



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LAÍZ APARECIDA AZEVEDO SILVA

**EFEITO DO AÇAÍ JUSSARA (*Euterpe edulis Martius*) SOBRE MARCADORES
DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UMA
DIETA HIPERLIPÍDICA**

ALEGRE – ES
JULHO – 2016

LAÍZ APARECIDA AZEVEDO SILVA

**EFEITO DO AÇAÍ JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius) SOBRE MARCADORES
DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UMA
DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa
Coorientadora: Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa
Coorientadora: Prof^a. Daniela da Silva Oliveira

ALEGRE – ES

JULHO – 2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

S586e Silva, Laíz Aparecida Azevedo, 1992-
Efeito do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) sobre marcadores de risco cardiovascular em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica / Laíz Aparecida Azevedo Silva. – 2016.

78 f. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos.

Coorientadoras: Neuza Maria Brunoro Costa ; Daniela da Silva Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Antioxidante. 2. Sistema cardiovascular – Doenças. 3. Antocianinas. 4. Dieta hiperlipídica. 5. Açaí. I. Vasconcelos, André Gustavo. II. Costa, Neuza Maria Brunoro. III. Oliveira, Daniela da Silva. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 664

LAÍZ APARECIDA AZEVEDO SILVA

**EFEITO DO AÇAÍ JUSSARA (*Euterpe edulis Martius*) SOBRE MARCADORES
DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UMA
DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 11 de julho de 2016.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa

Profa. Dra. Neuza Maria Brunoro Costa

Prof. Dra. Erika Takagi Nunes

Prof. Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter guiado a minha caminhada e me dando força e discernimento para conseguir alcançar meus objetivos nesta jornada.

À minha família, por estar ao meu lado ajudando a conduzir os meus passos, realizando meus sonhos, além do apoio incondicional, amor, carinho e dedicação dos meus pais, que sem eles eu nada seria.

Ao meu namorado, Maicon, pelo companheirismo, paciência, amor e compreensão pelos momentos de ausência.

Ao meu orientador, André Gustavo Vasconcelos Costa, pela paciência, atenção, compreensão, generosidade e pelos valiosos ensinamentos, possibilitando o meu crescimento e amadurecimento.

A Mariana, pelo carinho, risadas, ensinamentos, amizade e companheirismo durante a vida acadêmica e na pós-graduação.

Aos companheiros de laboratório, Roberta, Cícero e Juliana que contribuíram diretamente para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro para a condução desta pesquisa (Universal 14/2012; Processo: 479093/2012-1).

À professora, Neuza Maria Brunoro Costa pela disponibilidade, carinho, atenção, ensinamento e enorme contribuição durante a realização deste trabalho.

À professora, Daniela da Silva Oliveira pelo carinho, amizade, atenção, disponibilidade e inúmeros ensinamentos transmitidos.

As professoras Mirelle e Maria da Graças pelo auxílio durante a etapa de eutanásia dos animais.

A professora Erika Takagi Nunes por todo carinho, paciência, compreensão, disponibilidade e conhecimentos transmitidos durante as análises histopatológicas.

Ao professor Dennys Esper Corrêa Cintra, pelo auxílio por meio de sugestões e apoio a esta pesquisa.

Ao Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, coordenado pela professora Pollyanna Ibrahim da Silva.

Ao Laboratório de Corantes Naturais e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, coordenado pelo professor Paulo César Stringheta, pela liofilização da polpa de açaí jussara.

Ao Laboratório de Análise de Vitaminas do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa, coordenado pela Helena Maria Pinheiro Sant'Ana, pela análise cromatográfica da polpa de açaí liofilizada.

Ao Laboratório de Nutrição Experimental e Fisiologia Humana do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, coordenado pela professora Neuza Maria Brunoro Costa.

Ao Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, coordenado pelo professor Heberth de Paula, pela realização das análises bioquímicas.

Ao Laboratório de Morfologia Animal do Departamento de Biologia do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, coordenado pela professora Erika Takagi Nunes.

Aos professores membros da banca: Neuza, Érika e Helen que gentilmente aceitaram participar e colaborar com este trabalho.

Aos colegas do PCTA pelos bons momentos vividos em Alegre-ES.

Ao secretário do PCTA, Toninho, pela assistência no que fosse necessário, sempre alegre, gentil e paciente.

Aos técnicos: Eduardo, Viviane e Amanda pela ajuda durante as análises e experimento.

A todos aqueles que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

LISTA DE ABREVIATURA

- (ABCG) - ATP – ligação cassete transportadores, transportadores da subfamília
- AGL- ácidos graxos livres
- AGNE - ácidos graxos não esterificados
- ALT- aminotransferase de alanina
- AMPK - proteína quinase ativada por AMP
- AST - aminotransferase de aspartate
- CAT- catalase
- CEA - coeficiente de eficiência alimentar
- CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência
- DCV - doenças cardiovasculares
- ERO- espécies reativas de oxigênio
- GSH-Px - glutathiona peroxidase
- HDL-c - lipoproteínas de alta densidade
- ICAM-1 - molécula de adesão intercelular 1
- IL-10 - interleucina-10
- IL-6 - interleucina-6
- LDL-c - lipoproteínas de baixa densidade
- LPS - lipopolissacarídeo
- MCP-1 - proteína quimioatrativa de macrófagos 1
- MMP-2 - metaloproteinase 2
- NFK-B - fator nuclear kappa B
- NO/GCs/cGMP - óxido nítrico/3'5' guanilato ciclase solúvel/guanosina monofosfato cíclica
- NO-cGMP - óxido nítrico/guanosina monofosfato cíclica
- PAI-1 - inibidor de ativação do plasminogênio 1
- PCR-hs - proteína C-reativa de alta sensibilidade
- PPAR- γ - receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma.
- SOD - superóxido dismutase
- SREBP-1c - proteína 1c ligadora do elemento regulado por esteróis
- TLR-4 - receptor *toll like* 4
- TNF- α - fator de necrose tumoral α
- VCAM-1 - molécula de adesão vascular 1
- VLDL - lipoproteínas de muito baixa densidade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura das antocianidinas.....	9
Figura 2. Série histórica da produção do açaí (<i>Euterpe oleracea</i>) no Brasil, entre os anos de 2000 e 2012.....	14
Figura 3. Fluxograma do delineamento experimental.	29
Figura 4. Cromatograma de antocianinas presentes na polpa de açaí jussara liofilizado, obtido por CLAE.	34
Figura 5. Fotomicrografias dos tecidos hepático (A, B, C, D) e adiposo (E, F, G, H) dos camundongos (n= 5/grupo)	40
Figura 6. Marcadores cardiovasculares em relação ao tipo de dieta dos animais experimentais ($p>0,05$).....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Benefícios à saúde das espécies de açai <i>Euterpe oleracea</i> Mart. e <i>Euterpe edulis</i> Mart.....	21
Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g/kg).....	29
Tabela 3. Composição centesimal, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante in vitro da polpa de açai jussara liofilizada.....	33
Tabela 4. Composição centesimal e conteúdo calórico das dietas experimentais ofertadas aos animais no período entre T_1 e T_2	35
Tabela 5. Peso corporal inicial e final, ganho de peso, consumo médio diário dos animais e coeficiente de eficiência alimentar da dieta, no período entre T_0 e T_1	35
Tabela 6. Peso corporal inicial e final, ganho de peso, consumo médio diário dos animais e coeficiente de eficiência alimentar da dieta, no período entre T_1 e T_2	37
Tabela 7. Análise morfológica do tecido hepático e do tecido adiposo dos grupos experimentais.	39
Tabela 8. Biomarcadores metabólicos e inflamatórios em soro dos animais experimentais.	42

RESUMO

SILVA, Laíz Aparecida Azevedo. **Efeito do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) sobre marcadores de risco cardiovascular em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. DSc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-orientadoras: Profa. PhD. Neuza Maria Brunoro Costa e Profa. DSc. Daniela da Silva Oliveira.

As doenças cardiovasculares (DCV) são as maiores responsáveis pelas taxas de morbimortalidade no mundo. A ingestão de alimentos ricos em compostos antioxidantes, como o açaí, pode contribuir para a redução do risco de DCV. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do açaí da palmeira jussara (*Euterpe edulis* Martius) sobre marcadores de risco cardiovascular em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica. A polpa de açaí jussara foi liofilizada e avaliada quanto à sua composição centesimal, conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas totais e sua capacidade antioxidante *in vitro*. Para o ensaio biológico, foram utilizados 43 camundongos machos adultos *Swiss*. Inicialmente, os animais foram submetidos a uma dieta normolipídica (n=22) ou dieta hiperlipídica (n=21), durante 8 semanas. Por um período de mais 8 semanas, o grupo em dieta normolipídica recebeu: dieta controle (AIN-93M) (CT, n=10) ou dieta controle (AIN-93M) suplementada com 2% de polpa do açaí jussara liofilizado (CT+A, n=12); o grupo em dieta hiperlipídica recebeu: dieta hiperlipídica (HF, n=9) ou dieta hiperlipídica suplementada com 2% de polpa do açaí jussara liofilizado (HF+A, n=12). Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados e colhidas amostras de sangue para análises de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), colesterol total, HDL-c, LDL-c, triacilgliceróis, ácidos graxos livres, glicose, inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1), molécula de adesão celular intercelular (ICAM) e e-selectina. Ainda, foram realizadas análises histológicas do fígado e do tecido adiposo. Os resultados foram analisados por o teste *t* para avaliar os grupos CT e HF, antes do período de suplementação. A análise de variância, “*Two-way*”, foi realizada para avaliar o efeito da dieta e do fruto e/ou suas interações entre os grupos experimentais (CT, HF, CT+A e HF+A). Os dados foram apresentados em média e erro padrão, com nível de significância de 5%. Os grupos experimentais CT, CT+A e HF+A apresentaram menos que 33% dos hepatócitos com acúmulo de lipídios, entretanto, a intensidade da esteatose hepática do grupo HF foi classificada entre 33 e 66% do parênquima hepático com deposição de gordura. Quanto à área dos adipócitos não foi observado efeito da dieta, fruto ou da interação entre os grupos experimentais. A suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizado não foi eficaz para melhorar os níveis de AST, ALT, colesterol total, HDL-c, LDL-c, triacilgliceróis, ácidos graxos livres e glicose. O açaí jussara não promoveu alterações nos marcadores de risco cardiovascular, ICAM, PAI-1 e e-selectina. Conclui-se que, a suplementação com açaí jussara não foi eficaz em melhorar os marcadores de risco cardiovascular e demais parâmetros bioquímicos avaliados. Por outro lado, o açaí jussara promoveu redução da esteatose hepática dos camundongos submetidos a dieta hiperlipídica.

Palavras-chave: antioxidante, saúde cardiovascular, antocianinas, dieta hiperlipídica, açaí jussara.

ABSTRACT

SILVA, Laíz Aparecida Azevedo. **Effect of jussara açaí (*Euterpe edulis* Martius) on markers risk cardiovascular in mice submitted to a high fat diet.** 2016. Dissertation (MSc in Food Science and Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre-ES. Advisor: Prof. DSc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisor(s) Prof^a. PhD. Neuza Maria Brunoro Costa and Prof^a. DSc. Daniela da Silva Oliveira.

Cardiovascular diseases (CVD) are the major responsible factor for morbidity and mortality rates worldwide. The intake of foods rich in antioxidants, such as acai, can help reducing the risk of CVD. The objective of this study was to investigate the effect of the jussara acai (*Euterpe edulis* Martius) on cardiovascular risk biomarcador in mice submitted to a high fat diet. The pulp of jussara acai was lyophilized and analysed for its chemical composition, phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant capacity. For the biological assay, 43 adult male *Swiss* mice were used. Initially, the animals were submitted a control diet (AIN-93M) (n = 22) or high fat diet (n = 21) for 8 weeks. For a period of additional 8 weeks, the group received the control diet (AIN-93M): control diet (AIN-93M) (CT, n = 10) or control diet (AIN-93M) supplemented with 2% lyophilized jussara açaí pulp (CT+A, n = 12); the group received high fat diet: high fat diet (HF, n = 9) or high fat diet supplemented with 2% lyophilized jussara acai pulp (HF+A, n = 12). At the end of the experiment the animals were euthanized and blood samples collected for analysis: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerides, free fatty acids, glucose, activator inhibitor plasminogen type 1 (PAI-1), intercellular cell adhesion molecule (ICAM), e-selectin, were histologically analyzed liver and adipose tissue. The results were analyzed by t test to evaluate the control and HF groups prior to supplementation. The 'two-way' analysis of variance (ANOVA) was performed to evaluate the effect of diet and fruit and/or its interaction among the experimental groups (CT, HF, CT+A and HF+A). The data were presented as mean and standard error, with 5% significance level. The experimental groups CT, CT+A and HF+A had less than 33% of hepatocytes with lipid accumulation, however, the intensity of hepatic steatosis HF group was classified between 33 and 66% of the hepatic parenchyma with fat deposition. As for the area of adipocytes was no effect of diet, fruit or the interaction between the experimental groups. Supplementation with 2% lyophilized jussara açaí was not effective to improve the levels of AST, ALT, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerides, free fatty acids and glucose. The jussara açaí did not change cardiovascular risk biomarcador ICAM, PAI-1 and e-selectin. In conclusion, supplementation with acai jussara was not effective in improving cardiovascular risk biomarcador and other biochemical parameters evaluated. On the other hand, acai jussara promoted reduction of hepatic steatosis of the mice subjected to high-fat diet.

Keywords: antioxidant, cardiovascular health, anthocyanins, high fat diet, acai jussara.

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	4
2.1 Objetivo geral	4
2.2 Objetivos específicos	4
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1 A doença cardiovascular	5
3.2 Antocianinas e saúde cardiovascular	8
3.3 Açaí	13
3.4 Propriedade antioxidantes e efeitos terapêuticos do açaí na redução de risco de doenças cardiovasculares	17
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Aquisição e preparo da matéria-prima	23
4.2 Análises físico-químicas.....	23
4.3 Análise de compostos fenólicos e capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	24
4.3.1 Preparo do extrato	24
4.3.2 Quantificação de compostos fenólicos do produto liofilizado.....	24
4.3.3 Determinação da capacidade antioxidante dos produtos liofilizados.....	25
4.4 Quantificação de antocianinas totais dos produtos liofilizados.....	26
4.5 Identificação e quantificação das antocianinas da amostra liofilizada.....	26
4.6 Delineamento Experimental	27
4.7 Análises do tecido hepático e adiposo	30
4.8 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios.....	31
4.9 Análise Estatística dos Dados.....	31
5 RESULTADOS.....	33
5.1 Composição centesimal, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante da polpa de açaí jussara liofilizada	33
5.2 Composição centesimal das dietas experimentais.....	34
5.3 Consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar ...	35
5.4 Análise do tecido hepático e tecido adiposo	38
5.5 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios.....	41
6 DISCUSSÃO.....	44

7 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis pelas maiores taxas de morbimortalidade na população brasileira e mundial, desencadeando perdas significativas no campo social, financeiro, coletivo e individual (WHO, 2014).

A etiologia das DCV são múltiplas e complexas, nas quais diferentes fatores estão relacionados com seu desenvolvimento, tais como, condições ambientais, estresse, fisiologia e genética (MANCINI-FILHO, 2008). Sua prevenção baseia-se em identificar fatores de risco associados, que se dividem em modificáveis e não modificáveis. Entre os fatores não modificáveis estão incluídos: indivíduos pertencentes à raça negra, aumento na faixa etária, sexo masculino e fatores genéticos. Por outro lado, os fatores modificáveis incluem hábitos de vida, uso de medicamentos, inatividade física, tabagismo, alcoolismo, sobrepeso/obesidade, diabetes e dislipidemias (GUS; FISCHMANN; MEDINA, 2002).

O desbalanço energético provocado pelo excessivo consumo alimentar, especialmente por dietas hiperlipídicas, demanda importantes alterações fisiológicas e metabólicas em diversos tecidos. Diante da sobrecarga de nutrientes, o tecido adiposo perde a capacidade tamponante de liberar e estocar lipídios, provocando aumento da concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue (MONTEIRO; AZEVEDO, 2010), bem como deposição de gordura em outros tecidos (QUEIROZ et al., 2009). No fígado, os AGNE podem causar esteatose hepática, além de aumentar a síntese de triacilgliceróis, ao passo que no músculo esquelético promovem redução da sensibilidade à ação da insulina, inibindo a captação de glicose mediada por este hormônio (CORNIER et al., 2008).

Neste contexto, o adipócito hipertrófico, associado à infiltração de macrófagos e aumento do estresse oxidativo, promovem aumento na expressão e secreção de adipocinas pró-inflamatórias e pró-aterogênicas, como interleucina-6 (IL-6), proteína quimioatrativa de macrófagos 1 (MCP-1), fator de necrose tumoral (TNF- α), inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1), molécula de adesão intracelular solúvel (sICAM), angiotensinogênio, proteínas de fase aguda, entre outras (VAN DE VOORDE et al., 2013; CHOE et al., 2016; LIN; CHUN; KANG, 2016; VIEIRA; SADIEVAN; FERRIS, 2016). Em contrapartida, ocorre uma redução da expressão e secreção de adiponectina, uma adipocina anti-inflamatória (MAURY; BRICHARD, 2010).

Deste modo, o aumento do estresse oxidativo, desencadeando pelo aumento da gordura corporal, é um fator responsável pelo aumento do processo inflamatório e a modificação da função do endotélio. Como resultado tem-se um estado de inflamação subclínica, acompanhado da expressão aumentada de biomarcadores de coagulação, inflamação e estresse oxidativo (CALDER et al., 2011).

Uma alternativa viável para minimizar o equilíbrio oxidativo e inflamatório do organismo é o consumo de alimentos ricos em polifenóis, como o açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) (COSTA et al., 2013). A espécie *Euterpe edulis* Martius é proveniente da palmeira Jussara, nativa do Domínio da Floresta Tropical, localizada na Mata Atlântica, principalmente nos estados de Minas Gerais, Bahia, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, adentrando até o leste do Paraguai e norte da Argentina (LORENZI et al., 2006). Os frutos, quando maduros, apresentam a casca (epicarpo) de cor roxa escura a preta, característicos de frutos ricos em antocianinas. Destacam-se por serem frutos carnosos, fibrosos e globosos com 1 a 1,4 cm de diâmetro, do tipo drupa (um só caroço), com polpa e fibras (mesocarpo) formando uma camada protetora para as sementes globosas em seu interior (SCHAUSS et al., 2006).

