e finalmente, o lanosterol é convertido em colesterol, (SABARENSE; PELUZIO, 2008) como observado na Figura 2.

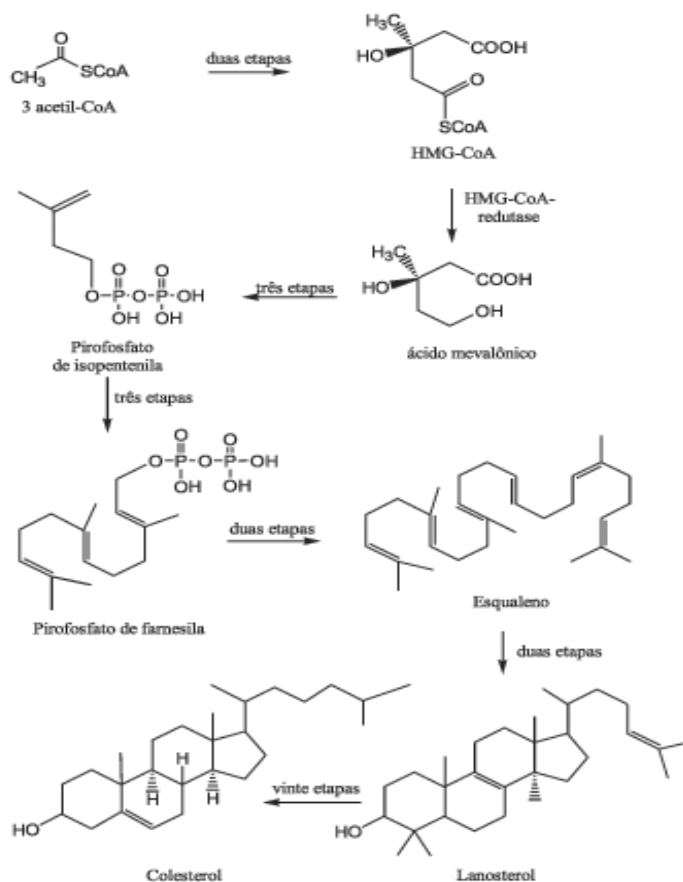


Figura 2- Biossíntese do colesterol

Fonte: CAMPO; CARVALHO, 2007.

A absorção do colesterol ocorre obrigatoriamente na presença de ácidos biliares, uma vez que estes possuem características anfipáticas e habilidade para formar micelas nas quais o colesterol é absorvido por um mecanismo facilitado por proteínas carreadoras de esterol específicas residentes na membrana dos enterócitos, após a absorção, o colesterol é reesterificado e reorganizado para que possa ser transportado na circulação (LU *et al.*, 2001; HUI ; HOWLES, 2005; ROSA, 2009).

Por ser insolúvel em ambientes hidrofílicos, o colesterol é transportado no sangue por macromoléculas chamadas lipoproteínas, estas são sintetizadas no fígado e no intestino (KRIS-ETHERTON *et al.*, 1988; LUDKE ; LÓPEZ, 1999; HEGELE, 2009). O tamanho e a diversidade destas lipoproteínas plasmáticas variam de acordo com a proporção de seus constituintes lipídicos e conteúdo de apoproteínas (Quadro 1).

Quadro 1 - Características das lipoproteínas plasmáticas

Lipoproteínas	Densidades (g/dL)	Diâmetro (Å)	Composição (%)					Apolipoproteínas
			CE	CL	TG	FL	PR	
Quilomicrons	<0,95	800 – 5.000	5	2	84	7	2	B-48; E; C A-I; A-II; A-IV
VLDL	<1,006	300 – 800	12	7	55	18	8	B-100; E; C
IDL	1,006 – 1,019	250 – 350	23	8	32	21	16	B-100; E; C
LDL	1,019 – 1,063	180 – 280	38	10	9	22	21	B-100
HDL2	1,063 – 1,125	90 – 120	16	6	4	30	44	A-I; A-II
HDL3	1,125 – 1,210	50 – 90	12	3	4	26	55	A-I; A-II

CE- colesterol esterificado; CL- colesterol livre; TG- triglicérides; FL- fosfolípedes; PR- proteínas.

Fonte: SANTOS *et al.*, 2001.

De acordo com Sposito *et al.*, (2007) existem quatro classes de lipoproteínas separadas em dois grupos: as ricas em triglicérides (TG), que são maiores e possuem maior densidade, representadas pelos quilomícrons de origem intestinal e pelas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), de origem hepática e as ricas em colesterol, representadas pelas lipoproteínas de densidade baixa (LDL) e de densidade alta (HDL). Existe ainda uma lipoproteína de densidade intermediária (IDL).

Os quilomícrons são responsáveis pelo transporte de lipídios absorvidos pelo intestino, provenientes da dieta e os da circulação entero-hepática. Estes possuem as apoproteínas B-48, A-I, A-II e A-IV e na circulação adquirem a apo-E e apo-C, onde pela ação da lipase lipoprotéica (LPL) se transformam em quilomícrons remanescentes e são em seguida catabolizados no fígado (GENEST, 2003; SPOSITO *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2001).

Os ácidos graxos oriundos dos quilomícrons, ligados com aqueles que foram sintetizados pelo fígado são secretados na forma de VLDL, que é rica em TG e sua principal apoproteína é a apo B-100. As VLDL também sofrem ação da LPL na circulação dando origem as IDL, parte da fração da IDL é captada pelo fígado e outra parte é degradada pela LPL e transformada em LDL (OLSON, 1998; GENEST, 2003; SPOSITO *et al.*, 2007).

As LDL são as principais lipoproteínas transportadoras de colesterol proveniente do fígado para os tecidos periféricos (LOTTENBERG, 2009). Elas carregam aproximadamente 65 a 70% do colesterol plasmático humano e são compostas por uma única apoproteína, a apo-B100, a qual é reconhecida por receptores específicos no fígado denominados receptores B/E. A expressão desses receptores é a principal responsável pelo nível de colesterol no sangue (SPOSITO *et al.*, 2007).

As partículas de HDL carregam cerca de um terço do colesterol no plasma humano. Estas são as mais densas lipoproteínas e se originam no fígado e intestino a partir de remanescentes de lipoproteínas. A HDL é responsável pelo transporte reverso do colesterol, um processo pelo qual o colesterol livre nos tecidos periféricos é transportado para o fígado com consequente excreção na bile. Suas principais apoproteínas são as apo A-I e apo A-II. (ORAM ; VAUGHAN, 2006; ECKARDSTEIN *et al.*, 2001).

Neste contexto, mecanismos regulatórios devem existir para balancear a taxa de síntese e excreção do colesterol. As principais vias de excreção do colesterol são a conversão desse em ácidos biliares feita pela enzima 7 α -hidroxilase (CYP7A1), no qual é excretado nas

fezes, secreção de colesterol na bile, sendo este transportado ao intestino para eliminação e uma pequena fração do colesterol é convertida em hormônios esteróides, e posterior eliminação pela urina (CHAMPE; HARVEY, 1994; LUDKE; LÓPEZ, 1999).

2.2 – Hipercolesterolemia

A hipercolesterolemia é um tipo de dislipidemia classificada como sendo uma elevação isolada do colesterol total (CT), em geral representada por um aumento do LDL colesterol. Além da hipercolesterolemia outras dislipidemias também são conhecidas, como por exemplo, a hipertrigliceridemia isolada, caracterizada pela elevação isolada das TG e a hiperlipidemia mista onde ocorre aumento do CT e dos TG e uma diminuição do colesterol HDL (MAEDA *et al.*, 2005; SPOSITO *et al.*, 2007).

As causas da hipercolesterolemia podem estar associadas a hábitos de vida inadequados, como por exemplo, modificações no padrão dietético, aumento do consumo de alimentos ricos em colesterol, sedentarismo, tabagismo, etilismo, além de distúrbios genéticos, uso de medicamentos ou por alguma doença primária como, por exemplo, diabetes, hipotireoidismo, hepatopatias, obesidade entre outras (CAMPO; CARVALHO, 2007; SPOSITO *et al.*, 2007).

A homeostase do colesterol depende do equilíbrio entre ingestão, absorção/excreção e síntese. Um desequilíbrio pode fazer com que o CT e a fração LDL aumentem na corrente sanguínea. Consequentemente é necessário um mecanismo de transporte reverso de colesterol para manter o equilíbrio tecidual que permita sua maior excreção, a principal partícula envolvida neste transporte é a HDL. Esse movimento é essencial para prevenção de acúmulos de colesterol, como os que ocorrem na hipercolesterolemia (LOTTENBERG, 2009).

Em seres humanos diferentes de alguns animais, a LDL constitui a principal forma de transporte do colesterol na circulação. Além disso, em seres humanos células podem ser danificadas pelo excesso de EROs e podem apresentar por exemplo modificações em sua função devido ao acúmulo de LDL oxidadas. Esta alteração pode ser observada nas células

endoteliais dos vasos sanguíneos e, também, em células fagocitárias da região endotelial afetada, sendo responsável pelo desenvolvimento da placa de ateroma (RAO, 2002; LOTTENBERG, 2009; SPOSITO *et al.*, 2007).

2.2.1 – Hipercolesterolemia em Modelo Animal

O uso de modelos animais em pesquisas que avaliam o efeito de alimentos funcionais sobre o perfil lipídico apresenta algumas limitações, como por exemplo, a falta de similaridade no perfil das lipoproteínas, a expressão das apoproteínas e a atividades das enzimas regulatórias do metabolismo e do colesterol hepático, o que torna a comparação com estudos em seres humanos limitada (FAN *et al.*, 1999; BROSSEAU; HOEG, 1999; ZHANG *et al.*, 2009).

Tem se sugerido que a hipercolesterolemia é mais facilmente induzida em hamsters, pois estes animais são hiper-responsivos ao aumento do colesterol dietético e 50% do colesterol plasmático no hamster é carregado pela LDL, sendo assim mais semelhantes aos humanos. A hipercolesterolemia nesse tipo de animal pode ser atingida com adição de apenas 0,1 % de colesterol na dieta (ZHANG *et al.*, 2009).

O camundongo não é um modelo usualmente utilizado neste tipo de pesquisa devido a dificuldades na indução de arteriosclerose. Isto ocorre provavelmente em consequência do elevado nível de HDL e baixa taxa de absorção de colesterol nestes animais (MOGHADASIAN *et al.*, 2002).

O coelho é um modelo bastante utilizado por apresentar lesão aterosclerótica. Estes animais são muito susceptíveis a aterosclerose induzida por dieta, contudo transportam grande parte do colesterol na fração VLDL e carecem da apoproteína apo II, tornando a homeostase do colesterol diferente da de humanos (BROSSEAU; HOEG, 1999; DALEY *et al.*, 1994).

Um modelo animal de grande semelhança com humanos quanto ao perfil de lipoproteínas é o porco. Quando alimentados com colesterol, eles alcançam níveis plasmáticos

altos e lesões ateroscleróticas. Porém, o grande porte dificulta seu uso neste tipo de pesquisa, uma vez que esta necessitaria de uma grande amostra para obtenção de resultados, além de maiores cuidados, grande quantidade de alimentos e altos custos para o seu manuseio (MOGHADASIAN *et al.*, 2001; MOGHADASIAN *et al.*, 2002; JAWIEN *et al.*, 2004).

O rato é uma espécie aterosclerose resistente. Ao contrário dos seres humanos, nestes animais a principal transportadora de colesterol plasmático é a HDL. Os ratos são geralmente hipo-responsivos ao colesterol da dieta, a hipercolesterolemia é atingida nestes animais com adição de, no mínimo, 1% de colesterol na dieta (FAN *et al.*, 1999; MOGHADASIAN *et al.*, 2001; ZHANG *et al.*, 2009).

Apesar de todas as controvérsias sobre o uso dos ratos como modelo para hipercolesterolemia, estudos recentes que avaliaram o efeito da dieta no metabolismo de lipídios e na homeostase do colesterol obtiveram bons resultados nestes animais (MATOS *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2010; PAULA *et al.*, 2009; HARAGUCHI *et al.*, 2009).

2.3 – Estresse Oxidativo e Hipercolesterolemia

A formação de EROs é resultado de processos metabólicos normais e importantes para manter funções biológicas relevantes. Porém a superprodução destes juntamente com a desordem no sistema de defesa antioxidante resultam em um desequilíbrio em favor da geração de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses, levando ao dano oxidativo celular também conhecido como estresse oxidativo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SEIFRIED *et al.*, 2007).

O stress oxidativo é sugerido como um mecanismo subjacente a hipercolesterolemia. O excesso de colesterol nos eritrócitos, leucócitos, plaquetas e células endoteliais, estimula a produção de espécies reativas através do estímulo causado por esta hiperlipidemia, por exemplo, sobre a expressão da enzima NADPH oxidase (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) (MAEDA *et al.*, 2005; HOPPS *et al.*, 2009).

Conseqüentemente ocorre um desequilíbrio causado por modificações nos mecanismos de defesa antioxidante enzimático como, por exemplo, a diminuição da atividade das enzimas antioxidantes, catalase e superóxido dismutase e aumento na produção de radicais livres como ânion superóxido, radical hidroxila e peroxila, bem como espécies não radicais, como peróxido de hidrogênio, peroxinitrito e oxigênio singleto. (DANIEL *et al.*, 1988; ANILA; VIJAYALAKSHMI, 2003).

Nesta situação de estresse, EROs podem interagir com componentes celulares como ácidos nucleicos, proteínas e lipídios e tal processo tem como consequência, a oxidação dessas biomoléculas e a perda de suas funções biológicas. (SCANDALIOS, 2005). A cronicidade do processo em questão tem relevantes implicações sobre o processo etiológico de varias patologias, entre elas a hipercolesterolemia e suas consequências (SEIFRIED *et al.*, 2007).

Compostos que podem ser modificados pela ação de radicais livres, como lipídios, proteínas e grupos sulfidrilas, são usados como medidas indiretas do estresse oxidativo. Sendo a oxidação de lipídeos considerada um dos principais marcadores desse estresse. (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004; SILVA *et al.*, 2011).

Estudos semelhantes ao nosso têm relatado que o consumo de colesterol na dieta por ratos e hamsters, aumenta a peroxidação lipídica em decorrência do aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, sugerindo assim, aumento nos níveis de radicais livres nestes modelos animais. (CARDOSO *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2010; PAULA *et al.*, 2009).

A exposição do organismo aos efeitos dos radicais livres encontra resistência de um importante sistema antioxidante. Usualmente, esse é dividido em enzimático e não enzimático. Os mais importantes antioxidantes enzimáticos são a superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase (GPx) e glutathione reductase (GR) (VALKO *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2010), e os não enzimáticos inclui os antioxidantes de origem dietética,

entre os quais se destacam-se compostos fenólicos, ácido ascórbico (vitamina C), carotenóides, zinco, cobre, selênio e magnésio (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Uma dieta hipercolesterolêmica pode também promover a redução na atividade da enzima paraoxonase (PON) associada a um aumento do estresse oxidativo. Esta enzima está associada com a HDL e protege a LDL e a HDL contra a oxidação, também elimina lipídios oxidados das células (MACKNESS *et al.*, 1984; AVIRAM, 1998; PINIZZOTTO *et al.*, 2001; HARAGUCHI *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2010).

2.4 - Caracterização do Fruto da Uvaia (*Eugenia uvalha* Cambess)

A uvaia (*Eugenia uvalha* Cambess) é uma espécie da família *Mirtaceae* cujo nome vem do Tupi e significa “fruta ácida”, também conhecida como uvalha, uvaia-do-mato, uvalheira. Este fruto é nativo do Brasil e é encontrado principalmente na região da Mata Atlântica (ANDERSEN; ANDERSEN, 1988; LORENZI, 1998). É uma planta arbórea muito utilizada em reflorestamento urbano e em pomares domésticos. A maturação dos frutos ocorre de setembro a novembro. Quando maduros, são frágeis e altamente perecíveis, o que dificulta a sua comercialização *in natura* (SCALON *et al.*, 2004; LORENZI, 2006).

