

TONYE GIL MATOS WAUGHON

**MORFOMETRIA DO FÍGADO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS
SANGUÍNEOS DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO
AÇAÍ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

W354m
2015
Waughon, Tõnye Gil Matos, 1979-
Morfometria do figado e parâmetros bioquímicos
sanguíneos de ratos wistar alimentados com dietas contendo açai
/ Tõnye Gil Matos Waughon. – Viçosa, MG, 2015.
xv, 86f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Paulo César Stringheta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Açai. 2. *Euterpe oleracea*. 3. Compostos fenólicos.
4. Antioxidante. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.804

TONYE GIL MATOS WAUGHON

**MORFOMETRIA DO FÍGADO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS
SANGUÍNEOS DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETAS
CONTENDO AÇAÍ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de fevereiro de 2015.



Sérgio Luis Pinto da Matta
(Coorientador)



Tânia Toledo de Oliveira
(Coorientadora)



Gláucia Guimarães Amaral



Frederico Augusto Ribeiro de Barros



Paulo César Stringheta
(Orientador)

“Julgue seu sucesso pelas coisas que
você teve que renunciar para conseguir”.

Dalai Lama

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu a oportunidade de conhecer todas as pessoas que serão citadas nesse agradecimento.

Aos meus pais, Antonio Rocha Waughon e Marlene Matos Waughon, pelos ensinamentos e amor dedicados ao meu crescimento pessoal.

Aos meus irmãos Jules Benon Matos Waughon e Hilde Leno Matos Waughon, pelo apoio nos momentos de dificuldades.

A minha namorada Andréa Bastos, pelo amor, paciência e apoio durante a elaboração desse trabalho.

Ao meu orientador, Paulo César Stringheta, pela amizade, compreensão e principalmente, pelo grande privilégio concedido a mim, de ter sua orientação nesta tese.

Aos meus Coorientadores, Tânia Toledo de Oliveira e Sérgio Luis Pinto da Matta, que com seus conhecimentos e disposição em ajudar, foram fundamentais para a realização desta pesquisa.

Aos Professores Frederico Augusto Ribeiro de Barros e Gláucia Guimarães Amaral por aceitarem participar da banca examinadora.

Aos meus amigos, Igor Hiroshi, Valério Poletto, Gláucia Amaral, Rita Figueiredo, Mariza Maia, Vinícius Valicente, Juliana Rocha, Jeferson Silva, S. Geraldo, Davilson e seu filho, Adriana Mendonça, Isadora Rebouças, Kellen Viana, Nathália Neves, que sem eles nada desse trabalho seria possível.

Aos meus tios e tias, especialmente, Paulo Roberto Matos, Onélia Matos, Marilene Matos, Unildo Beling e Maria Waughon, por todo apoio, motivação e confiança.

Aos meus primos e primas, especialmente, Elia Susan Menezes, Paulo Roberto Matos, Mauro Matos, Ricardo Matos, Adenauer Beling, Andréa Beling, que me acompanham e me apoiam desde o início dessa trajetória.

As secretarias do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Geralda e Polyana, por estarem sempre dispostas a ajudar.

À Universidade Federal de Viçosa - UFV, pela oportunidade e pela infraestrutura que permitiu a realização deste doutorado.

À Universidade do Estado do Pará – UEPA, à todos os meus colegas de trabalho, em especial aos Professores João Hamilton, Suezilde Ribeiro e Silvana Neves, pelo apoio e compreensão. A todos os professores do Programa, especialmente, Prof. Paulo César Stringheta, Prof. José Benício, Profa. Mônica Pirozi, Prof. Afonso Ramos, Prof. Nélio Andrade, Profa. Valéria Minim e Profa. Regina Mendonça, que foram levar seus conhecimentos até a nossa cidade. Aos meus amigos e companheiros de doutorado (Sérgio Carvalho, Elaine Lopes Figueiredo, Ana Carla Pelais, Alessandra Eluan, Adriano Calandrini, Vitória Seixas, Rosemeri Coutinho, Marilda Simões e Carissa Bichara), que compartilharam comigo as alegrias e dificuldades trilhadas durante esses anos.

BIOGRAFIA

Tonye Gil Matos Waughon, filho de Antonio Rocha Waughon e Marlene Matos Waughon, nasceu em Santarém, Estado do Pará, em 09 de junho de 1979.

Em março de 2002, graduou-se em Tecnologia de Alimentos pela Universidade do Estado do Pará – UEPA, Belém, PA.

Em fevereiro de 2004 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos Universidade Federal do Para – UFPA, submetendo-se à defesa de dissertação em maio de 2006.

Foi efetivado no quadro docente da Universidade do Estado do Pará em janeiro de 2008, onde ministra disciplinas para o Curso de Graduação em Tecnologia de Alimentos em diferentes municípios do Estado.

Em agosto de 2010 iniciou o Curso de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Viçosa – UFV, através do Programa Interinstitucional – DINTER, entre a Universidade do Estado do Pará e a Universidade Federal de Viçosa, defendendo a tese em 25 de fevereiro de 2015.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 EUTERPE OLERACEA.....	4
3.2 O AÇAÍ.....	4
3.2.1 Processamento do açaí.....	5
3.2.2 Composição química do açaí.....	6
3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	7
3.3.1 Capacidade antioxidante de compostos fenólicos	8
3.3.2 Biodisponibilidade dos compostos fenólicos	10
3.3.3 Antocianinas	12
3.4 ESTRESSE OXIDATIVO.....	15
3.5 FÍGADO	17
3.5 PLASMA SANGUÍNEO	18
3.6 PERFIL LIPÍDICO E HIPERCOLESTEROLEMIA	18
3.6.1 Colesterol.....	19
3.6.2 Lipoproteína	20
3.6.3 Fatores que influenciam no perfil lipídico sanguíneo	22
4. REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 1	35
1 INTRODUÇÃO.....	35
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1 AÇAÍ.....	37
2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO AÇAÍ.....	37

2.4 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS	37
2.5 QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS TOTAIS	38
2.6 DETERMINAÇÃO DAS PRINCIPAIS ANTOCIANINAS DO EXTRATO FENÓLICO DE AÇAÍ POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	38
2.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAÍ	39
2.8 ENSAIO IN VIVO	39
2.8.1 Animais.....	39
2.8.1 Dietas e composição da ração.....	40
2.8.2 Controle de peso dos animais e consumo alimentar.....	41
2.8.3 Eutanásia e coleta dos tecidos	41
2.8.4 Análises bioquímicas do sangue.....	41
2.8.5 Atividades das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) no tecido hepático.....	42
2.8.6 Morfometria.....	42
2.5 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO	43
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICO DO AÇAÍ.....	44
3.2 QUANTIFICAÇÃO DOS POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	45
3.3 DOSAGEM QUANTITATIVA E QUALITATIVA POR CLAE DA POLPA DE AÇAÍ	46
3.4 ENSAIO IN VIVO	46
3.4.1 Controle da massa corporal, consumo de alimentos e composição da ração	47
3.4.2 Análise Bioquímica do sangue dos animais	48
3.4.3 Avaliação da atividade antioxidante.....	51
3.4.4 Efeito dos tratamentos no tecido hepático dos animais.....	52
4 CONCLUSÃO.....	58
5 REFERÊNCIAS	59
CAPÍTULO 2	63
MORFOMETRIA DO FÍGADO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETAS HIPERCOLESTEROLÊMICAS ADICIONADAS DE AÇAÍ INTEGRAL E RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO AÇAÍ.....	63
1 INTRODUÇÃO.....	63
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	65