O Brasil é um grande produtor e consumidor do açaí, principalmente o açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea* Martius). Entretanto, o fruto da palmeira jussara (*Euterpe edulis* Martius) é pouco explorado para o consumo, mesmo sendo nutricional e sensorialmente semelhante ao açaí da Amazônia (BORGES et al., 2011). Ainda, o uso de produto regional promove a valorização da agricultura familiar e pode contribuir para o incentivo do consumo de hortaliças e frutas. Adicionalmente, diversificar a produção alimentar é uma estratégia com repercussões positivas no consumo de alimentos saudáveis e no estado nutricional dos consumidores.

A polpa do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) vem sendo alvo de estudos devido ao seu valor nutricional e sensorial (NOVELLO, 2011; SANTA'NA, 2014; CONSTANCIO, 2015; OYAMA, et al., 2016). Segundo Noratto et al. 2011, o extrato de açaí tem capacidade de bloquear os efeitos indutores do lipopolissacarídeo (LPS) sobre a sinalização de NF- κ B e a expressão de moléculas de adesão, tais como VCAM-1, ICAM 1 e E-selectina. Estudos sugerem que o açaí (*Euterpe oleracea*) apresenta capacidade de diminuir significativamente o colesterol total, LDL, índice aterogênico, além de aumentar o HDL e a excreção de colesterol total nas fezes

(SOUZA et al., 2010; SOUZA et al., 2012.). Ainda, pode favorecer menores áreas de placas ateroscleróticas na artéria aorta e menor relação camada íntima/média (FEIO et al., 2012).

Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa demonstrou que a suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizada em camundongos submetidos à dieta de cafeteria foi efetiva em aumentar a atividade antioxidante sérica, em relação aos animais que receberam dieta controle (SANTA'NA, 2014), bem como promoveu a redução das concentrações de triacilgliceróis e colesterol total (CONSTANCIO, 2015). Neste contexto, o açaí jussara apresenta potencial para contribuir como um tratamento coadjuvante das doenças cardiovasculares.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Investigar a propriedade antioxidante do açai da palmeira jussara (*Euterpe edulis* Martius) na redução de biomarcadores de risco de doenças cardiovasculares em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a composição físico-química do produto liofilizado;
- Avaliar a composição de polifenóis e de antocianinas totais na polpa de açai jussara liofilizada;
- Identificar os principais compostos fenólicos presentes na polpa de açai jussara liofilizada;
- Avaliar a capacidade antioxidante do produto liofilizado;
- Avaliar os marcadores de risco cardiovascular, assim como verificar as alterações bioquímicas no metabolismo da glicose e do colesterol nos camundongos;
- Avaliar qualitativa e quantitativamente o tecido adiposo;
- Avaliar o efeito do produto teste sobre a infiltração lipídica no tecido hepático.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A doença cardiovascular

As DCV são responsáveis pelas maiores taxas de morbimortalidade na população brasileira e mundial, desencadeando perdas significativas no campo social, financeiro, coletivo e individual (WHO, 2014). No final dos anos de 1980, houve uma queda da mortalidade por DCV nos países desenvolvidos, enquanto elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido nos países em desenvolvimento, entre os quais se inclui o Brasil (CARDOSO et al., 2011). Em 2008, estimou-se que 17,3 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares, correspondendo a 30% das mortes globais. Projeções da Organização Mundial de Saúde sugerem que o número de pessoas que morrerão de DCV, principalmente de doenças cardíacas e derrames, será de aproximadamente 23 milhões em 2030 (WHO, 2011).

No Brasil, a prevalência das DCV varia de acordo com as regiões. Nos estados do sul e sudeste, por exemplo, observou-se maior percentual de óbitos por causa cardiovascular, 33,5% e 34,9%, respectivamente (CARDOSO et al., 2011). As DCV foram responsáveis por um terço de todos os óbitos no Brasil e cerca de 30% do total de mortes na faixa etária de 20 a 59 anos de idade, acometendo a população adulta em plena fase de reprodução (BRASIL, 2004).

A etiologia das doenças cardiovasculares é considerada complexa e multifatorial, sofrendo influências de fatores fisiológicos e bioquímicos, que associados a fatores ambientais, atuam sinergicamente no início e no desenvolvimento da enfermidade. Sua prevenção baseia-se em identificar fatores de risco associados, que se dividem em modificáveis e não modificáveis, de acordo com possíveis intervenções sobre os mesmos. Os fatores não modificáveis compreendem: pertencer à raça negra, aumento na faixa etária, sexo masculino e fatores genéticos. Entre os modificáveis estão hábitos de vida, uso de medicamentos, inatividade física, tabagismo, alcoolismo, sobrepeso/obesidade, diabetes e dislipidemias (GUS; FISCHMANN; MEDINA, 2002).

A dislipidemia é considerada um dos principais distúrbios metabólicos, podendo ser conceituada como modificações do metabolismo de lipídios que alteram os níveis das lipoproteínas no sangue e as concentrações dos seus diferentes

componentes (KOLANKIEWICZ; GIOVELLI; BELLINASO, 2008).

As dislipidemias podem ser classificadas em primárias ou secundárias de acordo com a sua etiologia. As primárias ocorrem devido a fatores genéticos, enquanto que as secundárias em decorrência de enfermidades pré-existentes, como a diabetes, após o uso de alguns medicamentos, assim como a hábitos alimentares inadequados, tais como dietas ricas em gorduras saturadas, tabagismo e alcoolismo (ROCHA, 2009). Ainda, as dislipidemias primárias podem ser classificadas fenotipicamente por meio de análises bioquímicas ou genotipicamente. Na classificação genotípica, as dislipidemias se dividem em monogênicas, provocadas por mutações em um único gene, e poligênicas, causadas por associações de diversas mutações que isoladas não seriam de grande repercussão (XAVIER et al., 2013).

A base fisiopatológica das dislipidemias primárias consiste no acúmulo de quilomícrons e/ou de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) no compartimento plasmático, desencadeando em hipertrigliceridemia. Este quadro pode ser provocado por meio da redução da hidrólise dos triacilgliceróis destas lipoproteínas ou elevação da síntese de VLDL. O acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol como a LDL-c no compartimento plasmático provoca hipercolesterolemia, que pode ocorrer devido à presença de doenças monogênicas, decorrentes de defeito no gene do receptor de LDL-c (XAVIER et al., 2013).

Os quilomícrons são responsáveis por transportar os lipídios provenientes da dieta, enquanto que a VLDL é sintetizada inicialmente no fígado, contendo elevadas concentrações de triacilgliceróis e moderadas quantidades de fosfolipídios e colesterol, ambas estão associadas à progressão da aterosclerose. À medida que circula na corrente sanguínea, a VLDL é metabolizada pela enzima lipase lipoproteica, responsável por catalisar a hidrólise dos triacilgliceróis, liberando ácidos graxos não esterificados que podem ser usados como fonte de energia ou depositados no tecido adiposo (SILVA, 2011).

Por outro lado, a HDL-c é constituída por aproximadamente 50% de proteínas e pequenas quantidades de lipídios, cuja principal função é realizar o transporte reverso de colesterol do sangue e dos tecidos para o fígado, onde pode ser convertido em ácidos biliares e excretado. Assim, os níveis plasmáticos de HDL são inversamente associados às doenças cardiovasculares (DANIELS et al., 2009).

Evidências indicam que o estresse oxidativo e as dislipidemias apresentam mecanismos relacionados ao desenvolvimento da aterosclerose e doenças cardiovasculares (RIZZO et al., 2009). O estresse oxidativo elevado é considerado o ambiente característico no organismo do indivíduo obeso assim como em portadores de diabetes (ANDO; FUJITA, 2009).

Nas doenças cardiovasculares, o estresse oxidativo ocupa um papel de destaque, uma vez que a modificação oxidativa da LDL-c é a hipótese mais referendada, sendo responsabilizada pelo início e a progressão do processo aterosclerótico (ROBERTS; SINDHU, 2009). Adicionalmente, os fatores de riscos associados às DCV alteram a função do endotélio tornando-o mais permeável e ativo, facilitando a entrada de LDL-c oxidada para o espaço subendotelial. Após a lesão tecidual, moléculas de adesão localizadas nas células do endotélio, como as interleucinas e fator de necrose tumoral α (TNF- α), aumentam o recrutamento de células imunológicas, em especial os monócitos, que liberam moléculas quimiotáticas, perpetuando e aumentando o processo aterosclerótico (SIMÃO et al., 2013).

Entre as principais moléculas de adesão, destacam-se as E-seletina, a molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1) e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1). Estudos sugerem que, além de atuarem como molécula de adesão de leucócitos, estas moléculas contribuem de maneira direta na resposta inflamatória no interior da parede dos vasos sanguíneos, elevando a ativação de células endoteliais e a formação da placa aterosclerótica (LAWSON; WOLF, 2009; CALABRISO et al, 2015; KUNTZ et.al, 2015). Ainda, destaca-se no grupo das adipocinas, o inibidor de ativação do plasminogênio 1 (PAI-1), que é considerado um promotor da aterogênese, por aumentar a deposição de plaquetas e fibrina na placa aterosclerótica em formação (KERSHAW, 2004).

Por outro lado, na obesidade, o tecido adiposo está infiltrado por macrófagos ativado, os quais também liberam quantidade excessiva de citocinas pró-inflamatórias, tais como interleucina-6 (IL-6), proteína quimioatrativa de macrófagos 1 (MCP-1), proteína ligadora de retinol 4, TNF- α , PAI-1 e proteínas de fase aguda. A excessiva produção desses fatores promove uma inflamação local no tecido adiposo induzindo à resistência à insulina, disfunções cardíacas e vasculares (PERMANA, 2006).

O aumento da adiposidade provoca maior liberação de ácidos graxos livres (AGL), em decorrência do aumento na taxa de lipólise. Os AGL estimulam a deposição de triacilgliceróis em tecidos periféricos, sendo apontando como causa mais provável para o desenvolvimento de resistência à insulina em músculos e fígado (VOLP; REZENDE; ALFENAS, 2008). A resistência insulínica nesses tecidos resulta em varias alterações metabólica como elevação das concentrações de triacilgliceróis e LDL-c, hiperglicemia, hiperinsulinemia, além de diminuição da concentração de HDL-c (VAN GAAL; MERTENS; BLOCK, 2006).

A inflamação subclínica também pode estar relacionada com o padrão alimentar (TSUKUMO et al., 2007). A alimentação rica em carboidratos pode favorecer ao desenvolvimento de dislipidemias por proporcionar aumento dos níveis de triacilgliceróis e redução dos níveis de HDL-c. Entretanto, os efeitos negativos dos carboidratos sobre os níveis de triacilgliceróis e HDL-c são reduzidos quando associado ao consumo de uma dieta balanceada e rica em fibras (SANTOS et al., 2013). Os principais determinantes dos níveis de colesterol plasmático são os ácidos graxos saturados, apresentando um maior efeito que a ingestão de colesterol dietético devido à falta de limitação na absorção intestinal desse tipo de gordura (SIMÃO et al., 2013).

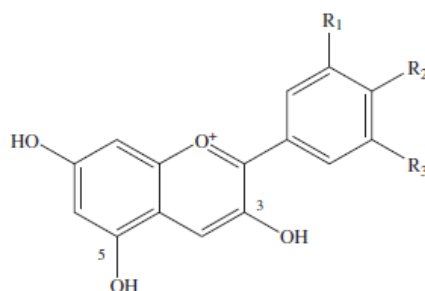
3.2 Antocianinas e saúde cardiovascular

Os compostos fenólicos são o maior grupo de compostos orgânicos bioativos encontrados nos vegetais e frutas, sendo estes metabólitos secundários. São substâncias caracterizadas por possuírem um ou mais grupos hidroxilas (-OH), ligados a um ou vários anéis aromáticos (JANIQUES, et al, 2013). Entre os compostos fenólicos, os flavonoides são os mais estudados, uma vez que são associados a efeitos benéficos no organismo, como modulação das atividades de enzimas específicas, antibiótico, anti-inflamatório, antialérgico e sequestro de espécies reativas de oxigênio (ERO) (MANACH et al., 2005).

As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha a roxo, são as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Outras fontes são frutas cítricas (limão, laranja e tangerina), cereja, uva, ameixa, pêra, maçã, mamão, pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate (DEGASPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; JANIQUES, et al, 2013).

Existem mais de 5.000 estruturas já identificadas de flavonoides. Essas substâncias possuem núcleo fundamental com anel aromático e cada tipo pode apresentar modificações, como hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, ou ramnosilação, resultando numa enorme diversidade destes compostos na natureza (COOK; SAMMAN, 1996). Entre as principais classes de flavonoides incluem-se flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas e antocianinas (OLIVEIRA et al., 2010).

As antocianinas estão presentes na natureza sob a forma de heterosídeos, principalmente, e sua forma aglicona é chamada antocianidina, a qual é sensível à luz e insolúvel em água. Desse modo, as antocianinas raramente apresentam-se em seu estado livre, estando presentes no vacúolo das células ligadas a açúcares, que proporcionam estabilidade e solubilidade em água, formando os glicosídeos antocianinas (PASCUAL-TERESA, SANTOS-BUELGA, RIVAS-GONZALO, 2000). O número e posição dos grupos hidroxil e metoxil definem os diferentes tipos de antocianinas, sendo seis deles comumente encontrados em frutos e vegetais: pelargonidina, cianidina, delphinidina, petunidina, peonidina e malvidina (Figura 1) (CLIFFORD, 2000).



Antocianidina	R1	R2	Cor
pelargonidina	H	H	Laranja-avermelhado
cianidina	OH	H	Avermelhado
delfinidina	OH	OH	Rosado
petunidina	OCH ₃	H	Roxo-azulado
peonidina	OCH ₃	OH	Arroxeadado
malvidina	OCH ₃	OCH ₃	Roxo-avermelhado

Figura 1. Estrutura das antocianidinas.

Fonte: Adaptado de: COSTA et al., 2013; DEL RIO; BORGES; CROZIER, 2010.

O tipo de açúcar e ácido orgânico ao qual cada antocianidina irá se ligar é

responsável por gerar antocianinas de diferentes cores, que varia de laranja e vermelho a azul e roxo, sendo assim facilmente visíveis em frutas e flores. Evidências sugerem que a absorção e excreção das antocianinas são influenciadas pela porção de açúcar e a estrutura da antocianidina (DEL RIO et al., 2013).

Estima-se que o consumo médio total de antocianinas seja de 200 mg/dia, o qual é quatro vezes mais elevado do que outros compostos fenólicos (ZAMORAS et al., 2011).

Uma pequena parte da antocianina ingerida é absorvida no intestino delgado, seguindo para o cólon, onde são desglicosiladas pela microbiota intestinal. Uma vez hidrolisadas, as antocianinas são rapidamente absorvidas no intestino e entram nas células epiteliais por difusão passiva ou mediada por transportadores (KEPPLER; HUMPF, 2005; CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009). Nos enterócitos, as antocianidinas são metiladas, sulfatadas ou conjugadas. Posteriormente, são transportadas para o fígado onde são metabolizadas e encaminhadas para outros tecidos e órgãos. A eliminação ocorre via urina ou bile, em concentrações que varia de acordo com a estrutura da aglicona e da porção de açúcar (ICHIYANAGI et al., 2006).

As antocianinas podem agir como redutores de oxigênio singleto, atuando nas reações de oxidação lipídica, bem como agir como quelante metais. Essas ações são essenciais na prevenção de várias doenças, dentre elas, as doenças cardiovasculares, câncer, doenças degenerativas como Parkinson e Alzheimer, assim como processos inflamatórios e agravos causados pelo envelhecimento celular (BANERJEE; DASGUPTA; DE, 2005; DUARTE-ALMEIDA, 2006). Ainda, outros benefícios das antocianinas incluem a proteção contra a obesidade, redução da hipoglicemia, melhora da memória e proteção do tecido cerebral fetal (BRITO, et al. 2007).

Apesar das atividades biológicas que associadas a estes compostos, a literatura científica sugerem que as antocianinas são pouco biodisponíveis, sendo encontradas no plasma em apenas 1% das quantidades consumidas (POJER et al., 2013). Alguns possíveis fatores podem contribuir para a baixa biodisponibilidade, como: a capacidade dos compostos em atravessar as membranas intestinais, o efeito do pH, a ação das enzimas digestivas e dos ácidos biliares, a composição da microbiota intestinal, bem como fatores metodológicos, como a falta de sensibilidade

do método analítico que identifica esses compostos e a influência da matriz alimentar (FERNANDES et al., 2014).

A forma aglicona (antocianidina) apresenta maior efetividade antioxidante do que a heterosídica (antocianina) e o número de resíduos de açúcar na posição C3 podem ser de grande importância para o desempenho da atividade antioxidante, que reduziria com o aumento do número de unidades de açúcar em C3 (GALVANO et al., 2004).

A capacidade antioxidante das antocianinas é um fator protetor contra uma série de doenças no organismo, como as DCV, pelos efeitos protetores dos polifenóis na oxidação das LDL-c, redução da absorção hepática do colesterol, modulação do metabolismo lipoproteico com diminuição das concentrações plasmáticas dos triacilgliceróis e da apoB. Além disso, destaca-se o efeito benéfico na inflamação por redução da produção de citocinas envolvidas na adesão celular, como de TNF- α e IL-6 (ZERN; FERNADEZ, 2005; WALLACE, 2011; KRUGER et al., 2014; PASCUAL-TERESA, 2014; MULERO et al., 2015).

Kopff et al. (2006) avaliaram a influência de 240 mg/dia de antocianina no balanço oxidativo e antioxidativo em pacientes com hipercolesterolemia. Após 30 dias de suplementação, foi observado aumento significativo da atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathiona peroxidase, bem como da concentração das vitaminas C e E no plasma, sugerindo que as antocianinas podem exercer um papel protetor no processo de aterosclerose.

