



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
FARMACÊUTICA**

BELMIRA SILVA FARIA E SOUZA

**Estudo da ação do óleo fixo da *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) sobre
dislipidemia em ratos Wistar**

**Macapá-AP
Fevereiro/2017**

BELMIRA SILVA FARIA E SOUZA

Estudo da ação do óleo fixo da *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) sobre dislipidemia em ratos Wistar.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica da Universidade Federal do Amapá para obtenção do Título de Doutora em Inovação Farmacêutica. Área de concentração: Fármacos e medicamentos.

Orientador: Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho

**Macapá-AP
Fevereiro/2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

612.39

S729e Souza, Belmira Silva Faria e.

Estudo da ação do óleo fixo da *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) sobre dislipidemia em ratos Wistar / Belmira Silva Faria e Souza; orientador, José Carlos Tavares Carvalho; – Macapá, 2017.

119 f.

Tese (doutorado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica.

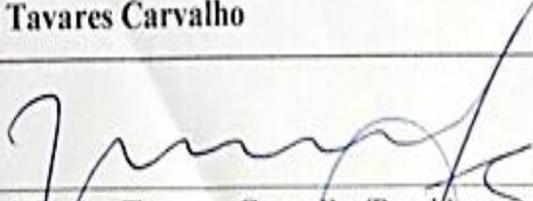
1. Distúrbios do metabolismo dos lipídios. 2. Ácidos graxos insaturados. 3. Aterosclerose - tratamento. I. Carvalho, José Carlos Tavares, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

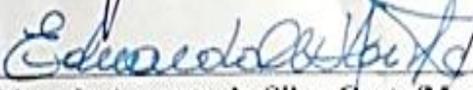
**Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica
da Universidade Federal do Amapá**

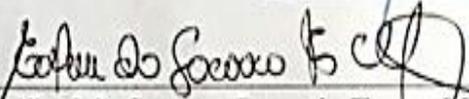
BANCA EXAMINADORA

Doutoranda: Belmira Silva Faria e Souza

Orientador: Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho


Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho/Presidente
Professor do Colegiado de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.


Prof. Dr. Eduardo Augusto da Silva Costa/Membro Titular
Professor da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Pará, UFPA.


Profa. Dra. Ediluci do Socorro Leoncio Tostes Malcher/Membro Titular
Instituto de Estudos e Pesquisas do Estado do Amapá, IEPA.


Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira/Membro Titular
Professor do Colegiado de Química da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.


Profa. Dra. Lorane Hage Melim/Membro Titular
Professora do Colegiado de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.

Data: 03 / 02 / 2017

DEDICATÓRIA

*Dedico este título a minha mãe Iracy da Rocha Silva, a todos os meus irmãos, sobrinhos e filhos-enteados, e **in memoriam** ao meu pai Rosemiro Gomes da Silva, e meu esposo Mario Nilton Noronha Faria e Souza.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por todas as bênçãos recebidas;

Ao meu orientador Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho, exemplo de coragem, competência, amizade e companheirismo a quem devoto muito orgulho e honra em ter sido sua orientanda;

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Inovação Farmacêutica da UNIFAP - Prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira de Sousa;

A primeira Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Inovação Farmacêutica da UNIFAP - Profa. Dra. Jocivânia Oliveira da Silva;

Ao Secretário Administrativo do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNIFAP - Edson Antônio N. da Costa Júnior;

Ao corpo docente do Curso de Doutorado de Inovação Farmacêutica por todo aprendizado compartilhado;

À Direção da Faculdade Estácio de Macapá – Profa. Aline Búrigo, à diretora acadêmica Profa. Núbia Almeida, à Coordenadora do Curso de Graduação em Nutrição Profa. Mara Rosana Nazaré Souza dos Santos e a todo Colegiado (amigos e amigas) do Curso de Graduação em Nutrição;

Aos amigos para sempre do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Amapá- IEPA - Núcleo de plantas Medicinais e Produtos Naturais - NUPMPN/IEPA: Augusto Oliveira, Ediluci Tostes, Mônica Luna, Maurício Correa, Cléia Lamarão, Francineide Pena, Sônia Oliveira, Maria Aparecida e Terezinha de Jesus e em especial ao Diretor Presidente: Dr. Wagner Pinheiro da Costa; ao Diretor de Pesquisa: Dr. Admilson Moreira Torres e ao Gerente do NUPMPN/IEPA: Josué Sampaio Silva;

À antiga Direção e amigos para sempre do Centro de Educação Profissional Graziela Reis de Souza;

À Profa. Edna Maria Palmerin Ferreira Ferreira - Diretora da Escola Estadual Gonçalves Dias, e a toda equipe da Coordenação pedagógica;

À todos os Conselheiros e secretária do Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do IEPA (CEP/IEPA);

À toda família do Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Unifap com quem tive o privilégio de conviver dia-a-dia nesses quatro anos: Gisele Custódio, Irlon Maciel, Edilson Cunha, Adriana Maciel, Raphaele Borges, Daniele Assis, Jonatas Lobato, Raquel Amaral, Anna Eliza Maciel,

Heitor Barros, Jesus Rafael, Hady keita, Igor Victor Santos, Adriana Valente, Breno Krein, Jéssica Vilhena, Antony Ferreira, Clarissa Lima, Clarice Rocha, Tafnnis Sampaio; Nayara Melo. Meu eterno agradecimento aos meus companheiros de todos os momentos dessa jornada Helison Carvalho e Albenise Barros;

Aos colaboradores da sala aclimatada para os animais – Sr. Jubervan Silva e Mariana Góes;

Ao amigo Talisson Taglialegra, filho do meu orientador pela ajuda e companheirismo em um momento experimental importante dessa pesquisa;

A Sra. Juliana Taglialegra, esposa do meu orientador meu eterno agradecimento por toda ajuda, carinho e companheirismo a mim dispensados no momento da minha defesa de Tese.

De forma especial a minha irmã de coração Mônica Moreira Faria e Souza pelo companheirismo familiar e correções de meus textos em inglês;

Com carinho especial ao Professor Hamilton Simões de Sousa Júnior pela ajuda recebida;

A minha colaboradora em casa Sra. Maria de Nazaré Pereira por sua incansável dedicação;

A minha Profa. de Pilates Aline Ferreira pela ajuda profissional a mim dispensada;

A Empresa Açai Amapá Agro-Industrial Company – Sambazon – Amapá/Brazil;

A minha família que se colocou à sombra diante de minha constante ausência durante esses anos, minha mãe Iracy, meus filhos-enteados, meus irmãos, e meus sobrinhos a quem devoto amor imensurável.

*E tua fruta vai rolando
Para os nossos alguidares
Tu te entregas ao sacrifício
Fruta santa, fruta mártir
Tens o dom de seres muito
Onde muitos não tem nada
Uns te chamam açaizeiro
Outros te chamam juçara
Nilson Chaves e João Gomes, 1991.*

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
2.1	DISLIPIDEMIA.....	21
2.1.1	Definições e caracterização da dislipidemia.....	21
2.1.2	Metabolismo lipídico.....	22
2.1.3	Mecanismo de transporte dos principais lipídios no organismo.....	23
2.1.3.1	Transporte reverso do Colesterol	24
2.1.4	Dislipidemia e aterogênese.....	25
2.1.5	Novos marcadores de risco de importância no Metabolismo Lipídico.....	28
2.2	<i>EUTERPE OLERACEA</i> MART.....	30
2.2.1	Considerações Gerais sobre a <i>Euterpe oleracea</i> Mart.....	30
2.2.2	Composição química da <i>Euterpe oleracea</i> Mart	31
2.2.3	Óleo Fixo da <i>Euterpe oleracea</i> Mart (OFEO).....	36
2.2.4	Estudos farmacológicos com OFEO.....	36
2.2.5	Ácidos graxos e suas propriedades.....	37
3	OBJETIVOS.....	41
3.1	GERAL.....	41
3.2	ESPECIFICOS.....	41
4	CAPÍTULO 1: Effect of <i>Euterpe oleracea</i> Mart. (Açaí) oil on dyslipidemia induced by <i>Cocos nucifera</i> L. saturated fat in Wistar rats.....	42
5	CAPÍTULO 2: Effect of the treatment with <i>Euterpe oleracea</i> Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia.....	58
6	CAPÍTULO 3: <i>Euterpe oleracea</i> Mart. oil (Açaí) on the metabolic syndrome of rats with diabetes induced by Aloxan.....	74
7	DISCUSSÃO GERAL.....	95
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	103
9	REFERÊNCIAS.....	104
10	ANEXOS.....	118

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1	Classificação Botânica da <i>Euterpe oleracea</i> Mart.....	30
Tabela 2	Teores de antocianina e qualidade da cor em relação aos parâmetros L, a, b, nas diferentes populações de açaí.....	34
Tabela 3	Composição em ácidos graxos dos óleos de oliva, açaí e abacate.....	36
CAPITULO 1	Effect of <i>Euterpe oleracea</i> Mart. (Açaí) oil on dyslipidemia induced by <i>Cocos nucifera</i> L. saturated fat in Wistar rats	
Table 1	Ethyl ester composition of samples derivative of açaí and coconut oils determined by GC-MS analysis.....	56
Table 2	Influence in absolute mass variation of organs of the animals after of the treatment and hyperlipidemia induced with GSC.....	57
Table 3	Effect of the treatments with ofeo, ofeo+gsc, sin+gcs and dw on the biochemical parameters and dyslipidemia induced for gsc in rats.....	57
CAPITULO 2	Effect of the treatment with <i>Euterpe oleracea</i> Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia.	
Table 1	Physicochemical parameters of the <i>Euterpe oleracea</i> oil.....	70
Table 2	Determination of equivalent fatty acid ethyl ester (FAEE) of the <i>Euterpe oleracea</i> oil analyzed by GC-MS	70
CAPITULO 3	<i>Euterpe oleracea</i> Mart. oil (Açaí) on the metabolic syndrome of rats with diabetes induced by Aloxan	
Table 1	Determination of equivalent fatty acid ethyl ester (FAEE) of the <i>Euterpe oleracea</i> oil analyzed by GC-MS.....	90
Table 2	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg / kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on the clinical parameters of diabetic rats.....	90
Table 3	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg / kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on the relative mass variation of organs of diabetic rats.....	91
Table 4	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg / kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on the biochemical parameters of diabetic rats.....	91

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. Estruturas químicas dos AGI (Oleico e Linoleico) e AGS (Láurico) 35

CAPITULO 1 Effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) oil on dyslipidemia induced by *Cocos nucifera* L. saturated fat in Wistar rats.

Figure 1. Gas chromatograms (GC-MS) of ethyl ester derived from GSC (A) and OFEO (B) oils via CAL-B catalysis..... 54

Figure 2. Body weight variation of the animals after the period of treatment and induction of hyperlipidemia by GSC..... 54

Figure 3. Average values of daily caloric intake of different groups during the period of treatment and induction of hyperlipidemia by GSC..... 55

Figure 4. SEM photomicrographs of cross-section of the thoracic aorta..... 55

Figure 5. SEM photomicrographs of longitudinal section of the thoracic aorta..... 56

CAPITULO 2 Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* Mart. oil in rats with Triton induced dyslipidemia.

Figure 1 Chromatogram of the profile of the ethyl esters corresponding to fatty acids of the *Euterpe oleracea* oil analyzed by CG-MS..... 71

Figure 2 Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on triglycerides levels in normal rats and with Triton-induced dyslipidemia..... 71

Figure 3 Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on total cholesterol levels of normal rats and with Triton-induced dyslipidemia..... 72

Figure 4 Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on the LDL-Cholesterol levels of normal rats and with Triton-induced dyslipidemia..... 72

Figure 5 Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on the levels of HDL-Cholesterol in normal rats and with Triton-induced dyslipidemia..... 73

CAPITULO 3 *Euterpe oleracea* Mart. oil (Açaí) on the metabolic syndrome of rats with diabetes induced by Aloxan.

Figure 1	Chromatogram of the profile of the ethyl esters corresponding to fatty acids of the <i>Euterpe oleracea</i> oil analyzed by CG-MS.....	92
Figure 2	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on glucose level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.....	92
Figure 3	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on triglycerides level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.....	93
Figure 4	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on total cholesterol of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.....	93
Figure 5	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on LDL-Cholesterol level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.....	94
Figure 6	Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on HDL-Cholesterol level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). *p < 0,05 and ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.....	94

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ω-3	Ômega 3
ω-6	Ômega 6
ω-9	Ômega 9
AD	Água Destilada
AL	Ácido Linoleico
ALA	Ácido α Linolênico
AG	Ácidos graxos
AGE	Ácido Graxo Essencial
AGI	Ácido Graxo insaturado
AGL	Ácidos graxos livres
AGPI n-3	Ácidos Graxos Poli-insaturados Ômega 3
ALA	Ácido α Linolênico
ALT	Alanina amino transferase
ANC	Antocianina
APO A-1	Apolipoproteína
Apo B100	Apolipoproteína B 100
Apo-CIII	Apolipoproteína C-3
AST	Aspartato amino transferase
AVC	Acidente vascular cerebral
CAT	Catalase
CEMIB	Centro Multidisciplinar de Investigação Animal
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
CG	Cromatografia Gasosa
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CHD	Doença cardíaca coronária
CLA	Ácido linoleico conjugado
CT	Colesterol Total
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DCV	Doença Cardiovascular

DHA	Ácido Docosaexanoico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
EPM	Erro Padrão da Média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de Nitrogênio
GSC	Gordura Saturada de <i>Cocos Nucifera</i>
GSH – Px	Glutathione Peroxidase
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular- 1
IM	Infarto do miocárdio
HTG	Hipertrigliceridemia
HMG - CoA	Hidroximetilglutaril – Coenzima – A redutase
HO•	Radical Hidroxil
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipoproteína Lipase
Lp (a)	Lipoproteína (a)
MDA	Malondialdeido
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MUFAs	Ácidos Graxos mono-insaturados
NaCl	Cloreto de sódio
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido nítrico sintases
ONO ₂	Peroxinitrito
OFEO	Óleo Fixo da <i>Euterpe Oleracea</i> Mart
OMS	Organização Mundial de Saúde
OX - LDL	LDL-Oxidada
PDGF-A-B	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PPAR	Receptores ativados por proliferador de peroxissomo
PUFAs	Ácidos Graxos Poli-insaturados

RCT	Transporte reverso do colesterol
ROS	Espécies reativas de Oxigenio
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SIN	Sinvastatina
SNC	Sistema Nervoso Central
SPF	Fator de proteção solar
SOD	Superoxido dismutase
TICE	Efluxo trans do colesterol intestinal
TG	Triglicerideos
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
TNF α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TRT	Triton
UNICAMP	Universidade de Campinas
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá
UV	Ultra violeta
VCAM-1	Molécula de adesão celular-vascular
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
V o	Via oral
v ip	Via intraperitoneal

Estudo da ação do óleo fixo da *Euterpe oleracea* Mart, sobre dislipidemia em ratos Wistar

SOUZA, B. S. F¹; CARVALHO, J. C. T.^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá.

²Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá.

Introdução: A dislipidemia é decorrente de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico. Ocasionalmente elevações crônicas nos níveis séricos de lipídeos, principalmente LDL-colesterol e triglicerídeos, predispondo o indivíduo a complicações, como síndrome metabólica, diabetes, processos aterogênicos e doenças cardiovasculares (DCVs). O óleo fixo dos frutos da *Euterpe oleracea* Mart (OFEO) vem sendo descrito com composição química rica em ácidos graxos insaturados (AGIs), que o caracteriza com potencial para o tratamento de alterações no metabolismo lipídico. **Objetivo:** Investigar a ação do OFEO sobre dislipidemia em ratos Wistar. **Metodologia:** Foram utilizados ratos *Wistar* machos, divididos em grupos experimentais (n = 7/grupo) para compor 3 modelos de indução de dislipidemia. Modelo I. - dislipidemia induzida por Gordura Saturada de *Cocos nucifera* (2000 mg/kg, v.o). Modelo II.- dislipidemia induzida por Triton (150 mg/kg, i.p). Modelo III.- dislipidemia em ratos diabéticos induzidos com aloxana (150 mg/kg i.p). Em todos os ensaios os grupos foram divididos em: tratado com OFEO (1226 mg/kg, v.o), grupos controles tratados com água destilada (0,5 mL, v.o) e com fármacos padrões (Sinvastatina, 20 mg/kg e Glibenclamida, 5 mg/kg, v.o). **Resultados:** As análises físico-químicas e cromatográficas do OFEO apresentaram constituição química com predomínio de AGIs (67,83%), sendo o ácido oleico (54,32%) e linoleico (5,90%) os compostos majoritários. Nos modelos de dislipidemia empregados houve aumento significativo dos níveis séricos de lipídeos, principalmente LDL-colesterol e triglicerídeos. Os grupos tratados com OFEO nos diferentes modelos experimentais reduziram significativamente (p < 0,001) os níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol total e LDL-colesterol, e aumentaram significativamente HDL-colesterol (p < 0,001). No modelo I, nas condições de tratamento empregado, o OFEO apresentou atividade anti-aterogênica, inibindo a formação de ateromas na artéria aorta dos animais empregados. No Modelo III, o OFEO atenuou os parâmetros bioquímicos relacionados com a síndrome metabólica, reduzindo significativamente (p < 0,001) a hiperglicemia, LDL-colesterol e triglicerídeos. Portanto, conclui-se que o tratamento com OFEO empregado nas condições deste estudo, apresenta ação sobre o perfil lipídico e propriedades anti-aterogênicas em animais com dislipidemias, possivelmente devido a presença de AGIs, assim pode contribuir no controle e/ou como agente preventivo das DCVs.

Palavras-Chave: *Euterpe oleracea* Mart; Dislipidemia; ácidos graxos insaturados; aterosclerose.

Study of the fixed *Euterpe oleracea* Mart. oil on dyslipidemia in Wistar rats**SOUZA, B. S. F¹; CARVALHO, J. C. T.^{1,2}**

¹Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá.

²Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá.

Introduction: Dyslipidemia is due to disorders at any stage of lipid metabolism. It causes chronic elevations in serum lipid levels, especially LDL-cholesterol and triglycerides, predisposing the individual to complications such as metabolic syndrome, diabetes, atherogenic processes and cardiovascular diseases (CVDs). The fixed *Euterpe oleracea* Mart. oil of fruits (OFEO) has been described with a chemical composition rich in unsaturated fatty acids (AGIs), which characterizes it with potential for the treatment of alterations in lipid metabolism. **Objective:** to investigate the action of OFEO on dyslipidemia in Wistar rats. **Method:** Male Wistar rats were divided into experimental groups (n = 7/group) to compose three models of induction of dyslipidemia. **Model I** - Dyslipidemia induced by *Cocos nucifera* fat (2000 mg/kg, v.o), **Model II**, Triton-induced dyslipidemia (150 mg / kg, i.p). **Model III**, dyslipidemia in diabetic rats induced with aloxane (150 mg / kg i.p). In all assays the groups were divided into: treated with OFEO (1226 mg/kg, vo), control groups treated with distilled water (0.5 ml, v.o) and with standard drugs (Sinvastatin, 20 m /kg and Glibenclamide, 5 mg/kg, v.o). **Results:** The physico-chemical and chromatographic analyzes of OFEO presented a chemical constitution with predominance of UFAs (67.83%), with oleic acid (54.32%) and linoleic (5.90%) being the major compounds. In the models of dyslipidemia employed, there was a significant increase in serum lipid levels, mainly LDL-cholesterol and triglycerides. The groups treated with OFEO in the different experimental models significantly reduced (p < 0.001) plasma triglycerides, total cholesterol and LDL-cholesterol, and significantly increased HDL-cholesterol (p < 0.001). In model I, under the treatment conditions employed, OFEO showed antiatherogenic activity, inhibiting the formation of atheromas in the aorta artery of the animals used. In Model III, OFEO attenuated the biochemical parameters related to the metabolic syndrome, significantly reducing (p < 0.001) hyperglycemia, LDL-cholesterol and triglycerides. Therefore, it is concluded that the treatment with OFEO used in the conditions of this study, presents action on the lipid profile and Anti-atherogenic properties in animals with dyslipidemias, possibly due to the presence of UFAs, so it may contribute to the control and / or as a preventive agent of the CVDs.

Key words: *Euterpe oleracea* Mart; Oil, Dyslipidemia; Unsaturated fatty acids; Atherosclerosis.

As dislipidemias são definidas como alterações do metabolismo lipídico que apresentam concentração anormal de lipídeos ou lipoproteínas na circulação sanguínea, principalmente elevações crônicas dos níveis séricos de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos (TG), assim como pela redução das concentrações da lipoproteína de alta densidade (HDL). Podem ser desencadeadas por fatores ambientais ou genéticos e que predis põem o indivíduo a uma série de complicações, tais como a síndrome metabólica, obesidade, diabetes, processos aterogênicos e doenças cardiovasculares (DCVs), sendo estas as principais causas de morbimortalidade no mundo, em decorrência de complicações como infarto agudo do miocárdio, embolia e acidente vascular cerebral (AVC).

As DCVs representam incidência média de 12 milhões de pessoas por ano no mundo, em geral está diretamente associada com a prevalência dos chamados fatores de risco, como a história familiar de cardiopatia, excesso de peso, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hipertensão arterial (HA), que preestabelecem ao indivíduo o desenvolvimento do processo aterogênico, e seu desencadeamento acontece de forma silenciosa e não passíveis de monitoramento direto pelo paciente, dessa forma essas comorbidades representam um dos principais problemas de saúde pública, uma vez que diminuem os anos de vida produtiva do indivíduo além da mortalidade precoce.

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial das artérias de médio e grosso calibre, promovendo a disfunção endotelial que aumenta a permeabilidade da camada íntima às LDL plasmáticas favorecendo a retenção dessas lipoproteínas no espaço subendotelial e propiciando a sua oxidação. A oxidação da LDL no espaço subendotelial favorece o aumento do processo aterogênico e assim pode acelerar o aparecimento de DCVs.

As consequências advindas desse problema de saúde impulsionam a comunidade científica a estudos dietéticos, metabólicos e toxicológicos na tentativa de prevenir ou diminuir os danos causados pelas dislipidemias oriundas de fatores genéticos ou ambientais como dietas excessivas em gorduras saturadas. Assim as recentes pesquisas estão sendo planejadas com o intuito de identificar alimentos funcionais que possuem na sua composição polifenóis, ácidos graxos insaturados (AGI), fibras, fitosteróis entre outros, que além dos seus efeitos antioxidantes

apresentem também a capacidade de alterar o perfil lipídico, em especial na redução dos níveis de LDL e triglicerídeos.

Trabalhos com a *Euterpe oleracea* Mart. mostram na sua composição a presença de substâncias polifenólicas, ácidos graxos mono e poli-insaturados, que atribui a esta espécie propriedades farmacológicas incluindo anticarcinogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, estimulante imunológica e anti-envelhecimento, bem como propriedades antioxidantes. Estudos realizados sobre a composição química do óleo fixo de *Euterpe oleracea* (OFEO), demonstraram que ele apresenta uma constituição rica em ácidos graxos insaturados (AGI), sendo majoritariamente de ácidos monoinsaturados. Os AGI são referenciados na literatura como antioxidantes com potencial de evitar a peroxidação lipídica e inibir a ação dos radicais livres, principalmente as espécies reativas de Oxigênio (ROS), e dessa forma atuar significativamente na redução da oxidação da LDL.

Os radicais livres são moléculas liberadas pelo metabolismo do corpo com elétrons altamente instáveis e reativos, decorrentes de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, gerando um desequilíbrio homeostático que pode causar doenças degenerativas, envelhecimento e morte celular, e esse processo ao longo do tempo pode tornar-se crônico, contribuindo para instalação de enfermidades crônicas como, por exemplo, a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer.

Nesse contexto, para melhor entender a relação entre as alterações do metabolismo dos lipídios e a aterogênese vários estudos experimentais vêm sendo realizados com o intuito de desenvolver síndrome metabólica e dislipidemias com fármacos específicos, pois o elo entre dislipidemias, diabetes e aterosclerose é universalmente reconhecido pelos pesquisadores da área.

Dentre drogas clássicas podemos destacar dietas com gorduras saturadas, surfactante com propriedades inibidoras da enzima lipoproteína lipase e drogas beta-citotóxicas para as ilhotas de langerhans no pâncreas.

O triton é um surfactante não aniônico de estrutura polimérica que vem sendo utilizado com sucesso em diversos trabalhos para induzir dislipidemias em modelos animais, seu mecanismo de ação envolve a capacidade de inibir a enzima lipoproteína lipase (LPL), responsável pela hidrólise dos triglicerídeos presentes nas lipoproteínas plasmáticas, assim como estimular a enzima hidroximetil-glutaril coenzima A redutase (HMG-Coa redutase). Como resultado, ocorre a diminuição da hidrólise dos triglicerídeos (TG), aumento da biossíntese de colesterol no fígado e a consequente elevação dos lipídeos plasmáticos.

Modelos de indução de hiperlipidemia em ratos com base na administração de gordura saturada de *Cocos nucifera* (GSC) é decorrente da sua rica composição em ácidos graxos saturados

que apresentam a capacidade de aumentar consideravelmente tanto a taxa de colesterol e frações quanto a de triglicerídeos.

A Diabetes quimicamente induzida por aloxana em animais de experimentação tem sido amplamente empregada como modelo para os estudos de agentes terapêuticos e preventivos da doença, além disso, possibilita a avaliação de parâmetros determinantes da síndrome metabólica desencadeada pelo evento da indução do estado diabético, principalmente as dislipidemias.

Dessa forma, considerando a composição química do OFEO rica em AGI e a relação desses compostos com as dislipidemias, bem como a necessidade de estudos não clínicos acerca da temática e a predominância dessa espécie de grande importância para a região amazônica, o presente estudo teve como objetivo investigar a ação do OFEO sobre a dislipidemia em ratos Wistar, utilizando diversos modelos de indução, que envolvem desde indução de dislipidemia aguda por triton, indução de dislipidemia por gordura saturada de *Cocos nucifera* (GSC) e por síndrome metabólica diabética induzida por aloxana.

2.1 DISLIPIDEMIA

2.1.1 Definições e caracterização da dislipidemia

A dislipidemia definida como modificações nos níveis circulantes dos lipídeos em relação a parâmetros estabelecidos para uma determinada amostra populacional, como consequência de distúrbios ocorridos em qualquer fase do metabolismo lipídico, que resultam na alteração dos níveis séricos das lipoproteínas e estão associadas à incidência de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, hipertensão arterial e esteatose (BEZERRA et al., 2011).

Trata-se de fator chave na promoção da síndrome metabólica, encontrada em indivíduos magros e obesos, uma vez que a obesidade por si só não é considerada como responsável pelo desenvolvimento da dislipidemia (IPSEN, TVDEN-NYBORG, LYKKESFELDT, 2016).

É caracterizada por alterações metabólicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico que ocasionam repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas, moléculas que transportam os lipídios no meio aquoso plasmático (SOC. BRAS. CARDIOLOGIA, 2001; SOC. BRAS. CARDIOLOGIA, 2007; BEZERRA et al., 2011).

Segundo Jallinger et al., (2002) e Bevilacqua et al., (2006), podem ser primária ou secundária. A primária diz respeito às alterações genéticas e ambientais, a secundária pode ter origem em outra situação patológica, como o hipotireoidismo, obesidade ou *Diabetes mellitus*, ou ser uma consequência da utilização de determinados fármacos que elevem os níveis lipídicos, como por exemplo, glucocorticóides, isotretinoína, ciclosporina, mirtazapina, progestinas, diuréticos tiazídicos, bloqueadores β , estrogênios e antifúngicos azólicos (DIPIRO et al., 2008).

O excesso de lipídios séricos é reconhecido como um dos mais significantes fatores de risco para DCVs. Isoladamente, as alterações lipídicas são responsáveis por 56% das doenças cardíacas e 18% dos casos de infarto, sendo ainda associadas a um terço dos casos de mortalidade no mundo (HOFFMAN, 2012).

A proeminência da hiperlipidemia como problema de saúde pública está na sua relação com as DCVs, principalmente o acidente vascular cerebral (AVC) e a doença aterosclerótica coronariana - razões importantes de morte e incapacidade física em nosso meio, com repercussões importantes nos custos da assistência médica no Brasil (BEVILACQUA et al., 2006).

Para Chlaudhary e Brocks (2013), a hiperlipidemia é uma condição em que o colesterol total (CT), os triglicerídeos (TG) e a LDL-c encontram-se elevados no sangue, tornando-se os maiores fatores de risco para aterosclerose, infarto do miocárdio (IM) e AVC.

A aterosclerose é uma doença multifatorial, lenta e progressiva e a hiperlipidemia um dos fatores potenciais no desenvolvimento de doenças cardíacas ateroscleróticas. Dessa forma, as DCVs são causa crescente e relevante de óbitos em todo o mundo e as hiperlipidemias constituem importantes fatores de risco para seu desencadeamento, uma vez que não são passíveis de monitoramento direto pelo paciente, as complicações das dislipidemias surgem de forma insidiosa (CELESKI et al., 2013). A literatura evidencia que seu desencadeamento pode ocorrer na infância (PEREIRA, et al., 2010; SILVA; SOUZA, 2014).

Devido à magnitude de seus efeitos, grandes esforços vêm sendo realizados pela comunidade médica para prevenir e controlar esse quadro metabólico, e as estratégias terapêuticas recomendadas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e adotadas pelos especialistas da área englobam o estímulo à adoção de uma alimentação saudável, o aumento da prática de exercícios físicos e a prescrição de medicamentos (BONFIM et al., 2014).

2.1.2. Metabolismo lipídico

Os lipídios são pequenas moléculas extraídas dos tecidos animais e vegetais, insolúveis em água, constituem aproximadamente 34% da energia da dieta dos seres humanos, fornecendo cerca de 9 Kcal/g de energia, correspondendo de 25-30% da dieta. Essa gordura alimentar é armazenada nas células adiposas protegendo órgãos e nervos de choques. São essenciais no processo de digestão, absorção, e transporte de vitaminas lipossolúveis e fitoquímicos como carotenoides e licopenos (RAYMOND et al., 2013).

A digestão das gorduras compreende: absorção, emulsificação, digestão, metabolismo e degradação. Assim, uma pequena quantidade de lipídios é digerida na boca pela lipase lingual e no estômago pela lipase gástrica, mas a digestão propriamente dita dos lipídios ocorre no duodeno, por ação da bile que emulsifica os glóbulos de gordura aumentando sua superfície de contato com as enzimas, e também pela ação lipase pancreática que age quebrando as moléculas grandes de gordura em ácidos graxos livres e monoglicerídeos. Esses ácidos graxos livres e monoglicerídeos formam complexos com os sais biliares, denominados micelas, que atuam facilitando a passagem dos lipídios através do ambiente intestinal aquoso até as células da borda em escova, onde são absorvidos, reagrupados em triglicerídeos e transportados (junto com fosfolipídios, colesterol e lipoproteínas – formando os quilomícrons) até o fígado. Os lipídios biologicamente mais

relevantes são os fosfolipídios, o colesterol, os triglicérides (TG), e os ácidos graxos livres (AGL). Os fosfolipídios formam a estrutura básica das membranas celulares, atuando na fluidez dela e na ativação das enzimas ali presentes, o colesterol é precursor do hormônios esteroidais, dos ácidos biliares e da vitamina D. Os TG são formados por três moléculas de ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol e constituem uma das formas de armazenamento energético mais importantes no organismo, depositados no tecido adiposo muscular (XAVIER et al., 2013)

Os ácidos graxos são divididos em saturados e insaturados. Os insaturados são justificados em razão do número de duplas ligações e estão classificados em mono ou poli-insaturado, encontrados especialmente na configuração cis da dupla ligação (SANTOS et al., 2013). As gorduras monoinsaturadas têm sido relacionadas com diminuição nos níveis de TG, CT e LDL, bem como ao aumento nos níveis de HDL no plasma, característica importante no contexto da redução dos riscos cardiovasculares (WRIGHT, 1998; FAGHERAZZI; DIAS; BORTOLON, 2008).

As gorduras poli-insaturadas (ω -3 e ω -6) também exercem efeito positivo sobre o CT, LDL-c e TG séricos (SANTOS et al., 2001; FAGHERAZZI; DIAS; BORTOLON, 2008). Porém, os ácidos graxos ω -6, embora considerados não prejudiciais (RIQUE; SOARES; MEIRELLES, 2002; FAGHERAZZI; DIAS; BORTOLON, 2008) induzem maior oxidação lipídica (SANTOS et al., 2001; FAGHERAZZI; DIAS; BORTOLON, 2008) e há indícios de que possam reduzir as concentrações de HDL-c (MCGOWAN, 1997; FAGHERAZZI; DIAS; BORTOLON, 2008).

Nesse sentido, para prevenção primária da doença aterosclerótica coronariana, recomenda-se um consumo diário entre 8% a 10% de ácidos graxos saturados; até 10% de poli-insaturados; até 15% de monoinsaturados e até 300mg de colesterol. Para prevenção secundária é preconizado até 7% de ácidos graxos saturados e restrição de até 200mg de colesterol por dia (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1996; FAGHERAZZI; DIAS; BORTOLON, 2008).

2.1.3. Mecanismo de transporte dos principais lipídios no organismo

Os principais lipídios são transportados no plasma em complexos conhecidos como lipoproteínas, que são insolúveis em meio aquoso. As lipoproteínas são partículas esféricas cuja superfície é constituída majoritariamente por fosfolipídios, colesterol livre e proteínas e o seu interior é composto por triglicérides e ésteres de colesterol (BEVILACQUA et al., 2006).

As lipoproteínas são partículas que transportam lipídeos apolares (insolúveis em água) em seu núcleo. Estes complexos são constituídos por quantidades variáveis de colesterol e seus ésteres, triglicérides, fosfolipídios e apoproteínas, sendo solúveis no plasma devido à natureza hidrofílica

da parte proteica. Essas lipoproteínas são macromoleculares pseudo-micelares que apresentam lipídios e proteínas na sua composição e permitem o transporte de lipídeos pelos fluidos corporais (LEITE JÚNIOR, 2015).