2.1 MATERIAL	65
2.1.1 Açai.....	65
2.1.2 Resíduo da extração de compostos fenólicos do açai.....	65
2.2 ENSAIO IN VIVO	65
2.2.1 Animais.....	66
2.2.2 Dietas e preparo das rações	66
2.2.3 Controle de peso dos animais e consumo alimentar.....	67
2.2.4 Eutanásia e coleta dos tecidos	67
2.2.5 Análises bioquímicas do sangue.....	68
2.2.6 Atividades das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) no tecido hepático.....	68
2.2.7 Morfometria.....	69
2.3 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO	69
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
3.1 CONTROLE DA MASSA CORPORAL E CONSUMO DE ALIMENTOS	70
3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	74
3.3 EFEITO DOS TRATAMENTOS NO TECIDO HEPÁTICO DOS ANIMAIS.....	75
4 CONCLUSÃO.....	81
5 REFERÊNCIAS	82
CONCLUSÕES GERAIS	85

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

μmol – micro mol
ACAT2 - acil-CoA colesterol aciltransferase
ALT – alanina aminotransferase
AST – aspartato aminotransferase
b.s – base seca
CAT – catalase
CMLs – células musculares lisas
CoA – coenzima A
DCNT- Doenças crônicas não transmissíveis
DCV – doenças cardiovasculares
DNA – ácido desoxirribonucleico
DTA – Departamento de Tecnologia de Alimentos
EAG - equivalente de ácido gálico
eNOS - óxido nítrico sintase endotelial
EROS - espécies reativas de oxigênio
GPx - glutathione peroxidase
HDL - lipoproteínas de alta densidade
HMG-CoA – Hidroxil-3-metilglutaril coenzima A
IDL - lipoproteínas de densidade intermediária
LDLs – lipoproteína de baixa densidade
LPL - lipase lipoprotéica
mg – miligramas
mL – mililitros
MTP - proteína microsomal de transferência
SOD - superóxido dismutase
VLDL - lipoproteína de densidade muito baixa
 γ -GT – gama glutamiltranspeptidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 (Rev. Bib)	Estrutura geral dos flavonoides	8
Figura 2 (Rev. Bib)	Equilíbrio das antocianinas em solução aquosa	14
Figura 1 (CAP 1)	A - Atividade da catalase (CAT); B – Atividade da superóxido dismutase (SOD), ambas no tecido hepático de ratos Wistar.	52
Figura 2 (CAP 1)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos C e CC.	55
Figura 3 (CAP 1)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos A _{2,5} e A ₅ .	56
Figura 4 (CAP 1)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos AC _{2,5} e AC ₅	57
Figura 1 (CAP 2)	A - Atividade da superóxido dismutase (SOD); B – Atividade da catalase (CAT), ambas no tecido hepático de ratos Wistar	74
Figura 2 (CAP 2)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos C e CC	77
Figura 3 (CAP 2)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos E e AC _{2,5}	78
Figura 4 (CAP 2)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos AC ₅ e REF _{2,5}	79
Figura 5 (CAP 2)	Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos REF ₅	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 (Rev. Bib)	Principais Antocianidinas	13
Tabela 1 (CAP 1)	Composição química das rações utilizadas no experimento	40
Tabela 2 (CAP 1)	Composição centesimal do açaí	44
Tabela 3 (CAP 1)	Compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro do açaí	45
Tabela 4 (CAP 1)	Massa inicial dos animais, Ingestão de alimento e ganho de massa corporal de ratos alimentados com as diferentes dietas.	47
Tabela 5 (CAP 1)	Índice Hepatosomático e atividade das enzimas ALT, AST e γ -GT de ratos alimentados com diferentes dietas.	48
Tabela 6 (CAP 1)	Perfil lipídico do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas	49
Tabela 7 (CAP 1)	Proteínas totais, Creatinina e Albumina do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas.	50
Tabela 8 (CAP 1)	Parâmetros estereológicos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas	53
Tabela 9 (CAP 1)	Parâmetros histomorfométricos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas	54
Tabela 1 (CAP 2)	Composição química das rações utilizadas no experimento	67
Tabela 2 (CAP 2)	Massa inicial dos animais, Ingestão de alimento e ganho de massa corporal de ratos alimentados com as diferentes dietas.	70
Tabela 3 (CAP 2)	Índice Hepatosomático e atividade das enzimas ALT, AST e γ -GT de ratos alimentados com diferentes dietas.	71
Tabela 4 (CAP 2)	Perfil lipídico do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas	72
Tabela 5 (CAP 2)	Proteínas totais, Creatinina e Albumina do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas.	73
Tabela 6 (CAP 2)	Parâmetros estereológicos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas	75
Tabela 7 (CAP 2)	Parâmetros histomorfométricos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas	76

RESUMO

WAUGHON, Tonye Gil Matos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Morfometria do fígado e parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos wistar alimentados com dietas contendo açaí.** Orientador: Paulo Cesar Stringheta. Coorientadores: Tânia Toledo de Oliveira e Sérgio Luís Pinto da Matta.

O açaí é um fruto típico da Amazônia que possui elevado teor de compostos fenólicos, fibras dietéticas e lipídios e a proporção desses componentes sofrem alterações de acordo com a região, época do ano e outros fatores. Neste estudo foi realizada a caracterização físico-química e atividade antioxidante do açaí e a avaliação do efeito de seus componentes nos parâmetros sanguíneos de ratas alimentadas com dieta hipercolesterolêmicas e não hipercolesterolêmicas, além do estudo histológico do tecido hepático desses animais. Os frutos de açaí utilizados no experimento foram coletados no mês de junho nas Ilhas das Onças, Município de Barcarena, Pará. A composição centesimal foi determinada, avaliando-se os teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos. A determinação de fenólicos totais foi realizada de acordo com metodologia de Folin-Ciocalteu. As análises qualitativa e quantitativa das antocianinas do fruto foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O ensaio in vivo foi realizado com 54 ratas divididas em 9 grupos onde o primeiro grupo (C), recebeu somente a ração comercial. O segundo grupo (CC), recebeu a ração comercial adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. O grupo E, recebeu a ração comercial adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico e mais 10mg de estatina por Kg de massa corporal. Os grupos A_{2,5} e A₅ receberam a ração comercial adicionada de 2,5 e 5% de açaí, respectivamente. Os grupos AC_{2,5} e AC₅ receberam a ração comercial adicionada de 1% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 2,5% e 5% de açaí, respectivamente. Os grupos REF_{2,5} e REF₅ receberam a ração comercial adicionada de 1% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 2,5% e 5% do resíduo obtido da extração de compostos fenólicos do açaí. Após trinta dias de experimento, os animais foram eutanasiados através da retirada total do sangue que foi utilizado para a realização das análises de colesterol total, colesterol-HDL, triacilgliceróis, creatinina, AST, ALT, δ -GT, albumina e proteínas totais. Os fragmentos de fígado foram utilizados para determinação da atividade de marcadores de estresse oxidativo superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), além de estereologia e histomorfometria do tecido. As Comparações entre os grupos foram feitas utilizando dois planejamentos experimentais: o primeiro com os grupos, C, CC, A_{2,5}, A₅,