Em um estudo realizado com 60 indivíduos (40-65 anos) com dislipidemia, suplementado com cápsulas de antocianina (80mg x 4/dia) ou placebo por 12 semanas, foi observado redução significativa dos níveis de LDL-c e da atividade da proteína de transferência do colesterol esterificado no plasma. Ainda, verificou-se aumento nas concentrações de HDL e do efluxo do colesterol no plasma, em comparação ao grupo placebo (QIN et al., 2009).

A capacidade de antocianinas para limitar o estresse oxidativo e o processo inflamatório tem sido estudada extensivamente utilizando diversos modelos experimentais. CHIANG et al. (2006), realizaram estudos *in vitro* e *in vivo* objetivando investigar se a suplementação com extrato de arroz preto poderia melhorar o estresse oxidativo e atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). Esses autores observaram uma supressão das espécies reativas

de oxigênio e ânions superóxido, associadas ao aumento da atividade das enzimas CAT e SOD. As formas cianidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo foram os principais componentes responsabilizados pela eliminação de radicais livres e propriedades antioxidantes.

Em outro estudo, sobre o estresse oxidativo em homens e mulheres adultos saudáveis (n=12), avaliou-se o efeito do *tart cherry juice* (suco concentrado de cereja), rico em cianidina-3-glicosídeo (TRAUSTADÓTTIR et al, 2009). Os participantes receberam 240 mL do suco duas vezes ao dia, durante 14 dias. A intervenção com o suco reduziu os níveis de F2-isoprostana, indicando redução da peroxidação lipídica. Ainda, ocorreu redução na excreção urinária basal de ácidos nucléicos oxidados, mas não na excreção urinária de isoprostanas. Deste modo, o consumo dessa bebida possibilitou maior proteção contra o dano oxidativo nos indivíduos participantes.

Rouanet et al. (2010), em um estudo com hamsters, avaliaram o potencial anti-aterogênico dos compostos fenólicos presentes no suco de diversas frutas da família das *berries* e chás preto e verde. Durante o período de 12 semanas, os *hamsters* foram distribuídos em 6 grupos (n=10/grupo), os quais receberam uma dieta aterogênica, com 0,5% de colesterol suplementada com suco de framboesa, morango, mirtilo, chá verde ou preto por gavagem. Apenas o grupo controle recebeu água *ad libitum*. O volume que os animais recebiam foi ajustado diariamente ao peso, baseado no cálculo de 275 mL/dia para um humano de 70 kg. Os resultados demonstram que a deposição de gorduras na parede da aorta foi significativamente menor ($p < 0.001$) nos grupos suplementados com *berries* ou chás em comparação ao controle. Entretanto, os animais suplementados não apresentaram redução no colesterol circulante, indicando que a oxidação da LDC-c é o principal determinante da aterogênese, e não a hipercolesterolemia.

As antocianinas possuem grande potencial em reduzir o risco de desenvolvimento das DCV. Os mecanismos envolvidos neste processo são, principalmente, referentes às atividades antioxidantes e a capacidade destes compostos em reduzir fatores pró-inflamatórios. Entretanto, existem lacunas quanto à de antocianina que seria necessário para exercer estes efeitos no organismo. Para exercer atividade biológica, o composto bioativo deve atingir o sítio fisiológico numa concentração que determine seus efeitos no organismo, desse modo, uma

compreensão dos processos de absorção, metabolismo e biodisponibilidade é fundamental para verificar o impacto real da ingestão diária na proteção e melhoria da saúde.

3.3 Açaí

O açaí (*Euterpe* spp) é um fruto não climatérico, com coloração arroxeada, quase negra quando maduros, formato globoso, medem de 1 a 1,4 cm de diâmetro e mesocarpo com cerca de 1 mm de espessura (TOAIARI et al., 2005), contêm somente uma semente, que representa aproximadamente 90% do seu peso. Do fruto pode-se extrair a polpa e produzir uma bebida densa, de cor escura e de sabor agradável, sorvetes e doces (BORGES et al., 2011; YAMAGUCHI et al., 2015).

A legislação brasileira define açaí como o produto obtido após a extração da parte comestível dos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*, Mart.) posterior ao amolecimento, através de procedimentos tecnológicos adequados. O açaí é classificado de acordo com o teor de sólidos totais em fino (8 a 11 %), médio (11 a 14 %) e grosso (14%) (BRASIL, 2000).

Na região Amazônia, o açaí é obtido através da polpa dos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea* Martius) e do açazeiro da terra firme (*Euterpe precatoria* Martius). Na região da Mata Atlântica, obtêm o açaí dos frutos do palmitero ou jussara (*Euterpe edulis* Martius) (ROGEZ, 2000).

Tradicionalmente, a produção do açaí consiste em despolpar manualmente os frutos de palmeiras do gênero *Euterpe*. Neste processo, os frutos são embebidos em água morna (40°C) e posteriormente amassados sobre uma peneira de fibras naturais. Nesta etapa, ocorre a separação da polpa, casca e caroço. Adiciona-se progressivamente a água objetivando uma separação definitiva da casca e caroço. A mistura de água e polpa é amassada novamente por 10 a 15 minutos para formação de uma emulsão a qual é filtrada por uma peneira e, em seguida, coleta-se o açaí em um recipiente (ROGEZ, 2000).

A procura pelo açaí, nacionalmente, elevou consideravelmente após os anos 90. Este mercado cresceu devido à descoberta do açaí, pelo público jovem de classe média a alta do Brasil extra-amazônico, na procura por um alimento exótico, com elevado valor calórico, consumido em geral associado com outras frutas, granola, banana e guaraná. Ainda, são encontrados disponíveis, no mercado

nacional, como doces, bolos, sorvetes, pudins, vinho e outros pratos culinários (NOVELLO, 2011)

Nacionalmente, a produção de frutos de espécies nativas da palmeira de açaí (*Euterpe oleracea*) totalizou 215.381 toneladas, em 2011, sendo 73,1% maior que em 2010, aumentando em quase todos os estados produtores, exceto Bahia e Tocantins (IBGE, 2011). O maior crescimento ocorreu na Amazonas, sendo de 89.480 toneladas em 2011 contra 3.256 toneladas em 2010. Todavia, o maior produtor nacional é o estado do Pará que, na safra de 2011, totalizou 109.345 toneladas, destacando-se como responsável por 71,4% da produção nacional (IBGE, 2011). Na Figura 2, podem ser visualizados dados referentes à produção de açaí no Brasil, entre os anos de 2000 a 2012.

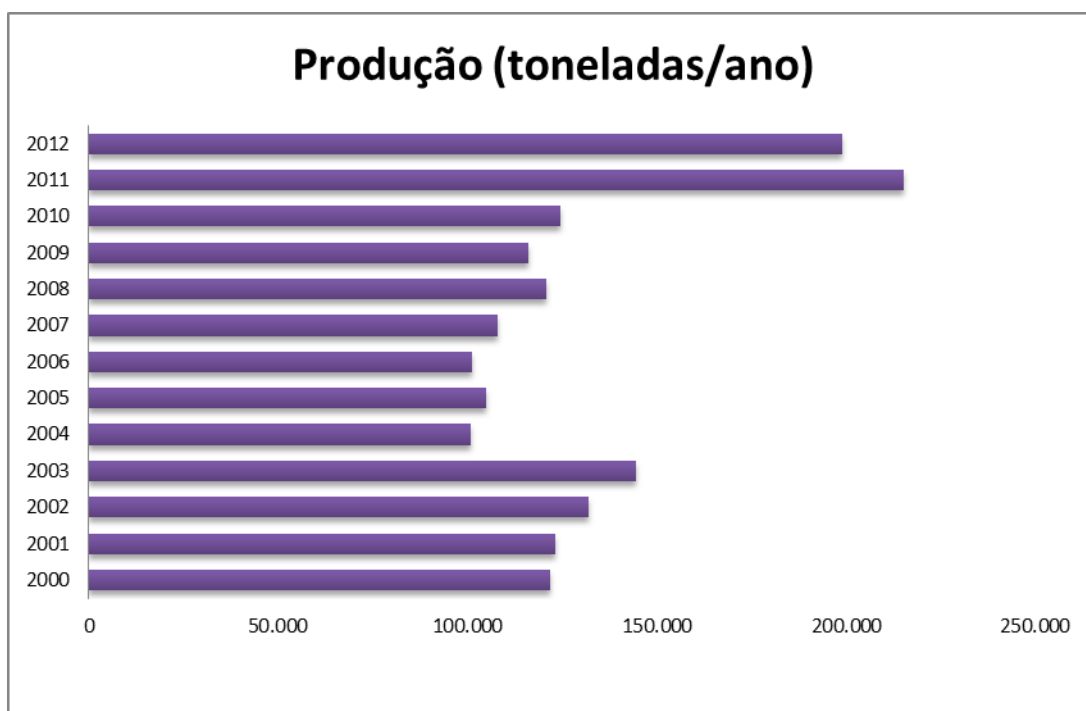


Figura 2. Série histórica da produção do açaí (*Euterpe oleracea*) no Brasil, entre os anos de 2000 e 2012.

Fonte: IBGE, 2011.

O açaí é considerado um alimento calórico, 247 kcal/100g de polpa, apresentando altos teores de proteínas, lipídios, carboidratos, cálcio, fósforo, ferro e tiamina (CÓRDOVA-FRAGA et al., 2004). Ainda, é notável um interesse por ser um

fruto com o sabor exótico, diferente e devido aos potenciais efeitos benéfico à saúde, atribuído a sua composição fitoquímica (PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

A espécie *Euterpe oleracea* consiste em uma palmeira tropical nativa na região Amazônia, nos Estados do Tocantins, Maranhão, Pará, Amapá e Mato Grosso e em ecossistemas de várzea, influenciado pelas marés e inundações, ou seja, em solos muito úmidos (ROGEZ, 2000; LORENZI et al, 2006).

A espécie *E. precatoria* é uma palmeira de estipe solitária único, ereto, 3 a 20 metros de altura, não forma densas touceiras, ocorre naturalmente em florestas de terras baixas ao redor de rios, em áreas de inundações periódicas, abaixo de 350m de altitude, encontrada nos Estados do Pará, Rondônia, Acre e Amazonas (ROGEZ, 2000).

Em um estudo comparativo sobre as espécies *E. oleracea* e *E. precatoria*, Pacheco-Palencia et al. (2009) encontraram um conteúdo total de antocianinas 50% maior no açaí da espécie *E. precatoria* em comparação ao *E. oleracea*. Embora as quantidades desse composto fossem diferentes para ambas, o perfil de antocianinas das polpas foi similar, quando avaliados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. As duas espécies apresentaram predominância de cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo. Todavia, observaram-se diferenças em relação à presença de pelargonidina-3-glicosídeo em *E. precatória* e peonidina-3-rutinosídeo em *E. oleracea*.

Rufino et al. (2010), ao avaliarem o açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea*), encontram os seguintes teores de compostos fenólicos (455 ácido gálico equivalente/100 g de matéria fresca), antocianina (111 mg/ 100g de matéria fresca) e atividade antioxidante μmols (15,1 TEAC/g de matéria fresca). Gordon et al. (2012), por sua vez, identificaram um total de oito ácidos fenólicos e derivados na espécie *E. oleracea*: ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido vanílico, p-cumárico, ácido caféico, ácido siringico e ácido clorogênico. Ao comparar o perfil fenólico com *E. precatoria* nota-se semelhança quanto a p-hidroxibenzóico, vanílico, siringico, ácidos ferúlico e protocatecuico como os principais constituintes de ambas espécies (PACHECO PALENCIA et al., 2009).

A espécie *Euterpe edulis* Martius é proveniente da palmeira Jussara, nativa do domínio da Floresta Tropical, localizada na Floresta Atlântica, principalmente nos estados de Minas Gerais, Bahia, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná,

Santa Catarina e Rio Grande do Sul, adentrando, no sul até o leste do Paraguai e norte da Argentina (LORENZI et al., 2006).

A polpa do açaí jussara vem sendo alvo de alguns estudos devido ao seu valor nutricional e sensorial (NOVELLO, 2011; SANTA'NA, 2014; CONSTANCIO, 2015). O despulpamento do açaí jussara gera um produto, semelhante nutricionalmente à polpa do açaí da espécie *Euterpe oleracea* (BRITO et al., 2007; LIMA et al., 2012).

Em estudos prévios conduzidos pelo nosso grupo, verificou-se que a concentração de antocianinas totais no açaí jussara liofilizado, em base seca, foi de 1,80 g cianidina-3-glicosídeo/100g e conteúdo de compostos fenólicos totais no açaí jussara foi de 47,84 mg de ácido gálico equivalente/g, sendo estes valores superiores ao do jambolão (0,91g cianidina-3-glicosídeo/100g) e jabuticaba (1,22 g cianidina-3-glicosídeo/100g) (SANT'ANA, 2014; CONSTANCIO, 2015). Em um estudo com polpa do açaí jussara liofilizado, Novello (2011) encontrou valores de antocianina totais de 2,59 g/100 g do liofilizado, no qual 63,12% era na forma de cianidina 3-O-rutinosídeo e 36,88% eram na forma de cianidina 3-O-glicosídeo.

Rufino et al. (2010), ao avaliarem a polpa de açaí jussara, encontraram quantidades de compostos fenólicos iguais a 755 mg GAE/100 g de matéria fresca, antocianina 192 mg/100g de matéria fresca e atividade antioxidante *in vitro* 78,3 μ mols TEAC/g de matéria fresca. Quanto ao açaí da região Amazônia (*Euterpe Oleracea*) foram encontrados o teor de 455 mg GAE/100 g de matéria fresca de compostos fenólicos, 111 mg/100 g de matéria fresca de antocianinas e atividade antioxidante 15,1 μ mols TEAC/g de matéria fresca, sendo estes valores inferiores ao do açaí jussara.

Quanto aos ácidos fenólicos e flavonoides encontrados no jussara (*Euterpe edulis*) são similares aos de açaí (*Euterpe oleracea*). Quatro ácidos fenólicos (ferúlico, gálico, protocatecuico, e p-cumárico) e três flavonoides (catequina, epicatequina e quercetina) estão presentes. Entretanto, as concentrações desses compostos são superiores, nas espécies *E. edulis*, *E. precatoria* e *E. oleracea*, respectivamente (BORGES et al. 2010).

O açaí jussara *in natura* possui elevada quantidade de lipídios (18 a 44%) e os outros componentes são cinzas (1,5 a 3,3%), proteínas (5 a 8%) e umidade (34 a 42%). Em relação ao perfil lipídico os ácidos graxos monoinsaturados são

predominantes (45% a 57%), destacando o ácido oléico (44 a 55% do total de monoinsaturados). Os ácidos graxos saturados são responsáveis por 24% a 29% da quantidade de lipídio, sendo o ácido palmítico o componente principal (20% a 25%). Os ácidos graxos polinsaturados representam 19% a 26% do perfil lipídico, com o destaque para o ácido linoleico (18% a 25%) (BORGES et al., 2011).

3.4 Propriedade antioxidantes e efeitos terapêuticos do açaí na redução de risco de doenças cardiovasculares

O estresse oxidativo ocorre quando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) excede a capacidade da defesa antioxidante do organismo em removê-las (LIMÓN-PACHECO; GONSEBATT, 2009). O sistema de defesa antioxidante consiste em uma série de enzimas, dentre elas, a superóxido dismutase, glutatona peroxidase (GSH-Px) e catalase. Além disso, existem numerosos compostos antioxidantes endógenos e de origem dietética que reagem com as ERO neutralizando-as (ROBERTS; SINDHU, 2009). Dentre esses antioxidantes não enzimáticos, inclui-se a vitamina E, C, carotenóides e polifenóis (ANGELOPOULOU; LAVRANOS; MANOLAKOU 2009; ROBERTS; SINDHU, 2009).

Os compostos fenólicos podem exercer ação na proteção celular de maneira direta ou indireta. Diretamente, por atuar como antioxidante e reduzir as espécies reativas de oxigênio e, indiretamente, por inibir a ativação de fator nuclear kappa β (NF- $\kappa\beta$), reduzindo as concentrações de citocinas inflamatórias e moléculas de adesão (NORATTO et al., 2011). Deste modo, o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos poderia atuar inibindo o estresse oxidativo e reduzindo o processo inflamatório que são os mecanismos chave no desenvolvimento das doenças cardiovasculares.

O alto teor de compostos antioxidantes presentes no açaí torna-o um alimento promissor nos benefícios para a saúde. Sugere-se um aumento na capacidade antioxidante no plasma após o consumo de polpa e suco de açaí por indivíduos saudáveis (MERTENS-TALCOTT et al., 2008).

Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa demonstrou que a suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizada em camundongos submetidos à dieta de cafeteria foi efetiva para aumentar a atividade antioxidante

sérica, em relação aos animais que receberam dieta controle (SANTA'NA, 2014). Ainda, foi observada redução dos níveis de triacilgliceróis, colesterol total, área dos adipócitos e aumento da tolerância a glicose, entretanto, não foi observado redução da endotoxemia provocada pela dieta de cafeteria (CONSTANCIO, 2015). Neste contexto, o açaí jussara apresenta potencial para contribuir como um tratamento coadjuvante das doenças cardiovasculares.

Souza et al. (2010) observaram redução das concentrações séricas de proteínas carbonila e de grupos sulfidril livres pela ingestão de açaí (*Euterpe oleracea* Martius) em ratos que receberam dieta padrão ou hipercolesterolêmica. A suplementação com açaí induziu redução significativa na atividade da superóxido dismutase nos ratos com hipercolesterolemia e aumentou a atividade da paraoxonase. A ingestão de 200g/dia de polpa de açaí por mulheres saudáveis aumentou a atividade da catalase, capacidade antioxidante total e proteínas do grupo sulfidril no plasma, em contrapartida, reduziram a produção de EROs e proteínas do grupo carbonila no soro. Estes resultados mostram o efeito benéfico dos antioxidantes presentes neste fruto (BARBOSA et al., 2016).