São classificadas de acordo com a sua composição, densidade, tamanho e mobilidade eletroforética em quatro classes: Quilomícrons, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), LDL-c e HDL-c, as quais são formadas a partir da gordura proveniente da dieta, solubilizada pelos sais biliares no intestino delgado, ricas em TG, constituem fonte de TG para o músculo esquelético e tecido adiposo. São metabolizadas pela lipase e após 12 a 14 horas de jejum tornam-se ausentes no plasma. A VLDL é sintetizada no fígado e depois convertida em LDL-c, sua síntese é regulada pela dieta, por hormônios e pela captação de quilomícrons remanescentes no fígado. No indivíduo saudável, a maior parte do colesterol é transportada pela LDL-c, a qual é captada pelo fígado para ser metabolizada. Depois de ligada ao seu receptor membranar, a LDL-c é internalizada e degradada. O catabolismo da LDL-c promove inibição da atividade da HMG-CoA redutase, enzima indispensável à síntese endógena de colesterol (BEVILACQUA et al., 2006).

2.1.3.1 Transporte reverso do colesterol

O transporte reverso do colesterol (RCT) consiste na remoção do colesterol dos tecidos para o fígado pela HDL-c, condição que promove a redução da quantidade do colesterol do sangue. Trata-se do movimento oposto do colesterol, o qual é transferido das células periféricas para o fígado através do compartimento plasmático. Este colesterol deve ser utilizado para atender as demandas metabólicas ou ser excretado nas fezes através da bile (MINEO et al., 2012; LEITE JÚNIOR, 2015).

Nesse sentido, age na captação do colesterol transformando-o em VLDL ou LDL-c ou fazendo seu transporte até ao fígado para a síntese de ácidos biliares (DIPIRO et al., 2008).

Nos últimos anos, a visão dos sistemas de transporte que medeiam a excreção de colesterol intestinal tem sido aprofundada consideravelmente em função do surgimento de indícios de que a parte proximal do intestino delgado é capaz de secretar colesterol ativamente, via efluxo trans do colesterol intestinal (TICE). Em camundongos, o TICE apresentou-se responsável por até 70% da excreção de esteróis fecal neutro (VAN DER VELDE; BRUFAU; GROEN, 2010).

Para Temel e Brown (2012), o risco de doença cardíaca coronária (CHD), é inversamente associado com o colesterol HDL. Considera-se que seus efeitos protetores sejam em função do papel de transporte reverso do colesterol (RCT), processo pelo qual o colesterol das células de

espuma dos macrófagos nas placas ateroscleróticas é mediado pela HDL-c, transportada para o fígado e excretados nas fezes.

Estudos de Leite Júnior (2015), referem que o RCT do colesterol apresenta um papel fundamental na formação, maturação e degradação da HDL-c, e envolve uma intensa transferência de lipídeos entre os tecidos e diferentes classes de proteínas. Podem ser produzidas a partir de moléculas de Apolipoproteína-A (APO A-1) pobres em lipídios secretadas pelo intestino e pelo fígado, ou liberadas pelo processo de lipólise dos quilomicrons e da VLDL, bem como por colisões entre estas lipoproteínas. O Transporte reverso tem sido considerado como a principal função da HDL-c. Com exceção do fígado, as células periféricas obtém o colesterol pela combinação de síntese local e captação de colesterol transportado pelas apoproteínas LDL-c e VLDL, que tiveram origem no fígado.

É de grande relevância a preponderância que as lipoproteínas têm na aterosclerose, visto iniciar-se com a retenção do LDL-c na parede das artérias e uma vez na parede arterial, a LDL-c é oxidada levando à recruta de monócitos para a artéria. Os monócitos transformam-se em macrófagos que vão acelerar o processo de resposta inflamatória, promovendo aumento da coagulação devido ao aumento dos níveis de oxidação do LDL-c e alterar a captação do mesmo pelos seus receptores, que desencadeando plasminogênio, induz a produção de endotelina que causa vasoconstrição e inibe a síntese de óxido nítrico (vasodilatador e inibidor plaquetário) (SILVA, 2006).

2.1.4 Dislipidemia e aterogênese

O entendimento dos mecanismos da aterogênese e suas relações com os fatores de risco são fundamentais para a prevenção e diminuição da morbidade e mortalidade nas doenças cardiovasculares.

A dislipidemia aterogênica tem se pronunciado como fator de risco relevante para o infarto do miocárdio e DCVs, comumente observada em pacientes com obesidade, síndrome metabólica, resistência à insulina, e *Diabetes mellitus* tipo 2, havendo certa unanimidade na literatura de que o estágio mais precoce da aterogênese é caracterizado pelo acúmulo focal de macrófagos, envolvendo resíduos de LDL-c e colesterol, no espaço subendotelial do vaso (KATHIRESA et al., 2006; MUSUNURU, 2010).

Nesse contexto, o endotélio é um tecido com células simples que formam uma barreira na parte interna dos vasos sanguíneos, ele atua ativamente na regulação do tônus vascular e em sua estrutura (LANDMESSER; HORNING; DREXLER, 2004; MAIS; SILVA, 2009). É sensível a

fatores humorais e hormonais, sintetizando e liberando substâncias vasoativas, e a homeostase vascular é mantida pelo balanço entre fatores de contração e dilatação derivados desse endotélio. Com a interrupção desse balanço, que ocorre durante a resposta inflamatória a vasculatura se torna suscetível à formação de placas de atheroma (SZMITKO; WANG; WEISEL; DE ALMEIDA Jr, ANDERSON; VERMA, 2003; MASI; SILVA, 2009).

A disfunção do endotélio é decorrente da diminuição na vasodilatação ou devido a liberação de óxido nítrico ou em função da inibição da expressão da enzima óxido nítrico sintase endotelial. A hipercolesterolemia, hipertensão arterial, diabetes e o uso de tabaco, constituem fatores associados à disfunção endotelial, induzindo um fenótipo pró-inflamatório e pró-trombótico do endotélio, predispondo o indivíduo a aterosclerose (LANDMESSER; HORNING; DREXLER, 2004; MAIS; SILVA, 2009).

O aumento nas concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres causa redução na atividade da enzima óxido nítrico sintase endotelial e conseqüente diminuição do óxido nítrico, levando a um aumento na produção de ânion superóxido pelo endotélio (STEINBERG, 1997; MAIS; SILVA, 2009). Assim, o aumento do conteúdo de lipídeos plasmáticos é um fator de lipotoxicidade vascular, disfunção do endotélio e aterosclerose (MATTERN; HARDIN, 2007; MAIS; SILVA, 2009).

Trata-se de uma doença inflamatória, que começa com uma lesão inicial que dispara uma resposta inflamatória envolvendo linfócitos, macrófagos, células musculares lisas e células endoteliais. Alguns dos gatilhos propostos para lesão inicial na aterosclerose incluem o monóxido de carbono dos cigarros, atrito hemodinâmico sobre o endotélio, hipercolesterolemia, LDL-oxidada (OX-LDL), e mais recentemente agentes infecciosos como o herpes vírus, citomegalovírus, *Helicobacter pylori* e *Chlamydia Pneumoniae* (COUTINHO et al., 2000).

O processo aterogênico é desencadeado pela LDL-c oxidada que está envolvida na ativação de vários componentes vasculares (células endoteliais, macrófagos, células do músculo liso), ela induz diversos genes pró-aterogênicos (molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão celular-vascular-1 (VCAM-1). Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF – A-B) e NOS), uma vez que existe necessidade que ocorra modificação estrutural na LDL-c, a chamada hipótese oxidativa. Dessa forma, as lipoproteínas atravessam as paredes celulares das células endoteliais por transporte vesicular (chamadas de coated pits), o qual não requer receptores específicos. Estas invaginações das membranas celulares se transformam em vesículas de endocitose carregando as partículas de LDL-c para o interior da célula endotelial. O aumento da concentração de LDL-c no interior das células endoteliais induz ao maior consumo de óxido nítrico

e de acentuada produção de radicais livres, que promovem a lesão celular, com acúmulo de lipídeos em seu interior (MATHEUS et al., 2003).

Assim, a formação da placa aterosclerótica tem início com a agressão ao endotélio vascular devido a diversos fatores de risco, dentre eles a elevação da concentração plasmática de LDL-c, após a sua entrada na camada íntima das artérias, sofrem oxidação em ambiente pró-oxidante, causando a exposição de diversos neo-epítomos, que as tornam imunogênicas e desencadeando processo inflamatório com recrutamento de células imunológicas, principalmente monócitos que migram para o espaço subendotelial onde se diferenciam em macrófagos que captam as LDL-c oxidadas, ficam repletos de lipídeos e passam a ser chamados de células espumosas, sendo o principal componente da matriz gordurosa na formação do ateroma (ARAUJO; 2007; SPOSITO et al., 2007; BLASI, 2008).

Nesse contexto, a lesão aterosclerótica frequentemente decorre inicialmente de dois processos básicos: acúmulo de colesterol e a proliferação de células musculares lisas na túnica íntima, desenvolvendo-se, portanto sobre um substrato formado dessas células, leucócitos derivados do sangue, e de uma quantidade variável de tecido conectivo, formando uma placa fibrosa que se projeta para dentro do lúmen, modificando a túnica média e levando a uma série de complicações circulatórias (MELLO; SILVA, 2007; MATOS et al., 2012).

As células musculares lisas migram a partir da camada média arterial, por meio da lâmina elástica, e também se transformam em células espumosas por mecanismo semelhante ao que ocorre com os macrófagos. As células espumosas expostas ao fator de crescimento derivado de plaquetas e ao fator de crescimento de fibroblastos passam a produzir colágeno, elastina e proteoglicanos que envolvem o núcleo lipídico do ateroma maduro (LOTUFO; BENSENOR, 2004; NASCIMENTO et al., 2013b).

No entanto, tanto a oxidação extracelular da LDL-c pela hiper-homocisteinemia, quanto a intracelular pelos macrófagos parecem representar eventos catalisadores do processo aterosclerótico. A partir da oxidação da LDL-c, os macrófagos são ativados, transformando-se em células espumosas, o endotélio vascular libera citosinas (interleucina 1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF α)), que resulta na migração de células musculares lisas e de outras células inflamatórias (monócitos, linfócitos B e T), contribuindo cada vez mais para o processo de aterogênese (GRUNDY, 1999; FILHO G.B, 2000; NASCIMENTO et al., 2013b).

Nesse sentido, o crescimento progressivo da placa de ateroma causa hipóxia em seu núcleo, com liberação de fatores angiogênicos que promovem neovascularização na periferia do ateroma; esses vasos neoformados são delicados e frágeis e facilmente sangram, com consequente perpetuação do processo inflamatório, deposição de mais moléculas lipoproteicas e formação de

hemossiderina (produto de degradação da hemoglobina). As hemorragias no interior da placa de ateroma contribuem para seu crescimento adicional, para a sua ruptura e para o desenvolvimento de eventos trombóticos e embólicos (GRUNDY, 1999; LOTUFO; BENSENOR, 2004; NASCIMENTO et al., 2013c). As maiores consequências da doença são infarto do miocárdio, AVC, aneurisma aórtico e gangrena dos membros inferiores (devido à diminuição da irrigação) (CAMACHO; DIAS MELÍCIO; SOARES, 2007; MATOS et al., 2012).

Estudos de base familiar e de casal indicam um grande componente hereditário de tamanho de LDL-c, variando de 40 a 60% do traço. Genes com essas variantes foram relatados para ser associados com um tamanho de LDL.

No entanto, novos estudos são necessários para maior conhecimento da relação genética, bem como da influencia alimentar no processo aterogênico e consequentemente redução e melhor controle das DCVs, reforçando as vantagens da indução das dislipidemias experimentais com a produção de lesões ateromatosas em curto espaço de tempo, adequado controle dietético associado a fatores ambientais, a possibilidade de estudos sobre a reversibilidade de lesões ateroscleróticas e ensaios pré-clínicos de substancias hipolipidêmicas (CASTRO; ARTONI; PACHECO, 2012).

No contexto da prevenção e proteção do endotélio, o óxido nítrico (NO) é um gás lipossolúvel, produzido pelas células do sistema imune através da ação de enzimas denominadas óxido nítrico sintases (NOS) sobre o aminoácido L- arginina. Estas enzimas podem ser divididas em dois grupos: um constitutivo e outro induzido. No constitutivo, as células do sistema endotelial, neuronal apresentam entre outros NOS, as quais produzem grandes quantidades de NO e são responsáveis pela manutenção do tônus vasculares entre outros efeitos. Já o induzido, a NOS induzida não é encontrada em situações fisiológicas, somente quando as células são devidamente estimulada (com uma combinação de lipossacarídeo bacteriano e citocinas. Nessas condições o NO começa a ser produzido em grandes quantidades e sua produção é importante em situações patológicas onde o sistema imune é estimulado (choque séptico, infecção bacteriana) (MATHEUS et al., 2003).

2.1.5 Novos marcadores de risco de importância no metabolismo lipídico

Novos marcadores de risco relacionados ao metabolismo lipídico têm sido identificados e estudados, dentre os quais se destaca a lipoproteína (a) ou Lp(a), embora os mecanismos de ação associados à Lp(a) ainda não estejam totalmente esclarecidos, sua participação em processos

ateroscleróticos é ativa e silenciosa (MELLO, 2007). Estudos recentes relatam que a Lp(a) é um marcador de risco estável das principais formas de doença vascular, apresentando propriedades aterogênicas e trombóticas (REGO, 2009; PALMEIRA et al., 2013).

A partícula de lipoproteína, descoberta em 1963 (a), é constituída por um complexo macromolecular de estrutura esférica com cerca de 25 nm de diâmetro, na faixa de densidade de 1,05 a 1,12 g/mL, apresenta estrutura semelhante à da LDL-c, pelo tamanho, composição lipídica das partículas e pela presença da Apolipoproteína B100 (Apo B100), diferenciando-se pela presença da apolipoproteína (a) ligada por uma ponte dissulfeto à apolipoproteína B. Sua síntese ocorre no fígado e sua concentração plasmática varia de 1 - 1.000 mg/dL, podendo ser dosada de rotina em laboratório clínico por método baseado em anticorpos monoclonais. Acima de 20 a 30 mg/dL o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular aumenta em cerca de duas vezes, o que não é válido para os afrodescendentes, que já apresentam normalmente níveis mais altos dessa lipoproteína, do que caucasianos e orientais (MARANHÃO, 2014).

Dantas (2012) faz alusão a outros estudos referindo que, a LPL é uma enzima responsável pela hidrólise dos triacilgliceróis presentes nas lipoproteínas plasmáticas principalmente nos quilomicrons e nas lipoproteínas de muito baixa densidade (MORENO et al., 2003).

O aumento nos níveis de LPL favorece a hidrólise intravascular de lipoproteínas (LAPLANT et al, 2009), e a ativação de receptores PPAR, pode regular sua produção, bem como diminuir a expressão de apo – CIII, que é um inibidor dessa enzima (EU et al., 2010).

Estudos confirmando que processo aterosclerótico começa na infância vêm aumentando, e representa um problema de saúde crescente em crianças e adolescentes obesos. A distribuição da gordura visceral e a resistência à insulina representam marcadores importantes de sua progressão. Pesquisas adicionais são necessárias para identificar os indicadores iniciais de alterações lipídicas e para a totalidade da fisiopatologia subjacente. A completa caracterização dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de dislipidemia aterogênica em crianças pode auxiliar na identificação de estratégias preventivas e terapêuticas e, assim, leva à redução da complicação cardiovascular associada mais tarde na vida (D' ADAMO et al., 2015).

2.2 *Euterpe oleracea* MART.

2.2.1 Considerações gerais sobre a *Euterpe oleracea* Mart.

O Brasil é detentor da maior biodiversidade do planeta, possui a maior área contínua de floresta tropical do mundo, a Amazônia. Para Ribeiro e Lacerda (2007), planejar seu uso racional e sustentável constitui um dos grandes desafios da atualidade para garantir seu desenvolvimento social e econômico aliado à conservação dessa biodiversidade. É detentora de inúmeras espécies frutíferas, dentre elas o açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart e *Euterpe precatoria* Mart) com potencial agrônômico, tecnológico, nutricional e econômico (YUYAMA et al., 2011).

Trata-se de espécie nativa dos trópicos que predomina nos solos hidromórficos, nos quais a utilização agrícola é bastante restrita, servindo de proteção para solos por apresentar uma disposição constante de folhas e sistema radicular abundante. Possui característica de cultura permanente com possibilidades de desenvolvimento de uma fruticultura regional e exploração florestal, apresentando brotação constante (MATHEUS et al., 2013).

Representa grande importância socioeconômica para a região Amazônica, servindo de subsistência ao homem, que de forma prática o aproveita na sua totalidade. Constituindo a principal base alimentar da população, notadamente dos ribeirinhos da região. (EMBRAPA, 2005).

É comumente denominada açazeiro, açai preto, ou “iça-çai” pelos indígenas que significa a fruta que chora, é uma palmeira típica da floresta de várzea da região Amazônica, entretanto pode ser cultivada também em solos de terra firme. Predomina de forma espontânea nos estados do Amapá, leste do Amazonas, Maranhão e Pará, e estendendo-se ainda pelas Colômbia, Equador, Guianas, e Venezuela. O Brasil se posiciona como o maior produtor, consumidor e exportador desse produto (MENEZES et al., 2008). Segundo Oliveira et al., (2002) e Dapont, (2012), a espécie apresenta a classificação botânica expressa na **Tabela 1**.

Tabela 1- Classificação Botânica da *Euterpe oleracea* Mart.

Classe	Liliopsida
Subclasse	Arecidae
Super-ordem	Lilianaes Takht
Ordem	Arecales Bromhead
Família	Arecaceae
Gênero	<i>Euterpe</i>
Espécie	<i>Euterpe oleracea</i> Martius

Fonte: (OLIVEIRA et al., 2002; DAPONT, 2012).

Cresce por brotações sucessivas a partir de uma unidade de dispersão, formando touceiras de até 25 troncos ou estirpes (caule), sem ramificações, atinge de 4 a 30 metros de altura, e contém dez folhas em média. No topo de cada estirpe surgem inflorescências onde nascem de 4 a 8 cachos com centenas de frutos (CALVAZARA, 1972; FAVACHO, 2009).

Na Amazônia brasileira o período de frutificação pode ocorrer durante todo o ano, sendo a estação menos chuvosa (julho a dezembro) o período de maior abundância quando se obtém suco de melhor qualidade (CAVALCANTE, 1996; MIRANDA et al., 2001). Cada palmeira produz, em média, de 3 a 4 cachos por ano, com variação de peso de 3 a 6 kg (ROGEZ, 2000).

Os frutos são globosos, coloração arroxeada quase preta, diâmetro de 1,0 a 2,0 cm, dotados de uma única semente, envolta por tecido fibroso e coberta por camada de polpa fina e seca, porém levemente oleosa com espessura quase sempre igual ou inferior a 01 mm (ISAE/ FGV, 2003). Trabalho de Gantuss (2006) demonstra que em amostras do fruto açaí procedentes do Município de Mazagão do Estado do Amapá foi constatado que apenas 17% corresponde a parte comestível e 83% ao caroço.

2.2.2 Composição química da *Euterpe Oleracea* Mart.

Sua cor roxa se deve a elevada concentração de pigmentos com alta capacidade antioxidante chamado antocianina, sendo ainda indicador da qualidade dos frutos e da bebida elaborada a partir deles, o açaí (POMPEU et al., 2009).

Com relação às características físico-químicas do fruto de açaí, várias pesquisas expressam os teores de macro e micro nutrientes por grama de matéria seca (ROGEZ, 1996; GANTUSS, 2006).

É constituído de 13% de proteína, 48% de lipídeos, 1,5% de açúcares totais, rico em compostos fenólicos (principalmente antocianinas), ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados (fitosteróis, β -sitosterol), e fibra alimentar, além de ser uma boa fonte de potássio, magnésio, cálcio, fósforo, sódio e vitaminas E e B1. Estudos demonstram que o consumo de açaí melhora o perfil lipídico sérico e pode exercer um efeito ateroprotetor, entretanto, não se sabe se o açaí interfere em metabolismo do colesterol hepático (SOUZA et al., 2012).

Sua polpa ganhou atenção internacional como alimento funcional, por apresentar na sua composição química polifenóis como antocianinas, proantocianidinas (especificamente cianidina 3-*O*-glicósido e cianidina 3-*O*-rutinosídeo) e outros flavonoides, suas propriedades farmacológicas

gerais estão relacionadas ao seu efeito antiproliferativo, anti-inflamatório, antioxidante e cardioprotetores (BONOMO et al., 2014).

Nesse contexto, entre os compostos com propriedades funcionais em alimentos, as substâncias com atividade antioxidante têm se destacado, uma vez que auxiliam a proteger o organismo humano contra o estresse oxidativo, evitando e prevenindo uma série de distúrbios crônico-degenerativos (CANUTO et al., 2010; YAHIA, 2010). Existem muitas evidências que a dieta rica em polifenóis esteja envolvida na proteção contra os riscos cardiovasculares (ROCHA et al., 2006).

Estudos para determinação da concentração de polifenóis no açaí demonstraram que o extrato de semente possui maior concentração de polifenóis (28,3%), seguido pelo extrato de fruto total (25,5%) e o extrato de casca (15,7%) (SILVA et al., 2014).

Os compostos fenólicos são de fundamental importância nas doenças relacionadas a alta produção de radicais livres, especialmente diabetes, dislipidemias e câncer. Dentre esses compostos pode-se destacar os ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, cumarinas e carotenóides (MARLES; FARNSWORTH, 1995; PEREZ et al., 1998; OJEWOLE, 2002; ASLAN et al, 2010; CARVALHO et al., 2016).

Entre os fitoquímicos, os compostos fenólicos, apresentam grande potencial antioxidante *in vitro* e *in vivo*, sendo capazes de limpar radicais espécies de oxigênio (ROS) e, conseqüentemente, reduzir o dano oxidativo celular (SPORMANN et al., 2008).

Experimento desenvolvido com os frutos referem sua riqueza em compostos de antocianina (cianidina 3-Oarabinoside, Cianidina-3-glicosídeo, e cianidina 3-Orutinoside) e outros polifenóis, tais como epicatequina, catequina homoorientina, orientina, isovitexina, e taxifolina deoxihexose. Evidências sugerem que a dieta rica em polifenóis pode estar envolvida na proteção contra o risco cardiovascular, e o efeito benéfico dos polifenóis pode ser devido a ação dos antioxidantes que fazem aumentar a biodisponibilidade de óxido nítrico, a vasodilatação, apresentando assim propriedades antihipertensiva (OLIVEIRA et al., 2010).

Esses bioativos desempenham papel fundamental na proteção contra agentes oxidantes, como os raios ultravioletas, poluição ambiental, e substâncias químicas presentes nos alimentos, entre outros. Atuam também como agentes terapêuticos em um elevado número de patologias, tais como aterosclerose e câncer. Como não podem ser sintetizados pelo organismo humano, uma vez que são representativos da parte não energética da dieta humana, são obtidos por meio da ingestão de alimentos que os contenham ou de suplementos nutritivos. Como fontes de flavonoides têm-se as frutas, verduras, cerveja e vinho e soja (GONÇALVES, 2008; MALCHER, 2011).

No contexto dos compostos fenólicos, o açaí detém elevado teor de antocianinas, substâncias bioativas com importantes funções e ações biológicas, dentre elas a atividade antioxidante, podendo atuar na prevenção de doenças crônico-degenerativas (HOGAN et al., 2010; YUYAMA et al., 2011).

O comportamento dos compostos antioxidantes fenólicos está relacionado com a sua capacidade de quelar metais, inibir a lipoxigenase e capturar os radicais livres como o 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (DECKER, 1997; COELHO; SALAS-MELLADO, 2014).

Esses radicais livres são moléculas liberadas pelo metabolismo do corpo com elétrons altamente instáveis e reativos, que podem causar doenças degenerativas, envelhecimento e morte celular. Podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) (COELHO; SALAS-MELLADO, 2014) e está relacionado com o seu sítio de formação (YUTW; ANDERSON, 1997; ANDERSON, 2006; VASCONCELOS et al., 2014).

A instalação do estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses. Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com conseqüente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). A cronicidade desse processo tem relevantes implicações sobre a etiologia de numerosas enfermidades crônicas não transmissíveis como a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; BARBOSA et al., 2010).

Análises efetuadas com açaí provenientes de municípios dos estados do Pará e Amazonas revelam que a concentração de antocianina (ANC) variou de 128,4 a 868,9 mg/ 100 g⁻¹ na base seca (Tabela 2), condição justificada em função da presença de pigmentos entre as populações de açaí, assim como a possível instabilidade da antocianina durante o processamento (COHEN et al., 2006; YUYAMA et al., 2011).

Pesquisas confirmam que as antocianinas se tornaram conhecidas por suas diversas propriedades farmacológicas e medicinais, incluindo anticarcinogênica, anti-inflamatória e antimicrobiana, prevenindo a oxidação de proteínas de baixa densidade (LDL-c), enfermidades cardiovasculares e doenças neurológicas (KUSKOSKI et al., 2002; ALASALVAR et al., 2005; MENEZES et al., 2008).

Ocorrem naturalmente em uma ampla variedade de plantas, e a associação entre o consumo de frutas com a redução de certas doenças crônicas tem pelo menos em parte, sido relacionado a presença de ANC e outros polifenóis (CARDONA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2014).

Tabela 2 - Teores de ANC e qualidade da cor em relação aos parâmetros L, a, b, nas diferentes populações de açaí.

Procedência	Antocianinas (mg 100g ⁻¹)	L	A	B	C
Manaquiri	868.91	39.58	61.25	3.99	61.38
Benjamim Constant	631.04 ^b	51.49	57.20	-2.66	57.26
Ilha das Onças (Pará)	544.59 ^{bc}	45.29	56.22	2.56	56.28
Barcelos	468.00 ^{bcd}	51.77	49.47	-3.25	49.58
Anamã	464.61 ^{bcd}	49.92	51.05	4.38	51.24
Atalaia do Norte	453.51 ^{bcd}	58.83	46.09	-2.42	46.75
Tabatinga	399.45 ^{cd}	61.84	39.22	3.05	39.34
Tabatinga 3	313.09 ^d	57.71	36.42	15.09	39.42
Parintins	128.40 ^e	73.04	18.10	2.03	18.21
Correlação	-0.900	-0.900	-	0.219	0.915

L (luminosidades de 0 a 100 - preto e branco), a (eixo da cromaticidade, verde – a ao vermelho +a) e b (eixo da cromaticidade, azul - b ao amarelo + b) por meio do colorimétrico de Hunter Color QUEST II. A correlação entre antocianinas presentes na solução a versus C (croma) caracterizou a saturação ou intensidade da cor.

Fonte: Yuyama et al., (2011).

No entanto, a absorção de ANC é limitada (cerca de 1%), condição associada a sua alta polaridade, devido a glicosilação que ocorre dada a presença de múltiplos grupos hidroxilas que fazem parte de sua estrutura (KREWER et al., 2006; ICHIYANAGI et al., 2008; JAHREIS et al., 2008, COELHO; SALAS-MELLADO, 2014).

As antocianinas presentes no açaí são pigmentos naturais importantes, com interessantes propriedades antioxidantes comprovadas. No entanto, é importante seu adequado armazenamento para preservar a sua atividade antioxidante, uma vez que as antocianinas são instáveis quando expostos à luz e temperaturas de congelamento (WANG et al., 1996; DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; KUSKOSKI et al., 2006; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; SANABRIA; SANGRONIS, 2007; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; PACHECO-PALENCIA; TALCOTT, 2010; GONÇALVES; SANTOS; SREBERNICH, 2011).

No entanto, no sentido de identificar formas de prevenir aterosclerose e outras doenças, as recentes pesquisas tem procurado identificar formas de prevenir aterosclerose e entre outras enfermidades por meio da dieta, uma vez que o alto teor de frutos e vegetais pode inibir o desenvolvimento de DCVs. Os efeitos benéficos destes alimentos têm sido relacionados a presença de polifenóis e outros nutrientes, tais como ácidos graxos insaturados, fibras e fitosteróis, pois

além dos seus efeitos antioxidantes, estes alimentos têm a capacidade de alterar os níveis de colesterol, especialmente o LDL- c no sistema circulatório (SOUZA et al., 2010b).

Segundo dados da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013), quanto mais elevado o LDL-c, mais frequente a doença aterosclerótica do coração que acomete principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre, formando a placa aterosclerótica que inicia com agressão ao endotélio vascular, e essa disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da camada íntima às lipoproteínas plasmáticas favorecendo a retenção das mesmas no espaço subendotelial.

Nesse sentido, todos os fatores que exercem uma ação inibidora sobre influxo de colesterol e/ou para melhorar o efluxo de colesterol pode efetivamente prejudicar sua absorção no organismo ou modular a homeostase do colesterol e servir principalmente como um tratamento para dislipidemia e doenças cardiovasculares (ZHAO, 2016).

Assim, além das propriedades dos polifenóis, trabalhos de Pacheco-Palencia, Mertens-Talcott e Talcott (2008) comprovam que o óleo da *Euterpe oleracea* Mart (OFEO) é composto de ácido oleico 60%, ácido palmítico 22%, ácido linoleico 12% e 6% de ácidos palmitoléico e esteárico, além de traços de outros ácidos graxos. Pelo menos cinco esteróis também foram identificados, incluindo o β -sitosterol (78%), estigmasterol (6,5%), δ 5-avenasterol (6,5%), campesterol (6,0%), e o colesterol (2,0%), mostrando assim que sua composição química torna este óleo uma alternativa promissora para alimentos, suplementos, cosméticos e medicamentos.

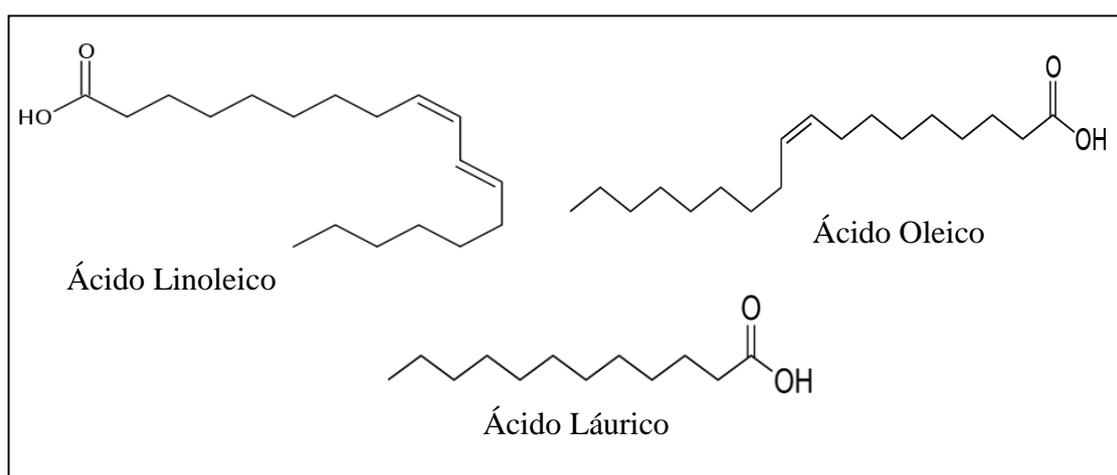


Figura 1. Estruturas químicas dos AGI (Oleico e Linoleico) e AGS (Láurico)

2.2.3 Óleo fixo da *Euterpe oleracea* Mart. (OFEO)

O estudo de Silva e Rogez (2013) refere que o OFEO contido nos frutos do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart), representa aproximadamente 50% da matéria seca total da polpa e apresenta perfil lipídico rico em ácidos graxos mono e poli-insaturados, configurando característica que o assemelha ao azeite de oliva. Dessa forma, o óleo do açai apresenta-se como um subproduto valioso dado as suas propriedades sensoriais únicas e os seus potenciais benefícios à saúde.

Esse perfil lipídico do açai demonstra tratar-se de alimento fonte de ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o oleico, e quantidades consideráveis dos ácidos graxos essenciais poli-insaturados como linoleico e linolênico, fato considerado de relevância para os estudos que avaliam o impacto desses ácidos graxos na redução de colesterol total, LDL-c e triacilglicerois sanguíneos sem alterar o HDL-c e a VLDL (AVIRAM; ELIAS 1993; LIMA et al., 2000; LIMA et al., 2007; YUYAMA et al., 2011).

Estudos comparativos do óleo de açai, com outros óleos demonstram que sua constituição em ácidos graxos monoinsaturados (60%), e poli-insaturados (14%), assemelha-se ao óleo de oliva e abacate, (Tabela-3) (ROGEZ, 2000; CARRAPEIRO 2010).

Tabela 3. Composição em ácidos graxos dos óleos de oliva, açai e abacate.

Ácidos graxos (%)	Óleo de oliva*	Óleo de açai**	Óleo de abacate***
C16:0 Palmítico	20	22.0	28.1
C16:1 Palmitoleico	3.5	2.0	9.1
C18:0 Esteárico	5.0	2.0	0.8
C18:1 Oléico	83.0	60.0	45.7
C18:2 Linoléico	21.0	12.0	15.4
C18:3 Linolênico	0.9	Traços	0.8
C20:0 Araquídico	0.6	2.5	Nd

nd- Não-detectado. Fontes: * BRASIL (1999), **ROGEZ (2000), ***FREITAS et al., (1993);

2.2.4 Estudos farmacológicos com OFEO

Recentemente muita atenção tem sido dispensada a capacidade antioxidante do açai, como alimento funcional, nutracêutico e em dermocosméticos (COISSON et al., 2005; LICHTENTHÄLER et al., 2005; AGRA et al., 2007).

Entretanto a composição química do OFEO, em conjunto com os mecanismos já descritos na literatura, sugere sua ação no processo inflamatório agudo e crônico através da inibição de mediadores derivados a partir de ácido araquidônico. Infere também que essa atuação ocorre na fase aguda e crônica dos processos inflamatórios (FAVACHO et al., 2011).

Estudo conduzido por Pacheco-Palencia et al. (2008), demonstrou que o óleo açaí teve influência significativa sobre a proliferação celular, sugerindo propriedades anti-proliferativa para polifenóis em culturas de células de câncer.