AC_{2,5} e AC₅ o segundo com os grupos C, CC, E, AC_{2,5}, AC₅, REF_{2,5} e REF₅. usando o programa Statistica (ANOVA/MANOVA), através do teste de Student-Newman-Keuls (SNK) significância estatística de 10%. A polpa de açaí utilizada no experimento apresentou teor de proteínas de 1,06%, lipídios de 4,85%, carboidratos totais 4,90%, cinzas 0,47% e 88,7% de umidade. O teor de compostos fenólicos do fruto foi de 2088,3 mg/100b.s, sendo que 522,2mg/100g b.s são antocianinas. A quantidade de cianidina 3-O-rutinosídeo (59,07%) foi superior ao teor de cianidina 3-O-glucosídeo (40,93%). Para o primeiro planejamento experimental do ensaio in vivo, os dados sanguíneos mostraram que a adição de 2,5% de açaí na ração hipercolesterolêmica provocou a diminuição do colesterol total dos animais e houve redução do colesterol-LDL nos animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica adicionadas de açaí. O açaí provocou a redução dos triacilgliceróis nos animais alimentados com dieta sem colesterol. Não houve diferença significativa entre todos os grupos, para os parâmetros sanguíneos AST, ALT e GGT, assim como para a atividade das enzimas SOD e CAT do tecido hepático. Os parâmetros histomorfométricos mostraram que o açaí provocou diminuição de gotículas de gordura no tecido hepático em animais alimentados com dietas hipercolesterolêmicas. Para o segundo planejamento experimental, não houve diferença significativa entre os grupos para índice hepatossomático, ALT, AST. Todos os grupos, com exceção do grupo AC₅, apresentaram valores de colesterol total menores que o grupo CC. Todos os grupos apresentaram valores de colesterol-LDL inferiores ao grupo CC. Não houve diferença significativa entre todos os grupos para colesterol-HDL. Os componentes do açaí não diminuíram a atividade das enzimas SOD e CAT. Os animais que receberam ração com 2,5% de açaí apresentaram diâmetro do núcleo e volume nuclear dos hepatócitos menores que os demais grupos. Não houve diferença significativa nos percentuais de macrófagos e vasos sanguíneos. O açaí provocou a diminuição de gotículas de gordura no tecido hepático. Os percentuais de gotículas de gordura dos animais que receberam o resíduo da extração de compostos fenólicos não diferiram do grupo CC. A suplementação de 2,5% de açaí foi eficaz na diminuição do colesterol total, colesterol-LDL e gotículas de gordura no tecido hepático.

ABSTRACT

WAUGHON, Tonye Gil Matos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Liver morphometry and blood biochemical parameters of Wistar rats fed diets containing açaí.** Adviser: Paulo Cesar Stringheta. Co-Adviser: Tânia Toledo de Oliveira and Sérgio Luís Pinto da Matta.

Açaí is a typical Amazonian fruit that has high content of phenolic compounds, lipids and dietary fiber and the proportion of these components are altered according to region, time of year and other factors. This study determined the physical-chemical characterization and antioxidant activity of acai and evaluation of the effect of acai components in blood parameters in rats fed hypercholesterolemic and hypercholesterolemic diet not, beyond the histological study of the liver tissue of these animals. The study was conducted with the pulp obtained by macerating fruit acai collected in June in the Ilhas das Onças, Pará. The chemical composition was determined by evaluating the moisture, ash, lipids, proteins and carbohydrates. The determination of total phenolic was performed according to Folin-Ciocalteu method. The qualitative and quantitative analysis of anthocyanins were held in High Performance Liquid Chromatograph (HPLC). The in vivo test was conducted with 54 rats divided into 9 groups. The first group (C) received only the commercial feed. The second group (CC) received a commercial diet added with 1% cholesterol and 0.1% cholic acid. The group E received a commercial diet added with 1% cholesterol and 0.1% cholic acid and 10 mg of statin per kg body weight. The A_{2,5} e A₅ groups received a commercial feed added 2,5 to 5% acai, respectively. The AC_{2,5} and AC₅ groups received a commercial feed added with 1% cholesterol, 0.1% cholic acid and 2.5% and 5% acai, respectively. The REF_{2,5} REF₅ groups and received a commercial diet added with 1% cholesterol, 0.1% cholic acid and 2.5% to 5% of the residue obtained from extraction of phenolic compounds acai. After thirty days of the experiment, the animals were euthanized by complete withdrawal of the blood that was used for the analyzes of: total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, creatinine, AST, ALP, δ -GT, albumin and total protein. . Liver fragments were used for determining the activity of oxidative stress markers superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and histomorphometry and stereology tissue. The comparisons between groups were made using two experimental designs: the first consisting of the groups, C, CC, A_{2,5}, A₅, AC_{2,5} AC₅ and the second group C, CC, E, AC_{2,5}, AC₅, REF_{2,5} and REF₅ using Statistica software (ANOVA / MANOVA) through the test Student-Newman-Keuls (SNK) 10% statistical significance. The

acai pulp used in the experiment had a protein content of 1.06%, 4.85% lipids, total carbohydrates 4.90%, ash 0.47% and 88.7% moisture. The content of phenolic compounds was 2088.3 mg / 100b.s, and 522,2mg / 100g bs are anthocyanins. The amount of cyanidin 3-O-rutinoside (59.07%) was higher than the content of cyanidin 3-O-glucoside (40.93%). For the first experimental design, blood data showed that the addition of 2.5% acai in hypercholesterolemic diet caused a decrease in total cholesterol of animals and there was a reduction of LDL-cholesterol in animals fed with hypercholesterolemic diet added açai. Among the groups fed cholesterol-free diet were reduced in triacylglycerols in the groups receiving acai in their diets. There was no significant difference between all groups, for blood parameters AST, ALT, GGT, as well as the activity of enzymes SOD and CAT of liver tissue. Açai promoted reduction of fat droplets in liver tissue in animals fed hypercholesterolemic diets. For the second experimental design, there was no significant difference between groups for hepatossomatic index, ALT, AST. The groups receiving the acai components not had total cholesterol levels lower than the CC group. All groups, except for AC₅ group, had total cholesterol values less than the CC group. All groups had LDL-cholesterol values lower than the CC group. There was no significant difference between the groups for HDL-cholesterol. The açai components not decreased the activity of SOD and CAT enzymes. Animals that received feed with 2.5% açai showed nuclear diameter and nuclear volume of hepatocytes smaller than the other groups. There was no significant difference in the percentage of macrophages and blood vessels. Açai caused the decrease of fat droplets in the liver tissue. The percentages of fat droplets of animals that received the residue of extraction of phenolic compounds did not differ CC group. Supplementation of 2.5% acai was effective in reducing the total cholesterol, LDL-cholesterol and fat droplets in the liver tissue.

1 INTRODUÇÃO

A população mundial vem sofrendo aumento no número de ocorrências de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), tais como dislipidemias, hipertensão, diabetes, aterosclerose entre outras, e muitos desses problemas são agravados ou são em consequência de uma alimentação inadequada (MOLLET e ROWLAND, 2002).