Souza et al. (2012) verificaram que a suplementação com 2% de polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius) promoveu redução significativa nas concentrações de colesterol total do soro, LDL-c e do índice aterogênico, além do aumento do HDL-c e maior excreção de colesterol total nas fezes. Além disso, a expressão dos genes *ABCG5*, *ABCG8* e *LDL-R* foi significativamente aumentada pela presença de polpa de açaí, sugerindo um efeito hipocolesterolemizante do açaí em ratos. Feio et al. (2012) observaram redução nas concentrações de colesterol total, LDL-c e triacilgliceróis, bem como menores áreas de placas ateroscleróticas na artéria aorta e menor relação camada íntima/média em coelhos suplementados com extrato de açaí.

A suplementação com açaí (*Euterpe oleracea* Martius) nos ratos com infarto do miocárdio impediu o desenvolvimento de intolerância ao exercício, hipertrofia cardíaca, fibrose e disfunção diastólica. Os autores atribuem esses resultados a ação vasodilatadora do açaí, por meio da via óxido nítrico/3'5' guanilato ciclase solúvel/guanosina monofosfato cíclica (NO/GCs/cGMP)(ROCHA et al., 2007). Esta ação pode melhorar o fluxo sanguíneo no músculo esquelético e, portanto, a capacidade de exercício. O papel do açaí na prevenção da intolerância ao exercício

pode também estar relacionado com o atraso no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, redução da pressão diastólica final do ventrículo e um aumento da taxa de relaxamento do músculo cardíaco (ZAPATA-SUDO et al., 2014).

O efeito vasodilatador do extrato de açaí é dependente da ativação de óxido nítrico/guanosina monofosfato cíclica (NO-cGMP) e pode também envolver liberação de fatores hiperpolarizantes derivado do endotélio. O efeito vasodilatador sugere a possibilidade de usar o extrato do açaí como planta medicinal no tratamento de doenças cardiovasculares (ROCHA et al., 2007).

Moura et al. (2012) demonstraram que o extrato de açaí (*Euterpe oleracea* Martius) reduziu a inflamação pulmonar aguda em ratos, através da diminuição do número de macrófagos alveolares e neutrófilos em cortes de pulmão e da expressão do TNF- α . Outra importante ação do açaí no controle da inflamação é a inibição da produção de óxido nítrico através da redução da expressão de óxido nítrico sintetase (iNOS). Efeitos esses que podem diminuir o risco de inflamações também nas artérias sanguíneas, reduzindo o risco de desenvolvimento de complicações cardiovasculares.

O extrato de açaí produz efeito anti-hipertensivo e previne a disfunção endotelial e alterações estruturais vasculares na hipertensão 2K-1C, provavelmente por meio de mecanismos que envolvem efeitos antioxidantes, ativação da óxido nítrico sintetase e a inibição de ativação de metaloproteinase 2 (MMP-2) (COSTA et al., 2012).

Sugere-se que o extrato de açaí apresenta capacidade para bloquear os efeitos indutores do lipopolissacarídeo (LPS) sobre a sinalização de NF- κ B e sobre a expressão de moléculas de adesão, tais como VCAM-1, ICAM 1 e E-selectina. Neste sentido, extratos do açaí induziram um aumento de dose-resposta na expressão de miRNA-126, um modulador de VCAM-1, demonstrando correlação negativa com a aderência de leucócitos (NORATTO et al., 2011).

O extrato da semente do açaí (*Euterpe oleracea* Martius) atenuou de forma substancial a obesidade e esteatose hepática em camundongos, por meio da diminuição da lipogênese, aumento da excreção de colesterol e melhoria do estresse oxidativo no fígado (OLIVEIRA et al., 2015). Xie et al. (2011), ao suplementar a dieta de camundongos ApoE $-/-$ com 5% de suco de açaí liofilizado, verificaram redução da peroxidação lipídica, aumento na atividade antioxidante e

redução das citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e IL-6. Por outro lado, a suplementação de 2% de açaí jussara liofilizado na dieta de camundongos ApoE^{-/-} não foi eficaz em melhorar o estresse oxidativo hepático e a esteatose hepática (CASTRO et al., 2014).

A suplementação com 2% de açaí jussara em uma dieta hipercalórica e hiperlipídica em camundongos, reduziu a inflamação, a atividade da enzima catalase e os níveis de IL-10 e IL-6 no tecido adiposo epididimal e mesentérico, respectivamente (OYAMA et al., 2016).

Udani et al. (2011) observaram redução na glicemia de jejum, nos níveis de insulina, colesterol total e LDL-c, após 30 dias de tratamento com polpa de açaí em adultos com sobrepeso. Entretanto, não houve efeito sobre a pressão arterial, metabólitos de óxido nítrico e nos níveis plasmáticos de proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-hs).

Os polifenóis presentes no extrato do açaí exercem efeito anti-inflamatório em células intestinais, por meio da inibição de espécies reativas de oxigênio e expressão do receptor *toll like 4* (TLR-4) e NF- κ B. Ainda, o extrato do açaí regulou a expressão de genes pró-inflamatórios em células CCD-18Co, estimulada por lipopolissacarídeos (DIAS et al., 2015).

Dessa forma, as informações científicas sobre o açaí demonstraram que este fruto apresenta propriedades farmacodinâmicas relevantes (Tabela 1). O extrato hidroalcoólico das sementes de açaí tem ação antioxidante, efeito vasodilatador dependente do endotélio, anti-hipertensivo, anti-obesidade, anti-diabético e efeito protetores renais e cardiovasculares. Atribui-se esta propriedade ao teor de compostos fenólicos presente no fruto. Sugere-se que a ação no organismo esteja associada à estimulação da óxido nítrico sintetase, fosforilação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), ativação da adiponectina e redução do estresse oxidativo (MOURA; RESENDE, 2015). Ainda, estudos sugerem que o açaí atua contra a translocação microbiana, mensurado por LPS sanguíneo, além de reduzir a oxidação da LDL-c (KANG et al., 2011).

Tabela 1. Benefícios à saúde das espécies de açaí *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe edulis* Mart.

Espécie	Parte da planta	Modelo	Período/Dose	Efeitos na saúde	Referência
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extrato do açaí	Células CCD-18Co humanos	1-5 mg EAG/L	Efeito anti-inflamatório em células intestinais	DIAS et al., 2015
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extrato do açaí	Células endoteliais vasculares	5-20 mg de EAG/L	Redução do estresse oxidativo e efeito anti-inflamatório	NORATTO et al., 2011
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Polpa do açaí	Ratas <i>Fischer</i>	6 semanas/ 2% da polpa do açaí	Redução dos níveis séricos de proteína carbonila, grupos sulfidril e SOD	SOUZA et al., 2010
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Polpa do açaí	Ratas <i>Fischer</i>	6 semanas/ 2% da polpa do açaí	Redução dos níveis triacilgliceróis, colesterol total, LDL-c, índice aterogênico e aumento do HDL-c e excreção de colesterol total nas fezes; Aumento da expressão dos genes transportadores ABCG5 e ABCG8, bem como LDL-R	SOUZA et al., 2012
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extratos hidro-alcoólico de açaí obtidos a partir de uma decocção das sementes	Ratos <i>Wistar</i>	4 semanas/ 100 mg/kg peso corporal/dia	Impediu o desenvolvimento de intolerância ao exercício, hipertrofia cardíaca, fibrose e disfunção diastólica	ZAPATA-SUDO et al., 2014
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extrato hidro-alcoólico de açaí	Ratos	0,3-100 µg	Efeito vasodilatador	ROCHA et al., 2007
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extrato hidro-alcoólico de açaí	Ratos	40 dias/200 mg/kg de peso corporal/dia	Efeito anti-hipertensivo e previne a disfunção endotelial	COSTA et al., 2012

Continuação Tabela 1. Benefícios à saúde das espécies de açaí *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe edulis* Mart.

Espécie	Parte da planta	Modelo	Período/Dose	Efeitos na saúde	Referência
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extrato da semente do açaí	Ratos C57BL/6	12 semanas 300 mg/kg de peso corporal/dia	Anti-obesidade, redução da esteatose hepática, lipogênese e aumento da excreção de colesterol e melhora do estresse oxidativo hepático	OLIVEIRA et al., 2015
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Extrato do açaí	Coelhos New Zealand	12 semanas/ 80 ml do extrato	Menores áreas de placas ateroscleróticas na artéria aorta e menor relação camada íntima/média	FEIO et al., 2012
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Suco da polpa do açaí	Indivíduos saudáveis	7 ml/ kg de peso corporal	Aumento da capacidade antioxidante no plasma	MERTENS-TALCOOT et al., 2008
<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Polpa do açaí	35 mulheres saudáveis	4 semanas/ 200 g/dia	Aumento da atividade da CAT, capacidade antioxidante total e redução da produção de ERO, concentração sérica de proteína carbonila e aumento de grupos sulfidríla total no soro	BARBOSA et al., 2016
<i>Euterpe edulis</i> Martius	Polpa do açaí	Camundongos <i>Swiis</i>	14 semanas/ 2% da polpa do açaí	Aumento da capacidade antioxidante sérica	SANTA'NA, 2014
<i>Euterpe edulis</i> Martius	Polpa do açaí	Camundongos <i>Swiis</i>	14 semanas/ 2% da polpa do açaí	Redução dos níveis de triacilgliceróis, colesterol total, LDL-c, área dos adipócitos e aumento da tolerância a glicose	CONSTANCIO, 2015
<i>Euterpe edulis</i> Martius	Polpa do açaí	Camundongos <i>Swiis</i>	10 semanas/ 2% da polpa do açaí	Redução da inflamação, a atividade da CAT os níveis de IL-10 e IL-6 no tecido adiposo epididimal e mesentérico, respectivamente	OYAMA et al., 2016

SOD: superóxido dismutase. ERO: espécie reativa de oxigênio. CAT: catalase. LDL-c: lipoproteína de baixa densidade. HDL-c: lipoproteína de alta densidade. ABCG5 e ABCG8: subfamília G de transportadores. LDL-R: receptor de lipoproteína de baixa densidade IL-10: interleucina-10 IL-6: interleucina-6.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aquisição e preparo da matéria-prima

A polpa do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) foi adquirida da empresa Vip Polpa®, localizada no município de Rio Novo do Sul, Espírito Santo. O transporte foi realizado sob refrigeração, após, a polpa foi estocada à -20°C até o momento da liofilização.

A liofilização foi realizada em liofilizador de bandeja, no Laboratório de Corantes Naturais e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. Após, o pó liofilizado foi acondicionado em recipientes laminados, isento do contato com luz e ar, permanecendo estocado -80° C até o momento das análises.

4.2 Análises físico-químicas

As determinações das características físico-químicas da polpa de açaí jussara liofilizado e das dietas experimentais foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES).

As análises foram conduzidas conforme normas analíticas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997). Para a análise de umidade foi utilizado o método de secagem direta em estufa (BIOPAR®) a 105°C. Os lipídios foram analisados por meio de extração intermitente em aparelho extrator de Soxhlet (MARCONI® MA491) durante 5 horas, utilizando-se o éter de petróleo como solvente extrator. As proteínas foram analisadas pelo método de Kjeldahl, em que a quantidade de nitrogênio foi convertida em teor de proteína, multiplicando-se o valor encontrado pelo fator 6,25. Cinzas, por incineração em mufla (MARCONI® MA38512) a 550°C até a obtenção de cinzas claras. O percentual de carboidratos, incluindo fibras, foi calculado por diferença, em que foram subtraídos do total de 100% as porcentagens de umidade, proteínas, lipídios e cinzas. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.3 Análise de compostos fenólicos e capacidade antioxidante *in vitro*

As análises de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante *in vitro* foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES).

4.3.1 Preparo do extrato

Os extratos, para quantificar os compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro*, foram preparados utilizando como referência a metodologia adaptada de RUFINO et al. (2010). Brevemente, 1 g de amostra liofilizada foi acrescida de 40 mL de solução metanol/água (50:50 v/v). Esta solução permaneceu por 2 horas em agitador mecânico (CIENLAB®) a 25°C com agitação de 150 rpm. Após, a solução foi filtrada a vácuo e ao resíduo obtido da filtração foi adicionado 40 mL de solução de acetona/água (70:30 v/v), o qual retornou ao agitador mecânico, por um período de 2 horas. Finalmente, a solução foi filtrada a vácuo e os filtrados misturados em balão volumétrico de 100 mL, com volume ajustado com água destilada. Os extratos foram estocados em vidro âmbar a -20°C até o momento das análises.

4.3.2 Quantificação de compostos fenólicos do produto liofilizado

Os compostos fenólicos totais da polpa liofilizada foram quantificados pelo ensaio do reagente de Folin-Ciocalteu, com base na metodologia adaptada de SINGLETON; ROSSI, 1965.

Em um tubo de ensaio foi acrescentado 0,6 mL do extrato do fruto liofilizado e 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu previamente diluído na razão de 1/10. Os tubos foram agitados vigorosamente em vórtex e permaneceram em repouso durante 3 minutos. Posteriormente, foram acrescentados 2,4 mL de solução de carbonato de sódio saturada em água destilada (7,5% m/v) e os tubos permaneceram em repouso por 1 hora. Após o tempo estabelecido, foi realizada a leitura da absorvância das amostras por espectrofotometria (BEL PHOTONICS® 2000 UV), em comprimento de onda de 760 nm. O índice de compostos fenólicos totais foi determinado por meio de

uma curva padrão de ácido gálico (0-150 mg/L; $y=0,010x+0,009$ e $R^2 = 0,999$) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente por grama de matéria seca (mg EAG/ g de matéria seca). Todas as análises foram realizadas em ambiente isento de incidência direta de luz.

4.3.3 Determinação da capacidade antioxidante dos produtos liofilizados

4.3.3.1 Método do radical ABTS

A atividade antioxidante *in vitro* foi avaliada por meio da captura do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico), segundo o método proposto por Re et al. (1999).

O preparo do radical foi realizado por meio de uma mistura, em proporções iguais, da solução estoque de ABTS (7mM) e solução de persulfato de potássio (2,45 mM), em seguida foram armazenados em vidro âmbar por 16 horas, sob refrigeração.

Em um tubo de ensaio foram adicionados 0,5 mL do extrato do fruto liofilizado e 3,5 mL do radical ABTS (Sigma-Aldrich®) e a mistura que foi homogeneizada em vórtex. Os tubos permaneceram em repouso por 6 minutos. Após, foi realizada a leitura da absorbância das amostras por espectrofotometria (BEL PHOTONICS® 2000 UV), em comprimento de onda de 734 nm. A capacidade antioxidante foi determinada utilizando curva padrão de Trolox (\pm)-ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, Sigma-Aldrich®) (0-150 mg/L; $R^2 = 0,999$) e os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de matéria seca (μ moles Trolox/ g matéria seca).

4.3.3.2 Teste do 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH')

A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada de acordo com o método de neutralização do radical DPPH, conforme descrito por Brand-Williams et al. (1995). Brevemente, em um tubo de ensaio foi adicionado 0,2 mL do extrato do fruto liofilizado e 3,8 mL de solução metanólica de DPPH' (Sigma-Aldrich®) e a mistura foi homogeneizada em vórtex. Os tubos permaneceram em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz. Após, foi realizada a leitura da absorbância das amostras por

espectrofotometria (BEL PHOTONICS® 2000 UV), em comprimento de onda de 517 nm. Em paralelo, foi preparado o sistema branco, sendo composto por todos os reagentes, exceto o DPPH'. Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição do radical DPPH', calculado de acordo com a equação seguinte:

$$\text{Atividade de retirada de radical (\%)} = \{(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}/A_{\text{controle}})\} \times 100$$

Em que: A_{amostra} é a absorbância da amostra-teste (solução de DPPH mais a amostra-teste); A_{branco} é a absorbância da amostra apenas (amostra sem a solução de DPPH); A_{controle} é a absorbância do controle (solução de DPPH sem a amostra).

4.4 Quantificação de antocianinas totais dos produtos liofilizados

As antocianinas das amostras liofilizadas foram quantificadas segundo o método espectrofotométrico proposto por FRANCIS, 1982. Para o preparo do extrato, foi pesado 1 g de amostra liofilizada e adicionado 60 mL de metanol/água (70:30 v/v). O pH da solução foi ajustado para 2 com o auxílio de uma solução de HCl 3 mol/L. A solução foi armazenada em vidro âmbar e permaneceu em repouso por 24 horas a 8°C. Após, a solução foi filtrada à vácuo e o filtrado diluído (1:10 v/v) em metanol-HCl 1,5 mol/L para a leitura da absorbância, em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS® 2000 UV), com comprimento de onda de 535 nm.

O teor de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo na matéria seca, conforme a seguinte fórmula:

$$\text{Antocianinas totais (mg/100g)} = (A \times MM \times FD \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

Em que: A é a absorbância da amostra, MM é a massa molecular referente à cianidina-3-glicosídeo (449,2 g/mol), FD é o fator de diluição, e ϵ é a coeficiente de absorvidade molar = 26900 L.cm⁻¹ mol⁻¹.

4.5 Identificação e quantificação das antocianinas da amostra liofilizada

A quantificação e identificação das antocianinas foram realizadas utilizando-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sendo executada no Laboratório de Análise de Vitaminas do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

As antocianinas foram extraídas das amostras com solução extratora metanol-HCL (99:1; %/%) em banho metabólico por 2 horas. Após a extração, as amostras foram centrifugadas e mantidas em freezer ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$) até o momento das análises.

A análise de antocianinas seguiu as seguintes condições cromatográficas desenvolvidas por Schauss et al. (2006), com modificações: sistema CLAE-DAD (detector de arranjo diodo) com detecção a 520 nm; fase móvel – água ultrapura, pH 2, o qual foi ajustado com ácido fórmico (linha A) e acetonitrila (linha B) (89:11, v/v). O gradiente de eluição foi realizado da seguinte forma: 0 a 20 minutos, 0% de B; 20 a 22 minutos, aumento linear até 25% de B; 22-27 minutos, 50% B; 27-29 minutos, aumento linear de 0% de B; 29-45 minutos, o reequilíbrio da coluna cromatográfica. A taxa de fluxo da fase móvel foi de 1,0 mL/minuto e tempo de corrida de, aproximadamente, 45 minutos. A separação de antocianinas foi realizada com coluna C18 (Phenomenex Gemini, 250 x 4,6 mm, 5 μm), equipada com coluna guarda (Phenomenex ODS C18, 4 mm x 3 mm). As antocianinas (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo) foram identificados utilizando padronização externa.