Emulsões múltiplas contendo óleo de açaí podem ter aplicações potenciais, como fixação de protetores solares, veículo importante para uso tópico, mas não indicado como filtro solar natural, pela não absorção da radiação UV, e por não aumentar o valor do fator de proteção solar (SPF). No entanto, é de relevância sua utilização em cosmético por possuir propriedades antioxidantes, antienvhecimento e atividades anti-inflamatórias (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011).

O óleo do fruto do açaí tem ação antidiarreica (PLOTKIN BALICK, 1984; FAVACHO, 2011). E sua raiz, combinada com *Carica papaya*, *Citrus sp.* (Limão) e *Quassia amara* apresenta potencial antimalárico (VIGNERON et al., 2005).

Para Casa Nova e Medeiros (2010), os benefícios atribuídos ao consumo de ácidos graxos poli-insaturados ω -3 englobam o efeito hipotensor, ação antitrombótica e anti-inflamatória, a melhora do perfil lipídico e da função vascular.

Mas, necessário se faz a observância da estabilidade oxidativa de óleos alimentícios, pois sua ação depende de fatores como estrutura química dos ácidos graxos, teor e tipo de compostos pró-oxidantes e/ou antioxidantes, condições e tempo de armazenamento.

Tais fatores em conjunto afetam a oxidação de óleos, sendo complexo identificar seus efeitos individuais. Assim, torna-se premente considerar os riscos da oxidação lipídica, processo de deterioração responsável por provocar alterações que afetam as qualidades sensoriais e nutricionais dos óleos alimentícios, devido à degradação das vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais, comprometendo a integridade e segurança deste alimento, através da formação de compostos potencialmente tóxicos.

2.2.5 Ácidos graxos e suas propriedades

Os ácidos graxos são estruturas químicas com função orgânica de ácido carboxílico, formados por cadeias hidrocarbonadas longas, que constituem uma das unidades fundamentais dos lipídios. São classificados de acordo com o número de átomos na cadeia carbônica, número de

duplas ligações e quanto à posição da primeira dupla ligação, e estão presentes nas mais diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. Em humanos os ácidos linoleico (ω -6, CLA) e alfa-linolênico (ω -3, ALA) mantêm sob condições normais as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Participam também da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular, sendo denominados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo a partir dos ácidos graxos provenientes da síntese do novo (MARTIN et al., 2009).

Além de serem utilizados como substratos energéticos, alguns AG são incorporados nas membranas celulares, participam da sinalização intracelular, influenciam a atividade de fatores de transcrição e a expressão de diversos genes e são precursores da síntese de eicosanoides (como o ácido araquidônico e o eicosapentaenóico), podendo regular a resposta inflamatória. Novos estudos descrevem que o sistema nervoso central (SNC) tem papel chave na regulação da inflamação. Segundo alguns trabalhos, o consumo de determinados lipídios, pode contribuir na resolução da fase inflamatória presente durante o processo de cicatrização de feridas (FAVACHO et al., 2011)

Os ácidos graxos insaturados, ácidos linoleico e linolênico apesar de apresentarem importantes funções no metabolismo humano, não podem ser sintetizados pelos mamíferos, por não possuírem a enzima Δ 9-dessaturase, sendo assim chamados de ácidos graxos essenciais - AGE (FERREIRA et al., 2012; RODRIGUES, 2013).

Nesse sentido, o ω -3 é mais relevante quanto ao efeito cardioprotetor por apresentar três mecanismos principais: anti-inflamatório, antitrombótico e antiarrítmico, reduzindo o número de moléculas pró-inflamatórias (RALLIDIS et al., 2003), o ω -3 e o ω -6 reduzem a produção de prostaglandinas e leucotrienos pró-inflamatórios originados pelo ácido araquidônico (DENISE et al., 2015)

Os efeitos cardioprotetores dos AG (20:4n-6), especialmente o ácido α -Linolênico (ALA), ácido Eicosapentaenóico (EPA) e o ácido Decosahexaenóico (DHA), tem sido definidos por estudos epidemiológicos em humano, animais, e por estudos em cultura de células. Apesar de ALA, EPA, e DHA estarem agrupados em conjunto como ácidos graxos poli-insaturados-PUFA (ω -3), há evidência sugerindo que os ácidos graxos individuais podem ter seletividade e efeitos potencialmente independentes sobre a saúde cardiovascular. ALA é geralmente derivado de fontes botânicas (sementes de chia e de linho), já o EPA e o DHA são encontrados em peixes, suplementos de óleo de peixe e outros produtos do mar. Os peixes não sintetizam estes ácidos

graxos de cadeia longa, mas acumulam EPA e DHA pelo consumo plâncton e algas da cadeia alimentar marinha (POUDYAL et al., 2011).

Segundo Lottenber, (2009), Oliveira, Costa e Rocha, (2015), a LDL em seu estado nativo não apresenta propriedades aterogênicas, sendo necessária a modificação oxidativa dessa lipoproteína para que ela se torne altamente lesiva ao endotélio vascular, e as gorduras monoinsaturadas são mais resistentes ao estresse oxidativo, assim uma dieta rica nestes ácidos graxos faz com que as partículas de LDL-c tornem-se menos susceptíveis à oxidação. Na substituição de gorduras saturadas por monoinsaturadas, as concentrações de colesterol total são possivelmente reduzidas e HDL-c aumentadas.

Estudos com ratos obesos suplementados com ω -3 do tipo EPA e DHA, mostram melhora do perfil lipídico, com diminuição dos triglicerídeos e aumento do HDL-c. Estes tipos de ω -3, presentes no óleo de peixe ou de krill, agiram diminuindo a concentração hepática de triacilgliceróis e da LDL-c e ainda a secreção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Tratando-se assim de óleos com capacidade de modular a concentração de endocanabinoides no tecido adiposo visceral, fígado e coração, diminuindo sua concentração nos tecidos e os substratos disponíveis para sua biossíntese (BATETTA et al., 2009; MOLENA-FERNANDES et al., 2010; LEITE; JAMAR; CARANTI, 2014).

A fração HDL-c, possui a capacidade de interagir com as células na vascularização sistêmica, revertendo a disfunção celular do endotélio, estimulando a produção de prostaciclina, diminuindo a agregação plaquetária, com inibição da apoptose celular do endotélio e da oxidação do LDL-c, apresentando assim entre outras funções, efeito antiaterogênico (TOTH, 2004).

Níveis séricos aumentados de HDL-c diminuem o risco relativo para as DCVs. O mecanismo para esse efeito protetor ocorre pela habilidade de o HDL-c fazer o transporte reverso do colesterol, ou seja, de removê-lo das células e transportá-lo para o fígado para posterior excreção. O HDL-c também previne a oxidação e agregação das partículas de LDL-c na parede arterial, diminuindo o potencial aterogênico dessa lipoproteína (SANTOS et al., 2007).

Para Bevilacqua et al. (2007), as hiperlipidemias apresentam-se como alterações metabólicas que ocorrem quando os níveis de lipídios circulantes estão aumentados na corrente sanguínea. Assim, a proeminência da hiperlipidemia como problema de saúde pública está na sua relação com as doenças cardiovasculares, principalmente o (AVC) e a doença aterosclerótica coronariana - razões importantes de morte e incapacidade física em nosso meio, com repercussões importantes nos custos da assistência médica no Brasil.

As doenças cardiovasculares são causa crescente e relevante de óbitos em todo o mundo e as dislipidemias constituem importantes fatores de risco para seu desencadeamento, uma vez que

não são passíveis de monitoramento direto pelo paciente, e as complicações das dislipidemias surgem de forma insidiosa (CELESKI et al., 2013).

No contexto, das doenças que cursam com a dislipidemia situa-se também a síndrome metabólica, considerada a anormalidade metabólica que se caracteriza pelo aparecimento simultâneo no indivíduo de um conjunto de fatores de risco cardiovascular como obesidade central, dislipidemia, hipertensão arterial, resistência à insulina, hiperinsulinemia, intolerância à glicose e Diabetes tipo II. Estudos mostram que 20% a 25% da população mundial, vêm apresentando comportamento crescente dessa patologia nas últimas décadas. (FELIPE-de-MELO et al., 2011).

Assim, considerando a composição química do OFEO, aliada a grande disponibilidade dessa espécie *Euterpe oleracea* na região amazônica, ao grande impacto das DCVs decorrentes das dislipidemias, na saúde pública, bem como a falta de estudos com o OFEO, na prevenção e controle das dislipidemias, o presente trabalho propôs investigar a ação do OFEO sobre as dislipidemias em ratos, induzida pela GSC e pelo Triton – TRT, e na síndrome metabólica de ratos com diabetes induzida por aloxana.

3.1 GERAL

Estudar a ação do óleo fixo da *Euterpe oleracea* Mart. (OFEO) sobre dislipidemia em ratos Wistar.

3.2 ESPECIFICOS

- Determinar a composição química do OFEO e da GSC;
- Determinar as propriedades físico-químicas do OFEO;
- Investigar possíveis alterações no perfil bioquímico de animais que tiveram a dislipidemia induzida por GSC e foram tratados com OFEO;
- Avaliar possíveis efeitos do OFEO, sobre parâmetros de peso corporal, ingestão alimentar, percentual de gordura abdominal e peso dos órgãos, de animais com dislipidemia induzida por GSC;
- Investigar o efeito do OFEO sobre a formação de processo aterogênico na artéria aorta de ratos com dislipidemia induzida por GSC utilizando MEV;
- Avaliar o efeito do tratamento com OFEO sobre o perfil lipídico de ratos com dislipidemia induzida pelo TRT;
- Investigar o efeito do tratamento com OFEO na síndrome metabólica de ratos com diabetes induzida por Aloxana.

Effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) oil on *Cocos nucifera* L. saturated fat induced dyslipidemia in Wistar rats.

Subject at Journal of Medicinal Food

General objective

to investigate the effect of OFEO on hyperlipidemia induced by *Cocos nucifera* L. saturated fat (GSC) in Wistar rats.

Journal of
MEDICINAL FOOD

Journal:	<i>Journal of Medicinal Food</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Carvalho, José; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos ; Faria e Souza, Belmira ; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos Carvalho, Helison; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos Taglialegna, Talisson; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos Alves Barros, Albenise ; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Cunha, Edilson ; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos Ferreira, Irlon ; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratorio de Biocatalise e Biotransformacao em Quimica Organica Keita, Hady ; Universidade Federal do Amapá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Fármacos Navarrete, Andres ; Universidad Nacional Autónoma de México, Farmacia
Manuscript Keywords (Search Terms):	Euterpe oleracea Mart., Oil, Açaí, Fatty acids, Dyslipidemia, Atherosclerosis
Keyword:	Anthocyanins, antihyperlipidemic effect, Antioxidants, bloodglucose, bodyweight
Manuscript Keywords (Search Terms):	Euterpe oleracea Mart., oil, açai, Fatty acids, Dyslipidemia, Atherosclerosis

Effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) oil on *Cocos nucifera* L. saturated fat induced dyslipidemia in Wistar rats

Belmira S. Faria e Souza^{a,b}, Helison O. Carvalho^{a,c}, Talisson Taglialegna^a, Albenise Santana A. Barros^a, Edilson Leal da Cunha^{a,b}, Irlon Maciel Ferreira^d, Hady Keita^a, Andres Navarrete^e, José Carlos Tavares Carvalho^{a,*}

^aLaboratório de Pesquisa em Fármacos, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá, Rod. JK, KM 02, 68902-280, Macapá, Amapá, Brasil.

^bPrograma de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá

^cPrograma de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá

^dLaboratório de Biocatálise e Biotransformação em Química Orgânica, Curso de Química, Universidade Federal do Amapá

^eLaboratório de Farmacologia de Productos Naturales, Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de México.

*Author corresponding: email: farmacos@unifap.br

ABSTRACT Dyslipidemia is caused by disturbances in lipid metabolism that lead to chronic elevations of serum lipids, especially LDL-cholesterol and triglycerides, increasing the risk of metabolic syndrome, obesity, diabetes, atherogenic processes and cardiovascular diseases. The oil from the fruits of *Euterpe oleracea* (OFEO) is rich in unsaturated fatty acids with potential for treating alterations in lipid metabolism. Here we aimed to investigate the effect of OFEO on hyperlipidemia induced by *Cocos nucifera* L. saturated fat (GSC) in Wistar rats. Chromatographic data showed that unsaturated fatty acids account for 66.08% in the OFEO, predominating the Oleic acid (54.30%) and 33.92% of saturated fatty acids (palmitic acid 31, 6%). GSC-induced dyslipidemia resulted in an increase in total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, glucose and liver and abdominal fat, as well as atherogenic processes in the thoracic aorta. OFEO treatment did not reduce hypertriglyceridemia but did reduce total cholesterol and LDL-cholesterol, thus contributing to the anti-atherogenic action of the OFEO. OFEO treatment inhibited the formation of atheromatous plaques in the vascular endothelium of the treated rats, as well as those who were treated with simvastatin. Our findings suggest that OFEO has anti-hyperlipidemia and anti-atherogenic effects in a rat model of dyslipidemia.

KEY WORDS: *Euterpe oleracea* Mart., oil, açaí, Fatty acids, Dyslipidemia, *Cocos nucifera* L., Atherosclerosis.

INTRODUCTION

Dyslipidemia disorders are a result of disturbances in lipid metabolism that can cause chronic elevations of serum lipids, especially LDL-cholesterol and triglycerides, and thus increase the risk of various complications, including metabolic syndrome, obesity, diabetes, atherogenic processes and cardiovascular disease.¹ Atherosclerosis is a progressive degenerative disease of the blood vessels due to deposition of LDL-cholesterol molecules.² Atherosclerosis has a progressive-insidious character and promotes occlusion of blood vessels that can lead to various cardiovascular complications.^{3,4}

These lipid abnormalities are responsible for 56% of heart disease and are associated with a third of mortality worldwide. Thus, many studies have addressed various treatments to prevent and control this metabolic condition.⁵ The biodiversity of the Amazon provides many plants rich in bioactive compounds. The polyphenols and antioxidant unsaturated fatty acids (UFAs) present in Açai (*Euterpe oleracea* Mart) has been widely studied in the control of metabolic parameters,⁶ metabolic syndrome,⁷ atherosclerosis,⁸ oxidative stress,⁹ hypercholesterolaemia,¹⁰ and inflammatory processes, among others.¹¹

The *E. oleracea* Mart is a member of the family Arecaceae and is commonly known as açai or "iça-iça" by the Indians, which translates as the fruit that cries. *E. oleracea* is a typical palm of lowland rainforest from the Amazon region, but can also be grown in upland soils and predominates spontaneously in the states of the northern region of Brazil, extending up the Guianas, Colombia, Ecuador and Venezuela.¹² *E. oleracea* Mart has high agronomic, technological, nutritional and therapeutic potential.¹³

The açai berry fruit is composed of about 13% protein, 48% fat and 1.5% total sugars, is rich in phenolic compounds (mainly anthocyanins), mono- and poly-UFAs and dietary fiber, as well as being a good source of minerals such as potassium, magnesium, calcium, phosphorus, sodium and vitamins E and B1.¹⁰

The oil contained in the açai fruit accounts for approximately 50% of its total dry matter, and its lipid profile is rich in mono- and poly-UFAs, which account for more than 75% of its lipid composition, with oleic and linoleic fatty acids being major components.¹⁴

Several studies have described the potential of UFAs in the treatment and prevention of lipid metabolism disorders, especially hyperlipidemia and dyslipidemia.^{15,16} Here we aimed to investigate the effect of *E. oleracea* Mart oil treatment in rats with *Cocos nucifera* L. saturated fat induced dyslipidemia.

MATERIALS AND METHODS

Obtaining the Euterpe oleracea Mart. oil (OFEO)

The oil from the fruits of *Euterpe oleracea* (OFEO) was obtained from an Açai Amapá Agro-Industrial Company (Sambazon), located in the city of Macapá, State of Amapá, Brazil. The extraction method has been standardized by the company and cannot be described here because of patent protection.

Obtaining of Cocos nucifera L. saturated fat (GSC)

The GSC was obtained from the Cocos Empire Company - Belo Horizonte Municipal Market, State of Minas Gerais, Brazil. The GSC extraction method was performed by mechanical pressing of endocarp, followed by the addition of water (1:1 [w/v]) and separation of the fat by heating at 80°C, as described in Handayani et al.¹⁷

Transesterification of OFEO and GSC by enzymatic catalysis

OFEO or GSC (150 mg) were added to 5 ml vial bottles, followed by 475 μ L of ethanol and 15 mg of acrylic resin of *Candida antarctica* lipase (CAL-B \geq 5,000 U/g). The reaction was maintained at 32°C under orbital shaking (130 rpm) (Tecnal model TE-421-Brazil) for 24 h. The enzyme reaction was then transferred to a separator funnel and the lower phase (glycerol) was separated, and the upper layer (monoester) was washed with distilled water (2 \times 5 mL). The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and filtered. Finally, the product was purified by column chromatography on a flash silica gel with a mixture of ethyl acetate and *n*-hexane (9:1) as eluent.¹⁸

Analysis of OFEO and GSC by GC-MS

Coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analyses were performed on a Shimadzu system/GC 2010 coupled to a self-gun Shimadzu/AOC-5000 and mass detector (Shimadzu MS2010 Plus) with electron impact (70 eV), equipped with a fused silica column of DB-5MS (Agilent Advanced J & W 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m.). The parameters were as follows: split ratio, 1:20; helium as carrier gas (65 kPa); injection volume, 1.0 μ L; injector temperature, 250°C; detector temperature, 250°C; initial column temperature, 50°C for 1 min; heating rate, 5°C min⁻¹ to 250°C. The total analysis time was 35 min.¹⁹

Animals

This study was approved by the Ethics Committee on Animal Use of Amapá Federal University - UNIFAP under Protocol No. 013/2015 on 17 September 2015 – CEUA/UNIFAP.

Thirty-five male Wistar rats weighing 210 ± 20 g were used. The rats were kept in standard cages for rodents in an air-conditioned environment with a controlled temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, humidity of $50 \pm 10\%$ and a photoperiod of 12 h, with free access to standard rodent food and water ad libitum.

Treatments and induction of hyperlipidemia

The animals were divided randomly into five groups ($n = 7$ per group): (1) treated with 1226 mg kg^{-1} OFEO daily for 40 days (OFEO group);¹¹ (2) treated with 1226 mg kg^{-1} OFEO daily for 40 days, plus 2 ml day^{-1} GSC from the 20th to the 40th day (OFEO+GSC group); (3) treated with 0.5 ml of distilled water for 40 days and, from the 20th to the 40th day, 2 ml day^{-1} of GSC (GSC group); (4) treated with $20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ simvastatin for 40 days and, from the 20th to the 40th day, 2 ml day^{-1} GSC (SIN+GSC group); and (5) the DW group, treated with only 0.5 ml of distilled water daily for 40 days.²⁰

Body mass changes and caloric consumption of the animals

Animal body weight was measured every four days throughout the treatment period. Variation in weight increase (VWI) was calculated by subtracting the final animal weight (F1) from the initial animal weight (F0). The power consumption value was calculated by dividing the food intake by the consumption of OFEO and GSC; these values were expressed in kilocalories (Kcal) according to the energetic properties of the lipids, carbohydrates and proteins.

Biochemical analysis

After 41 days, the animals were fasted for 12 h and then anesthetized with sodium thiopental 45 mg kg^{-1} intraperitoneally. Blood (1.5 ml) was then collected via the retro-orbital plexus and centrifuged for 10 min at 5,000 rpm. The collected blood was then subjected to biochemical analyses (glucose, triglycerides, total cholesterol and fractions, aspartate aminotransferase [AST] and alanine aminotransferase [ALT], urea and creatinine). All tests were performed using reagents and kits from Doles Reagents and Equipment Lab Industry Co. (Goiânia, GO, Brazil), and samples were analyzed using a UV-VIS UVmini-1240 model spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).²¹

Removal of organs and aortic analysis by Scanning Electron Microscopy (SEM)

On the 41st day, the animals were euthanized and their organs (liver, kidney, pancreas, spleen, heart, lungs, and abdominal fat) removed and weighed on an electronic analytical balance (Model Bioprecisa FA-2104N). The isolation of the aorta was performed from the aortic arch to the iliac bifurcation. The thoracic region was divided into 0.5 cm sections and analyzed by scanning electron microscopy (SEM, Hitachi Model-TM3030PLUS) for detecting atherogenic processes.

Statistical analysis

Value are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). Analysis of variance (ANOVA, one way) followed by Tukey tests for multiple comparisons were used to identify statistically significant ($p < 0.05$) differences between groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Excessive consumption of lipids can promote increased plasma free fatty acid (FFA) content and thus can contribute to the dyslipidemia process, a main risk factor associated with atherogenesis and cardiovascular disease. Saturated fatty acids (SFA) are among the main lipids that contribute to hyperlipidemia, are these are partly responsible for the elevated serum triglycerides and LDL-cholesterol levels seen in dyslipidemia, and have close correlation with the development of atherosclerosis and chronic inflammation in blood vessels.^{22,23}

Our chromatographic data (Table 1, Fig. 1) indicate that the GSC used in this study to induce dyslipidemia contains 92.64% SFA, especially lauric acid (57.8%), myristic acid (17.30%) and palmitic acid (9.40%). These data are consistent with those obtained in other studies, where GSC is reported as being greater than 90% saturated fats and to include large amounts of lauric and myristic acid.^{24,25}

Animal models of induced hyperlipidemia by GSC administration have been described. The high saturated fat content of GSC can greatly increase the rate of cholesterol production, as well as the proportion present as triglycerides.^{20,26}

OFEO chromatographic data show a 66.08% UFA content, of which oleic and linoleic acid accounted for 54.30% and 4.9% respectively (Table 1, Fig. 1). The remaining SFA (33.92% of total) was rich in palmitic acid (31.6%). These results are consistent with other analyses of OFEO.¹¹

Various data has suggested that UFAs have beneficial effects on lipid profile, and that dietary UFA can contribute to a reduction of adipose tissue formation.⁴ This is consistent with our body weight data. The OFEO group had a lower body weight than the GSC group (130.2 ± 11.65 g vs. 148.9 ± 8.2 , $p < 0.001$) (Fig. 2). This reduction in body weight in the OFEO group may be due to the high UFA content of the OFEO, since UFA supplementation is associated with reduced hyperplasia and hypertrophy of adipocytes. UFAs reduce adipose tissues by modulating the metabolism through a stimulation of β -oxidation, which leads to an induction of PPAR- α , ultimately controlling the differentiation and proliferation of adipose cells.²⁷

The DW and SIN+GSC groups were also significantly different from the GSC group (both $p < 0.001$). The increase in body mass observed in the OFEO+GSC and GSC groups is partly related to the increased daily calorie consumption of these rats; diets rich in SFAs provide considerable amounts of energy and contribute to the increase of adipose tissue.²² Of the five groups studied here, the GSC (657.4 ± 24.8 Kcal day⁻¹) and GSC+OFEO (632.1 ± 18.7 Kcal day⁻¹) groups had the highest caloric consumptions (Fig. 3). The OFEO group consumed significantly less than the GSC group.

UFAs can reduce food intake and thus prevent body weight increases. Increased UFA plasma concentration can also modify lipid metabolism, stimulating the expression of mitochondrial proteins involved in thermogenesis, thus greatly increasing daily energy expenditure and promoting the reduction of adipose tissue.^{28,29}

We found that the groups with the highest body mass gain and caloric intake (the GSC and OFEO+GSC groups) also showed a significant increase in liver and abdominal fat mass compared to the other groups ($p < 0.001$) (Table 2). This increase in the absolute mass of the organs may be due to excess SFA contained in the GSC. This is supported by studies showing that excess administration of SFA leads to lipid biosynthesis in the liver and increased hepatic flow of free fatty acids (FFA), which contributes to the accumulation of lipids in the liver and lipogenesis.²⁶

The GSC induced hyperlipidemia group had a significantly higher glycemic value than the DW and OFEO groups ($p < 0.01$), since the OFEO + GSC group although it had reduced blood glucose, was not statistically significant when compared to the GSC group, showing that treatment with OFEO had no effect on blood glucose, as well as the group treated with SIN + GSC (Table 3).

The increased blood glucose of the GSC group may be due to increased SFA intake, which contributes to the accumulation of body fat; an excessive intake of energy from carbohydrates and lipids can contribute to resistance to insulin action, thereby leading to a chronic and gradual increase in glycaemia.^{30,31}

The GSC and OFEO+GSC groups had significantly higher total cholesterol than the DW group ($p < 0.001$), however, the OFEO+GSC group had significantly lower total cholesterol than the GSC group. These data show that OFEO acts to prevent GSC induced hyperlipidemia. The SIN+GCS had significantly lower total cholesterol than the GSC group. The total cholesterol of the OFEO group was similar to that of the DW group, suggesting that OFEO alone does not promote an increase in cholesterol (Table 3). These findings are in line with other studies involving *E. oleracea* species.^{6,7,10}

The OFEO group had higher triglyceride levels than the DW ($p < 0.05$) and GSC groups ($p < 0.001$). The triglyceride levels of the SIN+GCS group were not significantly different from the DW group, however, the OFEO+GSC group had the highest triglyceride levels (242.1 ± 8.4 mg dl⁻¹). These data indicating that OFEO+GSC can contribute to increasing triglyceride levels. These are in line with Celeski et al.,²⁰ where GSC administration in rats produced a 171% increase in triglyceride levels (Table 3).

The OFEO group had the highest HDL-cholesterol levels (24.7 ± 2.9 mg dl⁻¹) but these were not significantly different from the GSC group. The GSC group had the highest LDL-cholesterol levels (55.5 ± 2.2 mg/dl), and the OFEO and OFEO+GSC groups showed reduced and significant amounts compared GSC group, indicating that OFEO treatment was able to prevent LDL-cholesterol increases in our disease model. Urea, creatinine and transaminases did not differ significantly between the groups, indicating that none of the treatments were harmful to the kidney or liver systems (Table 3).²¹

On the positive results of the lipid profile of the SIN + GCS group, highlights that are related to the mechanism of action of statins. Statins act by inhibiting HMG-CoA reductase enzyme activity, thereby preventing the formation of mevalonate, contributing to a reduction in hepatic synthesis of cholesterol and, consequently increasing synthesis of LDL-cholesterol receptors in hepatocytes, thus increasing their capitation of the circulation to restore the intracellular cholesterol.^{5,32}

Our biochemical data show that OFEO treatment was unable to prevent GSC induced hypertriglyceridemia in the rats, however, OFEO was able to reduce total and LDL-cholesterol levels, possibly due to the lipid profile of OFEO, which includes a rich composition in UFAs, including oleic and linoleic acid.^{33,34}

Free radicals, particularly reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNSs), are responsible for the oxidation of LDL. ROS include the superoxide anion, the hydroxyl radical and hydrogen peroxide. RNSs are mainly nitric oxide and peroxynitrite.^{35,36} UFA can act as an antioxidant, primarily preventing lipid peroxidation; since UFA molecules containing more

double bonds they are more susceptible to loss of hydrogen to ROS and RNSs.¹⁵ *In vitro* treatment with UFAs significantly reduces free radical levels and has a beneficial effect on lipid profile, mainly by reducing LDL-cholesterol levels.^{4,37}

The formation of atherosclerotic plaques begins with the aggression against vascular endothelium due to various risk factors, including an increase in plasma LDL-lipoprotein concentrations, which after entering in the intima of arteries, undergo oxidation in the pro-oxidizing environment, causing the exposure of multiple neo-epitopes that make immunogenic and trigger inflammation and the recruitment of immune cells, particularly monocytes, which migrate into the subendothelial space where they differentiate into macrophages and capture the oxidized LDL, are filled with lipids and begin to They are called foam cells, the main component of the fatty matrix in the formation of atheroma.^{38,39,40}

In the formation of atherosclerosis in animal models, the development of atherosclerotic lesions is accelerated when the animals are given a high SFA content diet. The thoracic and abdominal aorta are the most commonly affected arteries during atherosclerosis.^{41,42} This is in line with our data, which shows the formation of atherosclerotic plaques in the vascular endothelium of the GSC group (Fig. 4 and 5). Analyses of the OFEO and OFEO+GSC groups show that OFEO has anti-atherogenic properties; there were no atheromatous plaques in the vascular endothelium. This can be accounted for by the ability of OFEO to lower LDL-cholesterol; LDL is the key lipoprotein in early atherogenesis process The GSC+SIN and DW animals did not form atherosclerotic plaques.^{43,44}

CONCLUSION

Here we found that OFEO reduces total cholesterol and LDL-cholesterol and prevents the atherogenic process in rats with *Cocos nucifera* L. saturated fat induced hyperlipidemia. Thus we propose that OFEO has anti-hypercholesterolemic and anti-atherogenic properties.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Biotec - Process 402332/2013-0).

AUTHOR DISCLOSURE STATEMENT

No competing financial interests exist.

REFERENCES

1. Faria-neto JR, Bento VFR, Baena CP, Olandoski M, Gonçalves LGO, Abreu GA, Kuschnir MCC, Bloch KV: ERICA: prevalência de dislipidemia em adolescentes brasileiros. *Rev Saúde Pública* 2016; 50:1-10.
2. Houston DK, Jing D, Lee JS, Garcia M, Kanaya AM, Tylavski FA, Newman AB, Visser M, Kritchevski SB: Dietary fat and cholesterol and risk of cardiovascular disease in older adults: The Health ABC study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2011; 21, 430-437.
3. Mendis S, Nordet P, Fernandez-Britto JE, Sternby N: Atherosclerosis in children and young adults: An overview of the World Health Organization and International Society and Federation of Cardiology study on Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth study (1985–1995). *Prevention and Control* 2005; 1: 3–15.
4. Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM et al.: Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol* 2013; 100:1-40.
5. Bonfim MR, Oliveira ASB, Amaral SL, Monteiro HL: Tratamento das Dislipidemias com Estatinas e Exercícios Físicos: Evidências Recentes das Respostas Musculares. *Arq Bras Cardiol* 2015; 104, 324-332.
6. Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML: Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. *Nutr J.* 2011; 10: 45, 1-7.
7. De Oliveira PR, da Costa CA, de Bem GF, de Cavalho LC, de Souza MA, de Lemos Neto M, da Cunha Sousa PJ, de Moura RS, Resende AC: Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010; 56, 619-26.
8. Xie C, Kang J, Burris R, Ferguson ME, Schauss A G, Nagarajan S, Wu X: Açai juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Atherosclerosis* 2011; 216:327-33.
9. Souza MO, Silva M, Silva ME, Oliveira RP, Pedrosa ML: Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. *Nutrition* 2010; 26, 804-810.
10. Souza MO, Magalhães CLB, Silva LS, Figueiredo BB, Costa DC, Silva ME, Pedrosa ML: 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. *Nutrition Research* 2012; 32, 976–984.
11. Favacho HAS, Oliveira BR, Santos KC, Medeiros B JL, Sousa PJC, Perazzo FP, Carvalho JCT: Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* Mart., Arecaceae, oil. *Rev. bras. farmacogn.* 2011; 21, 105-114.
12. Menezes EMS, Torres AT, Srur AUS: Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada, *Acta amaz* 2008; 38, 311–316.
13. Yuyama LKO, Aguiar JPL, Silva Filho DF, Yuyama K, Varejão M de J, Fávoro DIT, Vasconcellos MBA, Pimentel SA, Caruso MSF: Caracterização físico-química do suco de açai de *Euterpe precatória* Mart oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. *Acta Amazônica* 2011; 41, 545–552.
14. Silva JJM, Rogez H: Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açai (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. *Quim. Nova* 2013; 36,3, 400-406.

15. Ergström K, Saldeen AS, Yang B, Mehta JL, Saldeen T: Effect of fish oils containing different amounts of EPA, DHA, and antioxidants on plasma and brain fatty acids and brain nitric oxide synthase activity in rats. *Ups J Med Sci* 2009; 114:206-213.
16. Mohamed S: Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease. *Trends in Food Science & Technology* 2014; 35, 114–128.
17. Handayani R, Sulystio J, Rahayu RD: Extraction of Coconut Oil (*Cocos nucifera*L.) through Fermentation System. *Biodiversitas* 2009; 10, 151-157.
18. Rosset IG, Tavares MCH, Assaf EM, Porto ALM: Catalytic ethanolysis of soybean oil with immobilized lipase from *Candida antarctica* and ¹H NMR and GC quantification of the ethyl esters (biodiesel) produced. *Applied Catalysis A: General* 2011; 392, 136-142.
19. Rosset IG, Cavalheiro MCHT, Assaf EM, Porto ALM: Enzymatic Esterification of Oleic Acid with Aliphatic Alcohols for the Biodiesel Production by *Candida antarctica* Lipase. *Catalysis letters* 2013; 143, 863 – 872.
20. Celesk IC, Fergutz JK, Pereira EM, Zétola M, Bazzo GC, Pezzini BR: Avaliação da indução de hiperlipidemia em ratos por dexametasona e óleo de coco. *Infarma* 2013; 25, 126-31.
21. Carvalho HO, Farias e Souza BS, Santos IVF, Resque RL, Keita H, Fernandes CP, Carvalho JCT: Hypoglycemic effect of formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2016;4, 10-18.
22. Boschini RP, Garcia JR: UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise. *Revista de Nutrição* 2005; 18, 753-764.
23. Kaur T, Suri S, Isser HS: Effect of canola oil on serum lipid levels of dyslipidemic patients. *J. Preventive Cardiology* 2013; 2, 306–317.
24. Laureles LR, Rodriguez FM, Reano CE, Santos GA, Laurena AC, Mendoza EMT: Variability in Fatty Acid and Triacylglycerol Composition of the Oil of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Hybrids and Their Parentals. *Journal of Food Chemistry* 2002; 50, 1581-1586.
25. Assunção ML, Ferreira HS, Santos AF, Cabral CR, Florencio TMMT: Effects of Dietary Coconut Oil on the Biochemical and Anthropometric Profiles of Women Presenting Abdominal Obesity. *AOCS -American Oil Chemists Society – Lipids* 2009; 44, 593-601.
26. Jun SW, Kim M, Kim J, Park HJ, Lee S, Woo J, Hwang S: Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 66, 413-421.
27. Hensler M, Bardova K, Jilkova ZM, Wahli W, Meztger D, Chambon P, Kopecky J, Flachs P: The inhibition of fat cell proliferation by n-3 fatty acids in dietary obese mice. *Lipids in health and disease* 2011; 10:128, 2-7.
28. Boschini RP, Garcia JR: UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise. *Revista de Nutrição* 2005; 18, 753-764.
29. Hann VB, Martins MS, Dias RL: Termogênicos: uma revisão sistemática sobre o uso de óleo de coco, óleo de cártamo e CLA. *Rev Brasileira de Nutrição Esportiva* 2014; 8,10-19.
30. Zivrovit NA, German JB, Sanyal AJ: Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *The American journal of clinical nutrition* 2007; 82, 285-300.
31. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Senturk H: from fatty liver fibrosis: a tale of “second hit”. *World journal of gastroenterology* 2014;19(8): 431-44.
32. Lee YS. et al.: Effects of poloxamer 407-induced hyperlipidemia on the pharmacokinetics of carbamazepine and its 10,11-epoxide metabolite in rats: Impact of decreased expression of both CYP3A1/2 and microsomal epoxide hydrolase. *European Neuropsychopharmacology* 2012; 22, 431–440.