Dietas ricas em gorduras saturadas e colesterol podem provocar a dislipidemia, que é caracterizada pela elevação do colesterol total, colesterol-LDL e triacilgliceróis associada com a diminuição de colesterol-HDL no sangue (ANSTEE e GOLDIN, 2006). O fígado, por ser responsável pela degradação de ácidos graxos, síntese de triacilgliceróis, síntese de outros lipídeos, especialmente colesterol e fosfolipídeos, é um dos órgãos mais afetados por essa alteração no perfil lipídico sanguíneo.

Entre as doenças que podem acometer o fígado em função de dietas inadequadas está a Doença Hepática Gordurosa Não-Alcólica (DHGNA) que é definida como um acúmulo de lipídios no citoplasma de hepatócitos, sobretudo de triacilgliceróis, e sua prevalência eleva-se substancialmente com o aumento do índice de massa corporal (IMC) e é agravada pelo estresse oxidativo podendo evoluir a inflamações hepáticas (FUJITA et al., 2011).

O estresse oxidativo, definido como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade dos sistemas de defesa antioxidante em neutralizá-las e prevenir seus efeitos negativos, tem implicações negativas nas células promovendo alterações nos componentes celulares (SIES, 1986).

O sistema de defesa antioxidante do organismo, que tem a função de impedir ou minimizar os efeitos negativos dos radicais livres, é composto por um conjunto de enzimas e por uma grande variedade de substâncias antioxidantes obtidas por meio da dieta. Dentre essas substâncias estão os polifenóis, que têm recebido grande atenção por estarem amplamente distribuídos nos vegetais e por apresentarem propriedades antioxidantes e hipolipidêmicas (KOSHI, 2001).

Os polifenóis estão presentes em grande quantidade no açaí, fruto típico da Amazônia e que, em função do seu excelente valor nutritivo e energético, vem conquistando e se consolidando no mercado nacional e internacional. O açaí possui alta capacidade antioxidante em função das antocianinas presentes, que representam cerca de 30% dos compostos fenólicos do fruto (ROGEZ et al, 2011).

O açaí possui outros componentes, além dos polifenóis, capazes de promover a redução do colesterol sanguíneo, como os ácidos graxos insaturados e as fibras dietéticas. A fração lipídica corresponde a, aproximadamente, 9% da parte comestível do fruto sendo composta de 11,1% de ácidos graxos poliinsaturados, 60,2% de ácidos graxos monoinsaturados e 28,7% de ácidos graxos saturados. As fibras dietéticas representam, em média, 5,9% da polpa do fruto, são a maioria (5,1%), fibras insolúveis. As proporções desses componentes sofrem grandes variações em função de vários fatores, como estágio de maturação do fruto, época do ano e localização (ROGEZ, 2000).

Estudo recente realizado por Sousa et al (2009), com ratas alimentadas durante 6 semanas com dieta hipercolesterolêmica e açaí, concluiu que o açaí aumenta a capacidade antioxidante e combate a hipercolesterolemia dos animais.

Em função das propriedades apresentadas pelos componentes do açaí, esse fruto pode ser um grande aliado no combate ao estresse oxidativo, a dislipidemias e problemas hepáticos que estão se tornando cada vez mais frequentes em função dos novos hábitos alimentares adotados pela sociedade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito dos componentes do açaí na redução do colesterol sanguíneo e nos parâmetros plasmáticos de lesões hepáticas, além de avaliar os efeitos desses componentes no tecido hepático de animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica e não hipercolesterolêmica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização físico-química do fruto;
- Quantificar e identificar as principais antocianinas presente no fruto por CLAE;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do açaí;
- Avaliar o efeito de diferentes quantidades de açaí (2,5 e 5%) no perfil lipídico e nos parâmetros plasmáticos de lesões hepática de animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica e não hipercolesterolêmica.
- Avaliar o efeito dos componentes do açaí na atividade das enzimas relacionadas ao estresse oxidativo.
- Comparar o efeito do açaí integral e do resíduo da extração de compostos fenólicos no perfil lipídico e nos parâmetros plasmáticos de lesões hepáticas e renais de animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica e não hipercolesterolêmica.
- Avaliar através do estudo morfométrico do fígado os efeitos causados pela ingestão diária de diferentes doses de açaí em animais alimentados com dietas hipercolesterolêmicas e não hipercolesterolêmicas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 EUTERPE OLERACEA

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira típica da Amazônia, com bastante diversidade genética e que ocorre espontaneamente no Brasil nos estados do Amapá, Pará, Maranhão, Tocantins e Mato Grosso (GUERRA et al., 2011; KANG et al., 2010; SUN et al., 2010).

As maiores e mais densas populações espontâneas são encontradas no estuário do rio Amazonas, na Amazônia oriental brasileira, devido às condições elevadas de temperatura, chuva e umidade relativa do ar. Ocupam com maior frequência terrenos que, em função do fluxo e refluxo das marés, estão submetidos a inundações periódicas (ROGEZ, 2000)

Entre as espécies nativas do Brasil, as mais importantes são *Euterpe oleracea*, *Euterpe edulis* e *Euterpe Precatória*. A *E. oleracea* Mart., é constituída botanicamente de duas variedades, distintas pela coloração dos frutos quando maduros: violácea e verde. Possui uma característica que a distingue de outras espécies do mesmo gênero, que é a sua formação em troncos múltiplos (chamadas de touceiras), podendo-se retirar brotações da base do estipe para a produção de mudas. Seu caule possui de 15 a 25cm de diâmetro e altura média de 12m (NOGUEIRA et al, 2005).

O açazeiro possui grande importância sócio-econômica na região amazônica devido o seu potencial de aproveitamento. Do caule é retirado o palmito, suas folhas são utilizadas para cobrir casas de ribeirinhos, os caroços dos frutos são utilizados na produção de artesanato e a utilização do fruto como base da alimentação (ROGEZ, 2000).

Além da importância para os ribeirinhos, o açaí contribui para o aquecimento da indústria no estado do Pará, pois segundo a secretaria de Agricultura do Estado, em 2010 a produção de açaí foi de 700.000 toneladas (áreas extrativistas e plantadas), o equivalente a 88% da produção nacional, fazendo do Estado do Pará o maior produtor e exportador do fruto no Brasil, tendo como principais mercado países da Europa, EUA e Japão.

3.2 O AÇAÍ

Fruto do açazeiro, o açaí, é uma drupa globosa, com diâmetro variando entre 1cm e 2cm e pesando, em média, 1,5g. Dependendo do tipo, o epicarpo pode ser roxo ou verde, na

maturação. O mesocarpo, com cerca de 1mm de espessura, é polposo, envolvendo um endocarpo volumoso e duro que possui a mesma forma do fruto e contém em seu interior uma semente, com embrião pequeno e endosperma abundante e ruminado (OLIVEIRA et al., 2007).

A parte comestível do fruto (polpa com casca) representa, aproximadamente, 26% do mesmo, apresentando variações acentuadas em função de vários fatores. Os frutos podem ser colhidos durante o ano todo, porém sua maior produção encontra-se no período não chuvoso, que na região amazônica, está compreendido entre os meses de agosto e dezembro (LICHTENTHÄLER et al., 2005).