Este fruto, do tipo baga, é carnoso, arredondado, de coloração amarela, sabor ácido e possui de uma a quatro sementes com tegumento de coloração castanha (Figura 3). Pode ser consumido *in natura*, na forma de sucos, geléias, doces, vinho e licor (LORENZI, 1998; ANDRADE; FERREIRA, 2000).

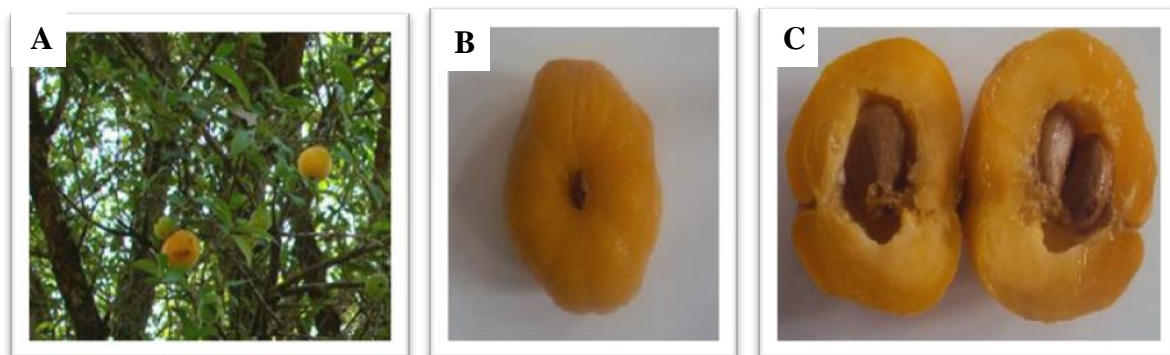


Figura 3 - Árvore da uvalheira, fruto da uvaia maduro e fruto da uvaia maduro expondo as sementes.

2.5 – O fruto da Uvaia como Fonte Antioxidante Natural

A capacidade antioxidante dos alimentos está relacionada ao seu conteúdo de compostos bioativos, dentre esses os frutos se destacam como ricos em antioxidantes naturais. Estudos epidemiológicos tem indicado uma associação entre o aumento do consumo de vegetais e frutos ricos em antioxidantes com a redução do risco de doenças cardiovasculares (RAMIREZ *et al.*, 2011; PRIOR; WU, 2013)

Neste contexto destaca-se o fruto da uvaia, ele apresenta níveis significativamente elevados de compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis, sendo que o ácido fenólico predominante no fruto é o ácido gálico (RAMIREZ *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012; KARWOWSKI, 2012). Além disso, o fruto ainda contém níveis elevados de flavonóides, quando comparados com frutos da mesma família, dos quais o de maior evidência é a quercetina (Figura 4). Já quanto ao teor de antocianinas, a uvaia possui um teor baixo quando comparados ao de outros frutos (KARWOWSKI, 2012; HAMINIUK *et al.*, 2011).

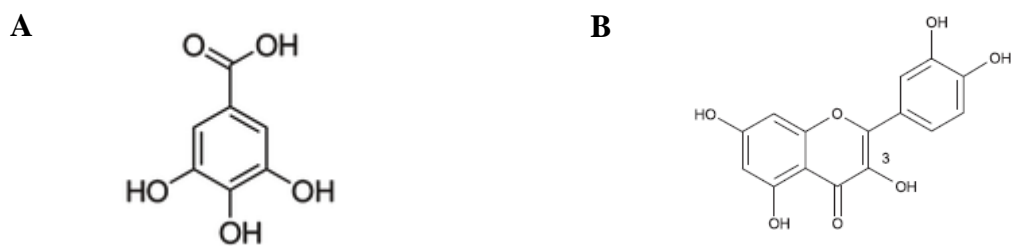


Figura 4 - Principais polifenóis e flavonóides presentes na uvaia. Estrutura química do ácido gálico (A) e do quercetina (B).

A uvaia contém alto teor de carotenóides totais, dos quais se destacam a luteína com aproximadamente 33,8% do total e o β -caroteno com aproximadamente 21%, ambos atuam como antioxidantes interagindo com radicais livres. O fruto ainda contém teores consideráveis de ácido ascórbico (vitamina C) (Figura 5) (MIYAZAWA, 2009, RUFINO *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2012).

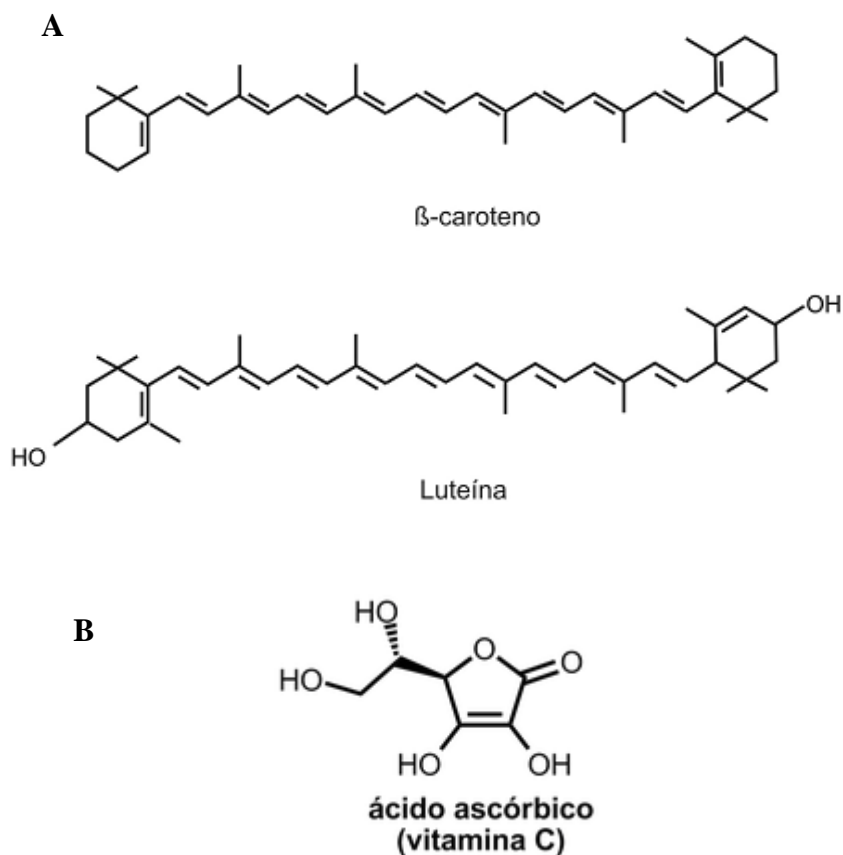


Figura 5 - Estrutura química dos carotenóides luteína e β -caroteno (A) e ácido ascórbico (B)

Quanto à sua capacidade antioxidante, estudos *in vitro* mostraram que a uvaia apresenta uma alta atividade antioxidante comparada a outros frutos, sendo que os valores encontrados para uvaia foram maiores do que os encontrado para o açaí, fruto popularmente conhecido como fonte de antioxidantes naturais (HAMINIUK *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012).

2.5.1 – Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são considerados de grande importância na inibição do processo de peroxidação lipídica. Estes podem inibir os processos da oxidação em certos sistemas inibindo a formação de radicais livres devido a sua propriedade redox. Os compostos fenólicos mais estudados são o ácido caféico, o ácido gálico e o ácido elágico (HARTMAN; SHANKEL, 1990).

Compostos polifenólicos na dieta podem aumentar a estabilidade da LDL para que não ocorra a oxidação. Devido à presença das estruturas de anel de conjugados e grupos hidroxila, a maior parte dos compostos fenólicos funcionam como varredores do ânion superóxido (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992; RICE-EVANS *et al.*, 1995)

A respeito dos mecanismos de ação dos compostos fenólicos sobre a hipercolesterolemia, um dos mais importantes é a redução da absorção intestinal de colesterol e a diminuição da atividade da lipase pancreática (REHRAH *et al.*, 2007).

2.5.2 – Flavonóides

Os flavonóides são polifenóis extremamente importantes na interceptação dos radicais livres. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas a esta capacidade. Existem na literatura controvérsia sobre o mecanismo de ação destes compostos. Porém, sabe-se que os flavonóides atuam como antioxidantes na inativação dos radicais livres, em ambos os compartimentos celulares, lipofílico e hidrofílico (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Esses compostos têm a capacidade de doar átomos de hidrogênio e, portanto, inibir as reações em cadeia provocadas pelos radicais livres. Os flavonóides mais investigados são a quercetina, a miricetina, a rutina e a naringenina (HARTMAN; SHANKEL, 1990).

2.5.3 – Carotenóides

O β -caroteno, um carotenóide amplamente distribuído nos alimentos e abundante na uvaia, é considerado excelente antioxidante, capaz de sequestrar radicais livres com grande eficiência e age como protetor contra a oxidação de lipídeos e DNA (ácido desoxiribonucleíco). Este constituindo um dos principais mecanismos da defesa endógena do organismo (RILEY, 1994; BIANCHI; ANTUNES, 1999). A Luteína, pigmento de cloração amarela, é o principal carotenóide encontrado na uvaia (cerca de 33,8% do total de carotenoides), este apresenta capacidade de proteção as biomoléculas contra os radicais livres, devido a sua capacidade de inativação destes radicais, na complexação de íons metálicos e na redução de hidroperóxidos. Portanto podendo este ser considerado um potente antioxidante (POLYAKOV *et al.*, 2001; ALVES; SHAO, 2004; SILVA, 2004; MA *et al.*, 2011; AZQUETA; COLLINS, 2012).

2.5.4 – Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico (Vitamina C) é por excelência, um antioxidante em potencial. Caracteriza-se por ser um agente redutor, sendo assim um inibidor de EROs. Além disso, a vitamina C juntamente com a vitamina E agem como protetoras contra a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, danos ao DNA e danos causados pela LDL oxidada (BIANCHI; ANTUNES, 1999; RODRIGO *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2010).

Por ser hidrossolúvel, a vitamina C apresenta intensa atividade antioxidante contra radicais livres gerados em meio hidrofílico. Porém, tal vitamina pode não ser capaz de inibir os radicais livres que propagam as reações de peroxidação lipídica em meios lipofílicos (BARBOSA *et al.*, 2010).

3 – OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Geral

Avaliar o efeito do suco de uvaia (*Eugenia uvalha* Cambess) sobre o perfil lipídico e o estresse oxidativo de ratas alimentadas com dieta hipercolesterolêmica.

3.2 – Objetivo Específico

- I. Avaliar os parâmetros biométricos e a composição centesimal do fruto da uvaia.
- II. Avaliar atividade antioxidante *in vitro* e o conteúdo de polifenóis totais do suco da uvaia.
- III. Avaliar os animais quanto ao peso corporal, peso dos órgãos, ingestão alimentar e excreção.
- IV. Acompanhar o nível de colesterol no modelo animal de hipercolesterolemia.
- V. Determinar o efeito do suco de uvaia sobre o perfil lipídico sérico dos animais
- VI. Avaliar a função hepática e renal dos animais;
- VII. Avaliar se o tratamento com o suco de uvaia melhora as atividades da enzima antioxidante paraoxonase
- VIII. Avaliar se o tratamento com o suco de uvaia promove redução de danos oxidativo as biomoléculas
- IX. Determinar o acúmulo de lipídios no fígado
- X. Avaliar a excreção de lipídios dos animais.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Medidas Biométricas dos Frutos

Os frutos da uvaia foram colhidos durante seu período de maturação, na região de Ouro Preto – MG. Dentre estes uma amostra foi selecionada através de uma amostragem aleatória simples, em seguida foram feitas medidas de peso do fruto inteiro, peso das sementes e peso da polpa separadamente.

4.2 - Composição Centesimal

Foram analisados os teores de umidade, proteína, cinza, fibra detergente neutro, lipídio total e carboidrato. Todos os itens analisados foram feitos em triplicata. As análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Escola de Nutrição na Universidade Federal de Ouro Preto.

4.2.1 – Umidade

Para determinação de umidade foi utilizado o método de secagem em estufa a 105°C, até peso constante, e em seguida as amostras foram esfriadas em dessecador e pesadas em balança de precisão (IAL, 2008).

4.2.2 - Proteína

O teor de nitrogênio total foi determinado segundo método semimicro de Kjeldahl, empregando o fator de correção de 6,25 para transformação deste em proteína, este método ocorre em três etapas consecutivas: digestão, destilação e titulação, cujo objetivo é liberar o nitrogênio da amostra. (AOAC, 2000),

4.2.3 – Resíduo Mineral Fixo

As amostras foram previamente carbonizadas em temperatura baixa na chama do bico de bunsen. O resíduo mineral fixo foi determinado por meio da calcinação das amostras em mufla com temperatura entre 550 a 600°C por aproximadamente 6 horas, em seguida as

amostras foram resfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e depois pesadas (IAL, 2008).

4.2.4 – Lipídios Totais

Os lipídios totais foram extraídos com solvente éter de petróleo sobaquecimento, em extrator de Soxhlet, por aproximadamente 6 horas, conforme descrito pelo IAL (2008).

4.2.5 – Fibra Detergente Neutro

Para quantificação das fibras alimentares utilizou-se o método de determinação de fibra em detergente neutro em aparelho digestor para fibra Tecnal/TE-149. Este método consiste em um processo rápido para a determinação de fibra em alimentos. A fibra em detergente neutro (FDN) é constituída por celulose, hemicelulose e lignina (SOUZA *et al.*, 1999).

4.2.6 – Carboidratos Totais

O teor de carboidratos foi calculado pela diferença percentual da soma dos teores de proteínas, lipídios totais, umidade, cinzas e fibras (ANVISA, 2003).

4.3 - Suco da Uvaia

Os frutos inteiros foram previamente higienizados utilizando solução clorada a 200 ppm de hipoclorito de sódio por 10 minutos, em seguida o suco foi filtrado, através da compressão destes em uma gaze limpa. Para se obter o rendimento do suco, o volume do liquido extraído foi medido em proveta e o restante do fruto foi pesado e descartado. O suco foi armazenado a -80°C para posterior utilização.

4.4 - Conteúdo de Polifenóis Totais do Suco da Uvaia

O conteúdo de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu como descrito por Georgé *et al.* (2005). Neste método o reagente de Folin-Ciocalteu, que é uma mistura dos ácidos fosfotungstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), se reduz ao

oxidar os compostos fenólicos, produzindo óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e molibidênio (Mo_8O_{23}) de cor azul que absorvem no comprimento de onda de 760nm. Inicialmente 100 μ L do suco de uvaia foram diluídos em 9,9 ml de água destilada. Em tubos de ensaio, 2,5 ml do reagente de Folin diluído em água destilada (1:10) foi adicionado a 500 μ L da amostra diluída ou solução padrão de ácido gálico em diferentes concentrações (5, 10, 15, 20 e 25 mg/L) para obtenção da curva de calibração. Para o branco foi utilizado água destilada. Após 2 minutos em temperatura ambiente, adicionaram-se 2 mL de solução de carbonato de sódio (7,5%) e misturou-se. Após incubação por 15 minutos a 50 °C a mistura foi colocada em banho de gelo.

As absorbâncias relativas ao branco foram determinadas a 760nm. Todas as análises foram realizadas em triplicatas. Foi construído um gráfico utilizando os valores de absorbância versus a concentração de ácido gálico. Após análise de regressão linear a obtenção da equação da reta, os valores de absorbância da amostra foram utilizados para o cálculo da concentração de polifenóis. O conteúdo foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100g de suco de uvaia.

4.5 - Capacidade Antioxidante *in vitro* (DPPH)

A capacidade antioxidante do suco da uvaia foi determinada de acordo com o método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Este método baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) em solução de metanol. A redução do DPPH por antioxidantes presentes na amostra é seguida pela redução da absorbância a 515nm.