33. Lottenberg AMP: Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009; 53, 595-607.
34. Yuyama LKO, Aguiar JPL, Silva Filho DF, Yuyama K, Varejão MdeJ, Fávoro DIT, Vasconcellos MBA, Pimentel SA, Caruso MSF: Caracterização físico-química do suco de açai de *Euterpe precatória* Mart oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. *Acta Amaz* 2011; 41, 545 –552.
35. Singh U, Jialal I: Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology* 2006; 13: 129-142.
36. Thanan R. et al.: Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. *International journal of molecular sciences* 2014; 16, 193–217.
37. Kim SJ, Zhang Z, Saha A, Sarkar C, Zhao Z, Xu Y et al.: Omega-3 and Omega-6 fatty acids suppress ER- and oxidative-stress in cultured neurons and neuronal progenitor cells from mice lacking PPT1. *Neurosci Lett* 2010; 479, 292-296.
38. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, Lottenberg AM et al.: IV brazilian guideline for dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Department of atherosclerosis of Brazilian society of cardiology. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88, 2-19.
39. Araujo AL: Correlação entre dieta lipídica poli-insaturada e aterogênese. *Rev Angiol Cirur Vasc* 2007; 5, 15-22.
40. Blasi, C: the autoimmune origin of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008; 201: 17-32.
41. Jackson CL, Bennett MR, Biessen EAL, Johnson JL, Rob Krams R: Assessment of Unstable Atherosclerosis in Mice. *American Heart Association* 2007; 27: 714-720.
42. Duckworth W, Abraira C, Moritz T, Reda D, Emanuele N, Reaven PD, Zieve FJ, Marks J, Davis SN, Hayward R, Warren SR, Goldman S, McCarren M, Vitek ME, Henderson WG, Huang GD: for the VADT Investigators. Glucose Control and Vascular Complications in Veterans with Type 2 Diabetes. *N. Engl J Med* 2009; 360, 129-139.
43. Hansson GK: Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352(16):1685-95.
44. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, Fonseca FA, dos Santos JE, Santos RD, Bertolami MC, Faludi AA, Martinez TLR, Diamant J, Guimarães A, Forti NA, Moriguchi E, Chagas ACP, Coelho OR, Ramires JAFV: Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2013; 101, 1-22.

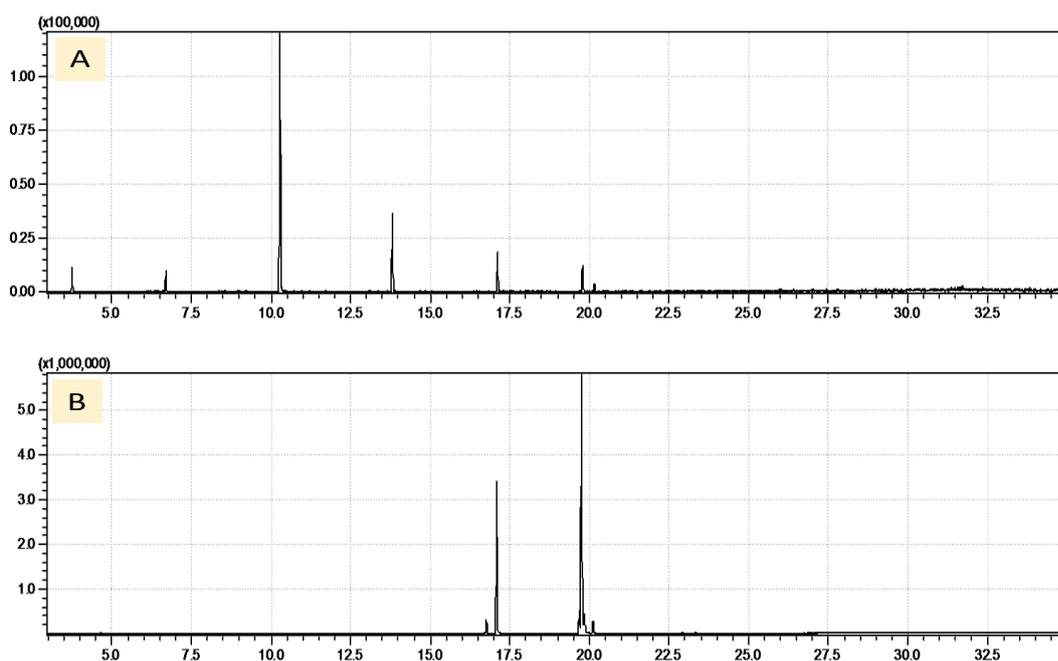


FIG. 1. Gas chromatograms (GC-MS) of ethyl ester derived from GSC (A) and OFEO (B) oils via CAL-B catalysis.

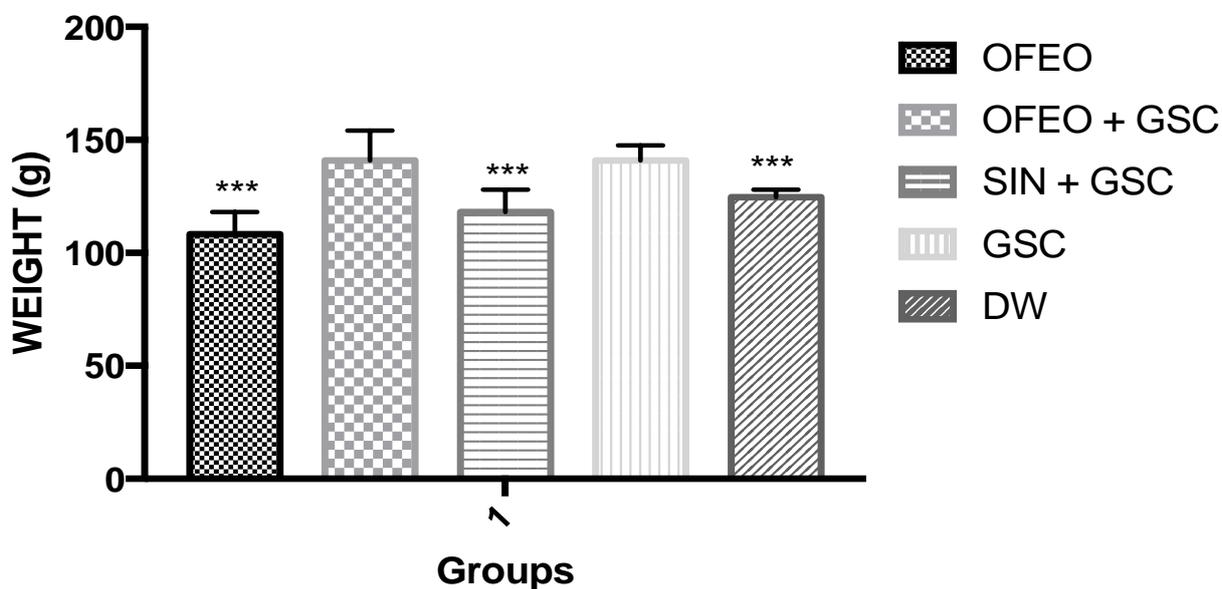


FIG. 2. Body weight variation of the animals after the period of treatment and induction of hyperlipidemia by GSC. The bars represent mean \pm SEM ($n = 7$ /group). *** ($p < 0.001$) statistically significant results compared with GSC. One-way ANOVA followed by Tukey test.

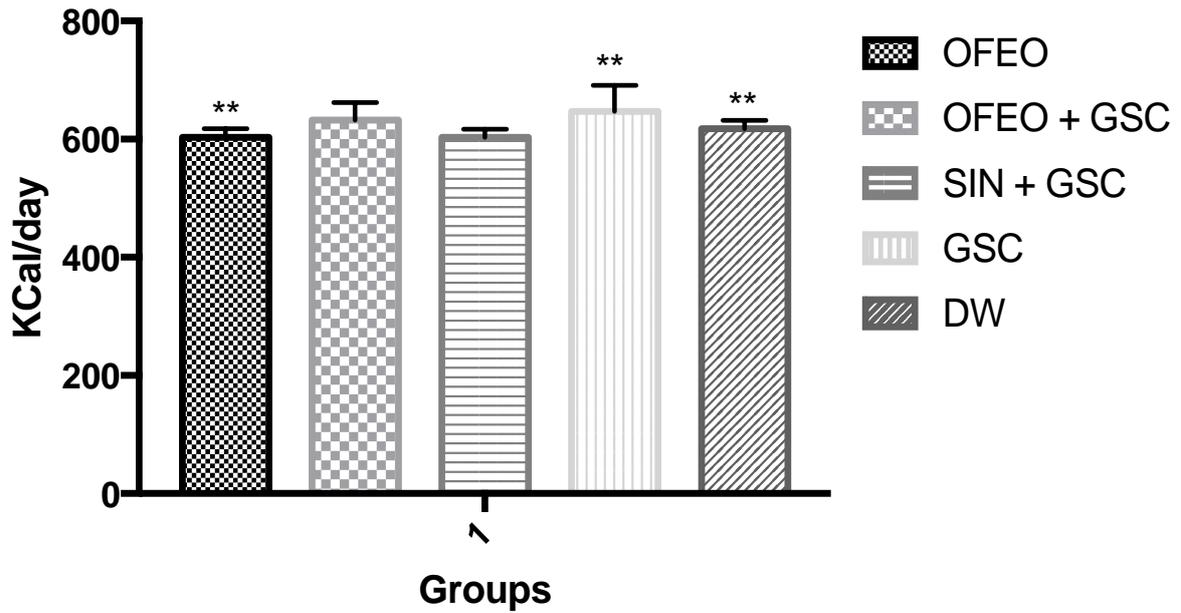


FIG. 3. Average values of daily caloric intake of different groups during the period of treatment and induction of hyperlipidemia by GSC. The bars represent mean \pm SEM (n = 7 / group). ** (p < 0.01) statistically significant result compared to the GSC. One-way ANOVA followed by Tukey test.

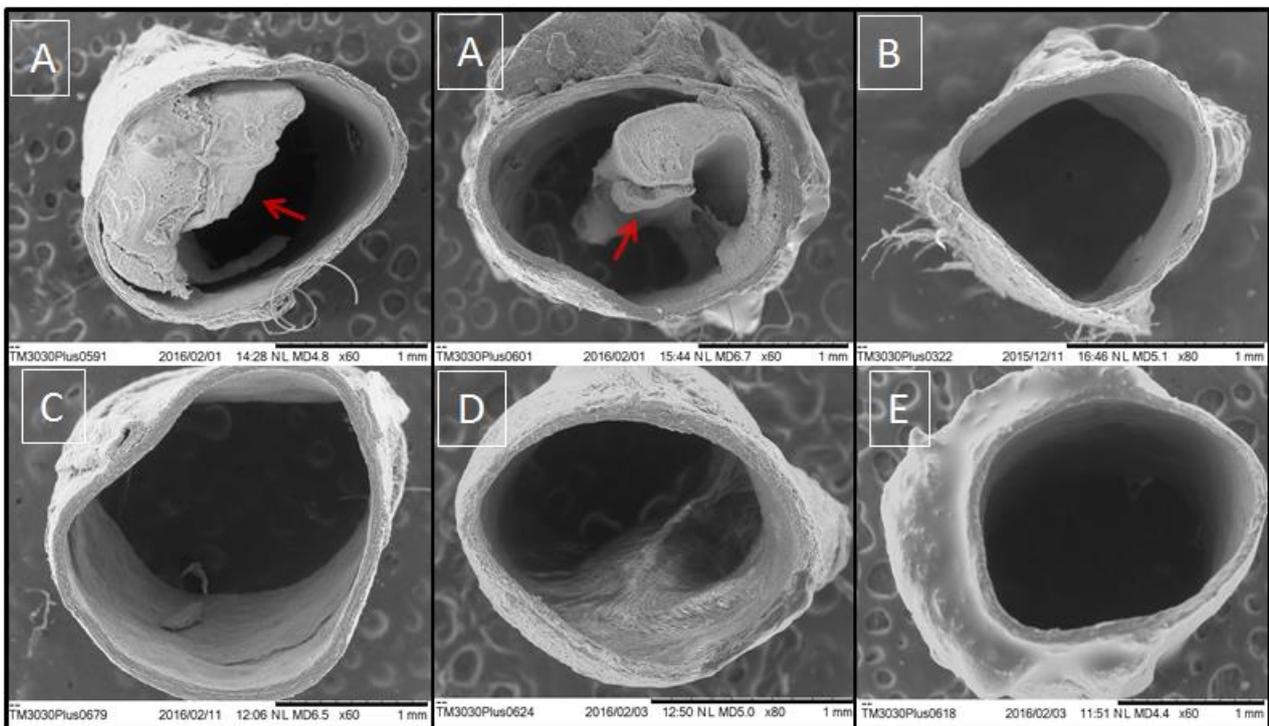


FIG. 4. SEM photomicrographs of cross-section of the thoracic aorta. (Red arrows) indicate the formation of atheromatous plaques in the arterial endothelium. Were: (A) Group GSC, (B) OFEO, (C) OFEO+GSC, (D) SIN+GSC e (E) DW.

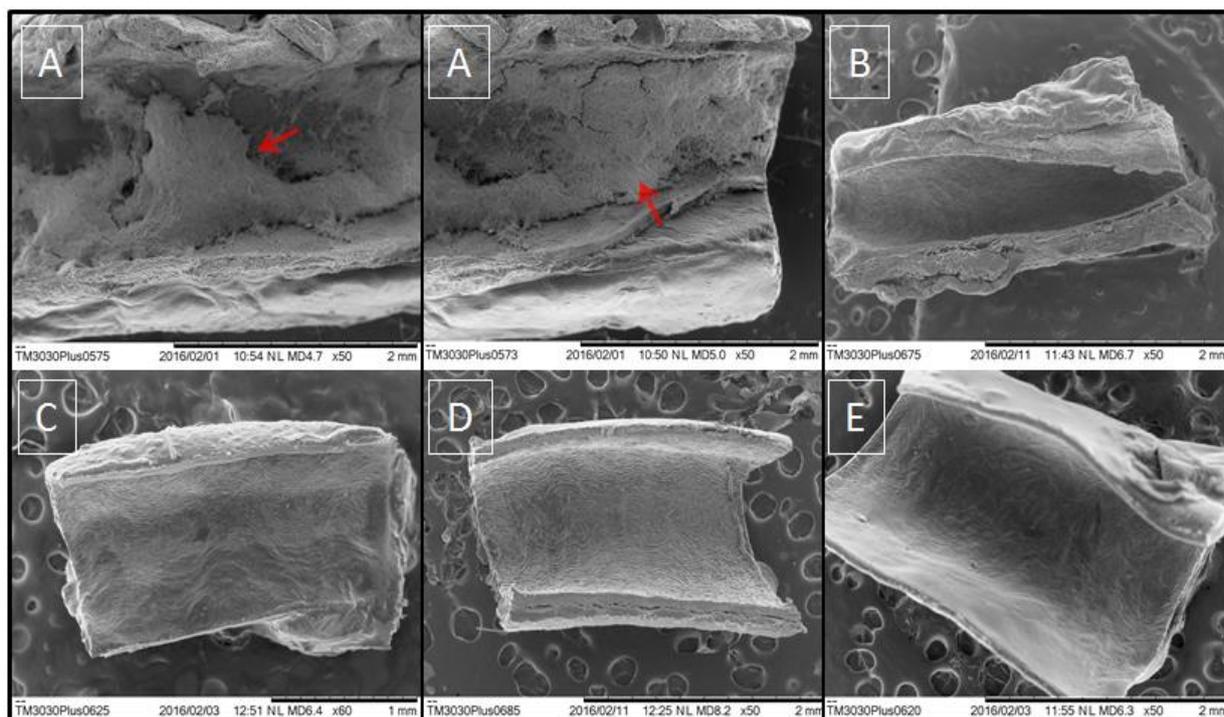


FIG 5. SEM photomicrographs of longitudinal section of the thoracic aorta. (Red arrows) indicate the formation of atheromatous plaques in the arterial endothelium. Were: (A) Grupo GSC, (B) OFEO, (C) OFEO+GSC, (D) SIN+GSC e (E) DW.

TABLE 1. ETHYL ESTER COMPOSITION OF SAMPLES DERIVATIVE OF AÇAÍ AND COCONUT OILS DETERMINED BY GC-MS ANALYSIS^a

<i>Fatty acid^b</i>	<i>Retention time (min)</i>	<i>Concentration (%)</i>	
		OFEO	GSC
Valeric	3.75	**	4.03
Capric	6.70	**	4.11
Lauric	10.25	**	57.80
Miristic	13.81	**	17.30
Palmitoleic	16.75	2.62	**
Palmitic	18.07	31.6	9.40
Linoleic	19.68	4.9	**
(Z)-Oleic	19.78	54.30	7.36
(E)-Oleic	19.84	4.26	**
Stearic	20.12	2.32	**
∑ Saturated	**	33.92	92.64
∑ Monounsaturated	**	61.18	7.36
∑ Polyunsaturated	**	4.9	**

^aMS database (NIST 5.0); ^b% of FAEE corresponding fatty acid.

TABLE 2. INFLUENCE IN ABSOLUTE MASS VARIATION OF ORGANS OF THE ANIMALS AFTER OF THE TREATMENT AND HYPERLIPIDEMIA INDUCED WITH GSC.

Organs	OFEO	OFEO+GSC	GSC	SIN+GSC	DW
Liver	20,97±1,3#	25,03±1,21	26,07±1,56	21,20±1,05#	18,71±1,24#
Kidneys	3,52±0,19	3,63±0,39	3,57±0,46	3,78±0,66	3,45 ± 0,60
Pancreas	1,35±0,07	1,11±0,13	1,77±0,08	1,55±0,19	1,14±0,42
Heart	1,65±0,9	1,79±0,14	1,87±0,01	1,51±0,05	1,34±0,61
Lung	3,8±0,28	3,58±0,34	3,22±0,33	2,69±0,10	3,17±0,21
Spleen	1,07±0,07	1,04±0,05	0,99±0,08	1,16±0,04	1,06±0,05
Abdominal Fat	20,16±2,59**	24,63±3,13	26,86±3,46	15,49±3,19#	16,13±2,71#

The values represent the media ± SEM (n = 7/group). # (p < 0,001) and ** (p < 0,01) represent statistically significant results compared to GSC. One-way ANOVA followed by Tukey test.

TABLE 3. EFFECT OF THE TREATMENTS WITH OFEO, OFEO+GSC, SIN+GCS AND DW ON THE BIOCHEMICAL PARAMETERS AND DYSLIPIDEMIA INDUCED FOR GSC IN RATS.

Parameters	OFEO	OFEO+GSC	GSC	SIN+GCS	DW
Glucose (mg/dl)	102,7±5,7	116,3±5,3	136,4±5,2** ^{a,e}	124,3±7,1	101,5±6,5
Total Cholesterol (mg/dl)	60,6±4,8 ^{#c}	82,8±5,6 ^{#c,e}	119,2±5,1 ^{#e}	61,4±7,4 ^{#c}	52,8 ± 3,8
Triglycerides (mg/dl)	170,9±17,9 ^{ae}	242,1±8,4 ^{#de}	226,6±14,7 ^{#e}	137,7±12,2	113,4 ± 9,9
HDL-C (mg/dl)	24,7±2,9	18,6±1,2	16,4±1,7	18,1±2,9	21,1±3,6
LDL-C (mg/dl)	4,8±1,5 ^{#c}	11,8±1,7 ^{#c}	55,5±2,2	13,8±4,0 ^{#c}	9,1±3,4 ^{#c}
Urea (mg/dl)	48,5±1,9	41,0±1,9	43,3±2,0	44,1±1,6	41,8 ± 2,4
Creatinine (mg/dl)	0,87±0,06	0,90±0,03	0,92±0,06	0,86±0,02	0,91 ± 0,02
AST (U/dl)	17,6±3,1	19,3±1,9	22,0±1,6	21,3±1,3	15,17±3,8
ALT (U/dl)	34,4±2,0	41,4±3,1	43,4±1,9	39,7±2,1	37,1±3,2

The values represent the mean ± SEM (n = 7 / group). *p < 0,05, ** p < 0,01 and # p < 0,001 represents a statistically significant results, ^acompared with OFEO, ^bcompared with OFEO + GSC, ^ccompared with GSC, ^dcompared with SIN + GSC, and compared with ^eDW. Test One-way (ANOVA) followed by Tukey test.

Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia

Accepted for publication

Journal Biomedicine & Pharmacotherapy

General objective

to investigate the effect of OFEO treatment in rats with Triton-induced dyslipidemia.

Manuscript Details

Manuscript number BIOPHA_2016_2821

Title Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia

Article type Research Paper

tabelas e figuras.docx [Figure]

To view all the submission files, including those not included in the PDF, click on the manuscript title on your EVISE Homepage, then click 'Download zip file'.

Corresponding Author José Carlos Tavares Carvalho

Corresponding Author's Institution Universidade Federal do Amapá

Order of Authors José Carlos Tavares Carvalho, Belmira Souza, Helison Carvalho, Irlon Ferreira, Edilson Cunha, Albenise Barros, Talisson Taglialagna

Suggested reviewers Andres Navarrete, Lorane Melin, Hady Keita

Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia

Belmira S. Faria e Souza^{a,b}, Helison O. Carvalho^{a,c}, Irlon M. Ferreira^d, Edilson L. da Cunha^{a,b}, Albenise Santana Barros^{a,b}, Talisson Taglialeagna^a, José C. T. Carvalho^{a,*}

^aLaboratório de Pesquisa em Fármacos, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá, Rod. JK, KM 02, 68902-280, Macapá, Amapá, Brasil.

^bPrograma de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá

^cPrograma de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá

*Author corresponding: email: farmacos@unifap.br

ABSTRACT

Dyslipidemias are defined as changes in lipid metabolism that have abnormal concentrations of lipids or lipoproteins in the bloodstream. Chronic increase in triglyceride and LDL levels are known as risk factors for the atherogenesis process as well as other cardiovascular diseases (CVDs). The magnitude of the problems caused by dyslipidemias impels research by new agents that act in the prevention and control, thus products from the Amazonian biodiversity, such as *Euterpe oleracea* oil (OFEO) rich in unsaturated fatty acids, constitutes a study source for the treatment of Changes in lipid metabolism. The present study aims to investigate the effect of OFEO treatment in rats with Triton-induced dyslipidemia (Tyloxapol WR1339). The physicochemical and chromatographic results confirmed the chemical composition of OFEO with a predominance of unsaturated fatty acids (67.83%), with Oleic acid being the majority (54.32%). At Triton-induced dyslipidemia, the animals treated with OFEO and Simvastatin showed a significant reduction in total cholesterol levels, with values of 121.7 ± 29.5 ($p < 0.01$) and 96.6 ± 17.6 mg / dL ($p < 0.001$), respectively. OFEO also significantly reduced LDL-cholesterol levels ($p < 0.01$) and triglycerides ($p < 0.001$). OFEO and Simvastatin improved the lipid profile by significantly increasing ($p < 0.05$) the HDL values. Therefore, it is concluded that the OFEO treatment used in the conditions of this study had a beneficial effect on dyslipidemia, acting as antihypercholesterolemic and antihypertriglyceridemic, thus possibly contributing as a preventive agent for CVDs.

Keywords: *Euterpe oleracea* Mart .; Oil; Fatty acids; Dyslipidemia; Triton

1. Introduction

Dyslipidemias are defined as alterations in lipid metabolism that have an abnormal concentration of lipids or lipoproteins in the bloodstream and can be triggered by environmental or genetic factors, and have a repercussion on lipoprotein levels in the blood circulation, as well as on the concentrations of its different components [1,2].

Elevated LDL-c low-density lipoprotein levels in the blood are recognized as one of the most important risk factors for cardiovascular diseases (CVDs). CVDs affect the heart, blood vessels and vascular circulation of the brain, being the most common, myocardial infarction, stroke and peripheral arterial disease, all these CVDs are a consequence of the atherosclerosis process, which is a chronic inflammatory disorder that occurs in response to endothelial aggression, lipid deposition, migration of muscle cells and calcification, which mainly affects the intima layer of the medium and large caliber arteries [3,4].

These diseases represent one of the major public health problems since they reduce the individual's productive years of life beyond early mortality. They are the major causes of morbidity and mortality in the world, about 12 million people have CVDs each year [5,6].

Thus, plasma cholesterol reduction and endothelial protection are important measures for the control of atherosclerotic disease and its complications such as acute myocardial infarction and systemic arterial hypertension [7,8].

Due to the impact of CVCs on morbidity and mortality, the scientific community has been extensively developing dietary, metabolic and toxicological studies in the attempt to elucidate the risk factors for dyslipidemia and its pathological consequences, such as injuries to the cardiovascular system, brain, among others [9,10].

The advantages of the induction of experimental dyslipidemias are the production of lipoprotein disorders in a short period, with adequate dietary control and environmental factors, thus enabling non-clinical trials of substances with hypolipidemic potential [10,11].

In this context, Amazonian biodiversity stands out as a great source of natural resources due to its great variety of species of plants that are rich in bioactive compounds, with potentials for the prevention and treatment of several pathologies, including dyslipidemias. Among the bioactive components are those with antioxidant properties such as polyphenols, mono and polyunsaturated fatty acids present in the Açai (*Euterpe oleracea* Mart), which has been the subject of studies in the control of dyslipidemias [12-14].

Euterpe oleracea Mart. is a palm tree belonging to the family Areaceae, commonly known as açai, açai, or "iça-çai" by the Indians, which means the fruit that cries, of spontaneous predominance in the northern Brazilian states, Ecuador, and Venezuela [15].

In this sense, chemical studies with *Euterpe oleracea* fruit pulp, Mart, showed a diverse composition that includes polyphenolic antioxidants, flavonoids, and anthocyanins, the predominance of 3-O-rutinosidium cyanidin and 3-O-glucuronide cyanidin. Fixed oil can also be extracted from the fruit with a composition rich in unsaturated fatty acids mainly oleic acid, linoleic acid, linolenic acid, palmitoleic acid and along with others of reduced percentage [16,17].

The beneficial effects attributed to the consumption of unsaturated fatty acids include the hypotensive effect, antithrombotic, anti-inflammatory action, acts on the improvement of the lipid profile due to dyslipidemias, insulin resistance and vascular function [18,19].

Thus, in view of the importance of CVDs and the search for new bioactive components of natural origin that act as a preventive and mitigating agent for dyslipidemia, this study aims to evaluate the effect of fixed oil of *Euterpe oleracea* Mart. fruits in Wistar rats with Triton-induced dyslipidemia.

2. Material and methods

2.1. Obtaining the oil of Euterpe oleracea Mart. (OFEO)

The oil of *Euterpe oleracea* Mart. (OFEO) was obtained from the company Açai do Amapá Agro-Industrial Ltda - Sambazon, located in the city of Santana, Amapá State, Brazil.

2.2. Characterization of the physicochemical properties of OFEO

The physicochemical characterization of density, color, acidity index (Cd3d-63), saponification index (Cd 1c-85) and iodine index (Cd 3a-94) was performed according to the methodologies described by AOCS [20].

2.3. Transesterification of OFEO by enzymatic catalysis

In a 5 ml vial, 150 mg of OFEO, 475 µl of ethanol and 15 mg of *Candida antarctica* lipase acrylic resin (CAL-B $\geq 5,000$ U / g) were added. The reaction was maintained at 32°C under orbital shaking of 130 rpm (Tecnal model TE-421-Brazil) for 24h. Subsequently, it was transferred to a separator funnel, the lower (glycerol) phase was separated, while the upper (monoester) phase was washed with distilled water (2 x 5 mL). The organic phase was dried over anhydrous sodium

sulfate and filtered. Finally, the product was purified by flash silica gel column chromatography with a mixture of ethyl acetate and n-hexane (9:1) as the eluent.

2.4. Chemical characterization of OFEO by gas chromatography

Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was performed on a Shimadzu/GC 2010 apparatus coupled to a Shimadzu/AOC-5000 auto-injector and an electron beam impact detector (Shimadzu MS2010 Plus) (70 eV), Equipped with DB-5MS fused silica column (Agilent J & W Advanced 30m x 0.25mm x 0.25 μ m) (65kPa). The parameters were: 1:20 split ratio, Helium as drag gas, 1.0 μ L injection volume, injector temperature: 250°C, detector temperature at 250°C, initial column temperature: 50°C, remaining for 1 minute, Heating rate from 5°C/min to 250°C. The total analysis time was 45 minutes. Identification of the fatty acid esters was identified by comparison of the fragmentation spectrum with those contained in the CG-MS library (MS database, NIST 5.0).

2.5. Animals

Thirty - five male Wistar rats weighing 210 ± 20 g, purchased from CEMIB UNICAMP - São Paulo, were kept in standard polypropylene cages for rodents in an air - conditioned environment with a controlled temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ humidity and obeying the photoperiod of Light / dark 12/12 hours, with standard feed for rodents and water ad libitum. The project was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Amapá Federal University - UNIFAP-CEUA, on September 17, 2015, with Protocol No. 013/2015.

2.6. Treatment and induction of dyslipidemia

The animals were randomly divided into five groups (n = 7) and treated orally for 10 days at the effective dose described by Favacho et al. [21]. On the 7th day of treatment, dyslipidemia was induced by intraperitoneal administration of Triton WR1339 (Tyloxapol, Sigma-Aldrich Chemical Co. St. Louis, MO, USA), 150 mg/kg dissolved in 0.9% NaCl.

Normal Group - Treated with 0.5 mL of distilled water/animal (Normal)

Normal Group - Treated with a dose of 1226 mg/kg OFEO (N-OFEO)

Triton Group- Treated with a dose of 1226 mg/kg OFEO (T-OFEO)

Triton Group- Treated with 20 mg/kg dose of Simvastatin (T-SIN)

Triton Group- Treated with 0.5 mL distilled water/animal (Triton)

2.7. Biochemical analysis

On the 10th day of treatment, the animals were anesthetized with thiopental sodium 45 mg/kg intraperitoneally and submitted to a collection of 1.5 ml of blood via retro-orbital plexus, after which the collected blood was centrifuged for 10 minutes at 5,000 RPM. The biochemical analysis of triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL) and very low-density lipoprotein (VLDL) were performed. The tests were run using reagent kits Doles[®] Reagents and Equipment Lab industry. Ltda. (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) [22]. The samples were analyzed using the UVmini-1240 UV-VIS spectrophotometer (Goiânia, GO, Brazil).

2.8. Statistical analysis

One-way ANOVA was used, followed by the Tukey's test for multiple comparisons. Results with significant levels of $p < 0.05$ were considered statistically significant. The statistical programs used were GraphPad InStat and Prism (version 5.03).

3. Results and discussion

The physicochemical parameters of OFEO (Table 1) demonstrated that the oil is a viscous liquid of greenish-dark color and density of $0.976 \pm 0.008 \text{ g/cm}^3$. These results are in accordance with those described by Pacheco-Palencia et al. [16].

The saponification index is an indication of the relative amount of high and low molecular weight fatty acids. Low molecular weight esters require more potassium hydroxide for saponification, so the saponification index is inversely proportional to the molecular weight of the fatty acids present in the triglycerides. The OFEO saponification index was $180 \pm 4.1 \text{ mg KOH/g}$. A similar result was described by Da Silva and Rogez [17]. The saponification index of OFEO in comparison to other vegetable oils is relatively small, possibly due to its constitution by high molecular weight and fatty acids.

As for acidity index, OFEO presented a value of $2.2 \pm 0.05 \text{ mg KOH/g}$, this value was higher than that described by Da Silva and Rogez [17], which was 0.46 mg KOH/g . The acid index is indicative of the formation of free fatty acids, which results from the decomposition of the triglycerides by processes of exposure to light and heat. However the acidity is a variable that also depends on the processing and extraction of the lipids, because during the process of extracting vegetable crude oil, some species may contain high levels of phenolic compounds, mainly organic acids that can contribute to the acidity process, stability and antioxidant potential [23,24], this fact

may explain the high acid value, since OFEO is a crude oil and during its extraction process phenolic components are extracted.

The iodine index is a parameter used to predict the presence of fatty acid ester not being saturated, since it is an halogenation reaction that assumes that each double bond present in AGIs can easily react with two halogen atoms, producing trans-saturated derivate, then, the results obtained for OFEO were 72 ± 4.3 g I₂/100g, showing that this vegetable oil has a high content of unsaturated fatty acids.

Chromatographic results (Table 2 and Figure 1) show that the OFEO fatty acid profile (AG) consists of 32.83% saturated GA, 67.83% unsaturated fatty acids (AGI), 61.27% of which are acids AG monounsaturated with predominance of oleic acid (54.32%) and 5.90% polyunsaturated AG (linoleic acid). In the present work, it is possible to show that this oil has an AGI content ranging from 60 to 70%, and oleic acid is the majority AG, in the 50-60% concentration [17,21,25]. The content of polyunsaturated AG found in OFEO is less than 10%, studies consider this range as optimal since vegetable oils composed of polyunsaturated fatty acids which are more prone to oxidative processes and are therefore responsible for causing changes which affect the sensory and nutritional qualities of food oils [26].