3.2.1 Processamento do açaí

O principal produto derivado do fruto do açaizeiro, é a bebida chamada de açaí, que é obtida através do atrito dos frutos em máquina despulpadeira apropriada. A partir da bebida são elaborados diversos produtos como sorvetes, licores, doces e cremes.

O processo de obtenção da bebida (e da polpa de açaí) consiste em imergir o fruto em água aquecida por um determinado tempo, com a finalidade de amolecer o mesocarpo antes do despulpamento. Em seguida é realizado o despulpamento em despulpadeiras específicas para o fruto, com ou sem adição de água. A classificação da bebida açaí é realizada em função do teor de sólidos do produto, que varia de acordo com a quantidade de água adicionada durante o despulpamento, assim como a origem do fruto (OLIVEIRA et al, 2007)

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000) o produto açaí é classificado em função da adição ou não de água e de seus quantitativos, em:

- polpa de açaí: polpa extraída sem a adição de água e sem filtração;
- açaí grosso ou especial: polpa extraída com a adição de água e teor de sólidos superior a 14%;
- açaí médio: polpa extraída com a adição de água e teor de sólidos entre 11 e 14%;
- açaí fino ou popular: polpa extraída com adição de água e teor de sólidos entre 8 e 11%.

A origem dos frutos, a temperatura e o tempo de imersão, durante a etapa de amolecimento, influenciam significativamente no teor de sólidos obtidos no despulpamento,

podendo ter variações de 30% no rendimento do produto. O tempo de batida na etapa de despulpamento também é uma variável crítica no processamento da bebida. Com o aumento do tempo de exposição do fruto na máquina despulpadeira, obtém-se uma separação mais eficiente da polpa e do caroço, porém, tempos superiores a 5,5 minutos de batida, provocam a liberação de taninos dos caroços para a bebida, conferindo um gosto amargo, o que deprecia a qualidade sensorial do produto (OLIVEIRA et al., 2007).

3.2.2 Composição química do açaí

A composição química do fruto possui resultados discrepantes, o que pode ser explicado pela alta variabilidade genética do açaizeiro e pelo período de coleta dos frutos, mas em geral, a polpa de açaí possui um valor calórico de 262kcal/100g sendo determinado, basicamente, pelo elevado conteúdo de lipídios, haja vista as baixas quantidades de açúcares totais (ROGEZ, 2000).

A quantidade de açúcares totais do açaí é de, aproximadamente, 2,96% da matéria seca, ou seja, na bebida natural os teores são ainda muito menores, não servindo como fonte desse componente para obtenção de energia. Os principais açúcares encontrados são glicose e frutose, representando 98% dos açúcares. A sacarose é encontrada em quantidades muito pequenas e não há presença de amido no fruto (OLIVEIRA et al, 2007).

A polpa de açaí possui alto teor de lipídios com grande qualidade nutricional. Essa fração lipídica é composta de, aproximadamente, 13,3% de ácidos graxos poliinsaturados, 60,6% de ácidos graxos monoinsaturados e 26,1% de ácidos graxos saturados. Os ácidos oleico (56,2%) e palmítico (24,1%) são os ácidos graxos predominantes. São encontrados também esteróides, entre os quais se destacam β -sitosterol, stigmasterol, 5-avenasterol e campesterol (SCHAUSS et al.,2006).

Além do alto teor de lipídios, a polpa de açaí também é um alimento rico em fibras dietéticas e em minerais, principalmente em potássio, cálcio, fósforo, magnésio e ferro e em vitaminas E e B. As fibras constituem em média 5,9% da polpa de açaí, sendo a maioria (5,1%) de fibras insolúveis. Em base seca o teor de fibras é de aproximadamente, 34,1g/100g de b.s (ROGEZ, 2000).

Entre os importantes componentes do açaí, um grupo vem recebendo maior destaque nos últimos anos: os compostos fenólicos. Em função da capacidade antioxidante dos polifenóis, vários estudos estão sendo realizados com o açaí, devido o elevado teor desses

compostos no fruto. Entre os compostos fenólicos do açaí, as antocianinas são as substâncias encontradas em maior quantidade (PACHECO-PALENCIA et al., 2009).

O teor médio de antocianinas nos frutos do açaí é de 440 mg/kg do fruto, que representa aproximadamente 1% da matéria seca do fruto. Desta forma a ingestão de um litro de açaí com 12,5% de matéria seca, fornece 1,28 g de antocianinas, em média. Duas antocianinas são predominantes nesse fruto: a cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo (ROGEZ, 2000). Outras antocianinas são encontradas em menor quantidade como a peonidina-3-glicosídeo e a peonidina-3-rutinosídeo (SCHAUSS et al., 2006).

Lichtenthaler et al. (2005), realizaram determinações de antocianinas do açaí coletados das mesmas palmeiras em anos diferentes e obtiveram valores que variaram entre 88 a 211 mg/L.

Outros compostos fenólicos como ácido ferrúlico, epicatequina, ácido p-hidróxi benzoico, ácido gálico, catequina, ácido elágico, ácido vanílico e ácido cumárico, também são encontrados no açaí em concentrações que variam entre 17 e 212 mg/L. (PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos ou polifenóis são os antioxidantes mais abundantes da dieta humana. São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou conjugados a açúcares e proteínas (KING e YOUNG, 1999).

O teor de compostos fenólicos totais encontrados em um mesmo tipo de vegetal depende de vários fatores, como: época de crescimento, variedade, condições climáticas e ambientais, localização geográfica e práticas agronômicas; quando se leva em consideração o tratamento da amostra, fatores como luz, temperatura e método de extração, também podem provocar alterações no teor desses constituintes (BENVENUTI et al., 2004; KAPASAKALIDIS et al., 2006).

Estas moléculas são metabólitos secundários das plantas e podem ser classificados em diferentes grupos, de acordo com a sua estrutura, em ácidos fenólicos (não flavonóides) e flavonóides (ANDERSEN e JORDHEIM, 2006).

A classe dos não-flavonóides não apresenta uma estrutura básica em comum e, portanto, é uma classe muito heterogênea, sendo composta por ácidos fenólicos (ácido

benzóico, ácido hidróxicinâmico e seus derivados), ligninas, lignanas, suberinas, estilbenos e taninos hidrolisáveis (CHEYNIER, 2005). Segundo Pacheco-Palença et al. (2009), o ácido ferrúlico é o composto fenólico não-flavonóide mais abundante no açaí.

A classe dos flavonóides caracteriza-se por apresentar uma estrutura básica comum de dois anéis aromáticos unidos por um núcleo flavano constituído de três carbonos e um oxigênio (Figura 1). O grau de oxidação e o padrão de substituição do anel C, heterociclo, definem as classes de flavonóides e dentro destas, o padrão de substituição nos anéis A e B determinam os compostos específicos (RHODES,1996).

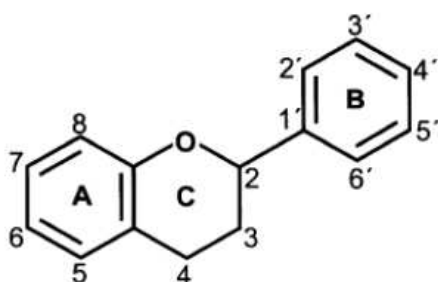


Figura 1 – Estrutura geral dos flavonoides. Fonte: MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002.