As análises foram realizadas adicionando-se em tubos de ensaio, 3,9 ml de solução de DPPH 60 μ M, dissolvidos em metanol 80% e 100 μ L do suco de uvaia em diferentes concentrações (1; 2; 5 e 10 mL/mL), ou o mesmo volume para as soluções padrões, e água destilada (controle). A mistura foi homogeneizada e mantida na ausência de luz por 30

minutos em temperatura ambiente. A absorvância foi determinada e o metanol 80% utilizado como branco.

Como antioxidante de referência foi utilizado o Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em diferentes concentrações (100, 300, 500 e 700 µM) em metanol 80%. A capacidade antioxidante do suco de uvaia e do antioxidante padrão Trolox foram determinadas em quatro concentrações diferentes e expressas em percentual de inibição do radical DPPH. O percentual de inibição foi determinado de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH} = (A_{\text{controle } 515} - A_{\text{amostra } 515} / A_{\text{controle } 515}) \times 100$$

Onde:

- $A_{\text{controle } 515}$ é a absorvância da solução de DPPH sem presença de antioxidantes a 515nm (controle).
- $A_{\text{amostra } 515}$ é a absorvância da amostra obtida a 515nm.

4.6 – Animais

Foram utilizadas 32 ratos da linhagem *Fisher*, fêmeas, com aproximadamente 50 dias de idade e peso médio de 120g, adquiridas no Laboratório de Nutrição Experimental (LABNEX) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, e estas foram dispostas em ambiente com luz, temperatura e umidade controladas e receberam água e alimento *ad libitum*. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFOP (Protocolo nº 2013/32) (ANEXO I).

4.7 – Dietas

Os animais foram alimentados com dieta AIN-93M (4% de óleo de soja) (REEVES, NIELSEN *et al.* 1993) ou dieta hipercolesterolêmica (25% de óleo de soja e 2% de colesterol) (MATOS *et al.*, 2005) conforme descrito na Tabela 1. As dietas foram produzidas no LABNEX, embaladas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas a -20°C

durante todo o experimento. Além da dieta os animais recebiam 2 ml/dia de água ou suco de uvaia por via oral (gavagem) do 14º dia do experimento até 70º dia.

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais (g/1000g de dieta)

Componentes	Dietas	
	Dieta AIN-93M	Hipercolesterolêmica
Colina	2,5	2,5
Cisteína	1,8	1,8
Colesterol	0	20
Mist. Vitaminas ¹	10	10
Mist. Minerais ²	35	35
Celulose	50	50
Sacarose	100	100
Caseína	140	140
Óleo de Soja	40	250
Amido de Milho	620,7	390,7
Valor Calórico Total (kcal)	3810	4820

¹ - **Mistura de Minerais** (expresso em g/kg da mistura): NaCl - 74/KI - 0,01/Citrato Tripotássico - 28/CaCO₃ - 357/MnCO₃ - 0,63/Citrato de Ferro - 6,06/ MgO - 24/ K₂SO₄ -46,6/ KH₂PO₄ - 250 / ZnCO₃ - 1,65/CuCO₃ - 0,3/Na₂SeO₄ - 0,01/(NH₄)₆MoO₂₄ . 4 H₂O - 0,00795. Os sais foram adquiridos do Reagen, Rio de Janeiro, Brasil.

² - **Mistura de Vitaminas** (expresso em g/kg da mistura): Niacina - 3/ Pantotenato de Cálcio - 1,6/Piridoxina HCl - 0,7/Tiamina HCl - 0,6/Riboflavina - 0,6/Ácido Fólico - 0,2/Biotina - 0,02/Cianocobalamina - 2,5/Vitamina E (500 IU/g) - 15/Vitamina A (500.000 IU/g) - 0,8/Vitamina D (400.000 IU/g) - 0,25/Vitamina K - 0,075/Sacarose q.s.p. 1Kg. As vitaminas foram adquiridas da Merk, Darmstadt, Alemanha.

4.8 – Delineamento Experimental

4.8.1 – Período de Adaptação às Dietas

Os animais foram divididos em 2 grupos com 16 animais cada, de acordo com o tratamento recebido, grupo controle (C), recebeu dieta AIN-93M padrão, hipercolesterolêmico (H), recebeu dieta hipercolesterolêmica (25% de óleo de soja e 2% de colesterol). Nos primeiros 14 dias de experimento os animais passaram por um período de adaptação às dietas e no final deste período 5 animais de cada grupo foram selecionados aleatoriamente, estes foram anestesiados e uma amostra de sangue foi retirada por punção do plexo venoso retro ocular para determinação do CT por kit comercial.

4.8.2 – Experimento

Após as duas semanas de adaptação os animais foram redistribuídos em 4 grupos com 8 animais cada, o grupo controle (C) que recebeu dieta AIN-93M, controle uvaia (CUv) que recebeu dieta AIN-93M padrão + 2 ml de suco de uvaia, o grupo hipercolesterolêmico (H) que recebeu dieta hipercolesterolêmica e o grupo hipercolesterolêmico uvaia (HUv), recebeu dieta hipercolesterolêmica + 2 ml de suco de uvaia. Os grupos CUv e HUv passaram a receber o suco de uvaia por mais oito semanas através de gavagem. O CT foi novamente estimado no 28º em 5 animais selecionados aleatoriamente dos grupos C e H através do mesmo procedimento descrito para o 14º dia. O suco de uvaia foi administrado todos os dias de 9 às 11 horas.

Todos os animais foram pesados semanalmente durante todo o período experimental e a medida de ingestão alimentar também foi determinada. No final do experimento os animais foram deixados de 8 a 12 horas de jejum, foram anestesiados com isofurano e eutanasiados por exsanguinação. O sangue e os órgãos (fígado, rins, baço, gordura abdominal gordura mesentérica e coração) foram recolhidos e armazenados a - 80°C para posteriores análises.

4.9 – Obtenção do Soro e do Plasma

O sangue foi coletado através do plexo braquial, posteriormente este foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos para obtenção do soro. Para se obter o plasma foram adicionadas previamente aos tubos 15 µL de anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Ambos soro e plasma foram armazenados a -80°C.

4.10– Análises Bioquímicas

As dosagens bioquímicas – Colesterol total (CT), triglicérides (TG), colesterol-HDL, creatinina, uréia, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), Fosfatase alcalina A (FA), glicose, proteínas totais (PT) e albumina - foram realizadas utilizando-se kits comerciais Labtest Diagnóstica S.A. As dosagens de paraoxonase (PON) e sulfidrilas de

acordo com por Beltowski *et al.*, (2002) e Sedlak; Lindsay (1968) respectivamente.

4.10.1 – Colesterol Total

O CT foi determinado a partir do seguinte princípio: Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pelo colesterol oxidase a colest-4-en-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4-aminoantipirina são oxidados formando a antipirilquinonimina que tem absorvidade máxima em 500 nm. A intensidade da cor vermelha formada por esta reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

4.10.2 - Colesterol-HDL

As VLDL e as LDL são quantitativamente precipitadas, após centrifugação, o colesterol ligado às HDL é determinado no sobrenadante seguindo o mesmo princípio descrito acima para o CT.

A concentração do colesterol não-HDL (colesterol VLDL e LDL) foi calculada a partir da diferença entre o CT e o colesterol HDL e expressa em mmol/L.

4.10.3 – Triglicérides

Os TG são determinados de acordo com o princípio de que a lipoproteína lípase promove a hidrólise dos TG liberando glicerol, que é convertido, pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença da glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 2-clorofenol, catalisada pela peroxidase, produzindo uma quinoneimina que tem máximo de absorbância em 505 nm. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração de TG na amostra.

4.10.4 – Creatinina

A creatinana e outros componentes da amostra de soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente. A adição de um acidificante abaixa o pH 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogênios, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina.

4.10.5 – Uréia

A uréia é hidrolisada pela urease a íons amônia e CO₂. Os íons amônia reagem em pH alcalino com salicilato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio, para formar azul de indofenol. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de uréia na amostra.

4.10.6 - Alanina Aminotrasferase

A ALT catalisa especificamente a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e piruvato, este é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD. A redução da absorvância em 340 ou 365 nm, monitorizada espectrofotometricamente, é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra.

4.10.7 - Aspartato Aminotrasferase

A AST catalisa a transferência de grupos amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e oxalacetato, este é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD. A redução da absorvância em 340 nm, conseqüente à oxidação da coenzima NADH, é monitorada fotometricamente, sendo proporcional à atividade da AST na amostra de soro.

4.10.8 – Fosfatase Alcalina

A FA do soro, em pH alcalino, hidrolisa o p-nitrofenilfosfato, liberando p-nitrofenol e fosfato inorgânico. A quantidade de p-nitrofenol produzida tem elevada absorvância em 405 nm e é diretamente proporcional à atividade da FA na amostra.

4.10.9 - Proteínas Totais

Os íons cobre (Cu^{2+}) em meio alcalino (Reagente de Biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando uma cor púrpura, que tem absorvância máxima em 545 nm, proporcional à concentração das proteínas na amostra.

4.10.10 – Albumina

A albumina tem a propriedade de se ligar a uma grande variedade de ânios orgânicos e moléculas complexas de corantes. O sistema que determina a quantidade de albumina no soro se baseia no desvio do pico de absorvidade máxima do corante verde de bromocresol, quando este se liga a albumina formando uma coloração verde. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de albumina na amostra.

4.10.11 – Sulfidrilas

Os radicais sulfidrilas representam todos os grupos tióis encontrados em proteínas como albumina e compostos de baixo peso molecular, como a glutatona. Quando o estresse oxidativo está elevado, estes grupos podem ser oxidados. A determinação dos grupos sulfidrilas totais foi realizado usando o reagente de Ellman (DNTB) conforme proposto por Sedlak; Lindsay (1968). Os grupos tióis reagem com DNTB formando um complexo que absorve luz a 412nm.

Para cada amostra, forão adicionados 800 μL de metanol, 150 μL de Tris-HCl, pH 8,2, 50 μL de DTNB e 40 μL de amostra (ou da série de padrões ara obtenção da curva). As mesmas foram centrifugadas a 13000 rpm durante 15 minutos à temperatura ambiente. As

absorbâncias das amostras foram determinadas a 412nm e a 25°C. Nesta dosagem foram feitos dois brancos, o branco 1 que contém todos os reagentes exceto a amostra e o branco 2 que não contém a amostra e o DTNB. O branco 2 é utilizado para acertar o espectrofotômetro. E as absorbâncias obtidas de todas as amostras são diminuídas da absorbância obtida para o branco 1. Finalmente uma curva de calibração padrão foi obtida nas seguintes concentrações de cisteína: 0; 50; 100; 250; 500; 1000. Após uma análise de regressão linear da curva padrão, foi obtida a equação da reta (Concentração = a X Absorbância + b) que foi utilizada para determinar a concentração de sulfidrilas totais no soro.

4.10.12 – Paraoxonase – Atividade Arilesterase

A atividade arilesterase da enzima PON, é determinada usando o fenilacetato como substrato, tendo como base a velocidade de hidrólise do fenilacetato, conforme descrito por Eckerson *et al.*, (1983) para humanos e Beltowski *et al.*, (2002) em ratos.

Para o procedimento da dosagem foi adicionado em tubo de ensaio, 2 mL de tampão Tris-HCl, 9mM; pH 8,0 contendo 0,9 mmol/L de cloreto de cálcio e 5µL de amostra. O conteúdo do tubo foi misturado no vórtex, incubado em banho-maria durante dois minutos, posteriormente foi adicionado 500 µL da solução Tris - fenilacetato (1µL de fenilacetato para cada 1500µL de Tris-HCl 9mM; pH 8,0). Após 3 minutos, a absorbância foi lida a 270nm. O espectrofotômetro foi zerado com o branco que continha todos os reagentes acima, exceto a amostra.

Segundo Beltowski *et al.*, (2002), 1U de PON é equivalente à hidrólise de 1mmol de fenilacetato ($\epsilon = 1310 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) por minuto (usualmente a atividade desta enzima é representada por 1mL de soro). Assim, a atividade arilesterase da enzima é calculada pela seguinte fórmula:

$$U/mL = \frac{\text{Absorbância}}{\epsilon \times b} \times \frac{1000}{\text{Tempo} \times \text{Volume de soro}}$$

Onde: ϵ – Coeficiente de extinção molar; b – Caminho óptico, igual a 10 mm.

4.10.13 - Paraoxonase – Atividade Paraoxonase

A atividade paraoxonase da enzima PON, é determinada usando o paraoxon como substrato, tendo como base a velocidade de hidrólise deste, com a liberação do paranitrofenol por minuto, conforme descrito por Eckerson *et al.*, (1983) para humanos e Beltowski *et al.*, (2002) em ratos.

Resumidamente, foi preparado uma solução contendo 9 mL de tampão glicina/NaOH a 50mM; pH 10,5 contendo CaCl₂ a 0,9mM e 2μL de paraoxon. Posteriormente, em um tubo de polipropileno foi adicionado 780μL dessa solução e 20μL da amostra. A solução foi homogeneizada e as absorbâncias das amostras lidas no espectrofotômetro a 412nm, a cada minuto, por 3 vezes. O branco (tubo com 780μL da solução preparada inicialmente e 20μL de água) foi utilizado para acertar o aparelho.

Segundo Beltowski *et al.*, (2002) 1U da enzima PON é equivalente à hidrólise de 1mmol de paraoxon ($\epsilon = 18290 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) por minuto (usualmente a atividade dessa enzima é representada em unidade por mL de soro). A atividade paraoxonase da enzima PON é calculada pela seguinte fórmula:

$$U/mL = \frac{\text{Absorbância}}{\epsilon \times b} \times \frac{1000}{\text{Tempo} \times \text{Volume de soro}}$$

*A absorbância utilizada nessa expressão obtida através da seguinte fórmula: (Absorbância final – Absorbância inicial / 2).

4.11 – Dosagens de Biomarcadores do Estresse Oxidativo no Soro

4.11.1 – Peroxidação Lipídica

A peroxidação lipídica foi determinada através do ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), pelo método de Buege; Aust (1978). Baseado na capacidade do ácido tiobarbitúrico (TBA) em se ligar a lipídios oxidados.

Primeiramente 125 μL de soro foram diluídos em 125 μL de água destilada, em seguida foi misturada com ácido tricloroacético (TCA) (28 % p/v em HCL 0,25 N), TBA (1% de ácido acético 0,25 N) e butil-hidroxi-tolueno (BHT) (125 mM em etanol). Esta mistura foi levada ao vórtex e posteriormente aquecida por 15 minutos a 95 °C, em seguida colocada no banho de gelo por 5 minutos. Este tubo então foi centrifugado a 10000 rpm por 15 minutos a 4 °C e a absorbância determinada a 535 nm, água destilada foi utilizada como branco.

Os níveis de TBARS foram determinados seguindo a lei de Lambert Beer utilizando o coeficiente de extinção molar do MDA (malondialdeído) ($154000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A concentração foi expressa em nmol/ml de soro.

4.11.2 – Proteína Carbonilada

Os níveis de proteínas carboniladas no soro foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Levine *et al.*, (1994). A oxidação de proteína por EROs leva à formação de derivados carbonilados. Estes podem ser mensurados por métodos sensíveis, particularmente aqueles que utilizam a 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH). A DNPH reage com grupos carbonílicos gerando a hidrazona correspondente, a qual pode ser analisada espectrofotometricamente.

Para cada amostra foram utilizados dois tubos de polipropileno, um denominado de Branco(B) e outro de Teste (T). Resumidamente, 125 μL de amostra diluída em 125 μL de água destilada foi transferida para os tubo B e para o tubo T. Em seguida, foram adicionados aos dois tubos 250 μL de ácido tricloroacético (TCA) 10 %, os tubos foram misturados em vórtex e centrifugados a 5000g por 10 minutos a 4°C, o sobrenadante foi descartado.