4.6 Delineamento Experimental

Foram utilizados 43 camundongos machos, adultos, da raça Swiss (*Albinus musculus*), com nove semanas de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram submetidos a uma dieta controle (AIN-93M) (CT, n=22) (REEVES et al., 1993) ou dieta hiperlipídica (HF, n=21), durante 8 semanas (Tabela 2) (CINTRA et al., 2012). Após esse período, os grupos CT e HF foram divididos em 4 grupos, em que receberam, por 9 semanas, um dos seguintes tratamentos: dieta controle (AIN-93M) (CT, n=10), dieta controle (AIN-93M); suplementada com 2% de polpa do açaí jussara liofilizado (CT+A, n=12), dieta hiperlipídica (HF, n=9) ou dieta hiperlipídica suplementada com 2% de polpa do açaí jussara liofilizado (HF+A, n=12) (Figura 3) (NOVELLO et al., 2011).

Os animais foram mantidos em pares em caixas de polietileno, com temperatura controlada a $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, receberam água e dieta *ad libitum*. O peso corporal e consumo alimentar dos animais foram avaliados semanalmente. Ao final das semanas experimentais, o

peso corporal foi calculado da seguinte forma: P_0 = peso corporal inicial dos animais, no tempo T_0 , P_1 = peso corporal dos animais na 8ª semana, no tempo T_1 e P_2 = peso corporal dos animais na 17ª semana, no tempo T_2 . Os coeficientes de eficiência alimentar (CEA) foram avaliados por meio da equação:

$$CEA_1 = (P_1 - P_0) / CA_1$$

$$CEA_2 = (P_2 - P_1) / CA_2$$

CA_1 : Consumo alimentar período 1 (T_0 a T_1).

CA_2 : Consumo alimentar no período 2 (T_1 a T_2).

Ao final do período experimental, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e anestesiados com cetamina (60 mg/kg) e xilazina (15 mg/kg) por via intraperitoneal. A eutanásia procedeu-se com a coleta do sangue por punção cardíaca e acondicionado em microtubos não heparinizados. O soro foi obtido por centrifugação a 2500g, por 15 minutos a 4°C, sendo o sobrenadante transferido para microtubos identificados e armazenado a -80° C para análises posteriores. Adicionalmente, foram coletados o fígado e tecido adiposo epididimal esquerdo para análises morfológicas.

O ensaio com animais foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental e Fisiologia Humana do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS/UFES), Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com o “National Institutes of Health Guidelines for the Care and Use of Experimental Animals” e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo, protocolo nº 016/2013 (Anexo 1).

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g/kg).

Ingrediente	CT	CT+A	HF	HF+A
Amido de Milho	465,7	445,7	153,7	133,7
Caseína*	140	140	140	140
Sacarose	155	155	155	155
Amido Dextrinizado*	100	100	100	100
Celulose Microfina*	50	50	50	50
Óleo de Soja	40	40	40	40
Banha Animal	-	-	312	312
Mistura Mineral*	35	35	35	35
Mistura Vitamínica*	10	10	10	10
L-cistina*	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina*	2,5	2,5	2,5	2,5
Polpa de açaí jussara liofilizada	-	20	-	20

CT= dieta controle (AIN-93M); CT+A= dieta controle (AIN-93M) + 2% de açaí jussara liofilizado; HF= dieta hiperlipídica; HF+A= dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado. Ingredientes: *Produtos adquiridos na Rhooster®, amido (Maizena®), sacarose (União®), óleo de soja (Soya®) e banha animal (fornecedor local).

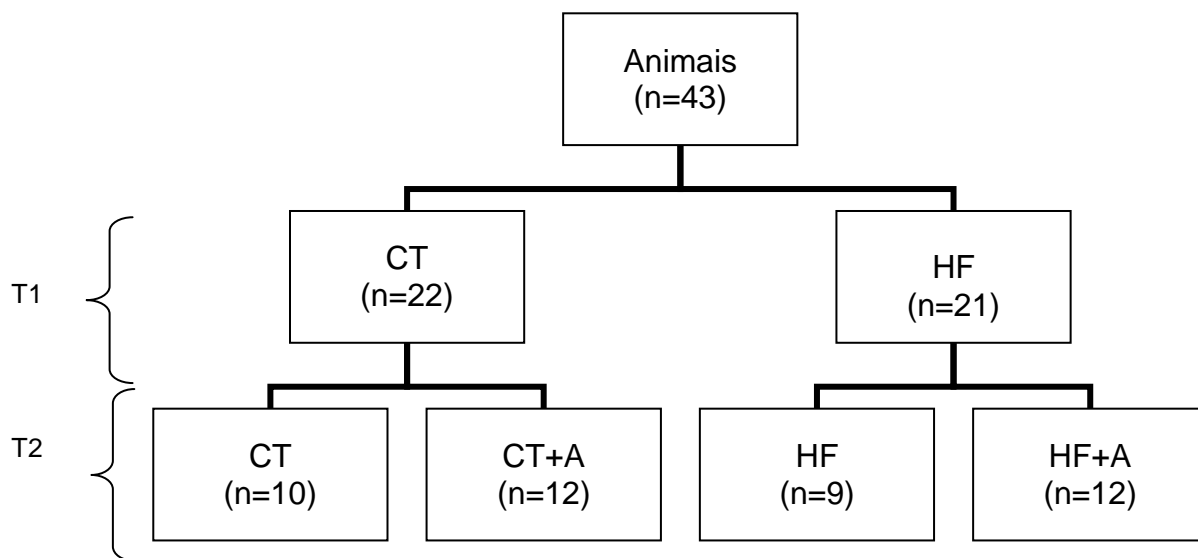


Figura 3. Fluxograma do delineamento experimental.

CT= dieta controle (AIN-93M); CT+A= dieta controle (AIN-93M) + 2% de açaí jussara liofilizado; HF= dieta hiperlipídica; HF+A= dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado. T1: 1° a 8° semana. T2: 9° semana a 17° semana.

4.7 Análises do tecido hepático e adiposo

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Morfologia do Departamento de Biologia (CCENS/UFES). Após a eutanásia dos animais experimentais, o fígado e o tecido adiposo epididimal esquerdo foram pesados, para o cálculo da relação peso do fígado ou tecido e peso corporal (P_2). As amostras de fígado e tecido adiposo foram coletadas e fixadas em formol tamponado (10%), durante 3 e 21 dias, respectivamente. Após, os fragmentos foram desidratados em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%) por 30 minutos em cada etapa. Os fragmentos de tecido receberam um banho de etanol 100% acrescido de xilol por 15 minutos (1:1), sendo que após foram diafanizados com dois banhos de xilol por 5 minutos. Os tecidos foram embebidos em três banhos de parafina (65°C), por 30 minutos cada. Posteriormente, os blocos foram armazenados em freezer até o momento do corte. Os cortes foram efetuados com o auxílio de um micrótomo (Leica RM2235).

Os cortes foram estendidos em banho-maria (40°C) e colocados em lâminas de vidro. Após, foram acondicionados em laminários de madeira e secos a temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram desparafinizadas em dois banhos de xilol por 20 minutos cada e receberam um banho de etanol 100% acrescido de xilol (1:1) por 10 minutos. Posteriormente, os cortes foram desidratados com dois banhos de etanol 100% por 5 minutos cada. Após, as lâminas foram colocadas em água corrente, por 3 minutos. Então, os cortes foram submetidos à coloração com Hematoxilina-Eosina, por 30 segundos e 10 minutos, respectivamente. Após a coloração, os cortes foram novamente desidratados com dois banhos de álcool 100% e diafanizados por dois banhos de xilol por 30 segundos cada. Para finalizar, os cortes foram cobertos por lamínulas de vidro utilizando bálsamo do Canadá.

Foram realizadas microfotografias dos cortes histológicos utilizando microscópio óptico acoplado a uma câmera de captação de imagens (Zess) com auxílio do software Zen 2.0. Para a análise do tecido hepático, 5 imagens de cada animal, foram capturadas aleatoriamente utilizando a lente objetiva de 20x. No fígado, a análise procedeu-se de forma qualitativa, em que a intensidade da esteatose hepática foi classificada em nenhum hepatócito afetado (0), menos que 33% do parênquima afetado (+), entre 33% e 66% do parênquima afetado (++) e

maior que 66% do parênquima afetado (+++) (CINTRA et al., 2006). Para o tecido adiposo, foram tomadas microfotografias de uma região para observar aleatoriamente região de 30 adipócitos (2-3 fotos), sendo avaliada a área de cada adipócito, com auxílio do software Image J[®] (National Institutes of Health, USA).

4.8 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios

As análises de AST (aminotransferase de aspartate), ALT (aminotransferase de alanina), colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triacilgliceróis, ácidos graxos livres e glicose foram realizadas por analisador bioquímico automático (Mindray BS120, Bioclin[®] /Quibasa) do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia e Nutrição (CCENS/UFES). As dosagens foram determinadas a partir do soro utilizando-se kits comerciais enzimáticos colorimétricos da marca Bioclin[®]. O Índice Aterogênico: $(\text{colesterol total} - \text{HDL-c}) \times (\text{HDL-c})^{-1}$ foi calculado de acordo com SOUZA et al. (2012). O conteúdo de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi estimado pela Equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

$$\text{LDL-c (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-c} - (\text{Triacilgliceróis} / 5).$$

A determinação das moléculas de adesão inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1), e-selectina e molécula de adesão celular intercelular 1 (ICAM-1) foram realizadas por meio de kits milliplex (MILLIPORE[®]), no Laboratório Especializado em Análises Clínicas (LEAC, São Paulo – SP).

4.9 Análise Estatística dos Dados

Inicialmente foi empregado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a simetria dos dados. Os dados que não seguiram uma distribuição normal foram transformados, utilizando-se função log 10. Para as variáveis com distribuição normal, empregou-se o teste *t* para avaliar os grupos CT e HF, antes do período de suplementação. A “Two-way” análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar o efeito da dieta e do fruto e/ou sua interação entre os grupos experimentais (CT, HF, CT+A e HF+A). Os dados foram apresentados em média e erro padrão, com nível de significância de 5%. O tratamento estatístico dos

resultados foi realizado, utilizando o programa Statistica versão 10. O número de animais utilizados em cada experimento está descrito nas figuras e tabelas.

5 RESULTADOS

5.1 Composição centesimal, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante da polpa de açaí jussara liofilizada

A composição centesimal, os teores de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante *in vitro* da polpa de açaí jussara liofilizada podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3. Composição centesimal, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante *in vitro* da polpa de açaí jussara liofilizada.

Determinação analítica	Concentração
Cinzas (%)	5,36
Umidade (%)	7,14
Proteínas (%)	8,36
Carboidratos (%)	50,57
Lipídios (%)	28,53
Compostos fenólicos totais (mg de EAG/g)	26,14
Antocianinas totais (g cianidina-3-glicosídeo/100g)	0,72
Atividade antioxidante – ABTS (μ mols Trolox/g)	1010,7
Atividade antioxidante – DPPH (% retirada do radical DPPH)	53

Dados referentes à média de triplicata.

De acordo com a análise cromatográfica utilizando os padrões das antocianinas, cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo, verificou-se qualitativamente e quantitativamente a presença destas, podendo ser visualizadas na Figura 4.

O primeiro pico do cromatograma refere-se à cianidina 3-O-glicosídeo, quantificada no extrato de açaí jussara com concentração de 0,08 mg/g de açaí liofilizado. O segundo pico refere-se à cianidina 3-O-rutinosídeo, e apresentou um teor de 0,68 mg/g de açaí liofilizado. Somada as concentrações de ambas as antocianinas detectadas, totalizou-se 0,76 mg/g de açaí liofilizado.

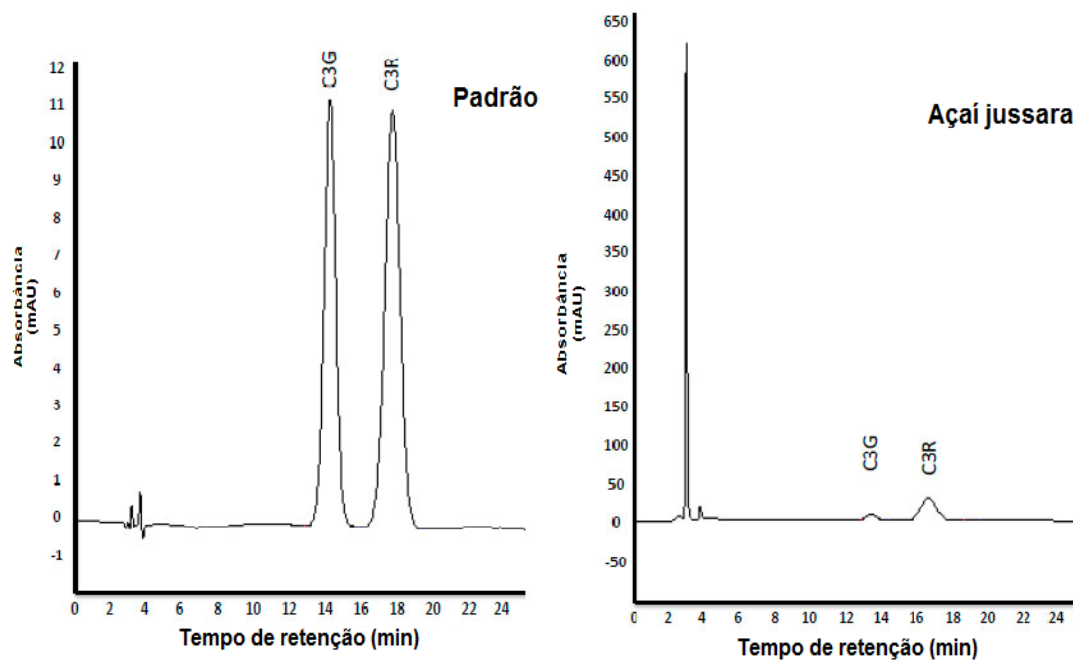


Figura 4. Cromatograma de antocianinas presentes na polpa de açaí jussara liofilizado, obtido por CLAE.

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência. C3G: cianidina 3-O-glicosídeo. C3R: cianidina 3-O-rutinosídeo. Condições cromatográficas: sistema CLAE-DAD com detecção a 520 nm; coluna C18 (Phenomenex Gemini, 250 x 4,6 mm, 5 μ m), equipada com coluna guarda (Phenomenex ODS C18, 4 mm x 3 mm); fase móvel – água ultrapura, pH 2, o qual foi ajustado com ácido fórmico (linha A) e acetonitrila (linha B) (89:11, v/v); fluxo da fase móvel: 1,0 mL/minuto; tempo de corrida de, aproximadamente, 45 minutos.

5.2 Composição centesimal das dietas experimentais

A composição centesimal das dietas experimentais está apresentada na Tabela 4. As dietas HF e HF+A apresentaram um conteúdo de lipídios aproximadamente nove vezes maior que as dietas CT e CT+A ($p < 0,05$). As dietas CT e CT+A apresentaram maior teor de umidade e carboidratos ($p < 0,05$). A quantidade de calorias nas dietas HF e HF+A foram cerca de duas vezes maiores que as dietas CT e CT+A. Por outro lado, o percentual de proteínas não foi estatisticamente diferente para todas as dietas.

Tabela 4. Composição centesimal e conteúdo calórico das dietas experimentais ofertadas aos animais no período entre T₁ e T₂.

Composição centesimal	CT	CT+A	HF	HF+A
Cinzas (g/100g)	2,96±0,17 ^b	3,98±0,46 ^a	4,00±0,22 ^a	4,02±0,14 ^a
Umidade (g/100g)	26,57±0,25 ^a	27,67±0,25 ^b	4,08±0,24 ^c	3,68±0,25 ^c
Proteínas (g/100g)	10,02±0,55	10,09±1,63	13,09±2,39	13,86±1,26
Carboidratos* (g/100g)	57,42±0,47 ^a	53,89±2,13 ^a	43,61±4,89 ^b	41,53±2,06 ^b
Lipídios (g/100g)	3,98±0,18 ^b	4,36±0,38 ^b	35,21±0,39 ^a	36,90±1,56 ^a
Calorias (Kcal/100 g)	296,9±2,01 ^b	295,1±1,24 ^b	543,7±13,92 ^a	553,7±7,33 ^a

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * Carboidratos totais, incluindo fibras. CT= dieta controle (AIN-93M); CT+A= dieta controle (AIN-93M); + 2% de açai jussara liofilizado; HF= dieta hiperlipídica; HF+A= dieta hiperlipídica + 2% de açai jussara liofilizado.

5.3 Consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar

Os dados referentes ao consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar estão apresentados na Tabela 5. Nas oito semanas iniciais (T₀ a T₁), os animais submetidos à dieta hiperlipídica apresentaram um maior ganho de peso e menor consumo diário ($p \leq 0,05$). A dieta hiperlipídica apresentou maior coeficiente de eficiência alimentar ($p < 0,05$).

Tabela 5. Peso corporal inicial e final, ganho de peso, consumo médio diário dos animais e coeficiente de eficiência alimentar da dieta, no período entre T₀ e T₁.

Variáveis	Grupos		Teste t (valor de p)
	CT (n=31)	HF (n=32)	
P ₀ (g)	49,3±1,13	49,6±1,12	0,833
P ₁ (g)	59,2±1,15	62,3±1,70	0,139
Ganho de Peso (g)	9.70±0.92	12.7±1.16	0,048
Consumo médio diário (g)	8.06±0.08	4.35±0.04	<0.001
CEA (%)	2.132±0.22	5.145±0.45	<0.001

Valores apresentados como média±EP. Teste t ($p \leq 0,05$). CT= dieta controle (AIN-93M). HF= dieta hiperlipídica. CEA: Coeficiente de Eficiência Alimentar. P₀= peso corporal inicial dos animais, no tempo T₀, P₁ = peso corporal dos animais na 8ª semana, no tempo T₁.