Triton is a non-anionic surfactant of polymeric structure that has been successfully used in several works to induce dyslipidemias in animal models [8], its mechanism of action involves the ability to inhibit the enzyme lipoprotein lipase (LPL), responsible for the hydrolysis of triglycerides present in plasma lipoproteins, especially in chylomicrons and very low density lipoproteins (VLDL), as well as stimulates the enzyme hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase (HMG-Coa reductase), considered a key intracellular enzyme for synthesis of hepatic cholesterol. Thus, the hydrolysis of triglycerides (TG) from chylomicrons and VLDL occurs and increases cholesterol biosynthesis in the liver, and the consequent increase in plasma lipids [27].

The Triton induction of dyslipidemia was effective because it significantly increased TG levels (245.7 ± 26.6 mg/dL) in the treated animals with distilled water (Figure 2), it was observed that the animals treated with OFEO (T-OFEO) and Simvastatin (T-SIN) presented a significant reduction ($p < 0.001$) in plasma TG levels, with values of 159.9 ± 19.5 and 141.3 ± 12.1 mg/dL, respectively. The group of normal animals treated with OFEO (N-OFEO) showed that this oil increased the plasma levels of TG when compared to the group of normal animals, but it was not significant.

Regarding the total cholesterol levels (TC) (Figure 3), it was possible to observe that the group of normal animals presented a mean value of 64.30 ± 9.4 mg/dL and when compared to the N-OFEO group, these groups presented mean values near, demonstrating that OFEO does not

contribute to the increase in TC. The group with dyslipidemia and treated with distilled water (Triton) presented a mean CT value of 172.8 ± 21.6 mg/dL and, when compared to the OFEO-treated group (T-OFEO), the treatment was able to reduce significantly ($p < 0.01$), as well as the T-SIN group, which also presented a significant reduction ($p < 0.001$) with a value of 96.6 ± 17.6 mg/dL.

The results observed in the reduction, both in TG and CT levels corroborate with studies that have demonstrated the potential of vegetable oils to improve the lipid profile, being able to reduce TG, CT and LDL-cholesterol levels [28,29].

The mechanism that may be related to the action of these vegetable oils is related to the presence of unsaturated fatty acids (IFAs) in their chemical composition, mainly oleic acid and the essential acids in the human diet such as linolenic acid and linoleic acid, which have the ability to reduce plasma lipid levels and consequently decrease the possibility of CVD incidence [30].

The mechanisms of AGIs in lipid profile reduction involve the activation of the isoforms of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) α , β and γ , where affinity dependence occurs by subtypes, AGIs in general that have affinity for PPAR α , are effective in reducing plasma TG levels, since activation of PPAR α increases intravascular lipolysis and clearance of TG-rich particles due to regulation of the LPL gene mediated by inhibition of apolipoprotein (Apo) C-III. In addition, PPAR α also participates in the control of transport and uptake of fatty acids by stimulating the Fatty Acid Transport Protein (FATP) and Fatty Acid Binding Protein (FABP) genes. It also enhances the activity of β -oxidation enzymes in mitochondria and peroxisomes, as well as promoting the reduction of the synthesis and esterification of fatty acids and VLDL secretion [19,31-34].

The PPAR γ nuclear receptor has an affinity for some types of AGIs, for example, linoleic acid, which, by activating PPAR γ , acts to reduce plasma lipid levels by increasing the hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by LPL, with concomitant increases in gene transcription (AOP2) and FATP [34-36].

Lipoproteins with marked importance in the lipid profile are LDL and HDL, both of which play a fundamental role in cholesterol transport. LDL are the main lipoprotein carriers of cholesterol from the liver to the peripheral tissues; however, when LDL is increased in the bloodstream, its oxidation intensifies and they participate substantially in the formation of the atherogenic process of the arteries, contributing to the emergence of CVDs [2,37].

In the evaluation of the LDL values (Figure 4), it was possible to observe that the group with Triton dyslipidemia had a high mean value (96.5 ± 11.6 mg / dL). On the other hand, the N-OFEO group had a similar mean value Group of normal animals, evidencing that OFEO does not

contribute to the increase of this lipoprotein. It was also observed that the animals treated with OFEO (T-OFEO) and Simvastatin (T-SIN) had a significant reduction ($p < 0.001$) in serum LDL levels, with values of 58.3 ± 11.2 and 41.9 ± 13.4 mg / dL, respectively.

Studies have shown that the administration of oils containing high IFAs significantly increase the antioxidant response and have a beneficial effect on the lipid profile, especially on the reduction of LDL-cholesterol levels [28,38,39], this fact attenuates the vascular atherosclerotic lesion process, because reduced LDL levels minimize its oxidation and entry into the macrophages, preventing the formation of foam cells [40].

The effects observed on the lipid profile in the group treated with simvastatin (T-SIN) is due to the fact that this drug reduces the serum values of CT and LDL-cholesterol, by inhibiting the activity of the enzyme HMG-CoA reductase, not allowing the formation of mevalonate, contributing to the reduction of hepatic synthesis of cholesterol and, consequently, an increase in the synthesis of LDL-cholesterol receptors in hepatocytes, thus increasing their uptake of circulation to replace intracellular cholesterol [4,41].

HDLs are responsible for the reverse transport of cholesterol, they act by removing cholesterol from peripheral tissues and other lipoproteins by sending them to the liver, it also has the ability to remove cholesterol from the interior of macrophages and antioxidant capacity, thus helping to avoid the process of atherogenesis in blood vessels.

In this study, it was possible to observe that the mean HDL values (Figure 5), both normal group of animals (29.4 ± 6.1 mg / dL) and the group with dyslipidemia treated with OFEO (32.3 ± 6.0 mg/dL) presented values ($p < 0.05$) when compared to the Triton group. The simvastatin group (SIN) also presented a significant increase (31.8 ± 3.1 mg / dL, $p < 0.05$). Results evidenced that the treatment with OFEO and SIN were able to improve the lipid profile by significantly increasing the HDL concentration in the animals. This effect is possibly due to the high content of oleic and linoleic acid in OFEO since studies have shown that treatments containing these AGs contribute to the increase of HDL levels [42,43].

4. Conclusion

Based on the results obtained in this study, the oil of *Euterpe Oleracea* Mart. (OFEO), was able to reduce the levels of total cholesterol, triglycerides and LDL-cholesterol, as well as contributing to the increase of HDL, such effects, possibly are related to its composition of IFAs, which contribute considerably to the improvement of the lipid profile. Therefore, it is concluded that OFEO has an effect on dyslipidemia, acting as antihypercholesterolemic and antihypertriglyceridemic in the conditions employed in this study.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgement

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Biotec - Process 402332/2013-0).

References

- [1] Prado, E.S.; Dantas, E.H. Efeitos dos exercícios físicos aeróbios e de força nas lipoproteínas HDL, LDL e lipoproteína (a). *Arq Bras Cardiol* 2002; 79: 429-33.
- [2] Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, Fonseca FA, dos Santos JE, Santos RD, Bertolami MC, Faludi AA, Martinez TLR, Diament J, Guimarães A, Forti NA, Moriguchi E, Chagas ACP, Coelho OR, Ramires JAF: V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2013;101(4):1-20.
- [3] Gottlieb MG, Bonardi G, Moriguchi EH. Physiopathology and inflammatory aspects of atherosclerosis. *Scientia Medica*, v. 15 (3), 203-207, 2005.
- [4] Bonfim MR, Oliveira ASB, Amaral SL, Monteiro HL: Tratamento das Dislipidemias com Estatinas e Exercícios Físicos: Evidências Recentes das Respostas Musculares. *Arq Bras Cardiol* 2015; 104(4):324-332.
- [5] Sunil, C., Ignacimuthu, S., Kumarappan, C., 2012. Hypolipidemic activity of *Symplocos cochinchinensis* S. Moore leaves in hyperlipidemic rats. *J. Nat. Med.* 66, 32-38
- [6] Duraipandiyar, V.; Al-Dhabi, N. A.; Irudayaraj, S. S. Sunil, C. Hypolipidemic activity of friedelin isolated from *Azima tetraantha* in hyperlipidemic rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26 (2016) 89–93.
- [7] Watts, G.F.; Jackson, P.; Mandalia, S.; Brunt, J. N.; Lewis, E.S.; Coltart, D.J. Nutrient intake and progression of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1994, Feb 15;73(5):328-32.
- [8] Bertges, LC; Mourão Jr, CA; Souza, JB; Cardoso, VAC. Hyperlipidemia induced by Triton WR1339 (Tyloxapol) in *Wistar* rats. *Revista Brasileira de Ciências Médicas e da Saúde*, v. 1, n. 1, p. 29-31, 2011.
- [9] Levine, S; Saltzman, A. A procedure for inducing sustained hyperlipemia in rats by administration of a surfactant. *Journal of pharmacological and toxicological Methods*, v,55, n.2, p. 244 – 226, 2007.
- [10] Castro, K. F. de; Artoni, S. M. B.; Pacheco, M. R. Perfil lipídico sérico de ratos tratados com surfactante. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 193-201, 2012.
- [11] Pérez, C.; Canal, J.R.; Romero, A.; Torres, M.D. Experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia in rats. *Acta Physiologica Hungarica*, v.86, n.1, p. 57-68, 1999.
- [12] De Oliveira PR, da Costa CA, de Bem GF, de Cavalho LC, de Souza MA, de Lemos Neto M, da Cunha Sousa PJ, de Moura RS, Resende AC: Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010; 56: 619-26.
- [13] Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML: Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. *Nutr J.* 2011; 12: 45
- [14] Souza MO, Magalhães CLB, Silva LS, Figueiredo BB, Costa DC, Silva ME, Pedrosa ML: 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* 2012; 32: 976-984.

- [15] Menezes, EMS; Torres AT; Srur AUS. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada, *Acta amazonica*. 2008, 38(2): 311 – 316.
- [16] Pacheco-Palencia, L. A.; Talcott, S. M.; Talcott, S. T. Chemical Composition, Antioxidant Properties, and Thermal Stability of a Phytochemical Enriched Oil from Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56 (12), pp 4631–4636.
- [17] Da Silva JJM; Rogez H,. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. *Quim. Nova*, Vol. 36, No. 3, 400-406, 2013
- [18] Storlien, L. H.; Hulbert, A.J.; Else, P. L., Polyunsaturated fatty acids, membrane function and metabolic diseases such as diabetes and obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 1 (6): 559-63. 1998.
- [19] Raposo, H. F. Effects of n-3 and n-6 fatty acids on the expression of genes involved in the lipid metabolism and risk of atherosclerosis. *Rev. Nutr.*, Campinas, 23 (5): 871-879, set/out., 2010.
- [20] AOCS - American Oil Chemists Society; Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 5th ed., Champaign: AOCS, 1999.
- [21] Favacho HAS, Oliveira BR, Santos KC, Medeiros BJL, Sousa PJC, Perazzo FP, Carvalho JCT: Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* Mart., *Arecaceae*, oil. *Rev bras farmacogn* 2001; 21(1):105-114.
- [22] Carvalho, HO; Faria e Souza, BS; Santos, IVF; Resque, RL; Keita, H; Fernandes, CP; Carvalho, JCT: Hypoglycemic effect of formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. *Rev bras farmacogn* 2016.> doi:10.1016/j.bjp.2016.04.004.
- [23] Farhoosh, R.; Einafshar, S.; Sharayei, P. (2009) The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. *Food Chemistry*. 115: 933-938.
- [24] Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Bendini A, Segura-Carretero A, Del Carlo M, Gallina-Toschi T, Lecker G, Compagnone D, Fernández-Gutiérrez A. Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *J Agric Food Chem*. 53:8918-25. 2005.
- [25] Nascimento RJS, Couri S, Antoniassi R, Freitas SP. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. *Rev Bras Frutic* 2008; 30(2): 498-502.
- [26] Antoniassi, R. Métodos de avaliação de estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 353-380, 2001.
- [27] Mandukhail SU, Aziz N, Gilani AH. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. *Lipids Health Dis*. 2010. 9:88.
- [28] Djerrou Z. Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacia lentiscus* fatty oil in egg yolk-fed rabbits: a comparative study with simvastatin. *Chinese Journal of Natural Medicines (Chin J Nat Med)* 2014,12(8):561–566.
- [29] Figueiredo PRL, Oliveira IB, Santana Neto JB, Oliveira JA, Ribeiro LB, Viana GSB, Rocha TM, Leal LKAM, Kerntopf MR, Felipe CFB, Coutinho HDM, Menezes IRA. Caryocar coriaceum Wittm. (Pequi) fixed oil presents hypolipemic and anti-inflammatory effects in vivo and in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*. V.191 p. 87-94, 2016.
- [30] Delay CA, Abbott A, Doyle PS, Nader GA, Larson S. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal (Nutr J)*, 2010, 9:10.
- [31] Echeverría F, Ortiz M, Valenzuela R, Videla LA. Long-chain polyunsaturated fatty acids regulation of PPARs, signaling: Relationship to tissue development and aging. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*. v. 114, p.28-34. 2016.

- [31] Schoonjans, K.; Staels, B., Auwerx, J. The peroxisome proliferator-activated receptors (PPARS) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta*. 1302 (2): 93 – 109, 1996.
- [32] Michalik, L.; Wahli, W. Peroxisome proliferator-activated receptors; three isotypes for a multitude of functions. *Curr Opin Biotechnol*. 10 (6): 564- 70, 1999.
- [33] Mckenney, J. M.; Sica, D. Prescription omega-3 fatty acids for the treatment of hypertriglyceridemia. *Am J Health Syst Pharm*. 64 (6): 595-605, 2007.
- [35] Simopoulos A.P. Essential fatty acids in health and chronic disease 1, 2. *Am. J. Clin. Nutr.*, 70 (1999), pp. 560–569
- [36] Semple RK., Chatterjee VKK., Rahilly SO. PPAR γ and human metabolic disease. *J. Clin. Investig.*, 116 (2006), pp. 581–589.
- [37] Lottenberg AMP: Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009; 53(5):595-607.
- [38] Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol*. 2013; 100:1-40.
- [39] Rincon-Cervera MA, Valenzuela R, Hernandez-Rodas MC, Barrera C, Espinosa A, Marambio M, Valenzuela A. Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)* V.111, p.25-35. 2016.
- [40] Maor, T. Hayek, M. Hirsh, T.C. Iancu, M. Aviram. Macrophage-released proteoglycans enhance LDL aggregation: Studies in aorta from apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*, 150 (2000), pp. 91–101
- [41] Lee YS, Kim YW, Kim SG, Lee I, Lee MG, Kang HE : Effects of poloxamer 407-induced hyperlipidemia on the pharmacokinetics of carbamazepine and its 10,11-epoxide metabolite in rats: Impact of decreased expression of both CYP3A1/2 and microsomal epoxide hydrolase. *Eur Neuropsychopharmacol* 2012; 22(6):431–440.
- [42] Nestel P, Fujii A, Allen T: The cis-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) lowers plasma triglyceride and raises HDL cholesterol concentrations but does not suppress aortic atherosclerosis in diabetic apoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 2006, 189:282–287.
- [43] Bermudez B, Lopez S, Ortega A, Varela LM, Pacheco YM, Abia R, Muriana FJG: Oleic Acid in Olive Oil: From a Metabolic Framework Toward a Clinical Perspective. *Curr Pharm Des* 2011, 17:831–843.

Table 1. Physicochemical parameters of the *Euterpe oleracea* oil

Parameters	Value/Feature
Condition at 20°C	Viscous liquid
Color	Dark green
Density (g/cm ³)	0.976±0.008
Saponification Index (mgKOH/g)	180±4.1
Acidity Index (mgKOH/g)	2,2±0,05
Iodine Index (gI ₂ /100g)	72±4.3

(mgKOH) = Milligram of Potassium Hydroxide; (gI₂) = Gram of iodine

The numbers represent the mean ± standard deviation of n = 3 replicates

Table 2. Determination of equivalent fatty acid ethyl ester (EEAG) of the *Euterpe oleracea* oil analyzed by GC-MS

^a Fatty acid (n:i)	Peaks	Retention time (min)	Concentration (%)
Palmitoleic (16:1)	1	16.75	2.62
Palmitic (16:0)	2	18.07	30.0
Linoleic (18:3)	3	19.68	5.9
(Z)-Oleic (18:1)	4	19.78	54.32
Ethyl-Oleic (18:1)	5	19.84	4.29
Stearic (18:0)	6	20.12	2.29
∑ Monounsaturated	**	**	61.27
∑ Polyunsaturated	**	**	5.9
∑ Unsaturated	**	**	67.83
∑ Saturated	**	**	32.83

^aEEAG Equivalent to the respective fatty acids and (n:i) number of carbon and unsaturations.

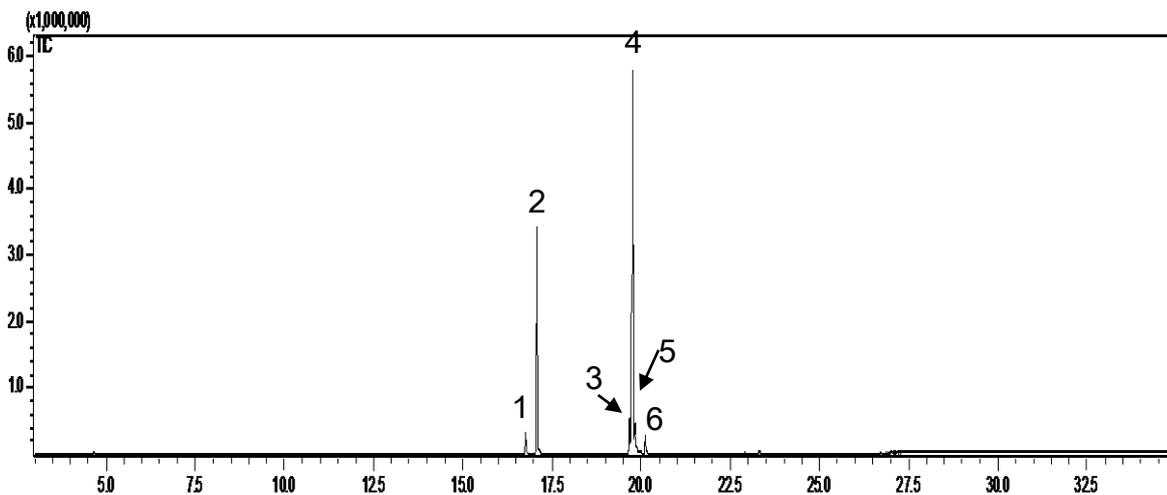


Figure 1. Chromatogram of the profile of the ethyl esters corresponding to fatty acids of the *Euterpe oleracea* oil analyzed by CG-MS.

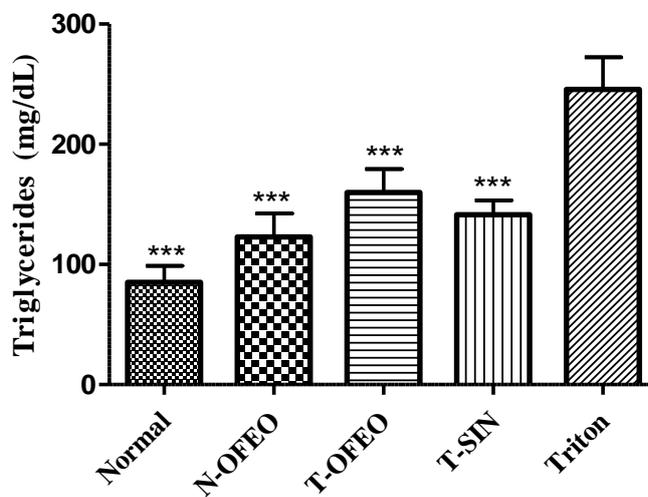


Figure 2. Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on triglycerides levels in normal rats and with Triton-induced dyslipidemia. The bars represent the mean \pm SD (n = 7 / group), whereas *** (p < 0.001) represent statistically significant results compared to the Triton Group. One-way ANOVA test followed by Tukey test.

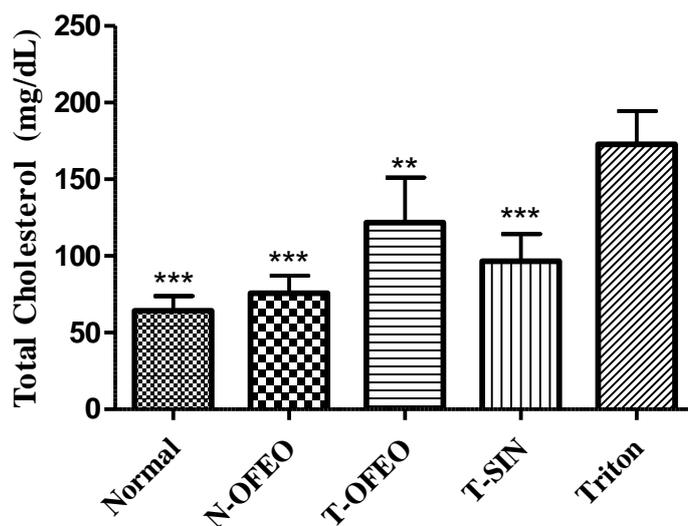


Figure 3. Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on total cholesterol levels of normal rats and with Triton-induced dyslipidemia. The bars represent the mean \pm SD (n = 7/group), with ** (p < 0.01) and *** (p < 0.001) representing statistically significant results compared to the Triton Group. One-way ANOVA test followed by Tukey's test.

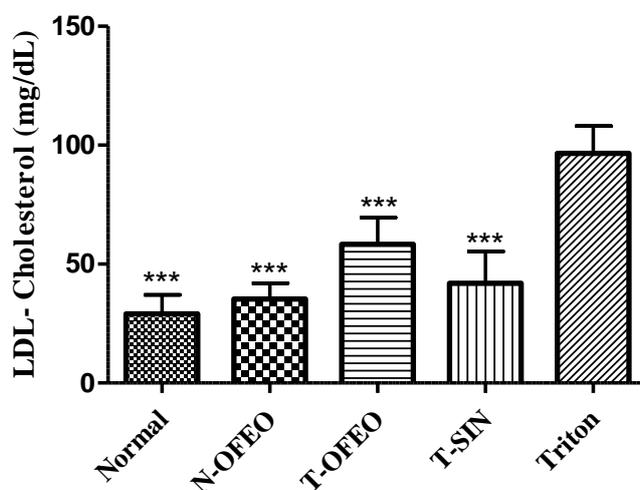


Figure 4. Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on the LDL-Cholesterol levels of normal rats and with Triton-induced dyslipidemia. The bars represent the mean \pm SD (n = 7/group), whereas *** (p < 0.001) represents statistically significant results compared to the Triton Group. One-way ANOVA test followed by Tukey's test.

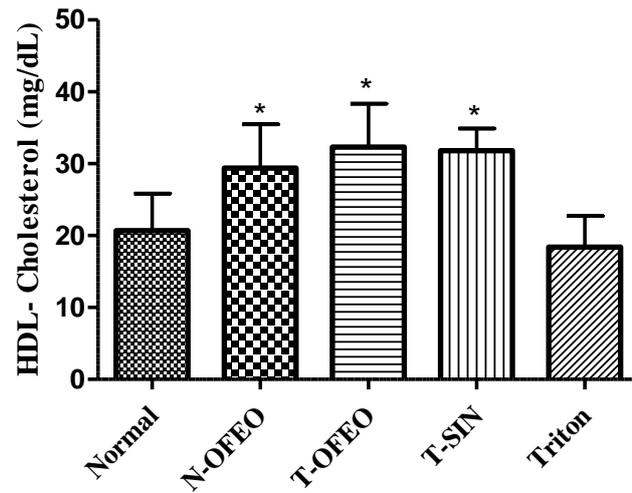


Figure 5. Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* oil (OFEO) on the levels of HDL-Cholesterol in normal rats and with Triton-induced dyslipidemia. The bars represent the mean \pm SD (n = 7/group), with * ($p < 0.05$) representing statistically significant results compared to the Triton Group. One-way ANOVA test followed by Tukey's test.

***Euterpe oleracea* Mart. oil (Açaí) on the metabolic syndrome of rats with diabetes induced by Aloxan.**

Subject at Nutrition and Diabetes

General objective

to investigate the effect of the treatment with OFEO on SM of rats with DM induced by Aloxan.

Nutrition
& Diabetes

Manuscript #	2017NUTD00003
Current Revision #	0
Submission Date	5th Jan 17
Current Stage	Initial QC Started
Title	Euterpe oleracea Mart. oil (Açaí) on the metabolic syndrome of rats with diabetes induced by Aloxan
Running Title	Euterpe oleracea Mart. oil (Açaí) on diabetic rats
Manuscript Type	Original Article
Special Section	N/A
Word Count	Euterpe oleracea Mart .; Diabetes; metabolic syndrome; Fatty acids
Corresponding Author	Dr. José Carlos Carvalho (farmacos@unifap.br) (Universidade Federal do Amapá)
Contributing Authors	Dr. Belmira Faria e Souza , Dr. Helison Carvalho , Dr. Edilson da Cunha , Dr. Irlon Ferreira
Techniques	Life sciences techniques, Experimental organisms [Rats]; Not Applicable; Life sciences techniques, Experimental organisms [Mouse]; Life sciences techniques, Cellular imaging [Laboratory automation]; Life sciences techniques, Signal transduction techniques [Tissue culture]; Life sciences techniques, Structural biology [Electron microscopy]; Life sciences techniques, Protein techniques [Immunohistochemistry]; Life sciences techniques, Protein techniques [Chromatography]; Life sciences techniques, Protein techniques [Antibodies]; Life sciences techniques [Experimental organisms];
Subject Terms	Health sciences/Diseases/Endocrine system and metabolic diseases/Diabetes/Diabetes complications Health sciences/Endocrinology/Endocrine system and metabolic diseases/Metabolic syndrome
Conflict of Interest Statement	There is NO conflict of interest to disclose
Clinical Trial	No
Applicable Funding Source	Ministry of Science, Technology and Innovation Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (National Council for Scientific and Technological Development) - Process 402332/2013-0 [Carvalho]
Databank Requirements	I have not yet deposited my data in a repository

***Euterpe oleracea* Mart. oil (Açaí) on the metabolic syndrome of rats with diabetes induced by Aloxan**

Belmira S. Faria e Souza^{1,2}, Helison de O. Carvalho^{1,3}, Edilson Leal da Cunha^{1,2}, Irlon Maciel Ferreira¹, José C. T. Carvalho^{1,2*}

¹*Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá, Rod. JK, KM 02, 68902-280, Macapá, Amapá, Brasil.*

²*Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Amapá*

³*Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá*

*Author corresponding: email: farmacos@unifap.br

OBJECTIVE: The metabolic syndrome (MS) is characterized by a set of disorders, such as diabetes mellitus (DM) and obesity, leading to changes in the lipid metabolism and antioxidant defense of the body, favoring the establishment of cardiovascular diseases (CVD), mainly hypertension, atheromas, acute myocardial infarction, and stroke. The fixed oil of *Euterpe oleracea* (OFEO), is composed of unsaturated fatty acids and is of great importance in the treatment of alterations in lipid metabolism. Thus, this study aimed to investigate the effect of the treatment with OFEO on SM of rats with DM induced by Aloxan.

RESULTS: The results demonstrated that with the induction of DM, it was possible to reproduce the metabolic disorder's characteristic of MS, such as increased abdominal fat, hyperglycemia, hypertriglyceridemia, hyperlipidemia with a decrease in HDL-cholesterol levels, and it was observed that animals treated with OFEO and simvastatin presented a significant reduction of clinical and glycemic parameters ($p < 0.001$). The OFEO was able to reduce significantly ($p < 0.001$) abdominal fat, as well as triglyceride levels (156.6 ± 13.5 mg/dl). OFEO significantly reduced total and LDL-cholesterol levels and performed a significant ($p < 0.01$) increase in HDL levels (47.12 ± 6.9 mg/dl).

CONCLUSION: The treatment with OFEO under the conditions of this study had an effect capable of attenuating the complications resulting from MS in diabetic animals and in this aspect contribute to the control and also as a preventive agent of CVDs.

Keywords: *Euterpe oleracea* Mart .; Diabetes; metabolic syndrome; Fatty acids.

INTRODUCTION

The metabolic syndrome (MS) consists of a group of disorders that include insulin resistance, abdominal and visceral obesity, diabetes mellitus (DM), increase in triglyceride levels and hyperlipidemia with a decrease in HDL-cholesterol levels, such disorders also contribute to the installation of hypertension and atherosclerosis, increasing the risk of cardiovascular events, mainly acute myocardial infarction and stroke.^{1,2,3}

SM usually occurs predominantly in globalized countries, it is estimated that it affects about 20% to 30% of the population in middle and advanced age, its main risk factor is associated with eating habits and sedentary lifestyle, favoring obesity and DM. DM is a chronic disease that alters the metabolism of carbohydrates, fats and proteins, resulting from the deficiency in the production of insulin by pancreatic β -cells or by the reduction of tissue sensitivity to insulin, the chronic hyperglycemia present in DM leads to metabolic complications that triggers the SM.^{4,5}

Euterpe oleracea Mart., (Açaí) belonging to the family Arecaceae is a species native from the Amazon region, mainly in the northern region of Brazil, Guianas, Colombia, Ecuador, and Venezuela. The pulp extracted from açai fruits is known worldwide for its nutritional, functional and therapeutic properties. Such properties are due to its chemical composition which consists of flavonoids, polyphenols and unsaturated fatty acids.^{6,7,8}

The fixed oil of *Euterpe oleracea* (OFEO) is extracted from the fruits and has a high content of polyphenolic compounds and a lipid profile rich in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, representing more than 75% of the composition. Presenting as major components oleic and linoleic fatty acids.⁹

Pharmacological studies on this species using pulp or fruit extract showed that it has significant effects on the control of metabolic parameters and oxidative stress,^{10,11} and has shown anti-hypercholesterolemic properties and anti-atherogenic.^{12, 13} Pharmacological studies using OFEO are still not very expressive, however, some researchers have demonstrated that OFEO has anti-inflammatory and anti-nociceptive properties,⁷ in vitro inhibition of colon adenocarcinoma cells, did not present genotoxicity in rat cells.^{8, 14}

Given the context of the great pharmacological potential of açai on metabolic parameters and the need to explore research using OFEO, this study aimed to investigate the effect of the treatment with OFEO on the metabolic syndrome in rats with DM induced by Aloxan.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining the fixed oil of *Euterpe oleracea* Mart. (OFEO)

OFEO was obtained from Açai do Amapá Agro-Industrial Ltda - Sambazon, located in the city of Macapá, State of Amapá, Brazil.

Chemical characterization of OFEO by gas chromatography

Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was performed on a Shimadzu/GC 2010 apparatus coupled to a Shimadzu/AOC-5000 auto-injector and an electron beam impact detector (Shimadzu MS2010 Plus) (70 eV), Equipped with DB-5MS fused silica column (Agilent J & W Advanced 30m x 0.25mm x 0.25 μ m) (65kPa). The parameters were: 1:20 split ratio, Helium as drag gas, 1.0 μ L injection volume, injector temperature: 250°C, detector temperature at 250°C, initial column temperature: 50°C, remaining for 1 minute, Heating rate from 5°C/min to 250°C. The total analysis time was 45 minutes. Identification of the fatty acid esters was identified by comparison of the fragmentation spectrum with those contained in the CG-MS library (MS database, NIST 5.0).

Animals

The present study was submitted to the Committee on Ethics in the Use of Animals of the Federal University of Amapá - UNIFAP and approved on September 17, 2015, Protocol No. 013/2015.

Twenty-eight male wistar rats, weighing 210 ± 20 g, were kept in a climatized environment with a controlled temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ humidity and 12-hour light/dark photoperiod, in standard rodent cages with free access to feed for rodents and water *ad libitum*.

Induction of DM and treatments

The induction of DM was performed in the rats in 16 hours fasting by intraperitoneal injection of 150 mg/kg Aloxana (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA) dissolved in physiological solution. The animals were randomly divided into four groups (n = 7/group) and orally treated for 30 days, according to the effective dose described by Favacho et al. for OFEO.⁷

Non-diabetic group - Treated with 0.5 mL distilled water/animal (Normal)

Diabetic Group - Treated with a dose of 1226 mg/kg OFEO (OFEO)

Diabetic Group - Treated with a dose of 5 mg/kg Glibenclamide (GBC)

Diabetic Group - Treated with 0.5 mL distilled water/animal (DTC)

Experimental design and biochemical analysis

Diabetic animals were kept in metabolic cages during 30 days of treatment, where they were evaluated daily, body weight, water intake, feed intake and urine volume. Blood samples were collected for blood glucose measurement every 5 days. On the 30th day of the treatment, blood was collected to carry out the remaining biochemical tests; triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), urea and creatinine. Blood collection (1.5 ml) was performed via the retroorbital retroorbital plexus, after which the collected blood was centrifuged for 10 minutes at 5,000 RPM, then the analysis was performed using reagent kits Doles[®] Reagents and Equipment for Lab. Ltda. (Goiânia-GO, Brazil), the samples were analyzed in UV-VIS model UVmini-1240 spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).⁵

Statistical analysis

One-way ANOVA was used to analyze the obtained results, followed by the Tukey's test for multiple comparisons. The results with $p < 0.05$ were considered statistically significant. The statistical software used were GraphPad InStat and Prism (version 5.03).

RESULTS AND DISCUSSION

Chromatographic results (Table 1 and Figure 1) show that the OFEO fatty acid profile (AG) consists of 32.83% saturated GA, 67.83% unsaturated fatty acids (AGI), 61.27% of which are acids AG monounsaturated with predominance of oleic acid (54.32%) and 5.90% polyunsaturated AG (linoleic acid). In the present work, it is possible to show that this oil has an AGI content ranging from 60 to 70%, and oleic acid is the majority AG, in the 50-60% concentration.^{15,16,17} The content of polyunsaturated AG found in OFEO is less than 10%, studies consider this range as optimal since vegetable oils composed of polyunsaturated fatty acids which are more prone to oxidative processes and are therefore responsible for causing changes which affect the sensory and nutritional qualities of food oils.¹⁸

DM chemically induced with β -cytotoxic drugs in experimental animals has been widely used as a model for studies of therapeutic and preventive agents of diabetes, in addition, making

possible the evaluation of determinants parameters of the metabolic syndrome triggered by the event of induction of the diabetic state, mainly the biochemists and clinicians.^{19, 20}

In this study, the clinical parameters evaluated in the groups of diabetic animals (Table 1), allowed to observe that the DTC group presented a significant increase ($p < 0.001$) in all parameters when compared to the Normal group, except for body weight, that reduced. The groups of diabetic animals treated with OFEO and GBC significantly reduced feed intake ($p < 0.001$), water and urinary excretion volume, and significantly increased body weight gain when compared with the DTC group ($p < 0.001$).