Em seguida, foram adicionados ao tubo T, 250 μL de DNPH e ao tubo B 250 μL de HCL a 2 M. Ambos foram incubados à temperatura ambiente por 30 minutos e a cada 15 minutos misturados no vórtex, sendo que os tubos T foram incubados no escuro. Na etapa seguinte foram adicionado 250 μL de TCA 10% em cada tubo, estes foram misturados no

vórtex e centrifugados a 5000g por 10 minutos a 4°C. Depois de centrifugados, os sobrenadantes foram descartados. Em seguida, os tubos B e T foram lavados 2 vezes com 500 µL da mistura etanol / acetato de etila, a cada lavagem os tubos foram passados no vórtex e centrifugados a 5000g a 4°C. Ao final das repetições, o sobrenadante dos tubos B e T foram novamente descartados e em ambos foram adicionados 500 µL de dodecilssulfato de sódio (SDS) 6%, estes foram misturados no vórtex e centrifugados a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. Finalmente o sobrenadante dos tubos foram retirados e lidos no espectrofotômetro a 370 nm. O tubo B é utilizado para zerar o aparelho.

A concentração de proteína carbonilada será determinada utilizando a equação seguinte:

$$\text{Proteína Carbonilada (nmol/ mL)} = \frac{At}{0,022 \mu\text{M}^{-1}} \times \frac{500 \mu\text{L}}{200 \mu\text{L}}$$

Onde At é absorvância do tubo T após o aparelho ser zerado com o tubo B. A concentração de proteína carbonilada foi expressa em nmol/ml de soro.

4.12 – Determinação de Gordura no Fígado

A determinação da gordura no fígado foi realizada segundo método descrito por Folch *et al.* (1957). Inicialmente, 400 mg de tecido foram homogeneizados com 8 mL de clorofórmio/metanol (2:1) e posteriormente misturados em vórtex e centrifugados por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio seco, pesado e identificado. A esta solução foram acrescentados 2 mL de solução aquosa de NaCl a 0,73% e em seguida foi agitada em vórtex e novamente centrifugada por 10 minutos. A fase superior foi descartada e as paredes internas dos tubos lavadas com 1 mL de solução de Folch - clorofórmio/metanol/água/ NaCl 0,2% (3: 48: 47: 2) - este procedimento foi repetido por 3 vezes. Após cada lavagem a fase superior foi descartada. Os tubos foram secos em estufa semi-aberta a 60° C, esfriados em dessecador e em seguida pesados. Os lipídios foram

quantificados pela diferença de peso entre o tubo contendo os lipídios e o mesmo tubo vazio, previamente pesado.

4.13 – Determinação da Gordura nas Fezes

A determinação da gordura nas fezes foi realizada segundo método descrito por Folch *et al.* (1957). Inicialmente, 200 mg das amostras foram homogeneizadas com 3,8 mL de clorofórmio/metanol (2:1) e misturadas em vórtex. À mistura foram adicionados 0,8 mL de metanol e posteriormente realizada a centrifugação por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio seco, pesado e identificado. A esta solução foram acrescentados mais 1,6 mL de clorofórmio e 1,28 mL de solução aquosa de NaCl a 0,73% e esta foi agitada em vórtex e novamente centrifugada por 10 minutos. A fase superior foi descartada e as paredes internas dos tubos lavadas com 0,3 mL de solução de Folch - clorofórmio/metanol/água/ NaCl 0,2% (3: 48: 47: 2) - este procedimento foi repetido por 3 vezes. Após cada lavagem a fase superior foi descartada. Os tubos foram secos em estufa semi-aberta a 40° C, esfriados em dessecador e em seguida pesados. Os lipídios foram quantificados pela diferença de peso entre o tubo contendo os lipídios e o mesmo tubo vazio, previamente pesado.

4.14 – Análise Estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, dados do colesterol no 14° e no 28° dia foram expressos em média \pm desvio padrão e foram submetidos ao teste-t de Student. Para as demais análises foi utilizada a análise de variância bivariada (ANOVA *two way*) seguido pelo pós-teste de Tukey, estes foram expressos em média \pm desvio padrão. Para os dados que não seguiram uma distribuição normal, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunns foram utilizados e estes foram expressos em mediana e intervalo interquartil. Foi utilizado o software GraphPad Prism

versão 5.00 para Windows (San Diego, California, USA). As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

5 – RESULTADOS

5.1 – Biometria dos Frutos e Rendimento do Suco da Uvaia

O peso médio dos frutos inteiros, da polpa mais a casca e da semente foram aferidos em 28 frutos, os resultados foram expressos em média e desvio padrão (Tabela 2). A polpa e a casca representaram aproximadamente 85% do total do fruto e as sementes 15%. O rendimento do suco da uvaia foi de 65,5 %.

Tabela 2 - Peso médio em gramas dos frutos da uvaia colhidos na região de Ouro Preto – MG, inteiro, polpa mais casca e semente.

Uvaia	Peso (g)
Fruto inteiro	26,1 ± 6,0
Polpa + Casca	22,0 ± 4,5
Semente *	3,8 ± 1,9

* Cada fruto pode conter de uma a quatro sementes.
Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

5.2 - Composição Centesimal do Fruto da Uvaia

A composição centesimal do fruto da uvaia esta representada na Tabela 3. Para umidade o valor encontrado foi de 91,5%, em base seca, proteínas 1,11%, teor de cinzas 0,22%, conteúdo de lipídios de 0,57%, FDN 2,84%. E o conteúdo em carboidratos obtido por diferença foi de 3,76%.

Tabela 3 - Composição Centesimal em 100g do fruto da uvaia

Nutriente	Composição Centesimal (g/100g)
Umidade	91,5
Resíduo Mineral Fixo	0,22
Proteína*	1,11
Fibra Detergente Neutro	2,84
Lipídio	0,57
Carboidrato**	3,76

As análises foram feitas em triplicata. Os dados são apresentados como a média destas análises.

*Fator de conversão do nitrogênio em proteína: 6,25.

** Carboidratos = 100- (% umidade + % proteína + % de lipídios + % cinzas + % fibras).

5.3 – Conteúdo de Polifenóis Totais do Suco da Uvaia

O conteúdo de polifenóis totais da uvaia foi determinado e o resultado encontrado foi de $135,1 \pm 9,74$ mg de equivalentes de ácido gálico/100g do suco de uvaia.

5.4 - Capacidade Antioxidante *in vitro* (DPPH)

A habilidade da amostra em reduzir a absorbância é proporcional a sua capacidade de neutralizar radicais livres. Os resultados apresentados no Gráfico 1 mostram que o suco de uvaia apresentou alta capacidade de inibição do radical DPPH.

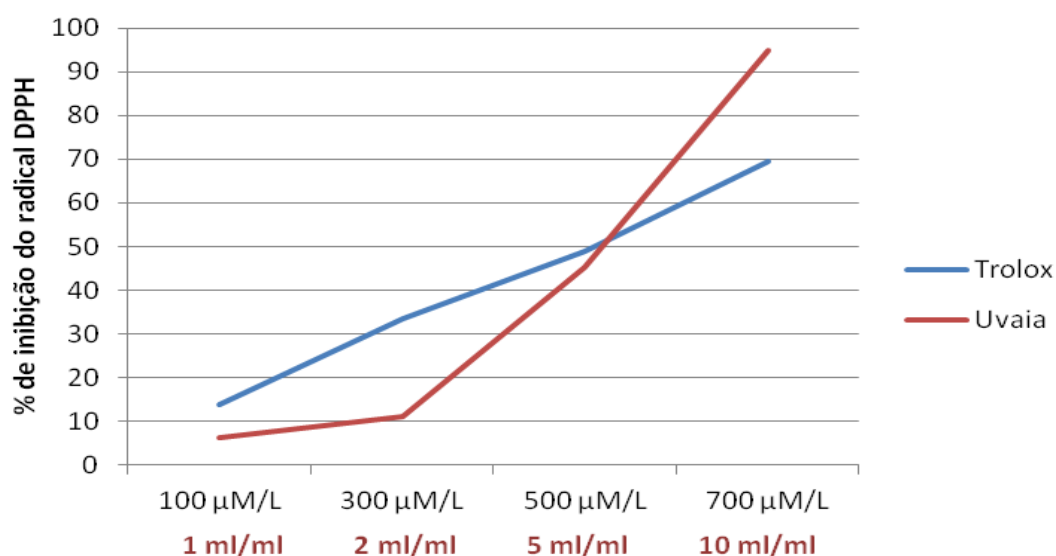


Gráfico 1 - Percentual de inibição do radical DPPH, por diferentes concentrações do suco de uvaia e do antioxidante padrão Trolox após 30 minutos.

5.5 – Dosagem de Colesterol no 14º e 28º dia

Os resultados da dosagem de colesterol representados na Tabela 4 mostram que a dieta hipercolesterolêmica foi eficiente em aumentar o CT sérico no 14º e 28º dia.

Tabela 4 – Colesterol total no 14º e 28º dia dos animais alimentados com dieta controle e dieta hipercolesterolêmica.

Grupos	Colesterol Total (mmol/l)	
	14º dia	28º dia
Controle	$3,74 \pm 0,19$	$2,97 \pm 0,44$
Hipercolesterolêmico	$5,23 \pm 0,55$ *	$7,50 \pm 2,14$ *

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão.

*Teste t Student's, $p < 0,05$ em relação ao grupo C.

5.6 – Peso Inicial, Peso Final, Ganho de Peso, Ingestão Alimentar e Excreção Fecal dos Animais Experimentais.

Com relação ao peso corporal os resultados da Tabela 5 mostram que no início e no final do experimento, os animais de todos os grupos experimentais não apresentaram diferença nas médias de peso. O ganho de peso total também não se diferenciou entre os grupos.

No entanto a dieta hipercolesterolêmica alterou a ingestão alimentar, diminuindo nos grupos HU e HUv e a excreção fecal que aumentou também nestes grupos.

Tabela 5 – Peso corporal inicial e final, ganho de peso total, ingestão alimentar e excreção fecal dos grupos experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
PI (g)	122,10 ± 10,11	123,77 ± 10,73	124,29 ± 10,53	119,77 ± 15,46	0,83	0,73	0,46
PF (g)	190,40 ± 12,23	193,45 ± 6,24	196,92 ± 16,59	203,03 ± 18,75	0,23	0,61	0,48
GP(g)	72,30 ± 5,47	69,68 ± 8,67	72,64 ± 9,43	83,25 ± 15,20	0,06	0,28	0,08
IA (g)	75,13 ± 6,32	72,10 ± 5,00	58,53 ± 5,55	59,43 ± 7,61	< 0,01	0,62	0,36
EF (g)	3,88 ± 0,56	4,19 ± 0,44	5,23 ± 0,78	5,32 ± 1,00	< 0,01	0,43	0,68

PI: Peso inicial; PF: Peso final; GP: Ganho de peso; IA: Ingestão alimentar; EF: excreção fecal; ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando (P < 0,05).

5.7 – Peso dos Órgãos e Gorduras

Em relação ao peso dos órgãos a Tabela 6 mostra que a dieta hipercolesterolêmica demonstrou ter efeito sobre do baço. A média de peso do baço foi maior nos grupos que receberam dieta hipercolesterolêmica.

Quanto a quantidade das gorduras e o peso dos demais órgãos, não houve diferença nas médias de peso dos os grupos experimentais.

Tabela 6 - Peso total dos órgãos e porcentagem das gorduras abdominal e mesentérica dos grupos de animais experimentais (n = 8).

Órgãos	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
Coração (g)	0,65 ± 0,05	0,63 ± 0,03	0,66 ± 0,04	0,65 ± 0,05	0,42	0,48	0,75
Rins (g)	1,18 ± 0,06	1,18 ± 0,07	1,21 ± 0,08	1,26 ± 0,10	0,08	0,40	0,39
GA* (%)	0,86 (0,82-0,96)	0,70 (0,65-0,74)	0,83 (0,54-1,01)	0,77 (0,60-1,03)	-	-	-
GM* (%)	0,85 (0,74-1,03)	0,87 (0,84-0,89)	0,69 (0,64-0,99)	0,75 (0,68-1,17)	-	-	-
Baço (g)	0,37 ± 0,07	0,36 ± 0,02	0,39 ± 0,03	0,41 ± 0,05	0,04	0,69	0,30

GA: Gordura abdominal; GM: Gordura Mesentérica; ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando $p < 0,05$.

*Dados submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; valores diferentes são marcados com letras diferentes sobrescritas.

5.8 - Perfil Lipídico Sérico

Conforme observado na Tabela 7, os dados demonstram que houve efeito da dieta nos níveis séricos de CT, colesterol não-HDL, e HDL. Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmicas tiveram um aumento significativo do CT e do colesterol não-HDL e uma diminuição do HDL quando comparados ao grupo controle. Foi encontrado também um efeito do suco de uvaia no CT e no não-HDL, esses parâmetros foram diminuídos no grupos tratados com o suco.

Quanto ao TG sérico, foi observada uma interação entre a dieta e o suco e uvaia. Uma redução significativa foi encontrada nos animais controles suplementados com suco de uvaia quando comparado ao grupo C. Os grupos H e HUv também obtiveram valores significativamente menores do que o grupo controle.

Tabela 7 - Concentrações séricas do CT, colesterol não-HDL, colesterol HDL e TG de grupos de animais experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
CT (mmol/l)	2,59 ± 0,32	2,45 ± 0,30	7,72 ± 2,01	6,02 ± 0,98	<0,01	0,02	0,06
HDL (mmol/l)	2,09 ± 0,15	1,96 ± 0,20	0,25 ± 0,08	0,33 ± 0,13	<0,01	0,71	0,07
Não- HDL (mmol/l)*	0,50 ± 0,09	0,49 ± 0,27	7,47 ± 1,87	5,69 ± 0,98	<0,01	0,04	0,10
TG (mmol/l)	0,67 ± 0,12 ^a	0,49 ± 0,10 ^b	0,44 ± 0,13 ^b	0,42 ± 0,11 ^b	0,02	<0,01	0,04

CT: Colesterol total; TG: Triglicérides; ANOVA: Análise de variância.

*Não-HDL: VLDL + LDL.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando (P <0,05).

Letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística significativa na mesma linha.

5.9 - Peso do Fígado, Concentração Sérica de Proteínas Totais e Albumina e Atividade da ALT, AST e FA.

Na Tabela 8 estão representados o peso do fígado, valores séricos de proteínas totais, albumina e atividade de AST, ALT e FA dos animais experimentais. Os dados mostram que a atividade de ALT aumentou significativamente no grupo H em relação aos grupos controles, no entanto observa-se que no grupo HUv houve uma diminuição nesta atividade chegando a níveis intermediários semelhantes aos controles.

Os valores encontrados para AST demonstram que houve uma interação entre a dieta e o tratamento com o suco de uvaia. Sendo que valores de AST foram maiores no grupo H quando comparado aos demais grupos. E uma diminuição desta atividade foi encontrada no grupo hipercolesterolêmico que recebeu a suplementação com o suco de uvaia.

A dieta hipercolesterolêmica atuou na atividade da enzima FA, esta aumentou nos grupos H e HUv. Foi ainda encontrado um efeito do suco de uvaia na atividade desta enzima, sendo que esta diminuiu nos grupos CUv e HUv.

Analisando os resultados encontrados para proteínas totais e peso do fígado, observa-se que houve um efeito da dieta nesses parâmetros, sendo que os níveis destes encontraram-se

significativamente aumentados nos grupos H e HUv em relação aos controles. Quanto ao teor de albumina, não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais.

Tabela 8 – Peso do Fígado e Concentração sérica de proteínas totais e albumina, atividade da ALT, AST e FA dos grupos experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
Fígado (g)	5,94 ± 0,60	5,78 ± 0,41	7,52 ± 0,81	8,09 ± 0,59	<0,01	0,35	0,10
ALT* (U/mL)	12,46 (11,65-12,71) ^b	10,70 (9,95-11,89) ^b	23,02 (20,16-25,51) ^a	13,25 (12,66-18,37) ^{ab}	-	-	-
AST (U/mL)	34,47 ± 3,86 ^b	29,84 ± 5,27 ^b	60,60 ± 16,69 ^a	37,32 ± 3,74 ^b	<0,01	<0,01	<0,01
FA (U/L)	38,50 ± 5,41	25,73 ± 4,18	74,39 ± 11,70	57,37 ± 11,32	<0,01	<0,01	0,51
PT (g/l)	70,00 ± 8,19	65,74 ± 3,21	132,50 ± 15,86	120,49 ± 18,98	<0,01	0,10	0,43
AS* (µmol/l)	516,11 ± 98,83	457,07 ± 29,83	433,79 ± 40,84	486,55 ± 62,68	-	-	-

ALT: Alanina-aminotransferase; AST: Aspartato-aminotrasferase; FA: Fosfatase AlcalinaA; PT: Proteínas totais; AS: Albumina sérica; ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando (P <0,05).