Na Tabela 6 estão os dados referentes ao consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar da 9^a a 17^a semanas (T₁ e T₂). O açaí jussara exerceu influência no peso final dos animais, sendo maior nos grupos que receberam o fruto ($p < 0,05$). A dieta hiperlipídica e o açaí jussara influenciaram o ganho de peso, sendo maior no grupo HF+A ($p < 0,05$). Os grupos que receberam a dieta hiperlipídica apresentaram menor consumo alimentar ($p < 0,05$), em comparação aos grupos CT e CT+A. O coeficiente de eficiência alimentar foi influenciado pela dieta hiperlipídica, sendo maior nos grupos HF e HF+A ($p < 0,05$).

Tabela 6. Peso corporal inicial e final, ganho de peso, consumo médio diário dos animais e coeficiente de eficiência alimentar da dieta, no período entre T₁ e T₂.

Variáveis	Grupos				ANOVA (valor de p)		
	CT (n=5)	CT+A (n=10)	HF (n=5)	HF+A (n=11)	Efeito da Dieta	Efeito do Açaí	Interação Dieta x Açaí
P ₁ (g)	56,3±3,82	58,8±2,70	58,6±3,82	59,7±2,57	0,609	0,648	0,746
P ₂ (g)	62,5±2,42	68,3±2,31	65,9±2,55	73,0±2,21	0,103	0,010	0,805
Ganho de Peso (g)	5,1±2,5	10,1±1,9	9,4±2,5	15,6±1,72	0,036	0,018	0,773
Consumo médio diário (g)	6,7±0,25	7,5±0,19	4,0±0,25	4,3±0,17	<0,001	0,027	0,336
CEA (%)	1,2±0,99	2,2±0,74	3,9±0,99	6,0±0,67	<0,001	0,093	0,541

Valores apresentados como média±EP. CT= dieta controle (AIN-93M). CT+A= dieta controle (AIN-93M) + 2% de açaí jussara liofilizado. HF = dieta hiperlipídica. HF+A = dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado. CEA: Coeficiente de Eficiência Alimentar. P₀= peso corporal inicial dos animais, no tempo T₀, P₁ = peso corporal dos animais na 8ª semana, no tempo T₁. P₂ = peso corporal dos animais na 17ª semana, no tempo T₂.

5.4 Análise do tecido hepático e tecido adiposo

Na Tabela 7 estão os resultados referentes à análise morfológica do fígado e tecido adiposo. A relação fígado/P₂ foi influenciada pela interação entre os fatores dieta e açai, sendo maior nos grupos CT+A, HF e HF+A, em comparação ao grupo CT ($p < 0,05$). Por outro lado, não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos experimentais para o peso do fígado ($p > 0,05$).

Para a análise da presença de esteatose hepática foi observada um percentual entre 33 e 66% dos hepatócitos com acúmulo de lipídios no grupo HF. Para os demais grupos, a intensidade da esteatose hepática foi classificada em menor que 33% de deposição de gordura no parênquima hepático (Figura 5).

O peso do tecido adiposo e relação tecido adiposo/P₂ foram influenciados pelo fator dieta ($p < 0,05$), sendo maiores nos grupos que receberam dieta hiperlipídica. Entretanto, não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos experimentais para a área dos adipócitos ($p > 0,05$).

Tabela 7. Análise morfológica do tecido hepático e do tecido adiposo dos grupos experimentais.

Variáveis	Grupos				ANOVA (valor de p)		
	CT (n=5)	CT+A (n=10)	HF (n=5)	HF+A (n=11)	Efeito da Dieta	Efeito do Açaí	Interação Dieta x Açaí
Fígado (g)	2,02±0,29	2,51±0,22	2,28±0,29	2,53±0,19	0,592	0,158	0,635
Fígado/ P ₂ (%)*	2,02±0,33 ^b	3,65±0,23 ^a	3,41±0,33 ^a	3,38±0,22 ^a	0,061	0,009	0,007
Tecido Adiposo (g)	1,16±0,14 ^{ab}	0,92±0,11 ^b	1,38±0,14 ^a	1,49±0,10 ^a	0,004	0,612	0,170
Tecido Adiposo/P ₂ (%)*	1,93±0,17 ^a	1,37±0,12 ^b	2,04±0,17 ^a	2,01±0,12 ^a	0,018	0,064	0,094
Área dos adipócitos	8,90x10 ⁵ ±1,41x10 ⁵	7,90x10 ⁵ ±1,41x10 ⁵	1,30x10 ⁶ ±1,41x10 ⁵	9,14x10 ⁶ ±1,41x10 ⁵	0,0906	0,1209	0,3665

Valores apresentados como média±EP. CT= dieta controle (AIN-93M); CT+A= dieta controle (AIN-93M) + 2% de açaí jussara liofilizado; HF = dieta hiperlipídica HF+A = dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado. *(Peso do fígado/peso corporal dos animais 17° semana)X100 ou *(Peso do tecido adiposo/peso corporal dos animais 17° semana)X100.

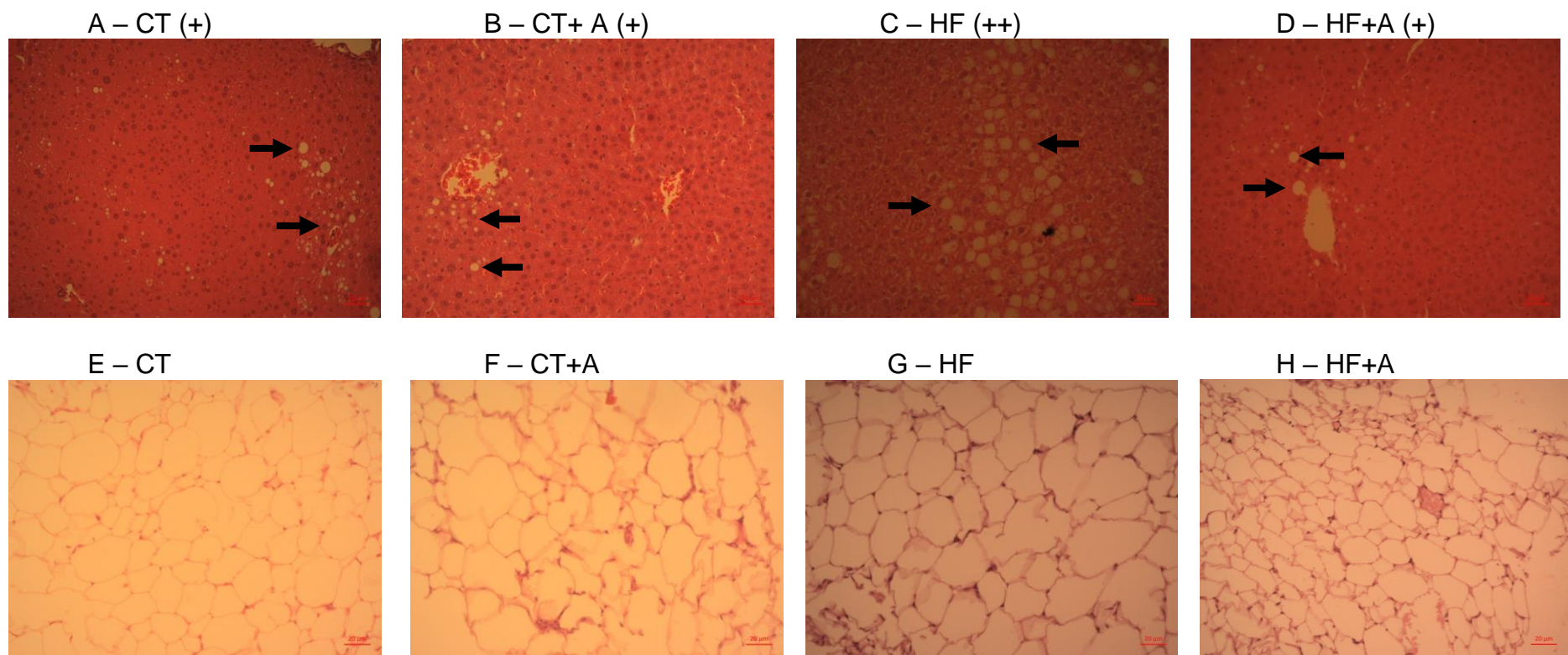


Figura 5. Fotomicrografias dos tecidos hepático (A, B, C, D) e adiposo (E, F, G, H) dos camundongos (n= 5/grupo)

CT= dieta controle (AIN-93M); CT+A= dieta controle (AIN-93M) + 2% de açaí jussara liofilizado; HF = dieta hiperlipídica; HF+A = dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado. Menos que 33% (+), entre 33% e 66% (++) e maior que 66% (+++). Coloração hematoxilina-eosina (HE), barra 20 μ m. Resolução: 500 pixels. As setas indicam deposição lipídica no parênquima hepático.

5.5 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios

Os resultados dos parâmetros bioquímicos estão apresentados na Tabela 8. Os níveis de triacilgliceróis e ácido graxo livre foram influenciados pelo fator dieta ($p < 0,05$). Os animais que receberam dieta HF e HF+A apresentam menores concentrações de triacilgliceróis e ácido graxo livre, em relação aos grupos CT e CT+A ($p < 0,05$). Os fatores dieta e açaí jussara influenciaram ALT ($p < 0,05$), sendo este valor maior no grupo HF+A. Os demais marcadores e índices não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$).

Quanto aos marcadores inflamatórios e-selectina, ICAM e PAI-1 não foi observado influência dos fatores dieta e açaí jussara para os diferentes grupos experimentais ($p > 0,05$) (Figura 6).

Tabela 8. Biomarcadores metabólicos e inflamatórios em soro dos animais experimentais.

Variáveis	Grupos				ANOVA (valor de p)		
	CT (n=5)	CT+A (n=9)	HF(n=5)	HF+A (n=11)	Efeito da Dieta	Efeito do Açaí	Interação Dieta x Açaí
Triacilgliceróis(mg/dl)	115,6±15,32	77±11,42	56,8±15,32	63,2±10,33	0,011	0,237	0,103
Colesterol (mg/dl)	147,0±18,48	119,3±13,77	151,45±18,48	129,55±12,46	0,645	0,134	0,857
HDL (mg/dl)	65,0±7,43	59,5±5,53	72,1±7,43	63,2±5,00	0,414	0,277	0,794
LDL (mg/dl)	58,9±11,69	51,8±9,30	68±11,69	58,81±8,26	0,441	0,436	0,919
Índice Aterogênico	1,18±0,64	1,68±0,47	1,09±0,63	1,08±0,43	0,541	0,656	0,648
CT/HDL	2,2±0,64	2,7±0,48	2,1±0,64	2,1±0,43	0,541	0,656	0,648
LDL/HDL	0,84±0,51	1,47±0,41	0,93±0,51	0,96±0,36	0,651	0,469	0,518
Ácido graxo livre	4,9±0,84	3,8±0,63	3,0±0,85	2,6±0,57	0,043	0,298	0,237
Glicose (mg/dl)	329,6±50,7	238,8±37,8	337,1±50,71	344,6±34,19	0,210	0,352	0,274
AST (U/l)	111,1±20,99	92,9±16,60	126,21±20,99	118,6±14,84	0,282	0,495	0,777
ALT (U/l)	22,9±8,78	24,1±6,5	38,9±8,78	55,2±6,20	0,010	0,014	0,128

Valores apresentados como média±EP. CT= dieta controle (CT, AIN-93M); CT+A= dieta controle normolipídica + 2% de açaí jussara liofilizado; HF = dieta hiperlipídica; HF+A = dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado. Índice Aterogênico: $(\text{Colesterol total} - \text{HDL-C}) \times (\text{HDL-C})^{-1}$ (SOUZA et al., 2012). AST: aspartato aminotransferas. ALT: alanina aminotransferase.

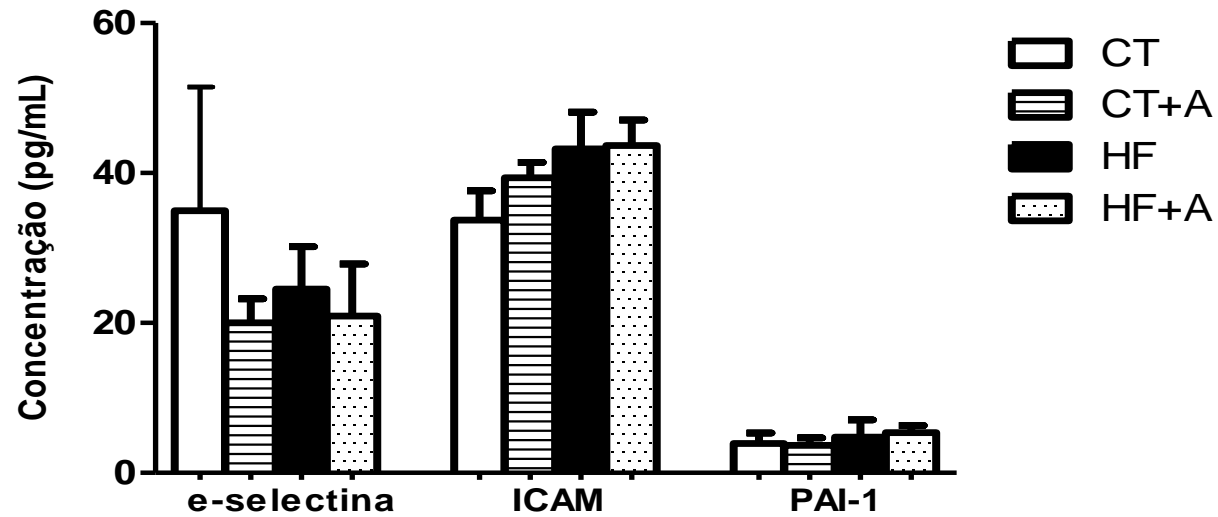


Figura 6. Marcadores cardiovasculares em relação ao tipo de dieta dos animais experimentais ($p > 0,05$).

CT= dieta controle (AIN-93M) (n=5); CT+A= dieta controle (AIN-93M) + 2% de açaí jussara liofilizado (n=10); HF= dieta hiperlipídica (n=4); HF+A = dieta hiperlipídica + 2% de açaí jussara liofilizado (n=10). ICAM: molécula de adesão celular intercelular PAI-1:inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1.

6 DISCUSSÃO

A composição centesimal, os teores de compostos fenólicos e antocianinas totais são influenciados pela região de plantio e as características ambientais que o açaí jussara é submetido durante o cultivo (BORGES et al., 2011). Estes autores observaram que as maiores variações na composição centesimal do fruto são nos teores de lipídios (18 a 44%), proteínas (5 a 8 %) e cinzas (1,5 a 3,3%). Resultados similares ao presente estudo foram descritos por Castro et al. (2014), ao avaliarem a polpa de açaí jussara liofilizada encontraram os valores de 49,4% de lipídios, 5,3% de proteína, 8,5% de umidade e 42,9% de carboidratos. Entretanto, estes autores encontraram resultados superiores para antocianinas, 26,0 mg cianidina-3-glicosídeo/100g, sendo 9,5 mg/g cianidina 3-glicosídeo e 16,4 mg/g cianidina 3-rutinosídeo mg/g.

Os compostos fenólicos encontrados nos diferentes cultivares de açaí jussara foram ácidos ferúlico, gálico, protocatecuico, *p*-cumárico, catequina, epicatequina e a quercetina (BORGES et al., 2011). As principais antocianinas no açaí jussara são cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo (BRITO et al., 2007), os achados deste estudo corroboram com os dados encontrados neste trabalho. Outras antocianinas são encontradas em menor quantidade como a peonidina-3-glicosídeo e a peonidina-3-rutinosídeo (SCHAUSS et al., 2006).

A quantidade de antocianinas encontradas na polpa de açaí jussara liofilizada, por análise de cromatografia líquida de alta eficiência, foram 0,08 mg/g de cianidina 3-O-glicosídeo e 0,68 mg/g de cianidina 3-O-rutinosídeo, somada a concentração de ambas antocianinas totalizou-se 0,76 mg/g de açaí liofilizado, sendo este valor inferior ao teor de antocianinas totais (Figura 4). Justifica-se esse resultado pelo fato que em estudos quantitativos, a hidrólise das antocianinas poderia gerar resultados superestimados, principalmente se o método de análise empregado for espectrofotométrico por quantificar apenas antocianinas totais. Ainda, o uso de solvente ácido durante a extração deve ser cauteloso, pois o excesso pode levar à formação de antocianidinas e outros flavonoides por hidrólise (REVILLA et al., 1998).

Outro fator que pode ter contribuído para a diferença encontrada nos valores de antocianinas refere-se à metodologia para análise de antocianinas totais, utilizar apenas um comprimento de onda. Assim poderia ocorrer uma superestimação do teor de antocianinas, visto que, compostos de degradação também são

quantificados.

Rufino et al. (2010) ao avaliarem a concentração de antocianina totais, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante no fruto do açaí jussara, encontraram os seguintes valores: 196 mg/100g de matéria fresca, 755 mg EAG/100 de matéria fresca e 78,3 μ mol Trolox/g de matéria fresca, respectivamente. Para todos estes parâmetros avaliados os resultados encontrados no presente estudo foram superiores.

A diferença entre o teor de compostos bioativos encontrados neste estudo e os descritos na literatura, pode ser justificada pela variação de diferentes fatores, tais como: variedade do fruto, época de crescimento, localização geográfica e práticas agrônômicas. Ainda, quando é levado em consideração o tratamento da amostra, fatores como método de extração, luz e temperatura podem promover modificações na quantidade desses constituintes (KAPASAKALIDIS et al., 2006). Quando os frutos são cultivados em locais com altitudes médias, alta incidência solar e altas temperaturas tendem a apresentar maiores teores de compostos fenólicos e antocianinas (BORGES et al. 2011).

Para a composição centesimal das dietas experimentais foi observado que as dietas HF e HF+A apresentaram um teor de lipídios de aproximadamente nove vezes maior que a dieta normolipídica, justificado pela presença de 31,2% de banha animal na composição destas dietas. O maior teor de umidade encontrado na dieta normolipídica foi devido à adição de água, necessária para a elaboração dos *pellets*. A quantidade de calorias nas dietas HF e HF+A foram cerca de duas vezes maior que nas dietas CT e CT+A. Desse modo, a dieta adotada neste estudo além de ser hiperlipídica, pode ser considerada hipercalórica (Tabela 4).