The results obtained in this study, show that in the diabetic rat the change in clinical parameters, due to the lack or reduction of insulin action, is remarkable. The lack of insulin induces the catabolism of structural proteins, hydrolysis of lipids and β -oxidation of fatty acids forming sub products for gluconeogenesis and energy expenditure, thus promoting the reduction of body mass,^{21, 22} this fact may explain the significant reduction of body weight in the DTC group.

The increase in dietary intake by the DTC group may be related to the leptin pathway because insulin stimulates gene transcription and leptin production by adipocytes acting directly on the actions of neurons in the arcuate nucleus of the hypothalamus by suppressing orexigenic activity mediated by neuropeptide Y (NPY).^{23, 24} Eventually, the reduction of insulin production observed in diabetic rats (DTC) contributed to the reduction of plasma leptin and thus, blocking the neurons releasing NPY, thereby increasing the orexigenic effect (food consumption).

The increase in water consumption and polyuria observed in the CTD group occurred possibly due to the imbalance of the blood osmolality that, due to the high glucose levels, causes the water to pass from the intracellular to the extracellular medium in order to maintain this balance, in this way, the brain osmoreceptors generate a response in reaction to intracellular dehydration-promoting intense thirst, however, as the individual ingests water the tendency is that the volume of urinary excretion will be increased.^{22, 25}

All the clinical reactions observed in the DTC group are aggravating situations of MS generated by DM, because, in a way, they are responsible for the complication of this comorbidity since both osmotic disequilibrium and mainly lipid hydrolysis promotes the onset of hypertension arterial and other CVDs (Suplicy, 2000). In view of this, it is possible to infer that treatment with OFEO was able to improve clinical parameters and, in part, could delay CVD indexes.

In the evaluation of the relative mass of the organs of the animals (Table 2), it can be observed that the DTC group presented a statistical difference in relation to the other groups, mainly in the organs considered key for the metabolism. Both the OFEO and GBC presented a

significant reduction ($p < 0.001$) in the relative liver mass and abdominal fat when compared to the DTC group.

The liver is the main organ responsible for the metabolism of the body, in the SM the liver plays a major role in the synthesis of glucose (glycogen) through non-glyceride precursors, however, lack of insulin or resistance to insulin, that the tissues use the lipids as a source of energy, thus increasing the triglycerides and free fatty acids, this increase contributes considerably to the accumulation of lipids in the liver and abdominal lipogenesis.^{26, 27} This fact may explain the increase in relative liver and abdominal fat values observed in the DTC group. On the other hand, the reduction of these values observed in the OFEO and GBC groups was possibly due to the capacity of these treatments to improve the MS.

The OFEO and GBC groups also showed a significantly increased relative weight of the pancreas when compared to the DTC group, but there was no significant difference for the kidneys, lungs, and heart. The reduction of the relative weight of the pancreas found in the DTC group is possibly due to the effect of DM induction since both alloxan and other cytotoxic drugs for β -pancreatic cells are able to promote the high destruction of pancreatic tissue.^{20, 28}

The SM triggered by a diabetic condition can accelerate the process of damage in both the liver and kidneys, since these organs, besides their importance in the metabolism, act in the excretion of substances, and due to the chronic increase of the glycemic levels, it leads to the formation of reactive species (ROS) and advanced non-enzymatic glycation (AGE) products, which accumulate mainly in the kidneys, liver and blood vessels and are the main cause of damage to cell membranes.²⁹ In a short time, these organs begin to present dysfunctions accompanied by modifications of the biochemical parameters, being the transaminases AST and ALT determinants of damage in the hepatocytes and the elevation of creatinine, urea, and reduction of total proteins that are indicative of nephropathy.^{30, 31}

The results of the biochemical parameters (Table 3) show that the DTC group, when compared to the Normal group, showed a significant increase ($p < 0.001$) in most of these parameters, except for total proteins. With these results, there are strong indications that the DTC group presented both renal and hepatic dysfunction. However, treatments of OFEO and GBC were able to significantly reduce ($p < 0.001$) levels of urea and creatinine, as well as levels of AST and ALT transaminases and triggered a significant increase in serum levels of total proteins.

The results observed in the treatment with OFEO indicate that the oil was able to minimize renal and hepatic damage caused by MS in diabetic animals. This effect is possibly due to the high content of unsaturated fatty acids (UFA) present in OFEO since these compounds have the capacity to inhibit the oxidative damage caused by ROS and AGE in the cells, thus restoring renal

and hepatic functions. This study describes that UFA act as important antioxidants, mainly in order to avoid the lipid peroxidation, since, in the chemical structure of the UFA, they have one or more double bonds that are susceptible to the loss of hydrogen to ROS.³² Other studies report the importance of the potential of natural antioxidant substances on the metabolic status in diabetic animals.^{20, 33}

The mechanism by which alloxan produces chronic hyperglycemia in diabetic animals is by action in the pancreas, where its rapid absorption and accumulation in the β -pancreatic cells of the islets of Langerhans produces a high rate of uptake of the drug via glucose transporter GLUT 2, then the influx of calcium ions into the cytosol leads to suppression of pancreatic islet response to glucose and ROS formation from reducing agents such as glutathione and cysteine triggering cellular necrosis.^{34,35,36,37}

In the evaluation of glycemia (Figure 1), it was observed that during the treatment, the normal group presented glycemia of 104.01 ± 13.60 mg/dl, while as for the DTC group the glycemetic levels were elevated during the 30 days analyzed, with a mean of $321,60 \pm 19.6$ mg/dl, and when compared to the OFEO and GBC groups, it was observed that there was a significant reduction ($p < 0.001$), with mean values of 257.20 ± 16.50 and 172.80 ± 13.20 mg/dl, respectively.

The reduction of glycemia observed in the OFEO group may be related to the high content of monounsaturated fatty acids, mainly oleic acid, because its antioxidant potential is relevant in the treatment of MS caused by DM, since the complications of DM are related in part to damage caused by ROS and AGEs in various organs and possibly the antioxidant capacity of OFEO may have partially restored β -pancreatic cells. These results corroborate with those described by other authors who describe the effect of vegetable oils on glycemetic control.^{38, 39} In a study released by Da Silva and Rogez,⁹ the great antioxidant potential of OFEO was demonstrated and the quantification of oleic acid was very expressive (63.9%), another study by Carvalho et al. (2016) showed that the antioxidant potential of an Amazonian plant species was able to restore β -pancreatic cells and contribute to the reduction of glycemetic levels.

MS is directly associated with elevated serum lipid levels, especially triglycerides. It is considered that due to hyperglycemia, intense lipolysis occurs in adipose tissue, in this way there is an excess of free fatty acids in the blood, which when captured by the liver are converted into triglycerides.⁴⁰

Regarding triglyceride levels (Figure 2), the results show that the DTC group increased significantly ($p < 0.001$) when compared to the Normal group (231.60 ± 18.8 mg/dl). The group treated with OFEO presented a very low value (156.6 ± 13.5 mg/dl) and was extremely significant

($p < 0.001$) when compared to the DTC group, indicating that the treatment with OFEO was able to inhibit the increase of triglycerides in diabetic animals, as well as the group treated with GBC.

The reduction of triglyceride levels in the OFEO and GBC groups can be explained by the fact that these groups have reduced glycemic levels, this implies a reduction in the use of fatty acids from lipolysis and a concomitant reduction of triglycerides.⁴¹ Other studies using oils rich in unsaturated fatty acids demonstrate the ability to reduce triglyceride levels.^{42,43}

Regarding total cholesterol levels (Figure 3), based on the Normal group, it was observed that there was a large increase in cholesterol levels in the DTC group. However, treatment with OFEO and GBC presented a significant reduction ($p < 0.001$), with values of 113.2 ± 15.5 and 108.3 ± 14.6 mg/dl, respectively.

In MS, hypercholesterolemia is one of the conditions that promotes the development of CVDs, and the reduction of plasma cholesterol, especially the LDL fraction, contributes to the protection of the endothelium and is one of the important measures for the control of atherosclerotic disease and its complications, such as, acute myocardial infarction and systemic arterial hypertension. In this study, it was possible to observe that the DTC group had a high total cholesterol level when compared to the Normal group, the OFEO and GBC treatments, presented a significant reduction ($p < 0.001$), with values of 113.2 ± 15.5 and 108.3 ± 14.6 mg/dl, respectively.

The results show that OFEO treatment produced a reduction in cholesterol. Other studies have also shown that vegetable oils containing UFA have the ability to reduce total cholesterol levels.^{44,45} this action is related to the fact that vegetable oils containing UFA have the ability to activate (PPAR γ), which, by activation of PPAR γ , reduce plasma lipid levels by increasing lipolytic lipoprotein hydrolysis by the lipase enzyme lipase, with concomitant increases in the transcription of genes involved in the uptake of fatty acids.⁴⁶ Activation of PPAR γ is involved in the stimulation of glucose oxidation and improvement in insulin resistance, consequently in the reduction of hyperglycemia, a fact that can be observed in the group treated with OFEO. In addition, its contribution to the improvement of the clinical manifestations of MS favor the control of blood pressure, endothelial function, as well as minimizing the formation of atherosclerotic plaques.⁴⁷

Atherogenesis presents one of the main complications of DM associated with MS; the accumulation of atheromatous plaques on the inner surface of the arteries can cause a marked reduction of blood flow and lead to arterial lumen occlusion. The formation of atherosclerotic plaque in the arterial endothelium is originally mediated by the elevation of plasma LDL levels, as these lipoproteins are absorbed into the subendothelial space, they find a pro-oxidant

environment favored by elevation of ROS and AGEs that oxidize LDL in LDL-oxidized (LDLox). LDLox has deleterious effects on the endothelium and its elimination is mediated by the recruitment of phagocytic cells, mainly monocytes that migrate to the sub-endothelial space where they differentiate into macrophages and phagocytose LDLoxes. The interior of the macrophages that is getting full of lipids are now called foam cells, being the main component of the fatty matrix in the formation of atherosclerotic plaque volume.^{48,49,50,51}

The levels of LDL and HDL-cholesterol (Figures 4 and 5), when compared with the Normal group to the group of diabetic animals (DTC), showed a significant increase ($p < 0.001$), with a mean LDL of 90.20 ± 9.36 mg/dl and reduced HDL (23.40 ± 5.03 mg/dl). The treatment with OFEO significantly reduced ($p < 0.001$) LDL levels (45.20 ± 7.2 mg/dl) and significantly increased HDL levels (47.12 ± 6.9 mg/dl). Similar results were observed in the GBC. Studies report that high levels of HDL play a fundamental role as antiatherogenic since they contribute to reducing cholesterol levels by the reverse transport mechanism and avoid the process of oxidation of LDL in the arterial wall.^{52,53,54}

Chinnadurai et al.⁵⁵ demonstrated that the treatments with UFA, for example, conjugated linoleic acid, showed an increase in antioxidant and antiatherogenic activity. In another study developed by Nestel et al.,⁵⁶ it has been shown that UFAs are able to reduce triglyceride levels and increase HDL levels.

In this study, it can be observed that treatment with Glibenclamide (GBC) was able to significantly improve the clinical and biochemical profile of diabetic animals. This fact is due to profile that GBC is a hypoglycemic drug of the sulfonylurea class, which acts directly on β -pancreatic cells stimulating insulin secretion, thereby reducing plasma glucose levels. Sulfonylureas bind to specific sites (subunit SUR-1) of the sulfonylurea receptor in the kATP channels, activation of this receptor leads to the opening of the calcium channels that results in the release of insulin by exocytosis.⁵⁷ This possible increase in insulin release by β -pancreatic cells remaining from the induction process by Aloxan may in part explain the improvement in the situation presented in this group.

In MS developed by DM, all metabolism is impaired. Insulin, directly, and indirectly influences both lipid and protein metabolism. Insulin resistance and deficiency causes the body to use alternative routes to supply energy expenditure and other physiological needs, but this process becomes unrestrained and culminates with the modification of several metabolic parameters, examples being: levels of triglycerides, total cholesterol and LDL, reductions of HDL and the antioxidant defense that provides the formation of ROS and AGEs. All this context is the key point

in the development of CVDs and it leads to the aggravation of these comorbidities over the years.^{3,20}

CONCLUSION

Based on the results obtained in this study, the fixed oil of *Euterpe oleracea* Mart. (OFEO), was able to improve clinical and biochemical parameters with a reduction of total cholesterol, triglyceride, and LDL-cholesterol, and an increase of HDL. Such effects are possibly due to its composition in UFAs that contribute considerably to the improvement of the lipid profile. Therefore, it is concluded that the OFEO treatment used in the conditions of this study had an effect capable of attenuating the complications resulting from MS in diabetic animals and, thus, may contribute to the control and as a preventive agent for CVDs.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Biotec - Process 402332/2013-0).

REFERENCES

- 1 Ferreira ALA, Correa CR, Freire CMM, Moreira PL, Berchieri-Ronchi CB, Reis RAS, et al. Síndrome metabólica: atualização de critérios diagnósticos e impacto do estresse oxidativo na patogênese. *Rev Bras ClinMed*. 2011;9:54-61.
- 2 Seo, H; Yoon, S-J, Yoon, J; Kim, D; Gong, Y; Kim, A.R, et al. Recent trends in economic burden of acute myocardial infarction in South Korea. *PLoS One*. 2015;10.
- 3 Kim, D; Yoon, S-J; Lim, D-S; Gong, Y-H; Ko, S.; Lee. Y-H; Lee, H.S; Park, M.-S; Kim, K-H; Kim, Y.A. The preventive effects of lifestyle intervention on the occurrence of diabetes mellitus and acute myocardial infarction in metabolic syndrome. *Public health*. 139 (2016), 178 –182.
- 4 Monteiro Júnior, F. das C. et al. Efeito da perda ponderal induzida pela cirurgia bariátrica sobre a prevalência de síndrome metabólica. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v. 92, n. 6, p. 452-456, jun. 2009.

- 5 Carvalho, HO; Farias e Souza, BS; Santos, IVF; Resque, RL; Keita, H; Fernandes, CP; Carvalho, JCT. Hypoglycemic effect of formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. *Rev bras farmacogn* v.26, p.634–639, 2016.
- 6 Menezes EMS, Torres AT, Srur AUS: Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada, *Acta amaz* 2008; 38(2): 311-316.
- 7 Favacho HAS, Oliveira BR, Santos KC, Medeiros B JL, Sousa PJC, Perazzo FP, Carvalho JCT: Antiinflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* Mart., *Arecaceae*, oil. *Rev bras farmacogn* 2011; 21(1):105-114.
- 8 Marques ES; Froder JG; Carvalho JCT; Rosa PCP; Perazzo FF; Maistro EL. Evaluation of the genotoxicity of *Euterpe oleraceae* Mart. (Arecaceae) fruit oil (açaí), in mammalian cells *in vivo*. *Food and Chemical Toxicology*. Volume 93, Pages 13–19. 2016.
- 9 Da Silva JJM; Rogez H,. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. *Quim. Nova*, Vol. 36, No. 3, 400-406, 2013.
- 10 Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML: Effects of Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. *Nutr J*. 2011; 12: 45.
- 11 Souza MO, Silva M, Silva ME, Oliveira RP, Pedrosa ML: Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. *Nutrition*. 2010; 26: 804-810.
- 12 Souza MO, Magalhães CLB, Silva LS, Figueiredo BB, Costa DC, Silva ME, Pedrosa ML: The hypocholesterolemic activity of açaí (*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* 2012; 32: 976-984.
- 13 Xie C, Kang J, Burriss R, Ferguson ME, Schauss A G, Nagarajan S, Wu X: Açaí juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Atherosclerosis*. 2011: 216:327-33.
- 14 Pacheco-Palencia LA; Talcott ST; Safe S; Mertens-Talcott S. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil *in vitro*. *J Agric Food Chem*. 2008 May 28;56(10):3593-600.
- 15 Da Silva JJM; Rogez H,. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. *Quim. Nova*, Vol. 36,

No. 3, 400-406, 2013

- 16 Favacho HAS, Oliveira BR, Santos KC, Medeiros BJL, Sousa PJC, Perazzo FP, Carvalho JCT: Antiinflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* Mart., Arecaceae, oil. *Rev bras farmacogn* 2001; 21(1):105-114.
- 17 Nascimento RJS, Couri S, Antoniassi R, Freitas SP. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. *Rev Bras Frutic* 2008; 30(2): 498-502.
- 18 Antoniassi, R. Métodos de avaliação de estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 353-380, 2001.
- 19 Silva, VD; Nogueira, RMB. Diabetes Mellitus experimental induzido com aloxana em ratos Wistar. *Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 36 (1): 9 -15, 2015.
- 20 Carvalho HO; Lacerda GSL; Ferreira AM; Góes LDM; Sá BM; Saout M; Bereau D; Robinson JC; Resque RL; Fernandes CP; Carvalho JCT. Effect of hydroethanolic extract from *Calophyllum brasiliense* Cambess on streptozotocin induced diabetic rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*. Vol.10(42), pp. 900-908 ,2016.
- 21 Ramesh, B., Pugalendi, K.V., 2006. Antihyperglycemic effect of umbelliferone in streptozotocin diabetic rats. *J. Med. Food* 9, 562–566.
- 22 Mahendran, G., Manoj, M., Muruges, E., Sathish Kumar, R., Shanmughavel, P., Rajendra Prasad, K.J., Narmatha bai, V., 2014. In vivo anti-diabetic, antioxidant and molecular docking studies of 1,2,8-trihydroxy-6-methoxy xanthone and 1,2-dihydroxy-6-methoxyxanthone-8-O-d-xylopyranosyl isolated from *Swertia corymbosa*. *Phytomedicine* 21, 1237–1248
- 23 Negrão A.B; Licinio. J. Leptina: o Diálogo entre Adipócitos e Neurônios. *Arq Bras Endocrinol Metab* v. 44 (3) p.205-214, 2000.
- 24 Damiani, D; Damiani, D; Menezes Filho, HC. Controle do apetite: mecanismos metabólicos e cognitivos. *Pediatria*, v. 32, n. 3, p. 211-22, 2010.
- 25 Lerco MM; Spadella CT; Machado JLM; Schellini SA; Padovani CR. Caracterização de um modelo experimental de diabetes mellitus, induzido por aloxana em ratos: estudo clínico e laboratorial. *Acta Cirúrgica Brasileira*, vol. 18, no. 2, pp. 132-142, 2003.
- 26 Suplicy, HL. Obesidade visceral, resistência à insulina e hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens* 2000;2:136-41

- 27 Jun SW, Kim M, Kim J, Park HJ, Lee S, Woo J, Hwang S: Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; 66(3):413-421.
- 28 Silva M; Lima WG; Silva ME; Pedrosa ML. Efeito da estreptozotocina sobre os perfis glicêmico e lipídico e o estresse oxidativo em hamsters. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* vol. 55, no. 1, pp. 46-53, 2011.
- 29 Goldin BAA. et al. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Basic Science for Clinicians*, v. 114, p. 597-605, 2006.
- 30 Ohaeri, O.C., 2001. Effect of garlic oil on the levels of various enzymes in the serum and tissue of streptozotocin diabetic rats. *Biosci. Rep.* 21, 19–24.
- 31 Sá, B.M., Lima, C.S., Silca, U.D.A., Carvalho, H.O., Fernandes, C.P., Resque, R.L., Oliveira, T.T., Carvalho, J.C.T., 2015. Subchronic toxicity evaluation of the hydroethanolic extract from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec in Wistar rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 9, 223-229.
- 32 Ergström K, Saldeen AS, Yang B, Mehta JL, Saldeen T. Effect of fish oils containing different amounts of EPA, DHA, and antioxidants on plasma and brain fatty acids and brain nitric oxide synthase activity in rats. *Ups J Med Sci* 2009;114:206-213.
- 33 Panda S; Kar A. Apigenin (4',5,7-trihydroxyflavone) regulates hyperglycemia, thyroid dysfunction and lipid peroxidation in alloxan induced diabetic mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 59, 1543-1548, 2007.
- 34 Szkudelski, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):536-46.
- 35 Zanoello AM, Mazzanti CM, Gindri JK, Filappi A, Prestes D, Cecim M. Efeito Protetor do *Syzygium cumini* contra Diabetes mellitus induzido por Alozano em Ratos. *Acta Farm Bonaer.* 2002;21(1): 31-6.
- 36 Cavalli VLLO, Sordi C, Tonini K, Grando A, Muneron T, Guigi A, Roman Júnior WA. Avaliação in vivo do efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folha de bardana *Arctium minus* (Hill). *Rev Bras Farmacogn.* 2007;17(1):64-70.
- 37 Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(2):216-26.
- 38 Esmailzadeh A, Azadbakht L. Different kinds of vegetable oils in relation to individual cardiovascular risk factors among Iranian women. *Br J Nutr* 2011;105(06):919–27.

- 39 Huang T, Shou T, Cai N, Wahlqvist ML, Li D. Associations of plasma n-3 polyunsaturated fatty acids with blood pressure and cardiovascular risk factors among Chinese. *Int J Food Sci Nutr* 2012;63(6): 667-73.
- 40 Nogueira Junior FC; Coelho DA; Almeida MMC; Silva TCP; Ferreira ECS; Macedo UBO; Neto FPF; Brandão Neto J; Almeida MG; Rezende AA. Efeito do tamoxifeno no perfil lipídico de ratos diabéticos por estreptozotocina. *Acta Cir. Bras.* V. 20(1).p. 69-75.2005.
- 41 Cardoso, L.M; Oliveira, T.T; Pinto, A.S; Chaves, A.R.M; Leão, M.A; Costa, M.R; Fonseca, M.K.A; Santos, A; Zatti, R.A; Nagem, T.J. Efeito das tinturas de café torrado e moído nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose em ratos diabéticos. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, 2011;32(1):77-81
- 42 Dittrich M, Jahreis G, Bothor K, Drechsel C, Kiehntopf M, Blüher M, Dawczynski C. Benefits of foods supplemented with vegetable oils rich in alpha-linolenic, stearidonic or docosahexaenoic acid in hypertriglyceridemic subjects: a double-blind, randomized, controlled trail. *Eur J Nutr.* 2015;54:881-893.
- 43 Salar A, Faghih S, Pishdad GR. Rice bran oil and canola oil improve blood lipids compared to sunflower oil in women with type 2 diabetes: A randomized, single-blind, controlled trial. *Journal of Clinical Lipidology* (2016) 10, 299-305.
- 44 Nagaraju, A., Lokesh, B. R. Interesterified coconut oil blends with groundnut oil or olive oil exhibit greater hypocholesterolemic effects compared with their respective physical blends in rats. *Nutrition Research.* v.27, p.580-586, 2007.
- 45 Djerrou Z. Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacia lentiscus* fatty oil in egg yolk-fed rabbits: a comparative study with simvastatin. *Chinese Journal of Natural Medicines (Chin J Nat Med)* 2014,12(8):561-566.
- 46 Echeverría F, Ortiz M, Valenzuela R, Videla LA. Long-chain polyunsaturated fatty acids regulation of PPARs, signaling: Relationship to tissue development and aging. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA).* v. 114, p.28-34. 2016.
- 47 Jay MA; Ren J. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev.* 2007 Feb;3(1):33-9.
- 48 Sanchez-Quesada JL, Benitez S, Ordonez-Llanos J. Electronegative low-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol* 2004 ;15:329-35.
- 49 Siqueira AFA; Dulcinéia S.P. Abdalla; Sandra R.G. Ferreira. LDL: da Síndrome Metabólica à Instabilização da Placa Aterosclerótica. *Arq Bras Endocrinol Metab* vol 50 (2)p.334-343. 2006.

- 50 Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, Lottenberg AM et al.: IV brazilian guideline for dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Department of atherosclerosis of Brazilian society of cardiology. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88; 2-19.
- 51 Blasi, C: the autoimmune origino atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2008; 201: 17-32.
- 52 Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(10):1881-8.
- 53 Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res*. 2005;96(12):1221-32.
- 54 Leança CC; Passarelli M; Nakandakare ER; Quintão ECR. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* v. 54 (9) p. 777-784. 2010
- 55 Chinnadurai K, Kanwal HK, Tyagi AK, Stanton C, Ross P: High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. *Lipids Health Dis* 2013, 12:121.
- 56 Nestel P, Fujii A, Allen T: The cis-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) lowers plasma triglyceride and raises HDL cholesterol concentrations but does not suppress aortic atherosclerosis in diabetic apoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 2006, 189:282–287.
- 57 Rendel, M. The role of sulphonylureas in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, v. 64 (12) p. 1339-1358, 2004.

Table 1. Determination of equivalent fatty acid ethyl ester (EEAG) of the *Euterpe oleracea* oil analyzed by GC-MS

^a Fatty acid (n:i)	Peaks	Retention time (min)	Concentration (%)
Palmitoleic (16:1)	1	16.75	2.62
Palmitic (16:0)	2	18.07	30.0
Linoleic (18:3)	3	19.68	5.9
(Z)-Oleic (18:1)	4	19.78	54.32
Ethyl-Oleic (18:1)	5	19.84	4.29
Stearic (18:0)	6	20.12	2.29
∑ Monounsaturated	**	**	61.27
∑ Polyunsaturated	**	**	5.9
∑ Unsaturated	**	**	67.83
∑ Saturated	**	**	32.83

^aEEAG Equivalent to the respective fatty acids and (n:i) number of carbon and unsaturations.

Table 2. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg / kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on the clinical parameters of diabetic rats.

Parameters	Normal	DTC	OFEO	GBC
Weight (g)	283±6.3#	234±7.9	279±6.9#	259±4.5#
Food (g)	29±3.7#	42±5.2	30±3.8#	34±5.4*
Water (ml)	53±3.9#	129±9.7	71±7.2#	71±11.4#
Urine (ml)	14±2.7#	101±7.1	77±5.7#	61±6.2#

The numbers represent the Mean ± Standard Deviation (n = 7/group). *p < 0,05 and #p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

Table 3. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg / kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on the relative mass variation of organs of diabetic rats.

Organs	Normal	DTC	OFEO	GBC
Liver	6.06±0.24#	10,80±0,39	7.51±0.27#	8.18±0,41#
Kidneys	1.22± 0.12	1.29±0,19	1.26±0,14	1.45±0,19
Pancreas	0.68±0,06#	0.41±0,05	0.53±0.07**	0.59±0.06#
Heart	0.51±0,05#	0.59±0,17	0.59±0,09	0.58±0.07
Lungs	1.21±0,11	1.43±0,19	1.36±0,22	1.23±0.13
Abdominal fat	5.93±0,53#	12,06±0,64	7.22±0,51#	7.98±0,39#

The numbers represent the Mean ± Standard Deviation (n = 7/group). *p < 0,05, **p < 0,01 and #p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

Table 4. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg / kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on the biochemical parameters of diabetic rats.

The

Parameters	Normal	DTC	OFEO	GBC
Total Proteins (g/dl)	6.66±0.16#	4.89±0.21	5.70±0.13#	6.34±0.11#
Urea (mg/dl)	49,6±3,4#	81,7±5,4	66,7±2,9#	61,1±3,6#
Creatinine (mg/dl)	0,57±0,04#	0,87±0,05	0,71±0,04#	0,64±0,07#
AST (U/dl)	31,2±3,6#	66,1±2,8	49,3±2,1#	41,5±3,3#
ALT (U/dl)	42,4±3,9#	71,4±3,3	63,2±2,4#	59,8±3,7#

numbers represent the Mean ± Standard Deviation (n = 7/group). #p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

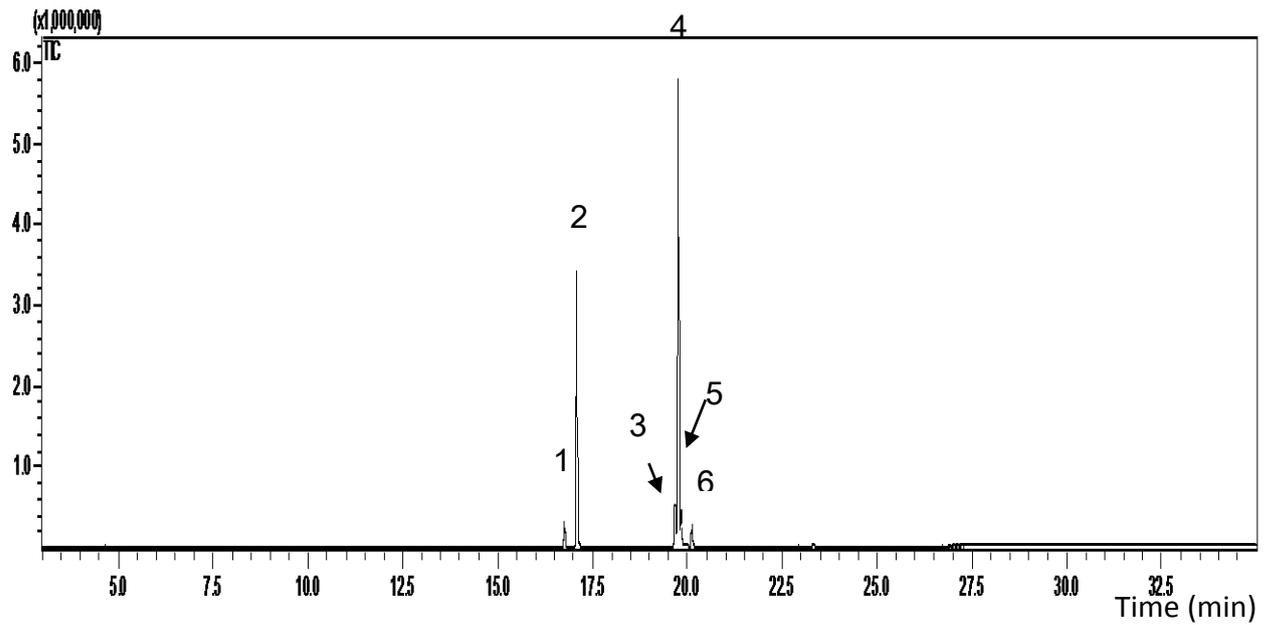


Figure 1. Chromatogram of the profile of the ethyl esters corresponding to fatty acids of the *Euterpe oleracea* oil analyzed by CG-MS.

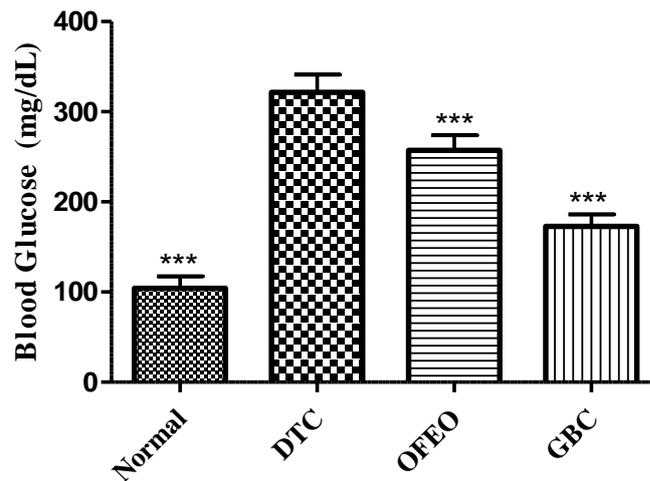


Figure 2. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on glucose level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

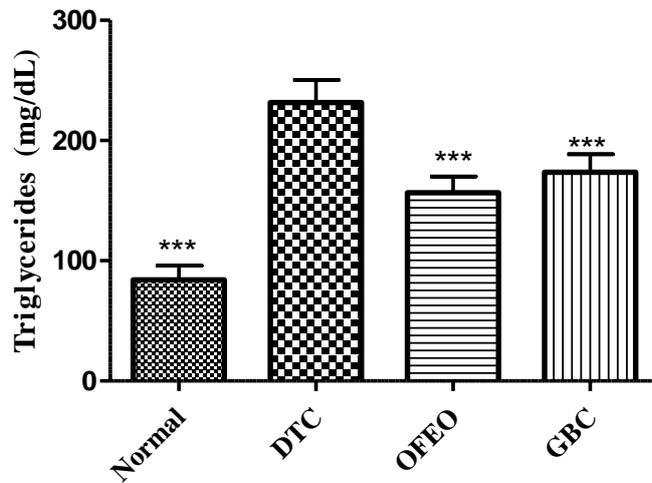


Figure 3. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on triglycerides level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

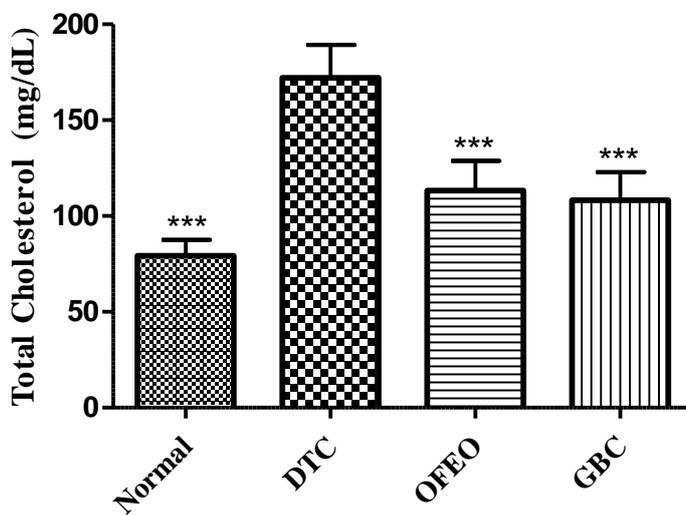


Figure 4. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on total cholesterol of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

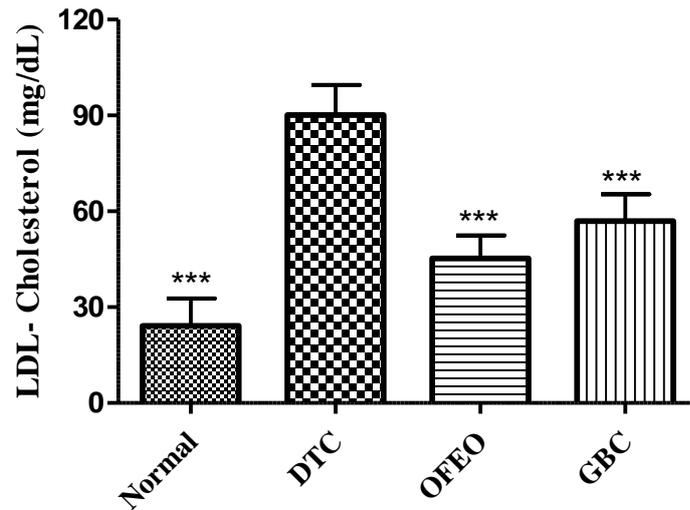


Figure 5. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on LDL-Cholesterol level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

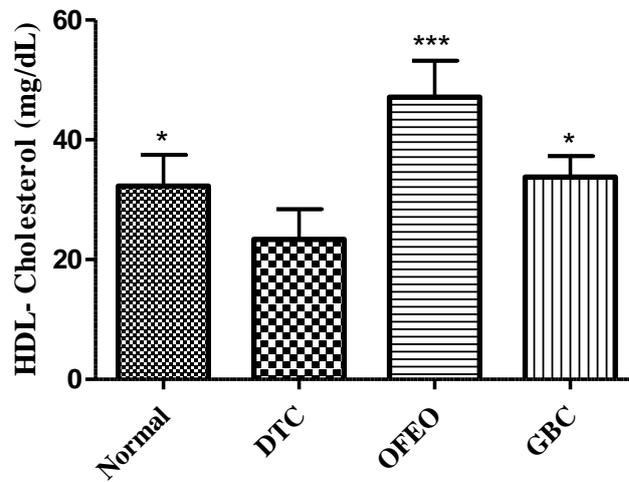


Figure 6. Effect of the treatment with OFEO (1226 mg/kg, p.o) and GBC (5 mg/kg, p.o) on HDL-Cholesterol level of diabetic rats. The bars represent the Mean \pm Standard Deviation (n = 7/group). *p < 0,05 and ***p < 0,001 represent statistically significant results compared to the DTC group.