*Dados submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; valores diferentes são marcados com letras diferentes sobrescritas (P <0,05).

5.10 - Concentração Sérica de Creatinina e Uréia.

Foi encontrada uma interação entre a dieta e a suplementação com o suco de uvaia para as concentrações de creatinina (Tabela 9). Sendo que no grupo que recebeu somente dieta hipercolesterolêmica (H) a concentração de creatinina foi significativamente maior do que nos grupos C e CUv. Uma diminuição nos níveis de creatinina foi observado no grupo HUv quando comparado ao grupo H, demonstrando um efeito do suco de uvaia neste parâmetro.

Os níveis de uréia foram influenciados tanto pela dieta quanto pela suplementação com a uvaia. Ambos influenciaram diminuindo as concentrações séricas deste parâmetro.

Tabela 9 - Concentração sérica de creatinina e uréia de grupos de animais experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
Creatinina (µmol/l)	94,47 ± 3,61 ^b	94,30 ± 6,54 ^b	124,37 ± 17,46 ^a	101,85 ± 9,94 ^b	<0,01	0,01	0,01
Uréia (mmol/l)	3,74 ± 0,44	3,52 ± 0,38	3,20 ± 0,45	2,75 ± 0,42	<0,01	0,03	0,44

ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando (P <0,05).

Letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística significativa na mesma linha.

5.11 - Atividade Arilesterásica e Paraoxonase da Enzima Paraoxonase.

Resultados encontrados para atividade arilesterásica da enzima PON demonstram que não houve diferença entre o grupo H e o grupo C. Porém houve uma diminuição significativa no grupo HUv quando comparado aos grupos controles. Não foi encontrada diferença entre os grupos H e HUv.

Os valores encontrados para atividade paraoxonase da PON demonstram que houve uma interação entre a dieta e o tratamento com o suco de uvaia. Sendo que o valor de PON foi menor no grupo H quando comparado aos grupos controles, e o grupo HUv apresentou resultado intermediário, semelhante ao do grupo CUv. (Tabela 10).

Tabela 10 - Atividade arilesterásica e paraoxonase da enzima paraoxonase no soro de grupos dos animais experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
PON – arilesterase* (U/mL)	38,70(32,21-41,26) ^{ab}	37,18(35,42-43,82) ^a	25,65(23,05-27,48) ^{bc}	21,22(19,20-24,05) ^c	-	-	-
PON – paroxon (U/mL)	0,12 ± 0,02 ^a	0,11 ± 0,02 ^{ab}	0,05 ± 0,00 ^c	0,08 ± 0,03 ^{bc}	<0,01	0,49	0,01

ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando (P <0,05).

*Dados submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; valores diferentes são marcados com letras diferentes sobrescritas (P <0,05).

5.12 - Concentração Sérica de Sulfidrilas Totais, TBARS e Proteína Carbonilada.

Como marcadores do estresse oxidativo, o nível sérico de sulfidrilas totais, de proteína carbonilada e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS foram avaliados no soro dos animais (Tabela 11).

Os resultados encontrados mostram que as concentrações de sulfidrilas totais e de proteína carbonilada tiveram influência da dieta, os grupos que receberam dieta hipercolesterolêmica tiveram maiores níveis desses marcadores. Já na concentração de TBARS foi observada uma influência da suplementação com a uvaia, os grupos que receberam o fruto obtiveram menores valores do que os que não receberam.

Tabela 11 - Concentração sérica de sulfidrilas totais, TBARS e proteína carbonilada de grupos de animais experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
ST ($\mu\text{mol/L}$)	427,95 \pm 30,24	428,06 \pm 40,56	457,11 \pm 45,80	506,6 \pm 74,34	0,01	0,20	0,20
TBAR (nmol/ml)	5,70 \pm 0,94	5,15 \pm 0,47	5,70 \pm 1,07	5,09 \pm 0,47	0,91	0,04	0,92
PC (nmol/ml)	129,05 \pm 26,19	149,09 \pm 25,41	154,06 \pm 13,53	154,84 \pm 19,80	0,04	0,17	0,20

ST: Sulfidrilas Totais; PC: Proteína Carbonilada; ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando ($P < 0,05$).

Letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística significativa na mesma linha.

5.13 - Teores de Lipídios Hepático e Fecal

Foi observada interação entre a dieta e o suco de uvaia tanto na quantidade de lipídios hepático quanto fecal. No que se refere à gordura hepática observa-se que houve um aumento no grupo H quando comparado aos grupos C e CUv, e uma diminuição no grupo HUv quando comparado ao grupo H.

Quanto à gordura fecal, foi observada diferença significativa entre os grupos, sendo que os grupo H e HUv obtiveram maiores teores quando comparados aos grupos C e CUv (Tabela 12)

Tabela 12 – Teor de gordura hepática e fecal dos animais experimentais (n = 8).

	Grupos Experimentais				ANOVA p valor		
	C	CUv	H	HUv	Dieta	Uvaia	Dieta x Uvaia
GF (g/100g)	1,94 ± 0,62 ^b	2,68 ± 0,88 ^b	26,75 ± 2,42 ^a	24,82 ± 1,85 ^a	<0,01	0,04	0,01
GH (g/100g)	4,25 ± 1,09 ^c	4,62 ± 1,12 ^c	19,40 ± 3,49 ^a	14,92 ± 3,88 ^b	<0,01	0,29	0,02

GF: Gordura Fecal; GH: Gordura Hepática; ANOVA: Análise de variância.

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

Os dados foram analisados por ANOVA Two-way; Interações foram significativas quando (P <0,05).

Letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística significativa na mesma linha.

6- DISCUSSÃO

A qualidade dos frutos é atribuída ao seu tamanho, forma, cor e maturação. Esses fatores oferecem aos frutos e aos produtos deles obtidos a qualidade sensorial e nutricional, responsável pela sua aceitação pelo consumidor (SCALON *et al.*, 2004). A cor característica da uvaia quando madura é amarelo ouro.

Na maioria das espécies, variações de peso dos frutos são encontradas devido ao fato de que estes são oriundos de diferentes plantas-mãe (VILLACHICA *et al.*, 1996). Dados de média de peso da uvaia foram avaliados por Azevedo *et al.*, (2009) que encontraram para os frutos da uvaia maduros um peso médio de 17,75 gramas, valor menor do que o encontrado neste trabalho (26,1 gramas). Ressalta-se que não foram encontrados na literatura até o momento, dados de peso da polpa e da semente desse fruto.

O conhecimento da composição de alimentos consumidos nas diferentes regiões do Brasil é um elemento básico para ações de orientação nutricional e diversificação da alimentação, em contraposição à massificação de uma dieta monótona e desequilibrada (TACO, 2006).

A maioria dos frutos possui um conteúdo de água entre 80-95% (SCALON *et al.*, 2004). Em nosso estudo verificamos um teor de umidade dentro do esperado (91,5%).

Além disso, a uvaia possui 1,11% de proteína, 0,22% de cinzas, 0,57 % de lipídios, 2,84% de FDN e um conteúdo de carboidratos de 3,76%. Valores de composição centesimal da uvaia encontrados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP) foram semelhantes aos encontrados neste estudo quanto ao teor de proteína (1,56%) e fibras (2,04%). Já os valores encontrados para lipídios totais (2,04%), cinzas (0,44%) e carboidratos (10,43%) foram maiores do que o encontrado por nosso estudo. O valor observado para umidade (85,53%) foi um pouco menor do que o encontrado por nosso trabalho, esse dado pode justificar a

diferença nos teores dos outros compostos. Contudo Donadio (1996) e Pereira *et al.* (2012) encontraram em seus estudos valores de umidade de 90,7% e 94,5% respectivamente, valores estes próximos ao encontrado por nosso estudo. A variedade na composição centesimal pode ser explicada devido à mudança de solo, clima, tempo de maturação e tipo de cultivo desses frutos.

O conteúdo de polifenóis totais da uvaia encontrado foi de $135,1 \pm 9,74$ mg de ácido gálico/100 ml do suco de uvaia. Valor semelhante foi encontrados por Rufino *et al.* (2010), 127 ± 3.3 mg GAE /100g de fruto. No entanto esse valor foi superior aos encontrados por Miyazama (2009) e por Haminiuk *et al.* (2011), que encontraram teor de 79,94 mg GAE/100 g de fruto e $37,34 \pm 1,41$ mg/100ml de polpa respectivamente e menor do que o encontrado por Ramiriz *et al.* (2009) que observaram um teor de compostos fenólicos totais na uvaia da região de Pelotas, RS de 815,5 mg de ácido gálico/100 g.

As variações observadas na composição centesimal e na concentração polifenóis podem ser explicadas devido a fatores climáticos, ao tempo de maturação e ao tipo de cultivo e processamento deste fruto. Desta forma essas diferenças dificultam a comparação entre os estudos.

O conteúdo de compostos fenólicos está intimamente ligado à capacidade antioxidante das frutas. Além destes, os carotenoides, o ácido ascórbico, os flavonídes, entre outros compostos também estão relacionados a esta atividade.

A atividade antioxidante do suco de uvaia foi determinada através da capacidade do suco em inibir do radical DPPH. Nosso resultado mostra que a uvaia apresentou alta capacidade de antioxidante.

Esse dado corrobora com o de diversos trabalhos encontrados na literatura que mostram a alta capacidade antioxidante da uvaia. Dentre estes Haminiuk *et al.* (2011), demonstram que a uvaia obteve um percentual de inibição de 71,08%, maior que diversos

frutos nativos como por exemplo, o araçá, a grumixama, o cambuci, a gabioba e o feijoa. Miyazama (2009), também observou uma elevada capacidade antioxidante do fruto da uvaia, (656,29 μmol de Trolox/100 mL de polpa). No entanto, em alguns estudos foram observadas uma menor atividade deste em relação a outros frutos como, por exemplo, a goiaba amarela e a jaboticaba. (HAMINIUK *et al.* 2011; PEREIRA *et al.*, 2012).

Porém, no geral, a uvaia pode ser considerada um fruto de alta capacidade antioxidante, isso pode ser explicado devido ao conteúdo de compostos bioativos presente neste fruto, a uvaia além de um teor substancial de compostos fenólicos apresenta ainda altos níveis de flavonoides, carotenoides totais e ácido ascórbico (MAIOCHI, 2008; MIYAZAMA 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2010; RUFINO *et al.*, 2010; HAMINIUK *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012).

Portanto, tendo por base que a uvaia é uma importante fonte de compostos bioativos. Observou-se a importância de um estudo *in vivo* com este fruto nativo brasileiro, já que a avaliação *in vitro* não considera alguns fatores importantes como, por exemplo, a biodisponibilidade destes compostos, a retenção destes pelos tecidos e a atividade celular (HUANG *et al.*, 2005).

A hipercolesterolemia é uma patologia decorrente da alteração do metabolismo lipídico, caracterizada pela elevação dos níveis séricos de CT, associado ao aumento da LDL e dos TG, além da redução nas concentrações de HDL. Essas alterações podem ou não estar associadas. O controle desta patologia pode ser atingido por meio de cuidados dietéticos associados a mudanças no estilo de vida.

O modelo animal de hipercolesterolêmica vem sendo utilizado por diversos autores para estudar os efeitos dos alimentos em diversas situações (TURBINO-RIBEIRO *et al.*, 2002; HARAGUCHI *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2010; SCHWERTZ *et al.*, 2012; BRAVO *et al.*, 2014).

O modelo utilizado em nosso trabalho se mostrou eficiente em promover a hipercolesterolemia nos animais, o colesterol sérico dos animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica foi maior tanto no 14º dia, quanto no 28º, sendo que no ultimo o colesterol foi aproximadamente 2,5 vezes maior no grupo que recebeu a dieta hipercolesterolêmica do que no grupo controle.

Os animais de todos os grupos experimentais não apresentaram diferença nas médias de peso inicial e final. O ganho de peso total também não se diferenciou entre os grupos. No entanto a dieta hipercolesterolêmica alterou a ingestão alimentar e a excreção, sendo que a ingestão diminuiu nos grupos HU e HUv e a excreção aumentou nestes grupos. Resultados semelhantes foram encontrados por Cherem e Bramosrki (2008) e Souza *et al.* (2010), utilizando dietas com adição de 1% de colesterol, onde estes não observaram diferença no ganho de peso entre os animais controles e hipercolesterolêmicos. No entanto Turbino-Ribeiro *et al.* (2002) e Haraguchi *et al.* (2009) também utilizando dieta com 1% de colesterol, encontraram um ganho de peso significativo nos animais hipercolesterolêmicos comparados aos controles.

Quanto a ingestão, resultados de Haraguchi *et al.* (2009) corroboram com os nossos, onde os grupos que receberam a dieta rica em gordura ingeriram menos dieta do que o grupo controle. Contudo Souza *et al.* (2010), observou um consumo semelhante entre o grupo controle e hipercolesterolêmico e Turbino-Ribeiro *et al.* (2002) encontrou um maior consumo de dieta hipercolesterolêmica (1% de colesterol) quando comparada ao controle.

Esse comportamento é comum em ratos, onde a ingestão alimentar é ajustada ao requerimento energético, ou seja, proporcional à densidade energética da dieta. Dietas hipercolesterolêmicas caracterizam-se pelo alto teor de gordura, tornando-as altamente mais energéticas. (BAKER *et al.*, 1979). O menor consumo entre os animais que receberam dieta

hipercolesterolêmica pode explicar a manutenção do peso nesses grupos, apesar do consumo de uma dieta mais calórica.

A excreção fecal aumentou nos grupos que consumiram a dieta hiperlipídica (H e HUv). Turbino-Ribeiro *et al.* (2002) e Lecumberri *et al.* (2007) também demonstraram em seu estudo uma maior excreção do grupo que recebeu dieta hipercolesterolêmica em relação ao controle. No entanto Souza *et al.* (2010); Souza *et al.* (2012), não observaram diferença na quantidade de excreção fecal entre os grupo controles e hipercolesterolêmico (1% de colesterol), em estudos com duração de 8 semanas.

Os efeitos observados em nosso estudo sugerem que o aumento na excreção fecal pode ter sido influenciado pelo conteúdo em gordura da dieta. Um consumo excessivo de gorduras pode fazer com que essas não sejam totalmente absorvidas e permaneçam no intestino grosso podendo causar maior excreção fecal.

As divergências encontradas entre os estudos no ganho de peso, ingestão e excreção podem se explicadas devido às diferenças na composição da dieta, na duração do estudo e na idade dos animais.

A dieta hipercolesterolêmica demonstrou ter efeito sobre o peso do baço, sendo que o peso deste foi maior nos grupos que receberam esta dieta. Quanto ao peso das gorduras e dos demais órgãos, não houve diferença nas médias de peso dos os grupos experimentais. Dados de peso do baço encontrados por Gonçalves (2007) corroboram com os do nosso estudo onde no grupo hipercolesterolêmico observou-se um maior peso desse órgão em relação ao controle. No entanto Silva (2009) avaliando dieta com adição de 1% de colesterol, não encontrou diferença significativa entre esses grupos no que se refere ao peso do baço, essa diferença pode ter ocorrido devido a quantidade de colesterol na dieta, que foi inferior a do nosso estudo.