As dietas com alta densidade calórica, como as hiperlipídicas, são eficientes para induzir disfunção metabólica, alterações do perfil lipídico e glicêmico em diferentes modelos animais (HIGA et al., 2014). Um aspecto relevante para validação desse modelo refere-se à eficiência energética destas dietas. Embora os animais que receberam a dieta hiperlipídica tenham tido um menor consumo diário, apresentaram maior eficiência calórica em comparação aos animais que receberam dieta controle (Tabela 5). Deste modo, pode-se sugerir que o ganho de peso e de tecido adiposo nos animais que receberam dieta hiperlipídica foi devido à maior densidade calórica e o tipo de gordura utilizada, e não em função de uma provável

hiperfagia. É importante ressaltar que a presença do açaí jussara, embora não tenha reduzido, não intensificou o efeito da dieta hiperlipídica, em relação ao ganho de peso dos animais (Tabela 6). Portanto, estes dados demonstraram que o modelo experimental utilizado foi efetivo para promover um maior ganho de peso nos animais que receberam dieta hiperlipídica.

A suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizada promoveu uma redução da esteatose hepática, em relação aos animais submetidos a uma dieta hiperlipídica (Figura 5). Os resultados deste estudo corroboram com Xie et al. (2011), ao suplementarem a dieta de camundongos ApoE^{-/-}, com 5% de suco de açaí liofilizado (*Euterpe oleracea* Martius), durante 20 semanas. Estes autores verificaram uma redução da peroxidação lipídica associada ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes no fígado e plasma, como glutathione redutase e glutathione peroxidase, por meio da regulação da expressão de genes responsáveis pela síntese dessas enzimas. Entretanto, resultado contrário foi apresentado por CASTRO et al. (2014) ao suplementar com 2% de açaí jussara liofilizado, na dieta de camundongos ApoE^{-/-}, não verificaram melhora da esteatose e o estresse oxidativo hepático.

Uma das explicações para o aumento de lipídios no citoplasma dos hepatócitos é que a dieta hiperlipídica estimula a expressão do receptor X do fígado, especificamente os receptores LXR α , desencadeando o aumento da atividade da ácido graxo sintase. Quando a síntese de ácidos graxos livres supera os mecanismos responsáveis por seu catabolismo, os triacilgliceróis excedentes são acumulados no fígado contribuindo para o desenvolvimento de esteatose (Al et al., 2011).

O tipo de gordura utilizada para a composição da dieta também é um fator de importante contribuição para maior adiposidade, independente de uma maior ingestão calórica. A gordura saturada é capaz de desencadear, de maneira mais pronunciada, resistência à insulina e obesidade quando comparadas à gordura poli-insaturada, sendo estas capazes de desenvolverem aumento da lipogênese e depósito de microvesículas lipídicas no fígado (BUETTNER et al., 2006).

Em relação à gordura monoinsaturada, existem evidências relatando efeitos benéficos para um controle eficaz dos fatores de risco para a doença cardiovascular aterosclerótica, atribuído principalmente aos efeitos hipocolesterolêmicos quando os

ácidos graxos monoinsaturados substituem a gordura saturada (SANTOS et al., 2013). Deste modo, pode justificar o resultado encontrado no presente estudo quanto à dieta hiperlipídica não ter provocado alterações acentuadas no parâmetro inflamatório e perfil lipídico dos animais experimentais, pois a banha animal é constituída por aproximadamente 45% de gordura saturada, 40% de gordura monoinsaturada e 14,7% poli-insaturada (ALMEIDA et al., 2011)

Em um estudo conduzido por Oliveira et al. (2015) utilizando o extrato de semente de açaí (*Euterpe oleracea* Martius), na concentração de 300 mg/kg/dia, verificou que o fruto foi eficaz na redução de forma substancial da obesidade e esteatose hepática, induzida pela dieta hiperlipídica em camundongos deficientes em apolipoproteína E (ApoE^{-/-}). Um mecanismo subjacente para este efeito benéfico é a redução da lipogênese, que está associada com a redução da expressão da proteína 1c ligadora do elemento regulado por esteróis (SREBP-1c) e aumento da expressão de proteína quinase ativada por AMP (pAMPK), que modula negativamente acetil-Coa carboxilase e HMG-CoA redutase. É importante ressaltar que os animais utilizados por estes autores são deficientes no gene que codifica a ApoE^{-/-}, o que pode desencadear o desenvolvimento prematuro e espontâneo de graves lesões ateroscleróticas, que não são necessariamente de origem dietética. Por outro lado, no presente estudo o efeito da polpa de açaí liofilizado foi testado em animais em que as alterações no peso corporal e perfil lipídico foram desenvolvidas por meio do alto consumo energético e lipídico, sendo estimulado por condições ambientais e não genéticas.

Os camundongos apresentam, com algumas exceções, conjunto de genes que controlam o metabolismo de lipoproteínas similares ao dos seres humanos, e diante de facilidades como, conhecimento amplo da sua genética, reprodução rápida e o tamanho dos animais, são considerados modelos experimentais eficazes para o estudo das alterações cardiovasculares. Algumas das diferenças entre camundongos e humanos são: alta eficiência da apolipoproteína E murina, quando comparada com a apolipoproteína E humana, no que diz respeito à remoção de lipoproteínas remanescentes; lipase hepática, a qual é ligada à membrana em humanos e solúveis em camundongos; ausência da CETP (proteína de transferência de ésteres de colesterol) no plasma de camundongos; reduzida síntese de apo B-100 em camundongos (FAZIO; LINTON, 2001). Deste modo, são animais resistentes

a alterações do metabolismo lipídico, o que também pode está associado ao fato da dieta hiperlipídica não ter provocado alterações acentuadas de perfil lipídico nos animais experimentais do presente estudo.

A dieta hiperlipídica promoveu aumento do peso do tecido adiposo e relação tecido adiposo/P₂ dos animais, em comparação a dieta normolipídica. Por outro lado, a suplementação com 2% de açaí jussara liofilizada não foi eficaz para reduzir a área dos adipócitos dos animais (Tabela 7). O tamanho dos adipócitos é um importante modulador da função endócrina do tecido adiposo. Adipócitos de menor diâmetro secretam moléculas que aumentam a sensibilidade insulínica, como a adiponectina e leptina, entretanto, adipócitos de maior diâmetro secretam moléculas que desencadeiam resistência à insulina, como TNF- α e resistina (TSUBOYAMA-KASAOK et al., 2006).

Os compostos fenólicos, presente no suco de manga ubá, foram eficazes na redução da área, perímetro, diâmetro e armazenamento de lipídios nos adipócitos de ratos obesos submetidos à dieta hiperlipídica. O mecanismo atribuído a esse efeito benéfico deve-se a ação dos compostos fenólicos em alterar a expressão de gene adipogêncio, como receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR- γ). Este é responsável por controlar fatores relacionados com secreção de hormônios, sinalização celular, metabolismo de glicose e lipídios, que resulta em melhoria do estado inflamatório e estresse oxidativo (NATAL et al., 2016)

O acúmulo excessivo de gordura nos adipócitos promove aumento da produção de espécies reativas de oxigênio no tecido adiposo, por meio da ativação da NADPH oxidase e redução da atividade de enzimas antioxidantes, desencadeando aumento do estresse oxidativo. Ainda, o aumento do estresse oxidativo promove uma produção desregulada de adipocinas no tecido adiposo (FURUKAWA et al., 2004). Deste modo, o estresse oxidativo medeia o desenvolvimento da síndrome metabólica associada à obesidade através do aumento de EROs e produção exacerbada de adipocinas. Portanto, o estado redox no tecido adiposo é um alvo potencialmente útil em novas terapias para estas enfermidades.

Os polifenóis atuam indiretamente na redução do estresse oxidativo por favorecer o aumento da expressão de enzima com ação antioxidante, como glutathiona e superóxido dismutase, através da ativação dos fatores de transcrição

nuclear *fator-erythroid 2 - related fator 2* (Nf-E2/Nrf2) (CHUANG; MC INTOSH, 2011).

Entre os mecanismos moleculares responsáveis por desencadear a resposta inflamatória induzida pela obesidade, destaca-se a via de sinalização do fator de NF- κ B, o qual aumenta a expressão de variados genes que codificam proteínas envolvidas na resposta inflamatória. A estimulação da via de sinalização do NF- κ B pode ocorrer pela ligação de um ligante num receptor de superfície celular, como o receptor para o TNF- α (TNF-R) e o receptor do tipo *toll like* (TLR-4), que pode ser ativado tanto por lipopolissacarídeos (LPS), quanto por ácidos graxos saturados (CANCELLO; CLEMÉNT 2006).

Neste contexto, a dieta hiperlipídica atua promovendo o aumento da concentração plasmática da interleucina (IL-6) e do fator de necrose tumoral (TNF- α), assim como da molécula de adesão intercelular (ICAM-1) e da molécula de adesão celular vascular (VCAM-1), responsáveis por favorecer a disfunção endotelial (NAPPO et al., 2002). O aumento da concentração plasmática do PAI-1, o principal inibidor da fibrinólise, correlaciona-se como a obesidade abdominal e outros componentes da síndrome metabólica (SHAH; MEHTA; REILLY, 2006)

Noratto et al (2011), ao administrarem doses de 5-10 mg EAG/ L proveniente do extrato de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), observaram redução do estresse oxidativo em células endoteliais vasculares, induzidas a inflamação por LPS, por meio da eliminação das espécies reativas de oxigênio e indução das enzimas antioxidantes. Foi observado também efeito antiinflamatório por meio da inibição da ativação de NF- κ B, que resultou em redução nos níveis de IL-6, IL-8, e da inibição da tradução de moléculas de adesão como VCAM-1, via expressão do microRNA-126. Outra importante ação do açaí no controle da inflamação é a inibição da produção de óxido nítrico através da redução da expressão de óxido nítrico sintetase (iNOS) (MOURA et al., 2012). Xie et al (2011), ao suplementar com 5% de suco de açaí liofilizado a dieta de camundongos ApoE $-/-$, verificaram redução das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6.

No presente estudo, a suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizada não promoveu alterações no perfil lipídico, glicêmico e de marcadores inflamatórios, em camundongos submetidos a dieta hiperlipídica (Figura 6). A dieta influenciou os níveis de triacilgliceróis e ácido graxo livre dos animais, sendo

menores nos grupos que receberam dieta hiperlipídica (Tabela 8). Sugere-se que o alto teor de lipídios na dieta pode ter estimulado a atividade da lipoproteína lipase e, conseqüentemente, a absorção de gordura pelo tecido adiposo, diminuindo a lipogênese hepática e reduzindo os níveis de triacilgliceróis no soro, como observado no presente estudo (VOSHOL et al. 2009; BECHMANN, et al. 2012). Os resultados de OYAMA et al. (2016) corroboram com os achados deste estudo. Os animais que receberam dieta hiperlipídica suplementada com 2% de açaí jussara apresentaram menores níveis de ácido graxo livre e triacilgliceróis.

Outro fator que pode ter contribuído para o maior nível de triacilgliceróis encontrados nos animais submetidos à dieta normolipídica é a quantidade de carboidrato presente nesta dieta. O consumo elevado de carboidratos, principalmente de rápida absorção, favorece um desequilíbrio entre a oferta de lipídios e os demais nutrientes, possibilitando o desenvolvimento de hipercolesterolemia. Ainda, a alta ingestão de carboidratos refinados atua diretamente no excesso de peso e desenvolvimento da obesidade (SANTOS et al., 2013).

O consumo excessivo de lipídios e carboidratos pode desencadear aumento da glicose, insulina circulante e dos AGL independentemente ou em associação, estes fatores, contribuem para a resistência à glicose insulino-mediada em nível de tecido adiposo e músculo esquelético, assim como, para a resistência à hidrólise do triacilgliceróis insulino-mediada no tecido adiposo (SALMENNIEMI et al., 2004). Deste modo, como o influxo de glicose no fígado não depende de insulina, o nível elevado de glicose favorece a captação de glicose pelo fígado (ZIVKOVIC; GERMAN; SANYAL 2007).

Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa demonstrou que a suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizada em camundongos submetidos à dieta de cafeteria foi eficaz no aumento da atividade antioxidante sérica, em relação aos animais que receberam dieta controle (SANTA'NA, 2014). Ainda, foi observada uma redução significativa nos níveis de triacilgliceróis, colesterol total, na área dos adipócitos e aumento da tolerância a glicose (CONSTANCIO, 2015). Entretanto, a adição desse fruto à dieta de cafeteria não promoveu alterações nos níveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 (SANTA'NA, 2014). Ainda, a suplementação com açaí jussara não foi eficaz para redução do ganho de peso

corporal, melhora da resistência à insulina, redução da endotoxemia provocada pela dieta de cafeteria e na preservação da histologia glomerular e infiltração lipídica no fígado (CONSTANCIO, 2015).

É importante ressaltar as diferenças quanto à metodologia utilizando neste estudo e os citados anteriormente. O estudo conduzido por SANTA'NA, 2014 e CONSTANCIO, 2015 objetivou avaliar o efeito da polpa de açaí jussara como fator protetor contra alterações metabólicas induzidas pelo consumo de dieta de cafeteria em camundongos. O estudo atual verificou o potencial do açaí como tratamento para alterações induzidas pelo consumo de dieta hiperlipídica em camundongos. Deste modo, ao comparar os resultados destes estudos, é possível verificar que o açaí foi mais eficaz quando utilizado como medida preventiva no desenvolvimento de alterações metabólicas nos animais.

O efeito na dislipidemia do extrato do açaí pode estar relacionado não apenas com a redução da síntese de colesterol, mas também com a diminuição da absorção e aumento da remoção do excesso de colesterol no organismo. Estes mecanismos são regulados pela proteína transportadora de cassete de ligação de ATP, transportadores da subfamília (ABCG), que induzem o efluxo de colesterol não esterificados dos enterócitos para o lúmen intestinal, assim como secreção de colesterol biliar. O extrato da semente de açaí foi eficaz na indução da expressão de transportadores ABCG5 e ABCG8, reduzindo a esteatose hepática induzida em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica (OLIVEIRA et al., 2015). De forma semelhante, Souza et al. (2012), ao suplementar a dieta hipercolesterolêmica com 2% de polpa de açaí verificaram diminuição significativa no colesterol total do soro, do LDL e do índice aterogênico, além do aumento do HDL e maior excreção de colesterol total nas fezes, em comparação com o grupo que recebeu apenas dieta hipercolesterolêmica. Além disso, a expressão dos genes ABCG5, ABCG8 e LDL-R foi significativamente aumentada pela presença de polpa de açaí, sugerindo um efeito hipocolesterolêmico do açaí em ratos.

Diferentemente do presente estudo, a suplementação de 0,5% de açaí jussara liofilizado à dieta hiperlipídica administrada a ratas *Wistar* prenhas, promoveu diminuição nos níveis de colesterol total e triacilgliceróis comparado ao grupo controle (MORAIS et al., 2014). Ainda, em um estudo com ratos submetidos a dieta hiperlipídica, verificou-se que os níveis de triacilgliceróis plasmático, colesterol

total, hiperglicemia, teste de tolerância oral à glicose e resistência à insulina foram reduzidos significativamente pelo extrato do açaí (OLIVEIRA et al., 2010). Novelo (2011) ao suplementar a dieta de camundongos APOE com 2% e 6% de polpa de açaí jussara liofilizado verificou redução dos níveis de colesterol total, LDL-c, glicose e não houve indícios de efeitos nefro e hepatotóxicos nos animais.

Por outro lado, no estudo de Castro et al (2014) a suplementação da dieta AIN-93M de camundongos ApoE^{-/-} com 2% de açaí juçara liofilizado, não melhorou os níveis de colesterol e triacilgliceróis sanguíneos. O presente estudo corrobora com estes achados da literatura científica, em que foi verificado que a suplementação com 2% de polpa açaí jussara liofilizado não promoveu alterações no perfil lipídico, assim como na hiperglicemia de camundongos *Swiss* submetidos a dieta hiperlipídica

Quanto às enzimas hepáticas, a AST está presente em elevada concentração em diferentes tecidos, como músculo esquelético, rins, coração, fígado, cérebro e plasma. O aumento da atividade sérica dessa enzima pode ser resultado de alteração na permeabilidade da membrana, necrose e inflamação. Quando a elevação de AST está relacionada à doença hepática esta é acompanhada do aumento da ALT (CASTRO et al. 2013). No presente estudo a dieta hiperlipídica e o açaí jussara influenciaram nos níveis de ALT, sendo maiores nos grupos HF e HF+A, porém não alteraram estatisticamente os níveis de AST.

Para exercer atividade biológica, o composto bioativo deve atingir o sítio fisiológico numa concentração que determine seus efeitos no organismo. A ingestão diária de compostos bioativos não reflete necessariamente a quantidade que atingirá o alvo fisiológico e exercer suas ações no organismo (OLIVEIRA, BASTOS, 2011).

As diferentes metodologias utilizadas para se determinar os efeitos do fruto sobre o organismo geram uma inconsistência na interpretação dos dados.. Ao comparar diferentes estudos do nosso grupo de pesquisa, utilizando a mesma dose e diferente tempo e forma de suplementação, verificou-se que o fruto exerceu efeito no perfil lipídico, glicêmico e capacidade antioxidante sérica, quando administrado como prevenção de desenvolvimento de alterações metabólicas.

Além dos efeitos benefícios a saúde humana, o açaí possui potencial para ser aplicado na indústria de alimentos, podendo ser utilizado na forma de pó, polpa ou extrato. Portanto, é relevante realizar novas pesquisas para avaliar o potencial efeito

do açaí na redução do estresse oxidativo e inflamatório no tecido adiposo e fígado, visto que, são mecanismos chave para o desenvolvimento de desordens metabólicas.

7 CONCLUSÃO

Como esperado, o desenho experimental utilizado promoveu maior ganho de peso nos animais tratados com dieta hiperlipídica.