As principais classes de flavonóides encontradas em vegetais utilizados alimentícios são as flavonas, flavanóis e antocianinas (RHODES, 1996; SHAHIDI e NACZK, 2004). No açaí, as antocianinas são os flavonóides mais abundantes do fruto (POZOINSFRAN, BRENES, TALCOTT, 2004).

3.3.1 Capacidade antioxidante de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem importante papel na proteção do organismo contra os efeitos prejudiciais dos radicais livres, protegendo desde o código genético (DNA) aos lipídios e, desta forma, podendo inibir as etapas iniciais de processos carcinogênicos (SCHLESIER et al., 2002).

A capacidade antioxidante desses compostos está na facilidade com que um átomo de hidrogênio, de um grupo hidroxil aromático, pode ser doado a um radical livre. Alguns flavonóides podem agir como antioxidantes pela reação direta com radicais para formar produtos menos reativos. Já outros flavonoides, são fortes inibidores de certas enzimas metabólicas que geram como produtos radicais livres, tais como cicloxigenase, lipoxigenase,

monoamina oxidase e xantina oxidase (HIGDON e FREI, 2003; AGUILAR-GARCIA et al., 2007).

Cada polifenol tem um poder antioxidante diferente em função de sua estrutura química, o que implica que compostos fenólicos presentes em maiores concentrações não são necessariamente os que possuem o maior poder antioxidante das amostras (ALONSO et al., 2004). A capacidade antioxidante de qualquer composto fenólico dependerá dos diferentes mecanismos de ação nos quais acontece cada caso particular, os quais são influenciados por fatores estruturais diferentes (BENAVENTE-GARCIA, 2000).

As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos são dependentes das características estruturais das moléculas como: a presença ou ausência de moléculas de glicosídeos nos polifenóis; número e posição das hidroxilas esterificadas e livres; e das relações estruturais entre partes diferentes de sua estrutura química (BENAVENTE-GARCIA et al., 2000; ROBARDS, 2000). Os hidrogênios dos grupos hidroxilas adjacentes (orto-difenóis), localizados em várias posições dos anéis A, B e C, as duplas ligações dos anéis benzênicos e a dupla ligação do grupo carbonila ($-C=O$) de algumas moléculas de flavonóides fornecem a esses compostos alta atividade antioxidante (RICE-EVANS et al., 1996). Por exemplo, há evidências que as antocianidinas têm maior efetividade antioxidante que as antocianinas e que com o aumento do número de resíduos de açúcares na posição C3 há diminuição na atividade antioxidante (GALVANO et al., 2004). Moléculas com mesmo número de hidroxilas no anel B como quercetina, catequina e cianidina possuem atividade antioxidante diferentes. A quercetina possui maior atividade antioxidante em função da dupla ligação na posição 2,3 e a carbonila ($-C=O$) no anel C quando comparado com a catequina. A cianidina (antocianina) não tem ($-C=O$) no anel C, mas conta com três duplas ligações que podem fazer conjugação e apresentar, praticamente, a mesma atividade antioxidante da quercetina (RICE-EVANS et al., 1996).

Moléculas com mesmo número de hidroxilas no anel B como quercetina, catequina e cianidina possuem atividade antioxidante diferentes. A quercetina possui maior atividade antioxidante em função da dupla ligação na posição 2,3 e a carbonila ($-C=O$) no anel C quando comparado com a catequina. A cianidina (antocianina) não tem a função oxo ($-C=O$) no anel C, mas conta com três duplas ligações que podem fazer conjugação e apresentar, praticamente, a mesma atividade antioxidante da quercetin (RICE-EVANS et al., 1996).

Os não-flavonóides possuem atividades antioxidantes dependentes da posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo $-CO_2H$ com o grupo fenil. Quanto

mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta. (RICE-EVANS et al., 1996).

Várias metodologias *in vitro*, com diferenças no grau de complexidade, sensibilidade, mecanismos e espécies reativas envolvidas, foram propostas para quantificar a capacidade antioxidante de diversos compostos. Porém, ainda não há consenso quanto à validade e relevância destes métodos em sistemas biológicos uma vez que as mesmas não consideram fatores como biodisponibilidade, estabilidade do composto *in vivo*, retenção dos antioxidantes pelos tecidos e reatividade *in situ* (HUANG, OU, PRIOR, 2005).

Em todas as metodologias para avaliar a capacidade antioxidante, é gerado um radical para produzir cor, fluorescência, quimioluminescência, perda ou ganho de sinais de ESR (Ressonância do Spin Eletrônico) ou outra mudança mensurável. Quando há presença de substâncias antioxidantes, esses sinais são alterados, o que permite sua análise quantitativa. Dentre os testes mais utilizados, destacam-se: TRAP (Total Radical - Trapping Antioxidant Parameter), ORAC (Oxygen-Radical Absorbancy Capacity), FRAP (Ferric-Reducing Ability of Plasma) e TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). TRAP e ORAC são métodos cuja determinação analítica envolve reações de transferência de átomos de hidrogênio e FRAP e TEAC, transferência de elétrons (HUANG, OU, PRIOR, 2005).

Para levar em consideração aspectos de captação celular dos compostos, o método de atividade antioxidante celular (CAA) utiliza cultura celular para avaliar atividade antioxidante dentro da célula. Este seria o método *in vitro* mais adequado para medir a atividade antioxidante, em função da maior complexidade no sistema biológico em relação as reações químicas (WOLFE e LIU, 2007).

3.3.2 Biodisponibilidade dos compostos fenólicos

Os mecanismos de absorção gastrointestinal de polifenóis ainda não foram totalmente elucidados. Contudo, sabe-se que a maior parte dos polifenóis é lipofílica o suficiente para ser absorvida por difusão passiva. Entretanto alguns outros mecanismos de permeação podem estar envolvidos, como os transportadores de membrana (OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

Os efeitos biológicos atribuídos aos compostos fenólicos dependem, em grande parte, da biodisponibilidade dos mesmos. As estruturas e a formas em que se apresentam, livre ou ligada a outras moléculas, são fatores que influenciam na atividade fisiológica desses compostos (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Quando não são absorvidos, os polifenóis da dieta entram no cólon e podem ser absorvidos pelo epitélio colônico e passar para a corrente sanguínea na forma intacta ou conjugada; ou podem sofrer transformações estruturais, sendo hidrolisados pelos microrganismos do intestino, que podem reduzi-los a metabólitos, promovendo a cisão nos anéis aromáticos das estruturas para, então, ocorrer a absorção (YANG et al., 2001; WILLIAMSON e MANACH, 2005).

Vários polifenóis são quebrados em componentes fenólicos simples. Por exemplo, a daidzeína é convertida a equol pela microbiota intestinal em 30% a 40% da população humana, sendo absorvida. Existe evidência de que o equol produzido mostra efeitos na densidade mineral óssea depois do consumo de isoflavonas (WILLIAMSON e MANACH, 2005; MANACH et al., 2005).