Sabe-se que o baço é um órgão linfóide. O aumento do peso deste órgão nos animais hipercolesterolêmicos pode estar ligado a essa função. O aumento do CT pode levar a um quadro de inflamação, como a que ocorre, por exemplo, no desenvolvimento da arterosclerose, o fato do baço ser um órgão produtor de células do sistema linfático, pode ter levado a uma esplenomegalia em resposta a um aumento da produção dessas células.

Quanto ao peso dos rins e do coração, Yokogoshi *et al.* (1999), Woo *et al.* (2008), Muccillo-Baisch *et al.* (2009) e Kim *et al.* (2010) também não encontraram diferença significativa no peso desses órgãos entre o grupo controle e o grupo que recebeu dieta rica em colesterol. Com relação ao peso das gorduras, redução significativa da gordura abdominal entre os grupos foi encontrada por Paula *et al.* (2009) e Silva (2009) em ratos alimentados com 1% de colesterol, resultados estes que se diferenciam dos encontrados neste estudo, essa diferença pode ser explicada devido a quantidade de colesterol na dieta que foi menor do que a utilizada pelo presente estudo. E no que se refere a gordura mesentérica não há ainda dados na literatura de peso desta gordura em animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

Os dados do perfil lipídico demonstram que a dieta foi eficiente em tornar os animais hipercolesterolêmicos. Isso se comprova na medida em que houve um aumento significativo nos níveis séricos de colesterol total e colesterol não-HDL, aliada a uma redução do colesterol HDL nos animais que receberam dieta hipercolesterolêmica, observou-se ainda que a suplementação com o suco da uvaia foi capaz de diminuir significativamente o CT e o não-HDL.

Quanto ao TG sérico, observou-se a presença de uma interação entre a dieta e o tratamento. Uma redução significativa foi encontrada nos animais controles suplementados com suco de uvaia quando comparado ao grupo C. Os animais que receberam dieta hipercolesterolêmica também apresentaram menores concentrações comparados ao controle.

Trabalhando com dieta similar para indução da hipercolesterolemia porém com adição 1% de colesterol, diversos autores observaram resultados semelhantes ao presente estudo quanto ao perfil lipídico dos animais. Turbino-Ribeiro *et al.* (2002), Paula *et al.* (2009), Haraguchi *et al.* (2009), Souza *et al.* (2010) e Souza *et al.* (2012) encontraram um aumento do CT e do colesterol não-HDL e uma diminuição do HDL e dos TG.

Outros resultados são encontrados em diferentes tipos de dietas hipercolesterolêmicas. Bravo *et al.* (2014) induziu a hipercolesterolemia adicionando á dieta 2% de colesterol e 0,4% de ácido cólico e encontraram um aumento do CT, do LDL e do VLDL, porém observaram um aumento do TG.

Afonso *et al.* (2013) utilizando uma dieta com 0,5 % de colesterol e 0,25% de ácido cólico encontrou um aumento do CT e do não-HDL e dos TG, além de uma diminuição no HDL. Ambos os estudos se diferenciam do nosso quanto os níveis de TG que aumentam nos animais hipercolesterolêmicos.

Essa diferença na concentração sérica dos TG nos animais pode ser explicada devido a composição das dietas, a maioria das dietas que encontram um aumento dos TG apresentam em sua composição ácido cólico e este possui a propriedade de aumentar a absorção do colesterol e inibir a conversão destes em ácidos biliares, favorecendo o acúmulo de lipídios no fígado e conseqüentemente, o acúmulo de TG.

Sobre o efeito hipocolesterolemiantes da uvaia destaca-se que não existem ainda trabalhos com esse tipo de modelo animal e suplementação com este fruto na literatura. Porém existem trabalhos com outros frutos da mesma família.

O camu-camu (*Myrciaria dubia*), também pertencente à família *Mirtaceae*, apresenta alto teor de ácido ascórbico, semelhante à uvaia. Trabalhando com este fruto Schwertz *et al.* (2012) encontraram efeito semelhante ao presente estudo, onde um efeito modulador do perfil

lipídico em ratos dislipidêmicos foi observado através da redução do CT, dos TG e do LDL, aliada a um aumento do HDL.

Rai *et al.* (2010) acrescentaram extratos de cascas de frutos da goiaba (*Psidium guajava*), também pertencente a família da uvaia, à dieta de ratos com hiperlipidemia induzida pela dieta e também observaram uma redução significativa dos níveis de TG e de LDL assim como o aumento da HDL.

Sankhari *et al.*, (2012), utilizando suplementação com extrato da sementes de *Eugenia jambolana*, mais conhecida por jamelão, em ratos com hipercolesterolemia induzida pela dieta, observaram efeitos hipocolesterolêmicos deste extrato, onde houve uma diminuição do CT, do LDL e dos TG e um aumento do HDL.

Araujo (2011) relatou uma atividade hipolipidêmica da farinha da casca de *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba) em animais alimentados com 7% de banha de porco, os autores observaram uma diminuição nos níveis de CT e TG além de um aumento da taxa de HDL.

Castro (2012) observou um efeito positivo no tratamento com extrato de acerola em animais hipercolesterolêmicos (dieta com 1% de colesterol e 0,3% de ácido fólico), onde nos animais que receberam o extrato os níveis de CT diminuíram e os de HDL aumentaram significativamente.

Em geral, a presença de algumas substâncias específicas como o β -caroteno, quercetina, luteína assim como de outros compostos bioativos, tornam os frutos importantes alvos de pesquisas relacionadas a diversas doenças. Um exemplo é a quercetina que já demonstrou ter efeito nas dislipidemias (SCHWERTZ *et al.* 2012). Além disso, diversos mecanismos são atribuídos aos compostos fenólicos, demonstrando sua ação na modulação do perfil lipídico de animais (REHRAH *et al.*, 2007).

Portanto o efeito hipolipidêmico encontrado com a suplementação da uvaia pode ser explicado, pelo fato deste fruto possuir diversos desses compostos bioativos capazes de proteger o organismo contra os danos causados pelas as dislipidemias.

Alterações na atividade das enzimas ALT, AST e FA são importantes marcadores de lesão tecidual em diversos órgãos, porém mais especificamente no fígado. O desenvolvimento de alterações hepáticas e biliares como, por exemplo, colestases e hepatites podem levar um aumento dessas enzimas na corrente sanguínea. Dietas ricas em lipídios podem causar diversas dessas alterações.

Como era esperado, a dieta hipercolesterolêmica ocasionou um dano hepático substancial, levando a uma lesão hepática, caracterizada por hepatomegalia e aumento da atividade das enzimas AST, ALT e FA. A atividade de ALT aumentou significativamente no grupo H em relação aos grupos C e CUv e os valores de AST também foram maiores no grupo H quando comparado aos demais grupos. A concentração de FA foi maior também no grupo H. Quanto ao peso do fígado um aumento de aproximadamente 33 % foi observado nos grupos que receberam a dieta hipercolesterolêmica em relação aos grupos controles.

Observou-se ainda que a suplementação com o suco de uvaia não provocou alteração no peso do fígado, porém não permitiu que os níveis de ALT e AST se elevassem no grupo HUv, e a FA além de não aumentar no grupo HUv também diminuiu no grupo CUv.

Resultados semelhantes foram observados por Matos *et al.* (2005) e Souza *et al.* (2010) que encontraram nos animais dos grupos que receberam dieta hipercolesterolêmica contendo 1% de colesterol um aumento significativo de AST, ALT, FA e peso do fígado . Contudo Paula *et al.* (2009) observou que em ratos alimentados a mesma dieta, a atividade das enzimas ALT e AST não foram diferentes do grupo controle, resultado este diferente do encontrado pelo nosso estudo. Porém quanto à atividade da FA, o resultado encontrado corrobora com o presente estudo.

Park *et al.* (2009) encontrou um significativo aumento na atividade da AST e no peso do fígado quando os animais se alimentaram de uma dieta contendo 1% de colesterol e 0,5% de ácido cólico e Osman *et al.* (2011) utilizando dieta com 1% de colesterol e 0,25% de ácido cólico, observaram a aumento na atividades das enzimas ALT e AST.

Contrastando com o nosso trabalho Melo *et al.* (2007) não encontraram diferença nas atividades de ALT e AST entre o grupo controle e o grupo hipercolesterolêmico (1% de colesterol e 10% de gordura vegetal hidrogenada). Porém quando estes animais se alimentaram de dieta com 1% de colesterol e 10% de banha de porco a atividade da ALT aumentou significativamente.

Dados de atividade de ALT e AST observados por Ramadan (2012) corroboram com os encontrados em nosso trabalho, ele mostra que ratos alimentados com uma dieta com 1% de colesterol apresentaram um aumento significativo na atividade dessas enzimas. Além disso o autor encontrou uma diminuição na atividade destas enzimas quando era adicionado a dieta o bagaço de *Physalis peruviana*, (Camapum). Efeito semelhante ao encontrado para uvaia em nosso estudo.

Souza *et al.* (2010) encontraram efeito do açaí na atividade de ALT e FA no grupo controle tratado. Este efeito foi encontrado também no presente estudo no que se refere à FA. Quanto ao peso do fígado não foi encontrado efeito do açaí, assim como também não foi encontrado da uvaia.

Castro (2012) utilizando dieta com 1% de colesterol e 0,3% de ácido cólico, não observou alteração na atividade das enzimas AST, ALT e FA, porém o autor encontrou um aumento significativo na atividade destas enzimas quando os animais foram tratados com extrato de acerola, diferente do que aconteceu com o tratamento com a uvaia, onde as atividades das enzimas diminuíram.

Dados envolvendo o efeito da uvaia na atividade de ALT, AST e FA não foram encontrados na literatura.

Dietas hiperlipídicas e ricas em colesterol promovem um aumento no estresse oxidativo no fígado, resultando em um aumento na atividade dessas enzimas e uma hepatomegalia significativa como o que foi observado no nosso estudo (FUKATSU, 2001). Os diferentes resultados encontrados pelos diversos autores citados pode ter ocorrido por vários motivos sendo que um desses pode ser a diferença na composição das dietas estudadas.

Quanto aos resultados encontrados para proteínas totais, observa-se que houve um efeito da dieta nesse parâmetro, sendo que os níveis destas encontraram-se aumentados nos grupos H e HUv. Já em relação à concentração sérica de albumina, não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais. Sendo assim, o aumento observado nas proteínas totais se deve a um maior teor de globulinas.

Paula *et al.* 2009 também não observaram diferença entre os grupos quanto os níveis de albumina. Porém ao contrario de nosso estudo encontraram uma diminuição na concentração sérica de proteínas totais nos grupos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (1% de colesterol).

Resultados encontrados Ramadan (2012) corroboram com os nosso, quanto a concentração de proteínas totais, onde os animais hipercolesterolêmicos obtiveram maiores concentrações destas. No entanto, diferente do que foi observado no presente estudo, este autor observou um aumento na albumina sérica. Ramadan (2012) observou ainda, que a adição do bagaço de *Physalis peruviana* provocou uma diminuição das PT e da albumina nos animais. Resultado diferente do encontrado para uvaia, já que esta não apresentou efeito sobre os teores desses parâmetros bioquímicos.

As globulinas séricas são sintetizadas principalmente no fígado, elas são responsáveis pelo transporte de diversos componentes no sangue, sendo um deles, os lipídios. Além disso,

alterações nos níveis de proteínas totais já foram observadas em hepatopatias. Sendo assim é justificável um aumento das proteínas totais nos animais com hipercolesterolêmia.

Dados na literatura demonstram relação entre uma dieta hiperlipídica e o desenvolvimento de alterações na função renal.

Os Parâmetros de função renal mostraram que a concentração de creatinina foi significativamente maior no grupo que recebeu dieta hipercolesterolêmica e um efeito da uvaia também foi observado.

Os níveis de uréia foram influenciados tanto pela dieta quanto pela suplementação com a uvaia. Ambos influenciaram diminuindo as concentrações séricas deste parâmetro.

Haraguchi *et al.* (2009) encontraram resultado semelhante, onde observaram um aumento nos níveis de creatinina em ratos hipercolesterolêmicos (1% de colesterol e 25% de óleo de soja) quando comparados aos controles. No entanto Paula *et al.* (2009) utilizando dieta semelhante não encontram diferença entre os grupos quanto a concentração de ureia, diferente do nosso estudo.

Melo *et al.* (2007) e Alam *et al.* (2011) diferente do nosso estudo, não encontraram diferença na concentração de creatinina entre o grupo hipercolesterolêmico e o controle e também não observaram efeito da erva mate (*Ilex paraguariensis*), planta fonte de flavonoides e vitaminas, nesse parâmetro, divergindo do que foi observado para a uvaia.

Valor semelhante ao presente trabalho, no que se refere à concentração de ureia foi observado por Ramadan (2012), este autor encontrou uma diminuição nas concentrações séricas deste parâmetro nos animais que receberam dieta hiperlipídica. Além disso um efeito da *Physalis peruviana* na diminuição deste parâmetro também foi observado, efeito este que se assemelha ao que foi encontrado com a suplementação de uvaia.

Abdel-Rahim *et al.* (2013) avaliaram o efeito da semente e da casca de romã nas concentrações de creatinina e ureia de ratos hipercolesterolêmicos induzidos por dieta

contendo 20% de gordura , 2 % de colesterol e 0,25% de sais biliares e encontraram resultado semelhante ao presente estudo para a creatinina, onde os ratos hipercolesterolêmicos tiveram um aumento nos níveis desse parâmetro. Além disso, tanto a semente quanto a casca da romã tiveram efeito redutor significativo semelhante ao encontrado para a uvaia. Quanto aos teores de ureia os resultados encontrados por estes autores não corroboram com os nossos, já que nesse estudo o grupo que recebeu a dieta rica em colesterol apresentou maior concentração de ureia em relação ao controle. Contudo a semente e a casca de romã, assim como a uvaia demonstraram ter efeito, diminuindo este parâmetro nos grupos tratados (ABDEL-RAHIM *et al.* 2013).

A elevação da creatinina no sangue é mais tardia do que a de ureia, de modo que esta exibe, portanto maior valor prognóstico, além disso, os valores de creatinina no sangue são mais sensíveis do que as de uréia tendo, portanto sua concentração afetada pela dieta e pelo estado de nutrição e hidratação, podendo então justificar a diminuição desta última no grupo hipercolesterolêmico. Observou-se que o suco de uvaia foi capaz de impedir o aumento nos níveis de creatinina e uréia de forma significativa, sugerindo, portanto um efeito protetor do comprometimento gerado pela dieta rica em colesterol na função renal.

A família paraoxonase tem sido objeto de grande interesse por prevenir o estresse oxidativo e o processo inflamatório. Este mecanismo de prevenção se dá devido associação entre a PON e o HDL, protegendo a LDL de modificações oxidativas. Este mecanismo explica a habilidade da HDL em reduzir a acumulação dos produtos da peroxidação lipídica, além de proteger o organismo contra o acúmulo de LDL. (MACKNESS *et al.*, 1991; DEAKIN; JAMES, 2004; GUERRA *et al.*, 2009)

Resultados encontrados para atividade arilesterásica da enzima PON demonstram que não houve diferença entre o grupo H e o grupo C e entre os grupo H e HUv.

O valor encontrado para atividade paraoxonase foi menor no grupo H quando comparado aos grupos controles, e o grupo HUv apresentou resultado intermediário, semelhante ao do grupo CUv. Demonstrando efeito positivo do suco da uvaia na atividade desta enzima. A atividade paraoxonase é considerada mais sensível a fatores externos, como por exemplo, a dieta. Esse pode ser o motivo pelo qual tanto a dieta hipercolesterolêmica quanto a uvaia demonstraram ter efeito somente nesta atividade.

Esses dados corroboram com os encontrados por El-Beshbishy *et al.* (2006) (dieta com 2% de colesterol e 25% de óleo de coco) e Al-Rejaie *et al.* (2013) (1% de colesterol e 0,5% de ácido cólico). Segundo os autores, animais alimentados com dietas ricas em gorduras e colesterol apresentam uma diminuição tanto da atividade arilesterase como da atividade paraoxonase, além da redução da expressão gênica desta enzima.