7 DISCUSSÃO GERAL

Com base nos resultados físico-químicos descritos no **capítulo 2**, foi possível demonstrar que o OFEO é um líquido viscoso de cor esverdeada-escura com densidade de $0.976 \pm 0.008 \text{ g/cm}^3$. Esses resultados estão condizentes com os descritos por Pacheco-Palencia et al., (2008). O valor de índice de saponificação ($180 \pm 4.1 \text{ mgKOH/g}$) apresentado pelo OFEO é indicativo de que este óleo vegetal apresenta quantidade elevada de ácidos graxos de médio e alto peso molecular, pois o valor reduzido do índice de saponificação como o descrito neste estudo, é devido ao fato de que quanto maior a cadeia dos ácidos graxos, menor a quantidade requerida de Hidróxido de Potássio para a saponificação. Estudos realizados por da Silva e Rogez (2013), obtiveram valor de índice de saponificação para o OFEO de $175,69 \text{ mgKOH/g}$, esse achado está de acordo com o obtido em nossos estudos.

O valor do índice de acidez ($2,2 \pm 0,05 \text{ mgKOH/g}$) obtido do OFEO foi relativamente elevada, indicando possivelmente a formação de ácidos graxos livres, que decorre da decomposição dos triglicerídeos por processos de exposição à luz e calor, no entanto a acidez é uma variável que depende também do processamento e extração dos lipídeos, pois durante o processo de extração de óleo bruto vegetal, algumas espécies podem conter altos teores de compostos fenólicos, principalmente ácidos orgânicos que podem contribuir para o processo de acidez, estabilidade e potencial antioxidante (CARRASCO-PANCORBO et al., 2005; FARHOOSH et al., 2009), tal fato pode explicar o valor elevado de acidez, pois o OFEO é um óleo bruto e durante o seu processo de extração componentes fenólicos são extraídos.

Os resultados cromatográficos (**Capítulos 1 e 2**) demonstraram que o perfil de ácidos graxos (AG) do OFEO é constituído por 32.83 % de ácido graxos saturado (AGS), 67.83 % de ácidos graxos insaturados (AGI), sendo que destes, 61.27 % é de AG monoinsaturados com predominância do ácido oleico (54.32 %) e 5.90 % de AG poliinsaturado (ácido linoleico).

Esses resultados reforçam o elevado índice de Iodo ($72 \pm 4.3 \text{ gI}_2/100\text{g}$) obtido na análise OFEO, pois o índice de Iodo é um parâmetro usado para prever a presença de insaturações em éster de ácido graxo, pois é uma reação de halogenação que parte do princípio de que cada dupla ligação presente em AGIs pode facilmente reagir com dois átomos de halogênios, produzindo derivados *trans*-saturados.

Estudos envolvendo a composição química do OFEO demonstraram que este óleo fixo possui teor de AGI bastante semelhante com o obtido neste trabalho, variando entre 60 e 70 %, e o ácido oleico sendo o AG majoritariamente encontrado com teor entre 50-60%. (NASCIMENTO

et al., 2008, FAVACHO et al., 2011; DA SILVA E ROGEZ, 2013). O teor de AG poliinsaturados encontrado no OFEO geralmente é inferior 10%, estudos consideram esta faixa como ótima, uma vez que, óleos vegetais compostos por AGs que apresentem poliinsaturações são mais propensos a processos oxidativos e dessa forma são responsáveis por provocar alterações que afetam as qualidades sensoriais e nutricionais dos óleos alimentícios (ANTONIASSI, 2001).

Os resultados cromatográficos (**Capítulo 1**) indicaram que a gordura saturada de *Cocos nucifera* L. (GSC) utilizada neste estudo para induzir a dislipidemia, contém 92,64% de AGS, principalmente ácido láurico (57,8%), ácido mirístico (17,30%) e ácido palmítico (9,40%), estes resultados condizem com os obtidos em outros trabalhos, onde GSC possui teor acima de 90% de gorduras saturadas e apresenta como destaque os ácidos graxos, ácido Láurico e mirístico (LAURELES et al., 2002; ASSUNÇÃO et al., 2009).

Estudos já vêm utilizando modelos de indução de hiperlipidemia em ratos com base na administração da GSC, sua rica composição em gordura saturada é capaz de aumentar consideravelmente tanto a taxa de colesterol e frações quanto a de triglicerídeos (JUN et al 2007, CELESKI et al., 2013).

Os resultados bioquímicos da indução da dislipidemia com GSC em ratos Wistar mostraram aumento significativo nos níveis de colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos e glicemia. Já o tratamento com OFEO foi capaz de reduzir significativamente o colesterol total e o LDL-colesterol quando comparado ao grupo GSC, evidenciando assim que o OFEO atuou prevenindo a hiperlipidemia induzida pela GSC. O tratamento com OFEO associado a GSC, não foi capaz de reduzir a hipertrigliceridemia e hiperglicemia, também não houve diferença estatística entre os grupos para os valores de HDL-colesterol.

Assim os resultados bioquímicos demonstram que OFEO não foi capaz de reduzir a hipertrigliceridemia, no entanto, foi capaz de reduzir significativamente os níveis de colesterol total e LDL-colesterol, esse efeito possivelmente se deve ao perfil lipídico do (OFEO), pois sua rica composição em AGI principalmente o ácido oleico e linoleico, atuam reduzindo os níveis de LDL-colesterol e evitando a sua oxidação (LOTTENBERG, 2009; YUYAMA et al., 2011).

O aumento da glicemia evidenciado pelo grupo GSC, pode ser devido ao aumento da ingestão de AGS que contribui para o acúmulo de gordura corporal, uma ingestão alimentar excessiva em energia proveniente de carboidratos e lipídeos pode contribuir para a resistência na ação da insulina na captação de glicose pelo tecido adiposo e muscular levando ao aumento crônico e gradativo da glicemia (ZIVKOCIC et al., 2007; BASARANOGLU et al., 2014).

Considerando os demais parâmetros bioquímicos como ureia, creatinina e transaminases constatou-se que as mesmas não apresentaram alterações significativas, evidenciando que nenhum

dos tratamentos ocasionou resultados lesivos sobre os sistemas renal e hepático dos animais (CARVALHO et al., 2016).

A indução da dislipidemia com GSC apresentou aumento do fígado e de gordura abdominal, no entanto, o tratamento com OFEO foi capaz de evitar o aumento da massa do fígado assim como contribuiu na redução da gordura abdominal.

O aumento da massa absoluta do fígado e de gordura abdominal pode ser devido ao excesso de AGS contidos na GSC, pois estudos já evidenciaram que o excesso de AGS leva à biossíntese de lipídeos no fígado e aumento do fluxo hepático de (AGL) contribuindo consideravelmente para o acúmulo de lipídeos no fígado e na lipogênese (JUN et al., 2007).

A redução observada no peso do fígado e da gordura abdominal dos animais tratados com OFEO deve-se possivelmente em função do elevado teor de AGI na composição do OFEO, pois estudos mostram que a suplementação de AGI está associado a redução da hiperplasia e hipertrofia de células adiposas (QUEIROZ, 2009). Para Hensler et al., (2011), a atuação dos AGI na redução do tecido adiposo envolve os mecanismos de modulação do metabolismo por estímulo à β -oxidação por indução do PPAR- α , controle na diferenciação e proliferação de células adiposas.

Os níveis elevados de LDL-colesterol no sangue são reconhecidos como um dos fatores de risco mais importantes para as doenças cardiovasculares (DCVs). As DCVs afetam o coração, os vasos sanguíneos e a circulação vascular do cérebro, sendo as mais comuns, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença arterial periférica, todas essas DCVs são consequência do processo de aterosclerose, que é uma desordem inflamatória crônica que ocorre em resposta à agressão endotelial, deposição lipídica, migração de células musculares e calcificação, que acomete principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre (GOTTLIEB et al., 2005; BONFIM et al.; 2015).

O acúmulo de placas ateromatosas na superfície interna das artérias pode ocasionar a redução acentuada do fluxo sanguíneo e levar a oclusão do lúmen arterial. A formação da placa aterosclerótica no endotélio arterial é originalmente mediada pela elevação dos níveis plasmáticos de LDL-colesterol, na medida em que essas lipoproteínas são captadas para o espaço sub-endotelial, encontram ambiente pró-oxidante favorecido por elevação das espécies reativas de Oxigênio (ROS) que oxidam a LDL-colesterol em LDL-oxidada (LDLox). A LDLox possui efeitos nocivos ao endotélio e sua eliminação é mediada pelo recrutamento de células fagocitárias, principalmente monócitos que migram para o espaço sub-endotelial onde se diferenciam em macrófagos e fagocitam as LDLox. O interior dos macrófagos fica repleto de lipídeos e passam a ser chamados de células espumosas, sendo o principal componente da matriz gordurosa na

formação do volume da placa aterosclerótica (SANCHEZ-QUESADA et al., 2004; SIQUEIRA et al., 2006; SPOSITO et al., 2007; BLASI, 2008).

No que concerne à formação da aterosclerose nos modelos animais deste estudo, resultados das fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) da artéria aorta torácica mostraram que o grupo GSC apresentou a formação de placas ateroscleróticas no endotélio vascular, resultado que condiz com outros estudos acerca da temática, pois o desenvolvimento da lesão aterosclerótica é acelerado quando os animais são induzidos a uma dieta com alto teor de AGS, e as principais artérias acometidas são a aorta torácica e abdominal (JACKSON et al., 2007; DUCKWORTH et al., 2009).

O grupo tratado com OFEO apresentou propriedades anti-aterogênicas, pois não se observou placas de ateroma no endotélio vascular. Esse efeito pode ser explicado pelo fato do OFEO ter apresentado potencial redutor significativo de LDL-colesterol, visto que essa lipoproteína é a chave no início do processo da aterogênese, e tal processo ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (HANSSON, 2005; XAVIER et al., 2013). O grupo tratado com sinvastatina (SIN) também não apresentou formação de placas ateroscleróticas. A SIN é um fármaco bastante reconhecido pela propriedade de reduzir os valores séricos da LDL-colesterol, pois atuam promovendo a melhora da função endotelial e diminuição do estresse oxidativo, contribuindo assim na redução da aterosclerose, independentemente das alterações nos níveis plasmáticos do colesterol (FONSECA et al., 2003).

O Triton é um surfactante não aniônico de estrutura polimérica que vem sendo utilizado com sucesso em diversos trabalhos para induzir dislipidemias em modelos animais, seu mecanismo de ação envolve a capacidade de inibir a enzima lipoproteína lipase (LPL), responsável pela hidrólise dos triglicerídeos presentes nas lipoproteínas plasmáticas, principalmente nos quilomicrons e nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), assim como estimula a enzima hidroximetil-glutaril coenzima A redutase (HMG-Coa redutase), considerada enzima-chave intracelular para síntese do colesterol hepático. Como resultado, ocorre a diminuição da hidrólise dos triglicerídeos provenientes dos quilomícrons e VLDL e aumenta a biossíntese de colesterol no fígado, e a consequente elevação dos lipídeos plasmáticos (MANDUKHAIL et al., 2010; BERTGES et al., 2011)

Esse modelo de indução de dislipidemia foi bastante eficaz, pois aumentou significativamente os níveis de triglicerídeos (245.7 ± 26.6 mg/dL), colesterol total (172.8 ± 21.6 mg/dL) e LDL-colesterol (96.5 ± 11.6 mg/dL), em contrapartida promoveu a redução dos níveis de HDL-colesterol.

Os animais tratados tanto com OFEO quanto com SIN apresentaram significativa redução dos níveis de colesterol total, com valores de 121.7 ± 29.5 ($p < 0.01$) e 96.6 ± 17.6 mg/dL ($p < 0.001$) respectivamente. O OFEO também reduziu significativamente os níveis de LDL-colesterol ($p < 0,01$) e triglicerídeos ($p < 0,001$).

Estudos mostram que a administração de óleos contendo alto teor de AGIs aumentam significativamente a resposta antioxidante e apresentam efeito benéfico sobre o perfil lipídico, principalmente sobre a redução dos níveis de LDL-colesterol (SANTOS et al., 2013; DJERROU, 2014; RINCON-CERVERA et al., 2016).

Resultados evidenciam que o tratamento com o OFEO e com SIN foram capazes de melhorar o perfil lipídico incrementando de forma significativa a concentração de HDL-colesterol nos animais. Esse efeito possivelmente é devido ao elevado teor de ácido oleico e linoleico no OFEO, pois estudos demonstraram que tratamentos contendo esses AGIs contribuem para o aumento dos níveis de HDL-colesterol (NESTEL et al., 2006; BERMUDEZ et al., 2011; CHINNADURAI et al., 2013).

O mecanismo dos AGIs na redução do perfil lipídico envolve a ativação das isoformas dos receptores nucleares ativados por proliferador de peroxissomos (*peroxisome proliferator-activated receptors* - PPAR) α , β e γ , onde ocorre uma dependência de afinidades pelos subtipos, os AGIs em geral que apresentam afinidade pelo PPAR α , são efetivos na redução dos níveis plasmáticos de TG uma vez que, a ativação do PPAR α aumenta a lipólise intravascular e o *clearance* das partículas ricas em TG devido a regulação do gene da LPL mediada por inibição da apolipoproteína (Apo) C-III. Além do que o PPAR α também participa do controle do transporte e da captação de ácidos graxos por estimular os genes das proteínas *Fatty Acid Transport Protein* (FATP) e *Fatty Acid Binding Protein* (FABP). Aumenta também a atividade de enzimas da β -oxidação em mitocôndrias e em peroxissomos, assim como promove a redução da síntese e esterificação de ácidos graxos e da secreção de VLDL (SCHOONJANS et al., 1996; MICHALIK; WAHLI, 1999; MCKENNEY E SICA, 2007; RAPOSO, 2010; ECHEVERRÍA et al., 2016).

O DM quimicamente induzido com drogas β -citotóxicas em animais de experimentação tem sido amplamente empregado como modelo para os estudos de agentes terapêuticos e preventivos da diabetes, além disso, possibilitando a avaliação de parâmetros determinantes da SM desencadeada pelo evento da indução do estado diabético, principalmente os bioquímicos e clínicos.

O mecanismo pelo qual a aloxana produz a hiperglicemia crônica nos animais diabéticos é por ação no pâncreas, onde sua rápida absorção e acúmulo nas células β -pancreáticas das ilhotas de Langerhans produz uma elevada taxa de captação da droga via transportador de glicose GLUT

2, em seguida ocorre o influxo de íons cálcio ao citosol promovendo a supressão da resposta das ilhotas pancreáticas à glicose e a formação de ROS a partir de agentes redutores como a glutatona e a cisteína desencadeando necrose celular (SZKUDELSKI, 2001; ZANOELLO et al., 2002; CAVALLI et al., 2007; LENZEN, 2008).

Neste modelo de estudo, foi possível observar que a indução da DM provocou nos ratos um quadro de SM idêntica à observada em humanos, com modificações tanto de parâmetros clínicos quanto bioquímicos.

Os resultados obtidos demonstram que no rato diabético é notável a mudança nos parâmetros clínicos, decorrente em princípio, pela falta e/ou redução da ação da insulina. A falta de insulina induz o catabolismo de proteínas estruturais, hidrólise de lipídeos e a β -oxidação de ácidos graxos formando subprodutos para a gliconeogênese e para o gasto energético, dessa forma promove a redução da massa corporal, o desequilíbrio osmótico decorrente da hiperglicemia promove aumento do consumo de água e elevação do volume de urina. (RAMESH; PUGALENDI, 2006; MAHENDRAN et al., 2014). Todos esses parâmetros clínicos foram alterados nos animais diabéticos, no entanto o tratamento com OFEO foi capaz de atenuar e reverter esse quadro clínico.

Todas essas modificações clínicas observadas no grupo diabético (DTC) são situações agravantes da SM gerada pela DM, pois de certa forma, são responsáveis pela complicação desta comorbidade, uma vez que tanto o desequilíbrio osmótico e principalmente a hidrólise de lipídeos favorece com maior rapidez o aparecimento da hipertensão arterial e outras DCVs (SUPLICY, 2000). Diante disso, é possível inferir que o tratamento com OFEO foi capaz de melhorar os parâmetros clínicos e, em parte, pode retardar os índices de DCVs.

A SM está diretamente associada à elevação dos níveis séricos de glicose e lipídeos, principalmente os triglicerídeos. Considera-se que devido à hiperglicemia, ocorra intenso processo de lipólise no tecido adiposo, dessa forma ocorre excesso de ácidos graxos livres no sangue, que ao serem captados pelo fígado são convertidos em triglicerídeos (NOGUEIRA-JUNIOR et al., 2005). Na SM, a hipercolesterolemia é uma das condições que também propicia o surgimento de DCVs e, a redução do colesterol plasmático, principalmente a fração LDL, contribui para a proteção do endotélio e é uma das importantes providências para o controle da doença aterosclerótica e de suas complicações tais como, o infarto agudo do miocárdio e a hipertensão arterial sistêmica (Watts et al., 1994; Ardestani et al., 2008).

O tratamento com o OFEO foi capaz de reduzir significativamente ($p < 0.001$) tanto a hiperglicemia quanto a hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia ocasionadas pelo quadro de SM. A redução da glicemia, pode estar relacionada com o elevado teor de AG monoinsaturados, principalmente o ácido oleico, pois o seu potencial antioxidante é relevante no tratamento da SM

ocasionada pela DM, uma vez que as complicações do DM estão relacionadas em parte a danos provocados por espécies reativas de Oxigênio (ROS) nos diversos órgãos e possivelmente, a capacidade antioxidante do OFEO pode ter restaurado parcialmente as células β -pancreáticas. Esses resultados corroboram com os descritos por outros autores que descrevem o efeito de óleos vegetais no controle glicêmico (ESMAILZADEH; AZADBAKHT, 2011; HUANG et al., 2012). Em estudo realizado por DA SILVA; ROGEZ (2013) demonstrou o grande potencial antioxidante do OFEO e a quantificação de ácido oleico foi bastante expressiva (63,9%).

A redução dos níveis de triglicerídeos observado no grupo OFEO, pode ser explicada pelo fato desses grupos terem apresentado redução dos níveis glicêmicos, isso implica na redução da utilização de ácidos graxos provenientes da lipólise e redução concomitante de triglicerídeos (CARDOSO et al., 2011). Outros estudos utilizando óleos ricos em AGI, demonstram a capacidade de redução dos níveis de triglicerídeos (DITTRICH et al., 2015; SALAR et al., 2016). Já a redução dos níveis de colesterol total, está relacionada ao fato de que óleos vegetais contendo AGI, possuem a capacidade de ativar receptores nucleares PPAR, onde por ativação do PPAR γ reduzem os níveis de Lipídeos plasmáticos por aumentar a hidrólise de lipoproteínas ricas em triglicerídeos pela enzima lipoproteína Lipase, com aumentos concomitantes na transcrição de genes envolvidos na captação celular de Ags (ECHEVERRÍA et al., 2016). A ativação do PPAR γ está envolvido na estimulação da oxidação da glicose e melhora na resistência à insulina, consequentemente na redução da hiperglicemia, fato que pode ser observado no grupo tratado com OFEO. Além disso, sua contribuição na melhora do quadro da SM favorecem o controle da pressão arterial, função endotelial, bem como minimizam a formação de placas ateroscleróticas (JAY; REN, 2007). Outros estudos também demonstraram que óleos vegetais contendo AGI possuem a capacidade de reduzir os níveis de colesterol total (NAGARAJU; LOKESH, 2007; DJERROU, 2014).

Nos animais diabéticos com SM, foi observado um grande aumento nos níveis de LDL-colesterol ($90,20 \pm 9,36$ mg/dl) e redução de HDL-colesterol ($23,40 \pm 5,03$ mg/dl). Observou-se também que o tratamento com OFEO reduziu significativamente ($p < 0,001$) os níveis de LDL ($45,20 \pm 7,2$ mg/dl), e aumentou com extrema significância os níveis de HDL ($47,12 \pm 6,9$ mg/dl), resultados semelhantes foram observados no grupo tratado com Glibenclamida (GBC). Estudos relatam que níveis elevados de HDL possuem papel fundamental como antiaterogênico, pois contribuem reduzindo os níveis de colesterol pelo mecanismo de transporte reverso e evitam o processo de oxidação da LDL na parede arterial (KONTUSH et al., 2003; LEWIS; RADER, 2005; LEANÇA et al., 2010).

Na SM desencadeada pela DM, todo o metabolismo encontra-se prejudicado. A insulina exerce influência direta e indiretamente tanto no metabolismo lipídico quanto no proteico. A

resistência e/ou deficiência de insulina faz com que o organismo utilize vias alternativas para suprir o gasto energético e outras necessidades fisiológicas, no entanto esse processo torna-se desenfreado e culminam com a modificação de diversos parâmetros metabólicos, exemplos são: as elevações nos níveis de triglicérides, colesterol total e LDL, reduções de HDL e da defesa antioxidante que propicia a formação das ROS e de AGEs. Todo esse contexto é o ponto chave no desenvolvimento de DCVs e que leva ao agravamento dessas comorbidades ao decorrer dos anos (KIM et al., 2016; CARVALHO et al., 2016).

Com base nos resultados obtidos dos diversos modelos de indução de dislipidemia, o óleo fixo de *Euterpe Oleracea* Mart. (OFEO), foi capaz de apresentar atividade sobre o perfil lipídico, observou-se a capacidade do OFEO em reduzir de forma significativa os níveis de triglicérides e colesterol total, assim como ação redutora dos níveis de LDL-colesterol e aumento de HDL. Além disso, foi comprovado que o OFEO possui propriedades anti-aterogênicas. Tais efeitos são descritos em diversos trabalhos como sendo os principais fatores que contribuem na redução de DCVs. Essas doenças representam um dos principais problemas de saúde pública, uma vez que diminuem os anos de vida produtiva do indivíduo além da mortalidade precoce. Constituem as maiores causas de mortalidade no mundo, cerca de 12 milhões de pessoas apresentam DCVs a cada ano (SUNIL et al., 2012; DURAIANDIYAN, 2016).

Assim, tratamentos alternativos e dietas contendo componentes que venham a contribuir na melhora do perfil lipídico e na proteção endotelial, colocam-se como importantes providências para o controle das DCVs, principalmente a doença aterosclerótica e de suas complicações. (WATTS et al., 1994; BERTGES et al., 2011). Portanto conclui-se que o tratamento com OFEO empregado nas condições deste estudo, apresentou efeito capaz de atenuar as complicações decorrentes da SM em animais diabéticos e melhorou o perfil lipídico dos animais com dislipidemias, dessa forma pode-se inferir que o OFEO contribui no controle e como agente preventivo das DCVs.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Nos últimos anos observou-se grande aumento no número de estudos envolvendo a espécie *Euterpe Oleracea* Mart. (EOM) sendo a maioria relacionados a patologias associadas a distúrbios metabólicos mediados por processos oxidativos celulares, realizados com a finalidade de identificar compostos bioativos capazes de proteger contra os radicais livres, revertendo processos oxidativos, pois a produção em excesso de radicais livres pode causar danos graves ao organismo.

Nesse contexto, a ingestão de alimentos que contenham propriedades antioxidantes são de grande relevância no sentido de combater o desenvolvimento de doenças desencadeadas pela geração de radicais livres.

Constatou-se número muito reduzido de trabalhos farmacológicos publicados utilizando o óleo fixo extraído dos frutos, e a principal fonte dos estudos com a EOM foram realizados a partir dos extratos e sucos preparados utilizando os frutos desta espécie. Assim, considerando todos esses aspectos, o presente trabalho teve o propósito de explorar algo inovador, como a possível ação farmacológica do óleo fixo de *E. Oleracea* (OFEO) em diversos modelos de dislipidemia. Nessa perspectiva utilizou-se também equipamentos com tecnologia de ponta, exemplo, a microscopia eletrônica de varredura - MEV que possibilitou comprovar as propriedades anti-aterogênicas do OFEO.

Neste estudo foi possível demonstrar que o OFEO teve a capacidade de atuar na melhora do perfil lipídico testado em diversos modelos experimentais de indução de dislipidemia.

O efeito encontrado foi correlacionado com a composição majoritária de ácidos graxos insaturados presentes no OFEO, principalmente no ácido oleico. Entretanto, não foram executados testes para definir experimentalmente o real mecanismo de ação envolvido na melhora do perfil lipídico ocasionado pelo OFEO.

Espera-se dessa forma que os resultados demonstrados neste trabalho possam servir como fonte de novos conhecimentos, bem como de subsídios para estudos posteriores, esclarecendo o(s) mecanismo(s) que envolve(m) a ação do OFEO sobre a dislipidemia. E nesse sentido possa contribuir na realização de pesquisas clínicas com perspectivas de avaliação farmacológica do OFEO em pacientes com distúrbios no metabolismo lipídico, principalmente aqueles que apresentam riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares mediado por altos níveis de LDL-c e triglicérides.

- ALASALVAR, C.; AL-FARSI, M.; QUANTICK, P.C.; SHAHIDI, F.; WIKTOROWICZ, R. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 69-76, 2005.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. Summary of Scientific Conference on the Efficacy of Hypocholesterolemic Dietary Interventions. AHA Conference Proceedings. **Circulation**. v. 94, p.3388-91, 1996.
- ARAÚJO, A. L. Correlação entre dieta lipídica poli-insaturada e aterogênese. **Rev Angiol. Cirur. Vasc.** v. 5, p.15-22. 2007.
- ASLAN S.; XU, F.; WANG, P. L.; UH, J.; YEZHUVATH, U. S.; VAN OSCH, M.; LU, H. Estimation of labeling efficiency in pseudocontinuous arterial spin labeling. **Magnetic resonance in medicine**, v. 63, n. 3, p. 765-771, 2010.
- AYDIN, S.; AKSOY, A.; AYDIN, S.; KALAYCI, M.; YILMAZ, M.; KULOGLU, T.; CITIL, C.; CATAK, Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models. **Nutrition journal homepage**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2014.
- ARQUIVOS BRASILEIROS DE CARDIOLOGIA. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Revista Brasileira de cardiologia**. v. 100. n. 4. 2013.
- ASSUNÇÃO, M.L, FERREIRA. H.S; SANTOS, A. F; CABRAL, C. R; FLORENCIO, T.M.M.T: Effects of Dietary Coconut Oil on the Biochemical and Anthropometric Profiles of Women Presenting Abdominal Obesity. **Lipids**, v. 44, p. 593-601, 2009.
- AVIRAM, M.; EIAS, K. Dietary olive oil reduces low-density lipoprotein uptake by macrophages and decreases the susceptibility of the lipoprotein to undergo lipid peroxidation. **Annals of nutrition and metabolism**, v. 37, n. 2, p. 75-84, 1993.
- AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. S. dos. **Bioestat 5.3: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. 5. ed. Belém-PA: Publicações Avulsas do Mamirauá, 2007. 361 p.
- BASARANOGLU, M.; BASARANOGLU, G.; SENTURK, H. from fatty liver fibrosis: a tale of "seconde hit". **World j gastroenterol**, v. 19, n. 8, p. 431-44, 2014.
- BATETTA, B.; GRIINARI, M.; CARTA, G.; MURRU, E.; LIGRESTI, A.; CORDEDDU, L.; GIORDANO, E.; SANNA, F.; BISOGNO, T.; UDA, S.; COLLU, M.; BRUHEIM I.; DI MARZO, V.; BANNI, S. Endocannabinoids may mediate the ability of (n-3) fatty acids to reduce ectopic fat and inflammatory mediators in obese Zucker rats. **The Journal of nutrition**, v. 139, n. 8, p. 1495-1501, 2009.

BERNAUD, R. F. S.; FUNCHAL, C. D. S. Atividade antioxidante do açaí. **Nutrição Brasil**, v. 10, n. 5, p. 310-316, 2011.

BERNEIS, K. K.; KRAUSS, R. M. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. **Journal of lipid research**, v. 43, n. 9, p. 1363-1379, 2002.

BERTGES, L. C.; MOURÃO Jr, C. A.; J. B. SOUZA. Hiperlipidemia induzida PR Triton WR – 1339 (Tyloxapol) em Ratos Wistar. **Revista Brasileira de Ciências Médicas e da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 29-31, 2011.

BEVILACQUA, M. R. et al. Hiperlipidemias e fatores dietéticos: estudo transversal entre nipobrasileiros. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 4, p. 547-558, 2007.

BEZERRA, A.C.; SAMPAIO, H. A. de C.; MELO, M. L. P. de.; MAIA, C. S. C.; ALMEIDA, P. C. de. Associação entre Dislipidemia e excesso de peso de crianças e adolescentes atendidos em uma Unidade de Saúde. *Revista Baiana de Saúde Publica*. V.35, n.2, p. 348 – 362 abr./jun.2011.

BILATE, A. M. B. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de Reumatologia Clínica**, v. 8, n. 2, p. 47-51, 2007.

BLASI, C. the autoimmune origino atherosclerosis. **Atherosclerosis**. 2008; 201: 17-32.

BONFIM, M.R; OLIVEIRA, A.S.B; AMARAL, S.L; MONTEIRO, H.L: Tratamento das Dislipidemias com Estatinas e Exercícios Físicos: Evidências Recentes das Respostas Musculares. **Arq Bras Cardiol.**; v. 104, n.4, p.324-332. 2015

BONOMO, L. F. C.; SILVA, D. N.; BOASQUIVIS, P. F.; PAIVA, F. A.; GUERRA, J. F. C.; MARTINS, T. A. F.; TORRES, A. G. J.; DE PAULA, I. T. B. R.; CANESCHI, W. L.; JACOLOT, P.; GROSSIN, N.; TESSIER, F. J.; BOULANGER, E.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; OLIVEIRA, R. P. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. **PLOS ONE**. v. 9, n.31. 2014

BOSCHINI, R. P.; GARCIA JÚNIOR, J. R. UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 6, p. 753-764, 2005.

BRASIL, A. R.; NORTON, R. C.; ROSSETTI, M. B.; LEÃO, E.; MENDES, R. P. Proteína C reativa como indicador de inflamação de baixa intensidade em crianças e adolescentes com e sem obesidade. **Jornal de Pediatria**. v. 83, n.5, p. 477-80. , 2007

CALZAVARA, B. B. G. **As possibilidades do açaizeiro no estuário amazônico**. Belém: Boletim da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. Belém: FCAP, 1972. 103p.

CAMBRI, L. T.; SOUZA, M. D.; MANNRICH, G.; CRUZ, R. O. D.; GEVAERD, M. D. S. Perfil lipídico, dislipidemias e exercícios físicos. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 8, n. 3, 2006.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. D. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARRAPEIRO, M. M. **Efeito do uso combinado de ácidos graxos poliinsaturados Omega 3 e estatinas sobre biomarcadores do estresse oxidativo em mulheres com dislipidemia.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências farmacêuticas. São Paulo: 2010.

CARVALHO, H.O.; FARIA E SOUZA, B.S.; SANTOS, I.V.F.; RESQUE, R.L.; KEITA, H.; FERNANDES, C.P; CARVALHO, J.C.T. Hypoglycemic effect of formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2016.

CASANOVA, M; MEDEIROS, F. Recentes evidências sobre os ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 na doença cardiovascular. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 3, 2011.

CASTRO, K. F.; ARTONI, S. M. B.; PACHECO, M. R. Perfil lipídico sérico de ratos tratados com surfactante. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** Sao Paulo, v. 49, n. 3, p. 193-201, 2012.

CAVALCANTE, P.B. Edible fruits of Amazonia. **Museu Paraense Emílio Goeldi: CEJUP:** Belém: 1996, CNPq. 279p, 6.ed.