Diversos fatores influenciam na biodisponibilidade de compostos fenólicos. Estão divididos em fatores exógenos, como: a complexidade da matriz alimentícia, a forma química do composto, estrutura e quantidade de outros compostos ingeridos concomitantemente; e fatores endógenos, como o tempo de trânsito intestinal, esvaziamento gástrico, metabolismo do composto e grau de conjugação, possíveis interações com proteínas na circulação sanguínea e tecidos, composição da microbiota intestinal e o perfil genético do indivíduo. Todos estes fatores, avaliados em conjunto, respondem pelas variações na biodisponibilidade de uma determinada substância (OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

O aumento da capacidade antioxidante do plasma após a ingestão de alimentos que contém polifenóis, é uma evidência da absorção desses compostos pelo intestino. Porém, a grande variedade estrutural desses compostos provoca uma grande variação na absorção dos mesmos. A estrutura química determina a extensão da sua absorção intestinal e a natureza dos metabólitos circulantes no plasma. As formas agliconas (livres de açúcar) podem ser diretamente absorvidas pelo intestino delgado. Entretanto muitos polifenóis estão presentes em alimentos na forma de ésteres e glicosídeos ou, ainda, polímeros que não podem ser absorvidos em sua forma nativa, mas essas substâncias podem ser hidrolisadas por enzimas intestinais ou pela microbiota colônica depois serem absorvidas (SANTOS-BUELGA, C., SCALBERT, 2000).

Passamonti (2002), propôs que antocianinas podem ser transportadas por bile-translocases em nível gástrico, pois elas apresentam certa afinidade por esses transportadores, o que pode caracterizar um transporte específico. Anteriormente, acreditava-se que somente as antocianidinas eram capazes de serem absorvidas pelas células intestinais e transportadas na

corrente sanguínea. Atualmente, numerosos estudos mostram a absorção in vivo de flavonoides glicosídeos, particularmente a cianidina-3-glicosídeo (C3G) e outras cianidinas glicosídeos (GALVANO et al., 2004). A glicosilação de certas classes de polifenóis, como os flavanols, as isoflavonas, flavonas e microflora colônica antocianinas, pode influenciar nas propriedades químicas, físicas e biológicas desses compostos. Para que ocorra a difusão passiva desses compostos pela membrana da borda em escova do intestino delgado, é necessária a remoção do açúcar. Acredita-se então que o primeiro passo do metabolismo seja deglicosilação dos compostos pela ação de glicosidases ativas presentes nos alimentos ou, algumas vezes, em células da mucosa gastrintestinal, ou secretadas pela microflora colônica. (SCALBERT e WILLIANSO, 2000).

3.3.3 Antocianinas

As antocianinas são compostos hidrossolúveis responsáveis pela coloração azul, violeta, vermelha e rosa de diversos vegetais. Podem ser definidas como glicosídeos de antocianidinas. Apresentam-se predominantemente na forma de mono ou di-glicosídeos, podendo também ocorrer, ainda que raramente, na forma de tri-glicosídeos. As diferentes cores apresentadas por esses compostos são em função das substituições no anel B (Figura 2), do pH, da concentração na solução e da presença de copigmentos (MAZZA e BROUILLARD, 1990).

Fatores como luz, temperatura, condição nutricional, hormônios, danos mecânicos e ataque de patógenos, influenciam na biossíntese e acúmulo de antocianinas. A luz é o fator externo mais importante na biossíntese, pois ativa indiretamente as enzimas envolvidas através do sistema fitocromo. Fatores genéticos definem as substituições nos carbonos 3 e 5 do anel B as quais definem as agliconas, ou antocianidinas (Tabela 1) (MAZZA e BROUILLARD, 1990).

Tabela 1 – Principais Antocianidinas

Composto	Grupo substituinte							Cor
	3	5	6	7	3'	4'	5'	
Luteonidina (Lt)	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Laranja
Malvidina (Mv)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Violeta
Capesinidina (Cp)	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	Violeta
Cianidina (Cy)	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Vermelho
Petunidina (Pt)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Violeta
Delfinidina (Dp)	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Violeta
Europinidina (Eu)	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Violeta
Hirsutinidina (Hs)	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	Violeta
Pelargonidina (Pg)	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Laranja
Peonidina (Pn)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Vermelho

Como é possível observar na Tabela 1, não há antocianidina natural que contenha todos os seus sítios metoxilados ou hidroxilados ao mesmo tempo. Concluindo-se, que é necessário um grupamento hidroxila livre para a formação da estrutura quinoidal que é responsável pela pigmentação de flores e frutos (MAZZA e BROUILLARD, 1987).

A glicosilação normalmente ocorre na posição C-3 e quando há um segundo açúcar presente, ocorre na posição C-5. Estruturas tri-glicosiladas são encontradas raramente e nelas os açúcares estão ligados em C-3, C-5 e C-7. Entende-se que a glicosilação tem a função de conferir estabilidade e solubilidade aos compostos, uma vez que as antocianidinas são menos estáveis e menos solúveis em água que suas correspondentes antocianinas (HARBONE, 1979)

Os açúcares mais encontrados em antocianinas são mono e dissacarídeos como glicose, ramnose, galactose, xilose e arabinose. Podem ainda sofrer acilações nas moléculas do açúcar, em muitos casos por ácidos tais como p-cumárico, caféico, ferrúlico ou sinápico, e com menor frequência pelos ácidos p-hidroxibenzóico, malônico ou acético (FRANCIS, 1982).

As antocianinas, em solução aquosa, se encontram comumente na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas em equilíbrio: cátion flavilium (vermelho), base anidra quinoidal (azul), pseudo-base carbitol (incolor), e chalcona (incolor ou levemente amarela). Em pH abaixo de 2, as antocianinas apresentam-se basicamente na forma catiônica; com o aumento do pH, ocorre uma rápida desprotonação para formar a base quinoidal. Em

meio aquoso a hidratação do cátion flavilium leva ao equilíbrio entre a forma carbitol e chalcona. Em temperatura ambiente, e em meio levemente acidificado, o equilíbrio entre as formas carbitol e chalcona é muito lento e leva horas para ser atingido. O aumento da temperatura desloca o equilíbrio na direção da formação da base chalcona (FULEKI e FRANCIS, 1968).