Porém, Garjani *et al.* (2009), não entraram diferença significativa na atividade desta enzima no soro de ratos alimentados com 2% de colesterol, 0,25% de ácido cólico e 15% de banha de porco, quando comparado ao grupo controle.

Estudos relacionando o consumo de uvaia e a atividade desta enzima ainda não foram encontrados na literatura. Porém existem alguns estudos relacionando outros tipos de frutos como, por exemplo, o trabalho de Souza *et al.* (2010), onde os pesquisadores avaliando o efeito do açaí em ratas hipercolesterolêmicas (1% de colesterol e 25% de óleo de soja), encontraram efeito na atividade paraoxonase da enzima PON, aumentando a atividade desta, assim como foi encontrado em nosso estudo para uvaia.

Autores observaram possíveis efeitos de alguns compostos na atividade da PON como, por exemplo, o ácido gálico, composto presente em quantidades significantes na uvaia. Este composto demonstra ter capacidade de modular a atividade desta enzima. Neste sentido considerando a uvaia como fonte de compostos fenólicos e em relação ao seu conteúdo de compostos bioativos no geral, essa pode ser uma possível explicação para o efeito positivo

encontrado para uvaia no presente estudo em relação à atividade paraoxonase da enzima PON.

Carbonilação de proteínas e peroxidação lipídica são normalmente utilizados como um biomarcadores de danos causados em condições de estresse. Além desses marcadores as sulfidrilas também podem indicar quando há um aumento de radicas livres no organismo, devido ao fato desses compostos estarem susceptíveis a modificações pela ação desses radicais, podendo ser oxidados.

Em nosso estudo foi encontrado efeito da dieta hipercolesterolêmica nas concentrações séricas de proteína carbonilada e sulfidrilas totais, aumentando a concentração sérica destas. Porém nos níveis de TBARS foi observado apenas um efeito da adição do suco de uvaia, onde os grupos que receberam a suplementação tiveram menores níveis de TBARS no soro. Resultado semelhante quanto aos níveis séricos de TBARS, foram encontrados por Park *et al.* (2009), onde animais alimentados com uma dieta contendo 1% de colesterol e 0,5% de ácido cólico também não apresentaram diferença significativa quando comparado ao grupo controle.

Ao contrario do que foi encontrado por nosso estudo, Afonso *et al.* (2013) e Mohan-Kumari *et al.* (2011) encontraram um aumento na concentração sérica de TBARS, em ratos alimentados com 0,5% de colesterol e 0,25% de ácido cólico e 1% de colesterol e 0,15% de ácidos biliares respectivamente.

Anila *et al.* (2003) observou em seu estudo que uma adição de 2% de colesterol na dieta aumentou os níveis de TBARS no fígado, coração e rins dos animais experimentais. Essa diferença encontrada entre os estudos pode ser justificada devido ao contraste na composição das dietas experimentais.

Ramirez *et al.* (2011), adicionou extrato de uvaia, em duas concentrações diferentes (1,0 e 0,5 g/kg de peso), na água de animais alimentados com dieta normal e não encontraram

alteração significativa na concentração de TBARS plasmático desses animais, resultado este diferente do encontrado no presente estudo, já que as concentrações de TBARS diminuíram no grupo controle quando receberam o suco de uvaia. Isso pode ter ocorrido devido a algumas diferenças que existem entre os estudos como, por exemplo, o tempo de duração, o sexo dos animais e tipo de administração da uvaia.

O efeito da dieta no TBARS pode não ter sido encontrado pelo fato de que este marcador no soro é muito inespecífico. E o efeito encontrado, quando a uvaia foi adicionada pode ser justificada pela composição química desta fruta, que possui diversos compostos capazes de diminuir o estresse oxidativo causado pela dieta rica em colesterol.

Quanto à concentração de proteína carbonilada e sulfidrilas totais, resultados semelhantes são encontrados na literatura em animais alimentados com dietas hiperlipídicas e com alta quantidade de colesterol.

Resultados encontrados por Miranda (2011) corroboram com o nosso estudo quanto à concentração de proteína carbonilada, onde maiores teores foram encontrados no fígado dos animais dos grupos que receberam dietas hipercolesterolêmicas.

Porém diferente do encontrado no nosso estudo Haraguchi *et al.* (2009) não observou diferença entre os grupo hipercolesterolêmico (1% de colesterol) e o controle quanto a concentração de sulfidrilas totais e Souza *et al.* (2010) encontrou uma menor concentração de sulfidrilas totais nos grupos que receberam dieta com 1% de colesterol comparado ao grupo controle.

Souza *et al.* (2010) e Bravo *et al.* (2014) não encontraram aumento de proteínas carboniladas no soro de ratos alimentados com dieta contendo 1% de colesterol e 25% de óleo de soja e 2% de colesterol e 0,4% de colato de sódio respectivamente, ao contrário do observado no presente trabalho.

Esses resultados contrastantes podem ser justificados por diversos motivos, sendo que alguns deles podem ser a quantidade de colesterol administrado, a diferença nos componentes da dieta, a diferença no procedimento da dosagem, diferença no tempo de duração do experimento, entre outras.

As proteínas carboniladas são utilizadas como marcadores bioquímicos para detectar a modificação oxidativa de resíduos de aminoácidos em proteínas (BEAL, 2002). Uma possível justificativa para o aumento desse marcador é o aumento de EROs gerado pela hipercolesterolemia, fazendo com que maiores quantidades de derivados carbonílicos fossem detectados no soro dos animais.

O resultado encontrado para a concentração sérica de sulfidrilas não era o esperado, já que se sabe que as dietas hipercolesterolemicas desencadeiam uma condição de maior estresse oxidativo, com uma maior produção de radicais livres. Esses radicais por sua vez reagem com os grupos sulfidrilas e levam a formação de pontes dissulfeto, que conseqüentemente levam a uma redução na concentração destes grupos no soro. Este resultado inesperado pode ter ocorrido devido ao menor consumo de dieta hipercolesterolêmica pelos ratos.

No que se refere à gordura hepática observa-se que houve um aumento no grupo H quando comparado aos grupos C e CUv, e uma diminuição no grupo HUv quando comparado ao grupo H. Quanto à gordura fecal, foi observada diferença significativa entre os grupos, sendo que os grupo H e HUv obtiveram maiores teores de gordura comparados aos grupos C e CUv. O efeito observado de maior deposição de lipídios no fígado dos ratos com dieta hipercolesterolêmica tem sido observado também em outros estudos, envolvendo esse tipo de dieta.

Afonso *et al.* (2013); Park *et al.* (2009) e Rocha *et al.* (2012) observaram que a dieta hipercolesterolêmica enriquecida com colesterol e ácido cólico em diferentes concentrações

aumentaram o conteúdo total de lipídios hepático e levou a uma alteração da composição lipídica do fígado.

Assim como em nosso estudo Bravo *et al.* (2014), encontrou maior excreção de gordura em animais alimentados com 2% de colesterol e 0,4% de colato de sódio comparado aos controles. Lecumberri *et al.* (2007) observaram que animais tratados com 1% de colesterol e 0,2% de colato de sódio apresentaram maior concentração fecal de gordura quando comparados ao controle e Souza *et al.* (2012) também encontraram um aumento da excreção de gordura em animais que se alimentaram de uma dieta com 1% de colesterol e 25% óleo de soja.

No entanto Cheren *et al.* (2008), não encontrou diferença estatística na excreção fecal de gordura, entre o grupo controle e hipercolesterolêmico (12% de lipídios e 1% de colesterol). Isso pode ter ocorrido devido ao menor teor de lipídios da dieta comparado ao nosso estudo.

Sankhari *et al.* (2011) avaliando o efeito do extrato de repolho roxo nos parâmetros de ratos que se alimentaram de uma dieta aterogênica contendo 3% de colesterol e 0,5% de ácido cólico, encontraram assim como nosso estudo um maior teor de lipídios fecal e hepático, além disso eles observaram um efeito do extrato de repolho nesses parâmetros, onde a excreção fecal de gordura aumentou e a quantidade de lipídios do fígado diminuíram quando esses animais passaram a receber o extrato. Resultado semelhante foi encontrado para suplementação com a uvaia, porém somente nos conteúdos de gordura hepática, que também diminuíram com a adição do suco de uvaia.

Schwartz *et al.* (2012) avaliando o efeito hipolipidêmico de um fruto da mesma família da uvaia, o camu-camu, em animais que receberam dieta contendo 10% de banha suína, 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. Eles verificaram um aumento significativo nos lipídios fecais de animais que receberam o suco de camu-camu comparado ao que não receberam.

Eles observaram ainda que houve uma diminuição significativa no conteúdo de gordura no fígado de ratos que receberam este suco, resultado semelhante ao encontrado no nosso estudo para a suplementação com uvaia.

Ressalta-se que nenhum estudo envolvendo parâmetros de gordura nas fezes e no fígado de animais tratados com uvaia foi encontrado na literatura atual. Porém o efeito positivo encontrado para uvaia em relação aos lipídios hepáticos pode ser explicado devido ao conteúdo de compostos bioativos presente neste fruto. Estes compostos podem modular o metabolismo de lipídios diminuindo os efeitos deletérios no fígado causados por uma dieta rica em colesterol.

7 – CONCLUSÃO

Concluimos que o suco de uvaia apresenta alta atividade antioxidante *in vitro* e alto conteúdo de compostos fenólicos totais. Nossos resultados indicam também uma capacidade antioxidante *in vivo* da uvaia, já que a suplementação com o suco apresentou efeito sobre os níveis de TBARS em animais controles e hipercolesterolêmicos e sobre a concentração de PON, onde este suco foi capaz de impedir a diminuição desta enzima em animais que receberam dieta com adição de colesterol. Porém efeitos semelhantes não foram encontrados para proteína carbonilada e sulfidrilas totais.

A ingestão do suco de uvaia apresentou efeito modulador do perfil lipídico em ratas hipercolesterolêmicas. À medida que foi encontrado efeito positivo da suplementação deste no CT, colesterol não-HDL e TG. O suco de uvaia também se mostrou eficiente em suprimir o acúmulo de gordura no fígado.

Foi observado que o suco de uvaia impediu a ocorrência de alterações nos parâmetros indicadores das funções hepáticas e renais provocadas pela dieta hipercolesterolemia, uma vez que impediu o aumento da atividade das enzimas AST e FA e os níveis de creatinina e uréia de forma significativa.

Tais resultados são importantes já que esta foi a primeira vez que o efeito hipocolesterolemia da uvaia foi demonstrado. No entanto, outras análises ainda devem ser feitas para explicar como o suco de uvaia agiu no metabolismo provocando esses efeitos positivos.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAHIM, E. A.; EL-BELTAGI, H. S.; ROMELA, R. M. White Bean seeds and Pomegranate peel and fruit seeds as hypercholesterolemic and hypolipidemic agents in albino rats. **GyA**, v. 64, n. 1, p. 50-58, 2013.

AFONSO, M. S. et al. Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. **Nutr Metab**. v. 10, n. 19, 2013.

AL-REJAIE, S. S. et al. Protective effect of rutin on the antioxidant genes expression in hypercholesterolemic male Westar rat. **BMC Complement Altern Med**. v. 13, n. 1, p. 136, 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003**. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. 2003.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V. U. As frutas silvestres brasileiras: Uvaia. Rio de Janeiro: **Globo**, p. 198-200, 1988.

ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Embllica officinalis* in hypercholesterolemic rats. **Food Chem**. v. 83, n. 4, p. 569-574, 2003.

ANDRADE, R. N. B.; FERREIRA, A. G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Rer Bras de Sem**. Brasília. v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

ALAM, N. et al. Hypolipidemic activities of dietary *Pleurotus ostreatus* in hypercholesterolemic rats. **Mycobiology**. v. 39, n. 1, p. 45-51, 2011.

ALVES, A. R.; SHAO, A. The science behind lutein. **Toxicol. Lett**. v. 150, p. 57-83, 2004.

ARAÚJO, C. R. R. **Composição química, potencial antioxidante e hipolipidêmico da farinha da casca de *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba)**. 2013. 139f. (Mestrado em Química), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 17th edn, AOAC, Arlington, v. 2, 2000.

AVIRAM, M. et al. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. **J Clin Invest**. v. 101, p. 1581–1590, 1998.

AZEVEDO, K. P. et al. Caracterização física e enzimática em diferentes estádios de desenvolvimento da fruta de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess), cultivada no triângulo mineiro. **Anais do Seminário de iniciação científica- IFTM**. Campus Uberaba, MG, 2009.

- AZQUETA, A.; COLLINS, A. R. Carotenoids and DNA damage. **Mutat Res.** v. 733, n. 1, p. 4-13, 2012.
- BAKER, H. J.; LINDSEY, J. R.; WEISBROTH, S. H. The laboratory rat. Biology and diseases. **Academic Press.** v. 1, 1979.
- BARBOSA, K. B. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr.** v. 23, n. 4, p. 629-43, 2010.
- BEAL, M. F. Oxidatively modified proteins in aging and disease. **Free Radic. Biol. Med.** v. 32, n. 9, p. 797-803, 2002.
- BELTOWSKI, J.; WOJCICKA, G.; JAMROZ, A. Differential effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on plasma paraoxonase 1 activity in the rat. **Pol J Pharmacol.** v. 54, n. 6, p. 661-671, 2002.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr.** v. 12, n. 12, p. 123-30, 1999.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol.** v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRAVO, L. et al. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. **Fitoterapia.** v. 92, p. 219-229, 2014.
- BROUSSEAU, M. E.; HOEG J. M. Transgenic rabbits as models for atherosclerosis research. **J Lipid Res.** v. 40, p. 365–375, 1999.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Meth. Enzymol.** v. 52, p. 302-310, 1978.
- CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e as novas tendências terapêuticas. **Quim Nova.** São Paulo. v. 30, n. 2, p. 425-430, 2007.
- CARDOSO, S. M. G. et al. Hypercholesterolemia and production of free radicals: protect effects of dietary fibers. **Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.** v. 31, n. 2, p. 123-134, 2006.
- CASTRO, A. S. B. **Atividade farmacológica de extratos de abacate (*Persea americana MILLER*), acerola (*Malpighia emarginata DC*) e do flavonóide naringina no tratamento da dislipidemia.** 2012. 56f. (Mestrado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2012.
- CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Lippincott's illustrated reviews: biochemistry.** 2. ed. Philadelphia: Lippincott, 1994, 443 p.
- CHEREM, A. R.; BRAMOSRKI, A. Excreção de gordura fecal de ratos (*Rattus norvegicus*, Wistar), submetidos a dietas hiperlipídicas e hipercolesterolêmicas suplementadas com quitosana. **RBCF.** v. 44, n. 4, 2008.

- CHORILLI, M. et al. Estudo da estabilidade de lipossomas de fosfatidilcolina Compostos de soja e fosfatidilcolina de soja hidrogenada adicionados ou não de colesterol por método turbidimétrico. **Latin. American Journal of Pharmacy.** v. 26, n.1, p. 31-37, 2007.
- DALEY, S. J. et al. Cholesterol-fed and casein-fed rabbit models of atherosclerosis. Part 2: Differing morphological severity of atherogenesis despite matched plasma cholesterol levels. **Arterioscler. Thromb.** v. 14, p. 105–114, 1994.
- DANIEL, R. S. et al. Antioxidant effect of two flavonoids from the bark of *Ficus bengalensis* Linn in hyperlipidemic rats. **Indian J. Exp. Biol.** v. 36, n. 9, p. 902–906, 1998.
- DEAKIN, S. P.; JAMES, R. W. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. **Clin Sci.** v. 107, p. 435-447, 2004.
- DONADIO, L. Study of some Brazilian myrtaceae in Jaboticabal-SP. In:**International Symposium on Myrtaceae.** v. 452, p. 181-183, 1996.
- ECKARDSTEIN, A.V.; NOFER, J. R.; ASSMANN, G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 21, p. 13–27, 2001.
- ECKERSON, H. W.; WYTE, C. M.; LA DU, B. N. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. **Am. J. Hum. Genet.** v. 35, p. 1126-38, 1983.
- EL-BESHBISHY, H. A. et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. **Life Sciences,** v. 78, n. 23, p. 2724-2733, 2006.
- FUKATSU T. Alkaline Phosphatase. **Rinsho Byori** ; suppl v. 116, p. 27-35. 2001.
- FAN, J.; CHALLAH, M.; WATANABE, T. Transgenic rabbit models for biomedical research: current status, basic methods, and future perspectives. **Pathol Int.** v. 49, p. 583–594, 1999.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: Conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOAN-STANLEY, G. H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J Biol Chem.** v. 226, p. 497-509, 1957.
- GARJANI, A. et al. The effect of total extract of *Securigera securidaca* L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. **J Ethnopharmacol.** v. 126, n. 3, p. 525-532, 2009.
- GENEST, J. Lipoprotein disorders and cardiovascular risk. **J. Inherit. Metab. Dis.** v.26, p. 267–287, 2003.