CELESKI, I. C.; FERGUTZ, J. K.; PEREIRA, E. M.; ZÉTOLO, M.; BAZZO, G. C.; PEZZINI, B. R. Avaliação da indução de hiperlipidemia em ratos por dexametasona e óleo de coco. **Infarma**, v. 25, n. 3, p. 126-131, 2013.

CHORILLI, M; MICHELIN, D. C; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada..** v. 28, n.1, p.11-23. 2007

CHOY, P. C.; SIOW, Y. L.; MYMIN, D.; O, K. Lipids and atherosclerosis. **Biochemistry and cell biology**, v. 82, n. 1, p. 212-224, 2004.

COHEN, K. O.; OLIVEIRA, M. S. P.; CHISTÉ, R. C.; PLLET, J. P. D.; MONTE, D.C. Content total anthocyanins of açai pulp of several populations of açai palm quantification. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Amazônia Oriental.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Belém, PA: 2006. 15p.

D'ADAMO, E.; GUARDAMAGNA, O.; CHIARELLI, F.; BARTULI, A.; LICCARDO, D.; FERRARI, F.; NOBILI, V. Atherogenic Dyslipidemia and Cardiovascular Risk Factors in Obese Children. *International Journal of Endocrinology*. 9 pages. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/912047>.

DANTAS, M. B. **Efeito do ácido betulínico no tratamento de dislipidemia e diabetes em camundongos.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Ceará. Fortaleza: 2012.

DAPONT, E. C. **Aceleração da germinação e sombreamento na formação de mudas de açaí.** Dissertação de Mestrado em Agronomia. Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal do Acre. Rio Branco: 2012.

DA SILVA, P. A. C.; DIONÍSIO, A. P.; WURLITZER, N. J.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; E SILVA, A. M. D. O.; BRASIL, I. M.; FILHO, J. M. Effect of antioxidant potential of tropical fruit juices on antioxidant enzyme profiles and lipid peroxidation in rats. **Food Chemistry**. 157, 179–185. 2014.

DE OLIVEIRA, P.R; DA COSTA, C.A; DE BEM, G.F; DE CAVALHO, L,C; DE SOUZA, M.A; DE LEMOS NETO, M; DA CUNHA SOUSA, P.J; DE MOURA, R.S; RESENDE, A.C. Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 56, n. 6, p. 619-626, 2010.

DE MATOS, L. S.; ZAFRA, V. B.; ELIAS, R. M.; NOGUEIRA, P. L. B.; DA SILVA, L. M. GÊNESE DA ATEROSCLEROSE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES: ARTIGO DE REVISÃO. **Conectonline**. N.14,1012. ISSN: 1980-7341. Disponível em: <<http://www.periodicos.univag.com.br/index.php/CONNECTIONLINE/article/viewFile/320/559>>. Acesso em: 12/08/2016. 12:40h.

DE MOURA, R. S.; PIRES, K. M. P.; FERREIRA, T. S.; LOPES, A. A.; NESI, R. T.; RESENDE, A. C.; SOUSA, P. J. C.; DA SILVA, A. J. R.; PORTO, L. C.; VALENCACA, S. S. Addition of açaí (*Euterpe oleracea*) to cigarettes has a protective effect against emphysema in mice. **Food and Chemical Toxicology**. 2010.

DIPIRO, J. T.; TALBERT, R. L.; YEE, G. C.; MATZKE, G. R.; WELLS, B. G.; POSEY, L. M. PHARMACOTHERAPY 3RD, A. **A pathophysiologic approach**. The McGraw-Hill Companies. Inc. New York, 2008.

DOS SANTOS, M. G.; PEGORARO, M.; SANDRINI, F.; MACUCO, E. C. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arq Bras Cardiol**, v. 90, n. 4, p. 301-308, 2008.

DUCKWORTH, W; ABRAIRA, C; MORITZ, T; REDA, D; EMANUELE, N; REAVEN, P.D; ZIEVE, F.J; MARKS, J; DAVIS, S.N; HAYWARD, R; WARREN, S.R; GOLDMAN. S; MCCARREN, M; VITEK, M.E; HENDERSON, W.G; HUANG, G.D. For the VADT Investigators. Glucose Control and Vascular Complications in Veterans with Type 2 Diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 2, p. 129-139, 2009.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ Embrapa. **Amazônia oriental, sistemas de produção**. Versão Eletrônica 04 Dez./2005.

ERGSTRÖM, K; SALDEEN, A.S; YANG, B; MEHTA, J.L; SALDEEN, T. Effect of fish oils containing different amounts of EPA, DHA, and antioxidants on plasma and brain fatty acids and brain nitric oxide synthase activity in rats. **Uppsala journal of medical sciences**, v. 114, n. 4, p. 206-213, 2009.

EU, C. H. A.; LIM, W. Y. A.; TON, S. H.; BIN ABDUL, K., K. Glycyrrhizic acid improved lipoprotein lipase expression, insulin sensitivity, serum lipid and lipid deposition in high-fat diet-induced obese rats. **Lipids in health and disease**, v. 9, n. 1, p. 1, 2010.

FAGHERAZZI, S; DIAS, R. da L.; BORTOLON, F. Impacto do exercício físico isolado e combinado com dieta sobre os níveis séricos de HDL, LDL, colesterol total e triglicerídeos. *Rev Bras Med Esporte* vol.14 no.4 Niterói July/Aug. 2008

FARINAS, C.; DOS SANTOS, R. R. M.; BERTUCCI NETO, V.; PESSOA, J. Aproveitamento do caroço do açaí como substrato para a produção de enzimas por fermentação em estado sólido. São Carlos-SP: **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, 2009.

FARRÉ, A. L.; MACAYA, C.. Efectos antitrombóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. **Revista Española de Cardiología Suplementos**, v. 6, n. 4, p. 31-37, 2006.

FAVACHO, H.A.S. **Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo de *Euterpe oleracea*, Mart.** Dissertação de Mestrado. UFPa, 2009.

Federação das Indústrias do estado do Amazonas FIEAM. **Açaí: Dados botânicos e regiões de ocorrência**, 2006.

FAVACHO, H. A. S; OLIVEIRA, B. R; SANTOS, K. C; MEDEIROS, B. J. L; SOUSA, P. J. C; PERAZZO, F. F; CARVALHO, J. C. T. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* Mart. oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 105-114, 2011.

FELIPE-DE-MELO, E. R. T; SILVA, R. de C. R. da; ASSIS, A. M. O; PINTO, E. de J. Fatores associados à síndrome metabólica em trabalhadores administrativos de uma indústria de petróleo. *Rev. Ciência & Saúde Coletiva*, 16(8): 3443-3452, 2011.

FENELON, R.J.G.; NISHIOKA, S.A.D.; FALUDI, A.A.; Geloneze, B.; SCHERR, C.; KOVACS, C.; TOMAZZELA, C.; CARLA, C.; BARRERA-ARELLANO, D.; CINTRA, D.; QUINTÃO, E.; NAKANDAKARE, E.R.; FONSECA, F.A.H.; PIMENTEL, I.; SANTOS, J.E.; BERTOLAMI, M.C.; ROGERO, M.; IZAR, M.C.; NAKASATO, M.; DAMASCENO, N.R.T.; MARANHÃO, R.; CASSANI, R.S.L.; PERIM, R.; Ramos, S. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.* vol.100 no.1 supl.3 São Paulo Jan. 2013.

FERRARI, M.; ROCHA-FILHO, P. A. da. Multiple emulsions containing amazon oil: açaí oil (*Euterpe oleracea*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 4, p. 737-743, 2011.

FERREIRA, A. M.; DE SOUZA, B. M. V.; RIGOTTI, M. A.; LOUREIRO, M. R. D. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 46, n. 3, p. 752-760, 2012.

FONSECA, F.A.; IHARA, S.S.; IZAR, M.C.; SILVA, E.P.; KASINSKI, N.; LOPES, I.E.; PINTO, L.E.; PAIVA, T.B.; TUFIK, S.; DE PAOLA, A.A.; CARVALHO, A.C. Hydrochlorothiazide abolishes the anti-atherosclerotic effect of quinapril. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v. 30, n. 10, p. 779-785, 2003.

GANTUSS, C. A. R. **Caracterização física e química de locais de ocorrência do açaizeiro (*Euterpe oleracea*, mart) no estado do Amapá e sua relação com o rendimento e qualidade**

do fruto. 2006. 92 f. Dissertação de Mestrado em agronomia - Universidade Federal da Paraíba, Areia: 2006.

GONÇALVES, A. E. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C.** Universidade de São Paulo. Faculdade de ciências farmacêuticas. São Paulo: 2008.

GONZALEZ-AGUILAR, G. A.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; YAHIA, E. M. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 10, p. 475-482, 2010.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. O. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Revista anual de Imunologia**, v. 29, p. 415-445, 2011.

GRUNDY, S. M.; PASTERNAK, R.; GREENLAND, P.; SMITH, S.; FUSTER, V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 34, n. 4, p. 1348-1359, 1999.

HANN, V. B.; DE SOUZA, M., M.; DA LUZ, D. Raquel. Termogênicos: uma revisão sistemática sobre o uso de óleo de coco, óleo de cártamo e CLA. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 8, n. 43, p. 2, 2014.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 208-214, 2010.

HANSSON, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 16, p. 1685-1695, 2005.

HENSLER, M.; BARDOVA, K.; JILKOVA, Z.M.; WAHLI, W.; MEZTGER, D.; CHAMBON, P.; KOPECKY, J.; FLACHS, P. The inhibition of fat cell proliferation by n-3 fatty acids in dietary obese mice. **Lipids in health and disease**, v. 10, n. 1, p. 1, 2011.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 18-23, 2012.

HOWARD, B. V.; RUOTOLO, G.; ROBBINS, D. C. Obesity and dyslipidemia. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 32, n. 4, p. 855-867, 2003.

Instituto Superior de Administração e Economia ISAE / Fundação Getulio Vargas FGV. **Projeto Potencialidades Regionais – Estudo de Viabilidade Econômica.** Manaus: 2003.

IPSEN, D. H.; TVEDEN-NYBORG.; LYKKESFELDT. Dyslipidemia: Obese or not obese – That Is Not the Question. Springer Science + Business Media New York, published online 29 september, 2016.

ISLEY, W. L.; MILES, J. M.; HARRIS, W. S. Pilot study of combined therapy with ω -3 fatty acids and niacin in atherogenic dyslipidemia. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 1, n. 3, p. 211-217, 2007.

JACKSON, C.L.; BENNETT, M.R.; BIESSEN, E.A.L.; JOHNSON, J.L.; KRAMS, R. Assessment of unstable atherosclerosis in mice. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 27, n. 4, p. 714-720, 2007.

JELLINGER, P.S.; DICKEY, R.A.; GANDA, O.P.; MEHTA, A.E.; NGUYEN, T.T.; RODBARD, H.W.; SEIBEL, J.A.; SHEPHERD, M.D.; SMITH, D.A. ACE medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of atherogenesis. **Endocrine practice: official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, v. 6, n. 2, p. 162, 2002.

JUN, S.W.; KIM, M.; KIM, J.; PARK, H.J.; LEE, S.; WOO, J.; HWANG, S. Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 413-421, 2007.

KATHIRESA, S; OTVOS, J.D; SULLIVAN, L.M; KEYES, M.J; SCHAEFER, E.J; WILSON, P.W; D'AGOSTINO, R.B; VASAN, R.S; ROBINS, S.J. Increased small low-density lipoprotein particle number A prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 113, n. 1, p. 20-29, 2006.

KRAUSS, R. M; BLANCHE, P. J; RAWLINGS, R. S; FERNSTROM, H. S; WILLIAMS, P. T. Separate effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 5, p. 1025-1031, 2006.

KUSKOSKI, E.M; ASUERO, G.A; MORALES, M.T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LANDMESSER, U; HORNING, B; DREXLER, H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? **Circulation**. 2004;109: II27-33.

LAURELES, L.R; RODRIGUEZ, F.M; REANO, C.E; SANTOS, G.A; LAURENA, A.C; MENDOZA, E.M. Variability in fatty acid and triacylglycerol composition of the oil of coconut (*Cocos nucifera* L.) hybrids and their parentals. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1581-1586, 2002.

LEE, Y.S; KIM, Y.W; KIM, S.G; LEE, I; LEE, M.G; KANG, H.E. Effects of poloxamer 407-induced hyperlipidemia on the pharmacokinetics of carbamazepine and its 10, 11-epoxide metabolite in rats: Impact of decreased expression of both CYP3A1/2 and microsomal epoxide hydrolase. **European Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 6, p. 431-440, 2012.

LEITE, B. F.; JAMAR, G.; CARANTI, D. A. Effects of fatty acids on the Metabolic Syndrome: a literature review. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.** São Paulo, SP: abr. 2014. v. 39, n. 1, p. 113-129.

LEITE JÚNIOR, A. C. de A. **Avaliação de aspectos funcionais da lipoproteína de alta densidade (HDL) e suas subfrações em pacientes com doença arterial coronária.** 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

LIMA, A. D.; SILVA, A. D. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LIMA, E. S.; COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J Bras Patol Med Lab**, v. 42, n. 3, p. 169-78, 2006.

LOTTENBERG, A.M.P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab.** SP- 2009.

MAHAN, J.; ESCOTT-STUMP, S.; KATHLEEN, L.; RAYMOND, L. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. **Editora: ELSEVIER** .- 13ª Ed. 2013.

MCGOWAN, M.P. Am I at risk for developing heart disease? Heart fitness for life. New York: Oxford, 1997;10-25.

MALCHER, E. S. L. T. **Influência da sazonalidade sobre a composição química e atividade antioxidante do açaí (*Euterpe oleracea* Mart).** Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Biodiversidade Tropical. Universidade Federal do Amapá – UNIFAP. Macapá: 2011.

MANDUKHAIL, Saf-ur Rehman; AZIZ, Nauman; GILANI, Anwarul-Hassan. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. **Lipids in health and disease**, v. 9, n. 1, p. 1, 2010.

MARANHÃO, Raul Cavalcante et al. Lipoprotein (a): structure, pathophysiology and clinical implications. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 103, n. 1, p. 76-84, 2014.

MARIOD, A. A.; IBRAHIM, R. M.; ISMAIL, M.; ISMAIL, N. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 306-312, 2009.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, v. 2, n. 2, p. 137-189, 1995.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V. D.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E. D.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr.** Campinas: Nov./Dec. 2009. vol.19, n.6 .

MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. C.; PESSOA, J. D. C. Comportamento térmico e caracterização morfológica das fibras de mesocarpo e caroço do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2009.

MATTERN, H.M; HARDIN, C.D. Vascular metabolic dysfunction and lipotoxicity. *Physiol Res.* 2007;56:149-58.

MASI, L. N.; SILVA, E. P. P. A influência dos ácidos graxos *trans* na disfunção da célula endotelial e o possível efeito terapêutico do exercício sobre o tecido endotelial como forma de prevenção ou regressão da aterosclerose. *J Vasc Bras*, vol. 8, N° (2): 171-176, 2009.

MATHEUS, M. E.; MANTOVANI, I.S.B.; SANTOS, G.B.; FERNANDES, S.B.O.; MENEZES, F.S.; FERNANDES, P.D. **Ação de extratos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre a produção de óxido nítrico em células RAW 264.7.** *Rev. Brasileira de farmacognosia*, v.13, supl.,p.03 – 05, 2003.

MEDIĆ, D. R.; RISTIĆ, V.; ARSIĆ, A.; POŠTIĆ, M.; RISTIĆ, G.; MLADENović, V. B.; TEPŠIĆ, J. Effects of soybean D-LeciVita product on serum lipids and fatty acid composition in type 2 diabetic patients with hyperlipidemia. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 16, n. 6, p. 395-404, 2006.

MENEZES, E.M. da S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. et al. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amaz**, v. 38, n. 2, p. 311-316, 2008.

MINEO, C.; SHAUL, P.W. Novel biological functions of high-density lipoprotein cholesterol. **Circ. Res**, v. 8, p. 1079-1090, 2012.

MIRANDA, I.P.A.; RABELO, A.; BUENO, C.R.; BARBOSA, E.M.; RIBEIRO, M.N.S. **Palm fruits of Amazonia-Manaus.** MCT/INPA: 2001. 119 p.

MOLENA-FERNANDES, C. A.; SCHIMIDT, G.; NETO-OLIVEIRA, E. R.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Avaliação dos efeitos da suplementação com farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) marrom e dourada sobre o perfil lipídico e a evolução ponderal em ratos Wistar. **Rev Bras Pl Med**, v. 12, n. 2, p. 201-7, 2010.

MORENO, Diego A. et al. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. **Nutrition**, v. 19, n. 10, p. 876-879, 2003.

MOURA, P. R.; VIDAL, F. A. P. Transdução de sinais: uma revisão sobre proteína G. **Scientia Médica**. Porto Alegre: 2011. v. 21, n. 1, p. 31-36.

NASCIMENTO, R. J. S. do.; COURI, S.; ANTONIASSI, O.; FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal – SP: Junho 2008. v. 30, n. 2, p. 498-502.

NASCIMENTO, J. F. C. G. D.; GIL JUNIOR, L. A.; PASQUALUCCI, C. A.; JACOB FILHO, W. Aterosclerose: diagnóstico macroscópico nas autópsias. **Diagn. tratamento**, v. 18, n. 2, 2013.

OJEWOLE, J. A.O. Hypoglycaemic effect of *Clausena anisata* (Willd) Hook methanolic root extract in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 231-237, 2002.

OKADA, Y; MOTOYA, T; NOMURA, M. A study on fatty acids in seeds of *Euterpe oleracea* Mart Sees. **Journal of oleo Science**, v. 60, n. 9, p. 463-467, 2011.

OLIVEIRA, M. S. P.; CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O.; MÜLLER, C. H. Cultivo do açaizeiro para produção de frutos. **Embrapa Amazônia Oriental**. Belém: 2002. Circular técnica 26. 18 p.

OLIVEIRA, C. L. D.; MELLO, M. T. D.; CINTRA, I. D. P.; FISBERG, M. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. **Revista de nutrição**. Campinas : Apr./June 2004. vol.17. n.2.

OLIVEIRA, A. M.; CALIRI, C. M.; REGASINI, L. O.; TELASCREA, M.; PERON, M. C. C.; SIQUEIRA e SILVA, D. H.; SANTOS, A. G. dos; BOLZANI, V. da S.; CAVALHERIO, A. J.; SOARES, C. P. Evaluation of micronuclei frequency in *Tradescantia pallida* pollen mother cells treated with ethanolic extracts isolated from *Cryptocarya mandioccana*, *Cryptocarya moschata* and *Pterogyne nitens*. **Revista Brasileira de Toxicologia**. 2007. 20, n.1 e 2, 73-78.

OLIVEIRA, A. G; COSTA, M.C. D; ROCHA, S.M.B.M. Benefícios funcionais do açaí na prevenção das doenças cardiovasculares. functional benefits of açaí berry in the prevention of cardiovascular diseases. **Journal of Amazon Health Science** v.1, n.1, p., 2015.

OYAMA. L. M. Estudo dos efeitos da galato-3-epigalocatequina sobre a secreção de adipocinas, a via de sinalização do TLR4 e do NF- κ B em adipócitos – estudo *in vivo* e *in vitro*. **Projeto de pesquisa, auxílio à pesquisa – Fapesp**. 2009.

PACHECO – PALENCIA, L; MERTENS – TALCOTT, S; TALCOOT, S.T. Chemical Composition, Antioxidante Properties, and Thermal Stability of a Phytochemical Enriched Oil from açaí (*Euterpe oleracea* Mart), **J Agric Food Chem**. 2008.

PERES, M.T.L.P.; PIZZOLATTI, M.G.; QUEIROZ, M.H. & YUNES, R.A. Potencial de atividade alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (Pr.). **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 33, p. 131-137, 1998.

PEREIRA, P. B., et al. Perfil lipídico de escolares de Recife –PE. **Arq Bras cardiol**. v. 95, n.5, p. 606 – 613, 2010

PEZZINI, B. R. **Revistas Conselho Federal de Farmácia**. 2013. vol. 25. n.3.

PIRILLO, A.; CATAPANO, A. L. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. **Atherosclerosis Supplements**. Elsevier. 2013.14, p. 237–242.

POMPEU, D. R.; BARATA, V. C. P.; ROGEZ, H. Impacto da refrigeração sobre variáveis de qualidade dos frutos do açaizeiro (*Euterpe oleracea*, MART). **Revista Alimentação e Nutrição**. Araraquara: jan./mar. 2009. v. 20, n.1, p. 141-148.

POUDYAL, H.; PANCHAL, S. K.; DIWAN, V.; BROWN, L. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: Effects and emerging mechanisms of action. **Progress in Lipid Research**. 2011. v. 50, p. 372–387.

POZZAN, R; POZZAN, R; MAGALHÃES, M. E. C; BRANDÃO, A. A.; BRANDÃO, A. P.; Dislipidemia, Síndrome Metabólica e Risco Cardiovascular. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. **Revista da SOCERJ**. Abr/Mai/Jun 2004, p. 97.

RALLIDIS, L.S; PASCHOS, G; LIAKOS, G.K; VELISSARIDOU, A. H; ANASTASIADIS, G.; ZAMPELAS, A. Dietary alpha-linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dyslipidaemic patients. **Atherosclerosis**. 2003; 167:2. 237-42.

RÊGO, L. F. E.. Correlação entre os níveis plasmáticos de Lp (a), ApoA-I e ApoB e a doença coronária. 2009.

RIQUE, A.B; SOARES, E.A; MEIRELLES, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. *Rev Bras Med Esporte* 2002;8:244 -54.

RIBEIRO, L. O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. S. S. Avaliação da Composição Centesimal, Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçá (*Euterpe edulis Martius*). **Revista Eletrônica TECCEN**. Vassouras: set./dez. 2011. v. 4, n. 2, p. 5-16,

ROCHA, A. P. M.; CARVALHO, L. C. R. M.; SOUSA, M. A. V.; MADEIRA, S. F.; SOUSA, P. J. C.; TANO, T.; SCHINI-KERTH V.B.; RESENDE, A.C.; DE MOURA R. S. Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart.(Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascular pharmacology**, v. 46, n. 2, p. 97-104, 2007.

RODRIGUES, L. M. Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsões óleo/água a base de óleos vegetais para prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão. Monografia de Conclusão de Curso. **Departamento de Farmácia**, Universidade de Brasília, Brasília- DF: 2013.

ROGEZ, H.; SOUZA, J.N.S.; NASCIMENTO, M. Q.; BUXANT, R.; PASCAL, S. Branqueamento dos frutos de açaí (*Euterpe oleracea Mart*) para a diminuição da carga microbiana do suco. **Anais da Assoc. Bras. Quím.** 1996. v. 45, n. 4, p. 177-184,

ROGEZ, H. Açaí: preparation, composition and conservation improvement. **EDUFPA**. Pará, Belém: 2000.313 p.

ROSENDO, A. B. Marcadores inflamatórios na aterosclerose e o tratamento com inibidores da HMG CO-A Redutase, Criciúma, **Universidade do Extremo Sul Catarinense**. Santa Catarina. 2007.

SANTOS, R.D; GAGLIARDI, A. C. M; XAVIER, H.T; MAGNONI, C.D. CASSANI, R, LOTTENBERG, A. M; CASELLA FILHO, A; ARAÚJO, D.B; CESENA, F.Y; ALVES R.J; FENELON, G; NISHIOKA, S.A. D; FALUDI, A.A; GELONEZE, B; SCHERR, C; KOVACS, C; TOMAZZELA,C; CARLA,C; BARRERA-ARELLANO, D; CINTRA, D; QUINTÃO, E; NAKANDAKARE, E.R; FONSECA, F.A.H; PIMENTEL, I; SANTOS, J.E; BERTOLAMI, M.C; ROGERO, M; IZAR, M.C; NAKASATO, M; DAMASCENO, N.R.T; MARANHÃO, R; CASSANI, R.S.L; PERIM, R. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol**. São Paulo. 2013; 100:1-40. Suplemento 3.

SANTOS, R.D; MARANHÃO, R.C; LUZ, P.L; LIMA, J. C; FILHO, W.S; AVEZUM, A et al. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretrizes de prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2001; 77(Suppl 3):1-191.

SCHWERTZ, M.C.; MAIA, J. R. P.; SOUSA, R. F. S. de.; AGUIAR, J. P. L.; YUYAMA, L. K. O.; LIMA, E. S. Efeito hipolipêmico do suco de camu-camu em ratos. *Rev. Nutrição*, Campinas, 25 (1): 35-44, jan./fev.,2012

SILVA, J. J.M.; ROGEZ, H. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. **Quim. Nova**, v. 36, n. 3, p. 400-406. Belém, PA. 2013.

SILVA, S. M. **As estatinas como anti-dislipidêmicos hoje e como anti-inflamatórios amanhã**. Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde e Universidade de Lusófona. 2013.

SILVA, F. N; SOUZA, M. C. C. de. Prevalência de dislipidemias em crianças e adolescentes: Revisão sistemática. *Interbio*. v.8, n.2, Jul – Dez. 2014

SINGH, U; JIALAL, I. Oxidative stress and atherosclerosis. **Pathophysiology**. 2006; 13: 129-142.

Sociedade Brasileira de cardiologia. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC). *Arq. Bras Cardiol*. 2001; 77 (Supl.III): 1 – 40.

Sociedade Brasileira de cardiologia. IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC). *Arq. Bras Cardiol*. 2007; 88 (Supl.I): 1 – 19.

SOARES, D.; MARTHENDAL,G.; ZIMMERMANN, M. C.; ZENI, A. L. B. Estudo dos níveis lipídicos em ratos após tratamento com infusão de algumas plantas medicinais de uso popular. **Rev. Bras. Farm.** 2005. 86, v 2, 71-74.

SOARES, D. J; MOURA NETO, L. G. de; DAMACENO, MARLENE, N.; SOUZA, P. A. BRAGA, R. C.; BRASIL, U. M. **SAÚDE REV**. Piracicaba, v. 15, n. 39, p. 33-45, jan.-abr. 2015.

SOUZA, J. O. T.; VIANNA, L. M. A. O uso de estatinas no Acidente Vascular Cerebral: revisão de literatura, **Rev Neurociências**. 2011. v. 19. N. 1. p. 145 – 152.

SOUZA, M.O. Adição de polpa de açaí (*Euterpe Oleracea*, Mart), à dieta hipercolesterolemiantes modifica a expressão de genes hepáticos do metabolismo do colesterol e o perfil de adipocinas séricas em ratos. **Tese de Doutorado em Ciências Biológicas**. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto: 2013.

SOUZA, M. O.; E SILVA, L. S.; DE BRITO MAGALHÃES, C. L.; DE FIGUEIREDO, B. B.; COSTA, D. C.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. The hypocholesterolemic activity of açaí (*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. **Nutrition Research**. 2012. v. 32, p. 976 – 984.

SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, R. P.; PEDROSA, M. L., Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress

and the serum lipid profile in rats. **Nutrition Journal**. 2010. v. 26, p. 804–810. Disponível em: <www.nutritionjrn1.com>. Acesso em: 10 jan. 2015. 16:30:30.

SPOSITO, A.C; CARAMELLI, B; FONSECA, F.A; BERTOLAMI, M.C; AFIUNE NETO, A; SOUZA, A.D; LOTTENBERG, A.M et al. IV brazilian guideline for dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Department of atherosclerosis of Brazilian society of cardiology. **Arq Bras Cardiol**. 2007; 88; 2-19.

STIENSTRA, R., DUVAL, C., MÜLLER, M., & KERSTEN, S. PPARs, Obesity and Inflammation. Nutrition, Metabolism and Genomics Group and Nutrigenomics Consortium. **Wageningen University**. Nov. 2006.

STEINBERG, D. A critical look at the evidence for the oxidation of LDL in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 1997; 131 Suppl:S5-7.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F., Role of oxidative Modifications in Atherosclerosis. **Physiological Reviews**. 2004. N.84, p.1381 – 1478.

SZMITKO, P.E; WANG, C.H; WEISEL, R.D; DE ALMEIDA Jr; ANDERSON, T.J; VERMA, S. New markers of inflammation and endothelial cell activation. Part I. *Circulation*. 2003;108:1917-23.

TEMEL, R. E.; BROWN, J. M. Biliary and non-biliary contributions to reverse cholesterol transport. **Current opinion in lipidology**, v. 23, n. 2, p. 85, 2012.

THANAN, R; OIKAWA, S; HIRAKU, Y; OHNISHI,S; MA, N; PINLAOR, S; KAWANISHI, S; MURATA, M. Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. **Int J mol sci**. 2014;16 (1):193–217.

TOTH, P. P. High-density lipoprotein and cardiovascular risk. **Circulation**, v. 109, n. 15, p. 1809-1812, 2004.

UDANI, J.K, SINGH, B.B; SINGH, V.J; BARRETT, M.L. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. **Nutr J**. 2011; 12: 45.

VAN DER VELDE, A. E.; BRUFAU, G.; GROEN, A. K. Transintestinal cholesterol efflux. **Current opinion in lipidology**, v. 21, n. 3, p. 167-171, 2010.

WRIGHT J. Comparación de los efectos de las dietas ricas em hidratos de carbono y las ricas em ácidos grasos mono-insaturados en el control metabólico de pacientes diabéticos e hiperglucémicos. *Lecturas Sobre Nutrición* 1998; 5:60-75.

XAVIER, H.T; IZAR, M.C; FARIA NETO JR, ASSAD, M.H; ROCHA, V.Z; SPOSITO, A.C; FONSECA, F.A; DOS SANTOS, J.E; SANTOS, R.D; BERTOLAMI, M.C; FALUDI, A.A; MARTINEZ, T.L.R; DIAMENT, J; GUIMARÃES, A; FORTI, N.A; MORIGUCHI, E,, CHAGAS, A.C.P; COELHO, O.R; RAMIRES, J.A.F. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**. 2013;101(4):1-20.

YAHIA, E. M. The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. **Fruit and vegetable phytochemicals**, p. 3-51, 2010.

YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; FILHO, D.F.S.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M.J.; FÁVARO, D.I.T.; VASCONCELLOS, M.B.A.; PIMENTEL, S.A.; CARUSO, M.S.F. Caracterização físico-química do suco de açaí de *Euterpe precatória* Mart oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazônica**. 2011. v. 41. n.4, p. 545 – 552.

ZIVROVIT, N.A; GERMAN, J.B; SANYAL, A.J. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. **American j Clin Nutr**. 2007; 82(2): 285-300.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UNIFAP

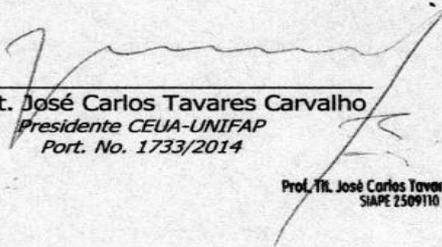
CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá **APROVOU**, na reunião de 17 de setembro de 2015, o parecer referente ao protocolo no. **0013/2015** e certifica que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Estudo da ação anti-hiperlipêmica do óleo de *Euterpe oleracea* Mart. em ratos**" coordenado por **Belmira Silva Faria e Souza**, está de acordo com os princípios de ética e bem estar animal.

CERTIFICATE

The Ethics Committee on Animal Use of the Amapá Federal University **APPROVED** at the meeting of 17 September 2015, the final decision about the Protocol **0013/2015** and certify that the research project entitled "**Estudo da ação anti-hiperlipêmica do óleo de *Euterpe oleracea* Mart. em ratos**" coordinated by **Belmira Silva Faria e Souza**, is in accordance with the principles of ethics and animal welfare.

Macapá, 17 de setembro de 2015


Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
Presidente CEUA-UNIFAP
Port. No. 1733/2014

Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
SIAPE 2509110

Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA – UNIFAP
Rod. Juscelino Juscelino Kubitschek, km 02 – Campus Marco Zero,
Macapá - AP. 68903-419 email: farmacos@unifap.br
Fone (96)4009-2907

ANEXO 2

02/04/2017

Gmail - Your manuscript BIOPHA_2016_2821_R1 has been accepted



José Carlos Tavares <jctcarvalho@gmail.com>

Your manuscript BIOPHA_2016_2821_R1 has been accepted

2 mensagens

Danyelle Townsend (Biomedicine & Pharmacotherapy) <Evisesupport@elsevier.com> 2 de abril de 2017 04:41
Responder a: danyelle.m.townsend@gmail.com
Para: farmacos@unifap.br

Ref: BIOPHA_2016_2821_R1

Title: Effect of the treatment with Euterpe oleracea Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia

Journal: Biomedicine & Pharmacotherapy

Dear Dr. Tavares Carvalho,

I am pleased to inform you that your paper has been accepted for publication. My own comments as well as any reviewer comments are appended to the end of this letter. Now that your manuscript has been accepted for publication it will proceed to copy-editing and production.

Thank you for submitting your work to Biomedicine & Pharmacotherapy. We hope you consider us again for future submissions.

Kind regards,

Danyelle Townsend
Editor-in-Chief
Biomedicine & Pharmacotherapy

Comments from the editors and reviewers:

Have questions or need assistance?

For further assistance, please visit our [Customer Support](#) site. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about EVISE® via interactive tutorials. You can also talk 24/5 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

Copyright © 2017 Elsevier B.V. | [Privacy Policy](#)

Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands, Reg. No. 33156677.

José Carlos Tavares <jctcarvalho@gmail.com> 2 de abril de 2017 06:39
Para: Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica <ppgif@unifap.br>, Jocivania Oliveira da Silva <ppgcf@unifap.br>

Para começar o domingo super bem. Um dos artigos da tese da Belmira aceito numa revista top-top na área de farmacologia. Parabéns Belmira por sua dedicação.

----- Mensagem encaminhada -----

De: **Danyelle Townsend (Biomedicine & Pharmacotherapy)** <Evisesupport@elsevier.com>

Data: domingo, 2 de abril de 2017

Assunto: Your manuscript BIOPHA_2016_2821_R1 has been accepted

Para: farmacos@unifap.br

[Texto das mensagens anteriores oculto]

--
Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
Laboratório de Pesquisa em Fármacos
Universidade Federal do Amapá
Rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, CEP 68902-280 - Macapá - Amapá - Brasil
Endereço para acessar CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4251174810000113>
contato: (96)99902-2992 / (96)4009-2906 / (96)4009-2907