A suplementação com 2% de polpa de açaí jussara liofilizada, após um período de 8 semanas, promoveu redução da esteatose hepática em relação aos animais submetidos à dieta hiperlipídica.

Por outro lado, a suplementação com polpa de açaí jussara liofilizada não foi eficaz em melhorar o perfil lipídico e glicêmico, bem como as enzimas hepáticas e as moléculas de adesão dos animais tratados com dieta hiperlipídica. Os efeitos evidenciados pelo presente estudo foram majoritariamente devido à dieta (controle ou hiperlipídica) e não à suplementação do fruto.

REFERÊNCIAS

Al, Z. L. et al. The Role of Hepatic Liver X Receptor α - and Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c-mediated Lipid Disorder in the Pathogenesis of Non-alcoholic Steatohepatitis in Rats. **Journal of International Medical Research**, v. 39, n. 4, p. 1219-1229, 2011.

ALMEIDA, Martha Elisa Ferreira de et al. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 1, p. 143-152, 2011.

ANDO, K.; FUJITA, T. Metabolic syndrome and oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 47, p. 213–218, 2009.

ANGELOPOULOU, R.; LAVRANOS, G.; MANOLAKOU, P. ROS in the aging male: Model diseases with ROS-related pathophysiology. **Reproductive Toxicology**. v.28, n.2, p.167-171, 2009.

AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 16th ed. Gaithersburg: 1997.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 727-733, 2005.

BARBOSA, P. O. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v. 32, p. 674–680, 2016.

BECHMANN, L. P. et al. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. **Journal of hepatology**, v. 56, n. 4, p. 952-964, 2012.

BORGES, G. S. C. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de frutos de jussara (*Euterpe edulis*)**. 2010. 127 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

BORGES, G. S. C. **Determinação de compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante das diferentes frações dos frutos de juçara (*Euterpe edulis* Mart.) cultivados no Estado de Santa Catarina**. 2013. 165 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

BORGES, G. S. C et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v.44, n.7, p. 2128-2133, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss u-Technol**, v. 28, p.25-30, 1995.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Instrução Normativa

nº01, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de açaí. On-line. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/portarias/2798.htm>. Acesso em: 05 out. 2014.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Plano nacional de saúde – 2004-2007. Brasília, 2004.

BRITO, E.S. et al. Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. **Journal Agriculture Food and Chemistry**. v. 55, n. 23, p. 9389–9394, 2007.

BUETTNER, R. et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **Journal Molecular Endocrinology**, v. 36, p. 485-501, 2006.

CALABRISO, N. et al. Multiple anti-inflammatory and anti-atherosclerotic properties of red wine polyphenolic extracts: differential role of hydroxycinnamic acids, flavonols and stilbenes on endothelial inflammatory gene expression. **European Journal of Nutrition**, p.1-13, 2015.

CALDER P. C. et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 3, p. 75-78, 2011.

CANCELLO, R.; CLÉMENT, K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 113, n. 10, p. 1141-1147, 2006.

CARDOSO, A. P. Z. et al. Aspectos clínicos e socioeconômicos das dislipidemias em portadores de doenças cardiovasculares. **Revista Saúde Coletiva**, v. 21, n. 2, p. 417-436, 2011.

CASTRO, C. A. et al. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açaí (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **British Journal of Nutrition**, v. 112, p. 1-1, 2014.

CASTRO, V. D. et al. Análise dos efeitos da epigalocatequina-3-galato (EGCG) de *Camellia sinensis* (chá verde) em modelo de hepatotoxicidade química experimental induzida pela Dietilnitrosamina (DEN). **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 215-228, 2013

CHIANG, A. et al. Antioxidant effects of black rice extract through the induction of superoxide dismutase and catalase activities. **Lipids**, v. 41, n. 8, p. 797-803, 2006.

CHOE, S. S. et al. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in endocrinology**, v. 7, 2016.

CHUANG, C.C; MC INTOSH, M.K. Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases. **Annual Reviews of Nutrition**, v.31, p.155–176, 2011.

CINTRA, D. E. et al. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. **Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 197-205, 2006.

CINTRA, D. E. et al. Unsaturated Fatty Acids Revert Diet-Induced Hypothalamic Inflammation in Obesity. **PLoS ONE**, v.7, n. 1, p. 30571, 2012.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanins—nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1063-1072, 2000.

CONSTANCIO, V. da S. **Efeito da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre o perfil lipídico, a glicemia e a endotoxemia em camundongos submetidos à dieta de cafeteria**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. 82 f, 2015.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources – review. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v.7, p.66-76, 1996.

CÓRDOVA-FRAGA, T. et al. *Euterpe oleracea* (Açaí) as an alternative oral contrast agent in MRI of the gastrointestinal system: preliminary results. **Magnetic Resonance Imaging**, New York, v. 22, p. 389-393, 2004.

CORNIER, M. A.; DABELEA, D.; HERNANDEZ, T. L; et al. The metabolic syndrome. **Endocrine Society**, v. 29, n.7, p. 777-822, 2008.

COSTA, A. G. V. et al. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 539-549, 2013.

COSTA, C. A. et al. Euterpe oleracea Mart.-derived polyphenols prevent endothelial dysfunction and vascular structural changes in renovascular hypertensive rats: role of oxidative stress. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 385, n. 12, p. 1199-1209, 2012.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural product reports**, v. 26, n. 8, p. 1001-1043, 2009.

DANIELS, T. F. et al. Lipoproteins, cholesterol homeostasis and cardiac health. **International Journal Biology Science**, 2009.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKY, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5 , n. 1, p. 33-40, 2004.

DEL RIO, D. et al. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818-1892, 2013.

DEL RIO, D.; BORGES, G.; CROZIER, A. Berry flavonoids and phenolics:

bioavailability and evidence of protective effects. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. S3, p. S67-S90, 2010.

DIAS, M. M. S. et al. Anti-inflammatory activity of polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Martius) in intestinal myofibroblasts CCD-18Co cells. **Food & Function**, v. 6, n. 10, p. 3249-3256, 2015.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais dpph^{•1}. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FAZIO, S.; LINTON, M.F. Mouse models of hyperlipidemia and atherosclerosis. *Front. Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, v.6, p. D515-D525, 2001.

FEIO, C. A. et al. *Euterpe oleracea* (acai) modifies sterol metabolism and attenuates experimentally-induced atherosclerosis. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, v. 19, n. 3, p. 237-245, 2012.

FERNANDES, I. et al. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 54-66, 2014.

FRANCIS, F. J. **Analysis of anthocyanins in foods**. In: MARKAKIS, P. Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press, p. 181-207, 1982.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752-1761, 2004.

GALVANO, F. et al. Cyanidins:metabolism and biological properties. **Journal Nutrition Biochemical**, v.15, n. 1, p. 2-11, 2004.

GUS, I.; FISCHMANN, A.; MEDINA, C. Prevalência dos fatores de risco da doença arterial coronariana no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 78, p. 484-90, 2002.

HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. In: REIS, M.S.; REIS, A. (Eds.) *Euterpe edulis* Martius–**(Palmitreiro) biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p.1-22.

HIGA, T. S. et al. Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, v. 6, n. 1, p. 47-54, 2014.

IBGE. **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA**. PEVS 2011: produtos madeireiros de florestas plantadas, com R\$ 13,0 bi, lideram valor da

produção florestal brasileira (R\$ 18,1 bi). Disponível em: www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pevs/2011. Acesso em: 05 out. 2014.

ICHIYANAGI, T. et al. Bioavailability and tissue distribution of anthocyanins in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract in rats. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 18, p. 6578-6587, 2006.

JANIKUES, A. G. P. R. et al. Compostos fenólicos e DRC. **Nutrire**, v. 38, n. 3, p. 322-337, 2013.

KANG, J. et al. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v. 28, p.152–57, 2011.

KAPASAKALIDIS, P.G.; RASTALL, R.A.; GORDON, M.H. Extraction of polyphenols from processed black currant (*Ribes nigum* L.) residues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, 2006.

KEPPLER, K.; HUMPF, HU. Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 17, p. 5195-5205, 2005.

KERSHAW, E.E.; FLIER, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2548-56, 2004.

KOLANKIEWICZ, F.; GIOVELLI, F. M. H.; BELLINASSO, M. L. Estudy of lipidic profile and prevalence of dyslipidemias in adult. **RBAC**, v. 40, n. 4, p. 317-320, 2008.

KOPFF, A. et al. Anthocyanins on oxidative-antioxidative balance hipercholesterolaemic patients. **XIV International Symposium on Atherosclerosis**, p.18-22, 2006.

KRUGER, M. J. et al. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. **Food Research International**, v. 59, p. 41-52, 2014.

KUNTZ, S. et al. Inhibition of low-grade inflammation by anthocyanins from grape extract in an in vitro epithelial-endothelial co-culture model. **Food & Function**, v.6, n.4, p.1136-1149, 2015.

LAWSON, C.; WOLF, S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. **Pharmacology Reports**, v. 61, n. 1, p. 22-32, 2009.

LIMA, C. P. et al. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 321-326, 2012.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M.E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. **Mutation Research**. v. 674, p. 137-147, 2009.

LIN, D.; CHUN, T.H.; KANG, L. Adipose extracellular matrix remodelling in obesity and insulin resistance. **Biochemical Pharmacology**, 2016.

LORENZI, H. et al. **Brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 672p.

MANACH, C. et al. "Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies." **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n.1, p. 230-242, 2005.

MANCINI-FILHO, J. **Alimentos funcionais nas doenças cardiovasculares**. In: Alimentos funcionais. Viçosa: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B (Ed.), p. 202, 2006.

MAURY, E.; BRICHARD, S. M. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 314, p. 1-16, 2010.

MERTENS-TALCOTT, S. U. et al. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7796-7802, 2008.

MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, 2010.

MORAIS, C.A. et al. Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) supplementation during pregnancy and lactation modulates the gene and protein expression of inflammation biomarkers induced by trans-fatty acids in the colon of offspring. **Mediators of Inflammation**, v.2014, p.1-11, 2014.

MOURA, R. S. de; RESENDE, Â. C. Cardiovascular and metabolic effects of acai, an Amazon plant. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, 2015.

MOURA, R. S. et al. Effects of *Euterpe oleracea* Mart.(AÇAÍ) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse. **Phytotherapy**, v. 19, n. 3, p. 262-269, 2012.

MULERO, J. et al. Bioactive substances with preventive effect in cardiovascular diseases. **Nutricion Hospitalar**, v. 32, n. 4, p. 1462-1467, 2015.

NAPPO, F. et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. **Journal American College Cardiology**, v.39, n.7, p. 1145-1150, 2002.

NATAL, D. I. G. et al. Ubá mango juices intake decreases adiposity and inflammation in high-fat diet-induced obese Wistar rats. **Nutrition**, 2016.

NORATTO, G. D. et al. Polyphenolics from Açai (*Euterpe oleracea*. Mart.) and RED Muscadine Grape (*Vitis rotundifolia*) Protect Human Umbilical Vascular Endothelial Cells (HUVEC) from Glucose and Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammation

and Target MicroRNA-126. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 59, n.14, p. 7999-8012, 2011.

NOVELLO, A.A. **Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis* Martius) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE -/-**. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG. 80f, 2011.

OLIVEIRA, D.M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Quim. Nova**, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, P. B. de et al. 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 Cardiovascular Pharmacology**, v. 56, n.6, p. 619-626, 2010.

OLIVEIRA, P. B. de et al. *Euterpe oleracea* Mart.-Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. e0143721, 2015.

OLIVEIRA, T. T. et al. Flavonoides e Aterosclerose. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, n.1, p.49-54, 2010.

OYAMA, L. M.; SILVA, F. P.; CARNIER, J. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 1, 2016.

PACHECO-PALENCIA, L.A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S.T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Food Chemistry**, v. 105, p. 28-35, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L.A.; TALCOTT, S.T.; DUNCAN, C.E. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açaí species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria* . **Food Chemistry**, v. 115, p. 1199–05, 2009.

PASCUAL-TERESA, S. de. Molecular mechanisms involved in the cardiovascular and neuroprotective effects of anthocyanins. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 559, p. 68-74, 2014.

PASCUAL-TERESA, S.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J.C. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5331-5337, 2000.

PERMANA, P.A.; MENGE, C.; REAVEN, P.D. Macrophage-secreted factors induce adipocyte inflammation and insulin resistance. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 341, n. 2, p. 507-514, 2006.

POJER, E. et al. The case for anthocyanin consumption to promote human health: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 5, p.

483-508, 2013.

QIN, Y. et al. Anthocyanin supplementation improves serum LDL and HDL cholesterol concentration associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 485-92, 2009.

QUEIROZ, J. C. F. de et al. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica**, v. 53, n. 5, p. 582, 2009.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**. v.26, p.1231-37, 1999.

REEVES, P. G. et al. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.11, p.4592, 1998.

RIZZO, M. et al. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. **Translational Res**, 2009.

ROBERTS, C.K.; SINDHU, K.K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life Sciences**. v. 84, p. 705-712, 2009.

ROCHA, A. P. M. et al. 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.

ROCHA, J. T. **Atividade hipolipidêmica do disseleneto de difenila na hiperlipidemia induzida por triton WR-1339 em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. PhD tese, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Pará, Brasil, 2000.

ROUANET, J. M. et al. Berry juices, teas, antioxidants and the prevention of atherosclerosis in hamsters. **Food Chemistry**, v.118,p. 266–271, 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SALMENNEMI, U.; RUOTSALAINEN, E.; PIHLAJAMAKI, J. Multiple abnormalities in glucose and energy metabolism and coordinated changes in levels of adiponectin,

cytokines and adhesion molecules in subjects with metabolic syndrome. *Circulation*, v. 110, p. 3842-8, 2004.

SANT'ANA, M. R. **Avaliação do potencial anti-inflamatório e antioxidante da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) em camundongos submetidos à dieta de cafeteria.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. 44f, 2014.

SANTOS, R. D. et al. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 1, p. 1-40, 2013.

SCHAUSS, A.G. et al. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart.(Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8598-8603, 2006.

SHAH, A.; MEHTA, N.; REILLY, M.P. Adipose inflammation, insulin resistance, and cardiovascular disease. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 638-644, 2008.

SILVA, J. L. **Os efeitos do exercício resistido no metabolismo da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e da lipoproteína de alta densidade (HDL), utilizando uma nanoemulsão semelhante a LDL.** Tese (Doutorado em Ciências)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 118 f. 2011.

SIMÃO, A. F. et al. I Diretriz brasileira de prevenção cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 6, p. 1-63, 2013.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. v.16, p. 144-158, 1965.

SOUZA, M. O. et al. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7, p. 804-810, 2010.

SOUZA, M. O. et al. The hypocholesterolemic activity of acai (*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**, v. 32, n. 12, p. 976-984, 2012.

TOAIARI, S. D. A. et al. Biodisponibilidade de ferro do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e da farinha de mandioca fortificada com ferro em ratos. **Revista de Nutricao**, v. 18, n. 3, p. 291–299, 2005.

TSUKUMO, D.M. et al. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. **Diabetes**, v.56, n.8, p.1986-1998, 2007.

TSUBOYAMA-KASAOKA, N. et al. Taurine (2-Aminoethanesulfonic Acid) deficiency creates a vicious circle promoting obesity. **Endocrinology**, v.147, n.7, p. 3276–3284, 2006.

TRAUSTADÓTTIR, T. et al. Tart Cherry Juice Decreases Oxidative Stress in Healthy Older Men and Women. **Journal Nutrition**, v. 139, p. 1896–1900, 2009.

UDANI, J. K. et al. Effects of Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. **Nutrition Journal**, v. 10, n. 1, p. 10-45, 2011.

VAN DE VOORDE, J. et al. Adipocytokines in relation to cardiovascular disease. **Metabolism**, v. 62, n. 11, p. 1513-1521, 2013.

VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; BLOCK, C. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 875-880, 2006.

VIEIRA, W. A.; SADIE-VAN, G. H.; FERRIS, W. F. Free fatty acid G-protein coupled receptor signaling in M1 skewed white adipose tissue macrophages. **Cellular and Molecular Life Sciences**, p. 1-12, 2016.

VOLP, A. C; REZENDE, F. A. C; ALFENAS, R. C. G. Insulina: mecanismo de ação e a homeostase Metabólica. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 158- 64, 2008.

VOSHOL, P. J et al. Effect of plasma triglyceride metabolism on lipid storage in adipose tissue: studies using genetically engineered mouse models. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1791, n. 6, p. 479-485, 2009.

WALLACE, T.C. Anthocyanins in cardiovascular disease. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2011.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011. **Global status report on noncommunicable diseases 2010**. Geneva, World Health Organization, 2011.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION **Cardiovascular Diseases. -Health systems: improving performance**. Geneva: WHO, 2014.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

XIE, C. et al. Açai juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Atherosclerosis**, v. 216, p. 327-333, 2011.

YAMAGUCHI, K. K. D. L. et al. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137–151, 2015.

ZAMORA-ROS, R. et al. Estimation of the intake of anthocyanidins and their food

sources in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 07, p. 1090-1099, 2011.

ZAPATA-SUDO, G. et al. Oral treatment with Euterpe oleracea Mart.(açai) extract improves cardiac dysfunction and exercise intolerance in rats subjected to myocardial infarction. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 227, 2014.

ZERN, T. L.; FERNADEZ, M. L. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 10, p. 2291-2294, 2005.

ZIVKOVIC, A.M.; GERMAN, J.B.; SANYA, A.J. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. **The American journal of clinical nutrition**, v.86, p. 285-300, 2007.

ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CERTIFICATE

We certify that the Protocol **016/2013** related to research project entitled "***Anti-inflammatory, antioxidant and antiatherogenic effects of jaboticaba (Myrciaria cauliflora), da palmeira jussara (Euterpe edulis Martius) e do jambolão (Syzygium cumini) fruits in animal models.****, under responsibility of **André Gustavo Vasconcelos Costa**, is in accordance with the ethical principles of animal experimentation adopted by this Ethics Committee on Animal Use (CEUA-UFES), being approved at the regular assembly in may 17, 2013.

*Title as supplied by author.


Presidente do
Comitê de Ética no Uso de Animais
CEUA/UFES

Vitória (ES), may 20, 2013.