GEORGÉ, S. et al. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **J. Agric. Food Chem.** v. 53, n. 5, p. 1370–1373, 2005.

GONÇALVES, A. C. **Avaliação nutricional, defesas antioxidantes e perfil de lipídeos séricos em ratos treinados submetidas à dieta hipercolesterolêmica.** 2007. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto. 2007.

GUERRA, J. F. C. et al. Suplementação com extrato oleoso de bixina eleva as concentrações do colesterol HDL e as atividades da paraoxonase em ratos hipercolesterolêmicos. **Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.** v. 34, n. Suplemento, p. 406-406, 2009.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **Br J Pharmacol.** v. 142, n. 2, p. 231-55, 2004.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **Int. J. Food Sci. Technol.** v. 46, p.1529–1537, 2011.

HARAGUCHI, F. K. et al. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos. **Rev. Nutr.** v. 22, n. 4, p. 517-525, 2009.

HARTMAN, P. E.; SHANKEL, D. M. Antimutagens and anticarcinogens: A survey of putative interceptor molecules. **Environ. Mol. Mutagen.** v. 15, n. 3, p. 145-182, 1990.

HEGELE, R. A. Plasma lipoproteins: Genetic influences and clinical implications. **Nat. Rev. Genet.** v. 10, p. 109-121, 2009.

HOPPS, E. et al. A novel component of the metabolic syndrome: the oxidative stress. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.** v. 20, p. 72–77, 2010.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. A química por trás de ensaios de capacidade antioxidante. **J Quim Agr Alim.** v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

HUI D.Y.; HOWLES P. N. Molecular mechanisms of cholesterol absorption and transport in the intestine. **Semin. Cell. Dev. Biol.** v. 16, p. 183–192, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos.** v. 1, 4 ed. 1018 p. Brasília, 2008.

JAWIEN, J.; NASTALEK, P.; KORBUT, R. Mouse models of experimental atherosclerosis. **J. Physiol. Pharmacol.** v. 55, p. 503–517, 2004.

KARWOWSKI, M. S. M. **Estudo da estabilidade, comportamento reológico e dos compostos fenólicos de frutas da Mata Atlântica.** 2012. 99f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2012.

KIM, M. Y. et al. Spirulina improves antioxidant status by reducing oxidative stress in rabbits fed a high-cholesterol diet. **J Med Food.** v. 13, n. 2, p. 420-426, 2010.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins and coronary heart disease. **J Am Diet Assoc.** v. 88, p. 1373, 1988.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E.W. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. **Projeto integrado de Composição de Alimentos.** Disponível em <http://www.fcf.usp.br/tabela/resultado.asp?IDLetter=C&IDNumber=428> . Acesso em: 11 jan, 2014.

LECUMBERRI, E. et al. A diet rich in dietary fiber from cocoa improves lipid profile and reduces malondialdehyde in hypercholesterolemic rats. **Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 332-341, 2007.

LEVINE, R. L. et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol.** v. 233, p. 346-357, 1994.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa: Plantarum.** p. 352, 1998.

LORENZI, H. et al. Frutas Brasileiras e exóticas cultivadas: Consumo in natura . **Nova Odessa: Plantarum.** p. 674, 2006.

LOTTENBERG, A. M. Importância da gordura alimentar na prevenção e controle de distúrbios metabólicos e doenças cardiovasculares. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.** v. 53, n. 5, p. 596-607, 2009.

LU, K.; LEE, M. H.; PATEL, S. B. Dietary cholesterol absorption; more than just bile. **Trends Endocrinol. Metab.** v. 12, p. 314–320, 2001.

LUDKE, M. C. M. M.; LOPÉZ, J. Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. **Cienc Rural.** v. 29, p. 181-187, 1999.

MA, L. et al. Lutein and zeaxanthin intake and the risk of age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. **Br J Nutr.** v. 8, p. 1-10, 2011.

MACKNESS, M. I. et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. **Atherosclerosis.** v. 104, p. 129-135, 1984.

MACKNESS, M. I.; ARROL, S.; DURRINGTON, P. N. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **FEBS Lett.** v. 286, p. 152-154, 1991.

MAEDA, K. et al. Enhanced oxidative stress in neutrophils from hyperlipidemic guinea pig. **Atherosclerosis.** v. 181, p. 87-92, 2005.

MAIOCHI, G. M. 2008 Uvaia: Super dose de vitamina C. Disponível em : <http://www.apremavi.org.br/noticias/apremavi/549/uvaia-super-dose-de-vitamina-c>. Acesso em 12, jan, 2014.

- MATOS, S. L. et al. Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats. **Braz Arch Biol Technol.** v. 48, n. 2, p. 203-209, 2005.
- MELO, S. S. et al. Efeito da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) sobre o perfil metabólico em ratos alimentados com dietas hiperlipídicas. **Alim Nutr.** v. 18, n. 4, p. 439-447, 2008.
- MILES, R.D. Eggs important in diet, unfairly criticized as heart disease risk. **Feedstuffs.** p. 26-51, 1989.
- MIRANDA, A. M. **Estudo do potencial hipocolesterolêmico e antioxidante do *Agaricus blazei* (cogumelo do sol) em modelo de hipercolesterolemia induzida por dieta em ratos.** 2011. 137f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto. 2011.
- MIYAZAWA, T. M. **Compostos voláteis da uvaia (*Eugenia pyriformis* cambess).** 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Araraquara. 2009.
- MOGHADASIAN, M. H. Experimental atherosclerosis: A historical overview. **Life Sci.** v. 70, p. 855-865, 2002.
- MOGHADASIAN, M. H.; FROLICH, J. J.; MCMANUS, B. M. Advances in experimental dislipidemia and atherosclerosis. **Lab Invest.** v. 81, n.9, p.1173–1183, 2001.
- MOHAN-KUMARI, H. P. et al. Antioxidant effect of mould rice in hypercholesterolemic Wistar male rats. **Cell Biochem Funct.** v. 29, n. 7, p. 597-602, 2011.
- MUCCILLO-BAISCH, A.; VILANOVA, L. B.; PERAZA, G. Efeitos do extrato aquoso da *Camellia sinensis*, associado ao exercício físico, no modelo experimental de hipercolesterolemia. **Vittale.** v. 21, n. 2, p. 53-68, 2011.
- OLIVEIRA, E. N. A. et al. Obtenção de ubaia desidratada pelo processo de liofilização. **Rev Bras Tec Agro.** v. 4, n. 2, 2010.
- OLSON, R. E. Discovery of the lipoproteins, their role in fat transport and their significance as risk factors. **J Nutr.** v. 128, n. 2, p. 439S-443S, 1998.
- ORAM, J. F.; VAUGHAN, A. M. ATP-Binding Cassette Cholesterol Transporters and Cardiovascular Disease. **Circ Res.** v. 99, p. 1031-1043, 2006.
- OSMAN, M. et al. Lupin seeds lower plasma lipid concentrations and normalize antioxidant parameters in rats. **GyA.** v. 62, n. 2, p. 162-170, 2011.
- PARK, C. H.; CHO, E. J.; YOKOZAWA, T. Protection against hypercholesterolemia by Corni fructus extract and its related protective mechanism. **J Med Food.** v. 12, n. 5, p. 973-981, 2009.

- PAULA, H. et al. Effect of an aqueous extract of annatto (*Bixa orellana*) seeds on lipid profile and biochemical markers of renal and hepatic function in hypercholesterolemic rats. **Braz. Arch. Biol. Technol.** v. 52, n. 6, p. 1373 – 1378, 2009.
- PEREIRA, M. C. et al. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **J Agric Food Chem.** v. 60, n. 12, p. 3061-3067, 2012.
- PINIZZOTTO, M. et al. Paraoxonase 2 polymorphisms are associated with nephropathy in type II diabetes. **Diabetologia.** v. 44, p. 104-7, 2001.
- PRIOR, R. L.; WU, X. Diet Antioxidant Capacity: Relationships to Oxidative Stress and Health. **Am. J. Biomed. Sci.** v. 5, n. 2, p. 126-139, 2013.
- RAI, P.K.; MEHTA, S.; WATAL, G. Hypolipidaemic and hepatoprotective effects of *Psidium guajava* raw fruit peel in experimental diabetes. **Indian J Med Res.** v. 131, p. 820-824. 2010.
- RAMADAN M. F. *Physalis peruviana* pomace suppresses highcholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. **GyA.** v. 63. n. 4, p. 411-422. 2012.
- RAMIREZ, M. R. et al. Evaluation of the polyphenolic content, anti inflammatory and antioxidant activities of total extract from *Eugenia pyriformes* CAMBESS (Uvaia) fruits. **J Food Biochem.** v. 36, n. 4, p. 405-412, 2012.
- RAMIRIZ, M. R. et al. Estudo fotoquímico das frutas de *Psidium cattleianum* sabine e *Eugenia pyriformis* Cambess. In: Sociedade Brasileira de Química. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009. Fortaleza, CE. **Anais do 32ª RASBQ**, 2009.
- RAO, A. V. Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. **Exp. Biol. Med.**, v. 227, n. 10, p. 908-913, 2002.
- REHRAH, D. et al. Enhanced cholesterol and triglyceride lowering effect of West African green tea. **J Sci Food Agric.** v. 87, n. 7, p. 1323-1329, 2007.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic Biol Med.** v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- RILEY, P.A. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. **Int J Radiat Biol.** v.65, n.1, p.27-33, 1994.
- ROCHA, D. A. et al. Avaliação preliminar in vivo do efeito hipocolesterolêmico do polvilho da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.). **Rev. Bras. Plantas Med.** v. 14, n. 2, p. 362-369, 2012.
- RODRIGO, R.; GUICHARD, C.; CHARLES, R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins. **Fundam. Clin. Pharmacol.** v. 21, n. 2, p. 111-27, 2007.

- RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chem.** v. 121, p. 996-1002, 2010.
- SABARENSE, C. M. S; PELUZIO, M. C. G. Lipídios. In: COSTA, N. M. B; PELUZIO, M. C. G. **Nutrição Básica e Metabolismo.** Viçosa: Ed. UFV, p.155 - 181, 2008
- SANKHARI, J. M. et al. Eugenia jambolana seed extract supplementation attenuates cardiac and hepatic oxidative stress and pathophysiological changes in hypercholesterolemic rats. **Orient Pharm Exp Med.** v. 12, n. 2, p. 99-106, 2012.
- SANTOS, R. D. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 77, p. 4-48, 2001.
- SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.
- SCALON, S. P. Q.; DELL'OLIO, P.; FORNASIERI, J. L. Temperatura e embalagens na conservação pós-colheita de Eugenia uvalha Cambess – Mirtaceae. **Cienc Rural.** Santa Maria, v. 34, n.6, p. 1965-1968, 2004.
- SCHWERTZ, M. C. et al. Efeito hipolipidêmico do suco de camu-camu em ratos. **Rev. Nutr.** Campinas. v. 25, n. 1, 2012.
- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem.** v. 25, n. 1, p. 192-205, 1968.
- SEIFRIED, H. E. et al. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **J Nutr Biochem.** v. 18, p.567-79, 2007.
- SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. Phenolic antioxidants. **Crit Rev Food Sci Nutr.** v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.
- SHEPHERD, J. The role of the exogenous pathway in hypercholesterolaemia. **Eur Heart J.** v. 3, n. suppl E, p. 2 -5, 2001.
- SILVA, A. S. Luteína, alimento para tu vista. **Food Ingredients,** v. 6, p. 80-81, 2004.
- SILVA, L. S. **Avaliação de parâmetros bioquímicos nutricionais e do estresse oxidativo em ratos tratados com extrato oleoso de bixina (pa lipo 8%).** 2009. 187f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto. 2009.
- SOUZA, G.B. et al. Método alternativo para a determinação de fibra em detergente neutro e detergente ácido. São Carlos: **EMBRAPA-CPPSE.** Boletim de pesquisa nº 04, 1999. 21p.
- SOUZA, M. O. et al. Diet supplementation with acai (Euterpe oleracea Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats, **Nutrition.** v. 26, p. 804-810, 2010.

SOUZA, M. O. et al. The hypocholesterolemic activity of açai (Euterpe oleracea Mart.) is mediated by the enhanced expression of the ATP-binding cassette, subfamily G transporters 5 and 8 and low-density lipoprotein receptor genes in the rat. **Nutr Res.** v. 32, p. 976 – 984, 2012.

SPOSITO, A. C. et al. IV Diretriz Brasileira Dislipidemias e Prevenção da Arteriosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 88, p. 2-19, 2007.

REEVES, P. G., F. H. et al. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **J Nutr.** v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

ROSA, C. O. B. **Avaliação do efeito de compostos naturais – Curcumina e Hesperidina na hiperlipidemia induzida em coelhos.** 2009. Tese (Doutorado em Bioquímica agrícola), Universidade Federal de Viçosa. 2009.

TURBINO-RIBEIRO, S. M. L. et al. A sobrecarga de ferro em ratos hipercolesterolêmicos afeta a homeostase de ferro e lipídeos séricos, mas não a pressão arterial. **J Nutr.** v. 133, n. 1, p. 15-20, 2003.

POLYAKOV, N.E. et al. Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants. **Free Radic Biol Med.** v. 31, n. 3, p. 398-404, 2001.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos: TACO.** Versão 2. Campinas, 2006. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.** v. 39, p. 44–84, 2007.

VILLACHICA, H. et al. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia. Lima: Tratato de Cooperación Amazonica, **Secretaria Pro-Tempore**, 1996. 367p.

ZHANG, Z. et al. Choosing hamsters but not rats as a model for studying plasma cholesterol-lowering activity of functional foods. **Mol. Nutr. Food Res.** v. 53, p. 921–930, 2009.

YOKOGOSHI, H. et al. Taurina na dieta aumenta a degradação do colesterol e reduz as concentrações séricas de colesterol e fígado em ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol. **J Nut.** v. 129, n. 9, p. 1705-1712, 1999.

WIVIOTT, S. D.; CANNON, C. P. Update on lipid-lowering therapy and LDL cholesterol targets. **Nat Clin Pract Cardiovasc Med.** v. 3, p. 424–436, 2006.

WOO, M. N. et al. Anti-obesity and hypolipidemic effects of a proprietary herb and fiber combination (S&S PWH) in rats fed high-fat diets. **J Med Food.** v. 11, n. 1, p. 169-178, 2008.

9 – ANEXOS

ANEXO I - Certificado de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro – ICEB-II, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370
Email: ceua@propp.ufop.br



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº. 2013/32 do projeto, relativo ao uso de animais, do projeto intitulado "*Efeito do Extrato de Uvaia (Eugenia uvalha Cambess) na Alteração do Perfil Lipídico e no Estresse Oxidativo Causado por Dieta Hipercolesterolêmica em Ratas*", que tem como responsável o Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP (CEUA-UFOP).

Este certificado expira em 12/9/2018.

Ouro Preto, 22 de outubro de 2013.

Wanderson Geraldo de Lima

Prof. Dr. Wanderson Geraldo de Lima
Coordenador da CEUA-UFOP