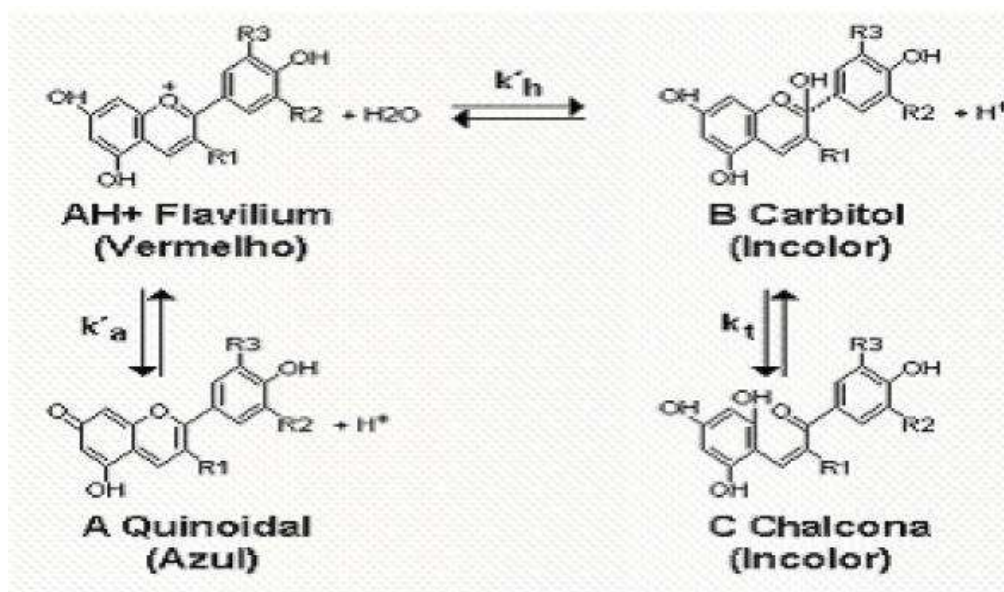


Figura 2 – Equilíbrio das antocianinas em solução aquosa

A coloração apresentada pelas antocianinas estão relacionadas com as estruturas químicas assumidas pelas mesmas em diferentes pHs. Em pH abaixo de 3, as antocianinas apresentam uma coloração vermelha, em função da prevalência da forma AH^+ . Com o aumento do pH, ocorre a desprotonação do cátion flavilium, levando a formação da base quinoidal A, que apresenta coloração azul. As soluções contendo pigmentos com pH acima de 7,0, gradualmente mudam a coloração de tonalidade azul para amarela, como um resultado indireto da formação de chalcona, via fissão do anel da anidrobases (HRAZDINA et al., 1977).

A estabilidade da cor das antocianinas é influenciada, dentre outros fatores, pela estrutura do pigmento, temperatura, pH, luz e copigmentação. Com relação a estrutura do pigmento, a coloração das antocianinas é diretamente influenciada pela substituição dos grupos hidroxila e metoxila na molécula. Incrementos no número de grupos hidroxila tendem a tornar a coloração azulada. Na direção contrária, com o aumento no número de grupos metoxilas aumentam a intensidade do vermelho (LÓPEZ et al., 2000). A presença de um ou

mais grupos acila na molécula de antocianina inibe a hidrólise do cátion flavilium (vermelho) para a formar a base carbitol (incolor), permitindo a formação preferencial da base quinoidal (azul), resultando em pigmentos menos sensíveis às mudanças de pH (ou seja, eles mantêm a coloração em meio levemente acidificado a neutro), segundo observado por Bridle e Timberlake (1997).

A modificação na estrutura das antocianinas causada pelo pH, faz desse parâmetro um fator limitante no processamento e utilização desse pigmento. As antocianinas tem sua maior estabilidade em meio ácido, quando estão na forma de cátion flavilium, possuindo coloração vermelha. Com o aumento do pH, a coloração azul é obtida, porém de forma instável (MAZZA e BROUILLARD, 1987).

A medida que se aumenta a temperatura, aumenta a degradação das antocianinas, principalmente, em elevados valores de pH. O mecanismo que provoca essa degradação ainda não está totalmente elucidado, mas acredita-se que está relacionado com a quebra do anel heterocíclico da pseudo base com formação da chalcona (BROUILLARD, 1982).

A copigmentação é um fenômeno de ocorrência natural ao qual se atribui o principal mecanismo de estabilidade das antocianinas nos vegetais, ocorrendo preferencialmente sob condições ácidas. Consiste na ligação entre o pigmento e outra molécula, denominada de copigmento, que pode ser um flavonoide não antociânico, compostos fenólicos em geral, ácidos alifáticos entre outras substâncias, onde o mecanismo de associação entre o copigmento e a antocianina envolve ligação de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre as moléculas (MAZZA e BROUILLARD, 1987).

A presença de açúcares, ácido ascórbico, oxigênio e luz também aumentam a velocidade de degradação das antocianinas (BROUILLARD, 1982). Além desses fatores, o pigmento também pode ser degradado por enzimas, sendo hidrolisado por antocianases ou catecolases com formação de produtos sem cor (BOBBIO E BOBBIO, 1992).

3.4 ESTRESSE OXIDATIVO

Durante o funcionamento normal do metabolismo são continuamente produzidos radicais livres, que são definidos como qualquer espécie química que possua um ou mais elétrons não pareados na última camada de valência, o que os tornam muito instáveis e reativos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1996).

A produção de grande parte dos radicais livres é originada com a redução univalente de um pequeno percentual do oxigênio (cerca de 2 a 5%) oriundo da respiração. O ânion superóxido (O_2^-), formado pela adição de um elétron ao oxigênio molecular; o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um não radical derivado do oxigênio formado quando o superóxido recebe mais um elétron e dois íons hidrogênio; e o radical hidroxil ($OH\cdot$), formado principalmente pela reação do peróxido de hidrogênio com metais de transição, são exemplos de espécies reativas derivadas do oxigênio (SCHNEIDER et al, 2004).

Entre as várias espécies de radicais livres, os derivados de oxigênio (Espécies Reativas de Oxigênio – ERO) e nitrogênio (Espécie Reativa de Nitrogênio – ERN) são as mais importantes e desempenham funções essenciais ao organismo, relacionadas com a sinalização do ciclo celular, a defesa imunológica e a biologia reprodutiva (COSTA e ROSA, 2010). No entanto, esses radicais livres podem causar danos moleculares às estruturas celulares, com consequente alteração funcional de membranas, proteínas e até mesmo DNA, causando prejuízo das funções vitais dos tecidos e órgãos envolvidos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1996; SCHNEIDER et al., 2004).

Para combater o efeito nocivo dos radicais livres, o nosso organismo possui um conjunto de defesas antioxidantes capazes de garantir o estado redox da célula, ou seja, promover a eliminação das EROs produzidas e proteger o organismo das lesões desencadeadas por elas (SCHNEIDER, 2004). Esse conjunto de defesa antioxidante é constituído de um sistema enzimático, formado pelas enzimas catalase (CAT), que participa na reação de eliminação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), promovendo sua catálise até H_2O ; a superóxido dismutase (SOD), que converte radical superóxido em peróxido de hidrogênio; a glutathione peroxidase (GPX), que converte a glutathione reduzida (GSH) à glutathione oxidada (GSSG), remove o peróxido de hidrogênio e forma água; e a glutathione reductase (GR). Além das enzimas, a defesa antioxidante possui um sistema não enzimático, formado por compostos sintetizados pelo organismo como a bilirrubina, o ácido úrico, a melatonina e os adquiridos por meio da dieta como ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E) e flavonoides (RIBEIRO et al., 2008).

Quando há grande formação de radicais livres provocando um desequilíbrio entre os agentes oxidantes (inflamação, exposição a certos agentes químicos, radiação, luz ultravioleta, álcool, cigarro, ar poluído, dieta rica em gordura, dentre outros) e a defesa antioxidante (vitamina E, vitamina C, β -caroteno, glutathione peroxidase, catalase, glutathione, superóxido

dismutase, ácido úrico), com o predomínio dos agentes oxidantes, ocorre um processo chamado de Estresse Oxidativo (COSTA e ROSA, 2010).

Diversos estudos apontam que o estresse oxidativo possui grande influência nos processos de envelhecimento, transformação e morte celular, com consequências diretas em muitos processos patológicos, dentre eles, a indução do câncer, onde as EROS participam de várias etapas do processo de carcinogênese (HALLIWELL et al., 1995).

O estresse oxidativo também pode provocar alterações no fígado, já que a alta taxa metabólica desse órgão, em função da grande demanda de energia requerida pelas células hepáticas para desempenhar diversas funções, está diretamente associada a um alto fluxo de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial, onde parte desses elétrons é desviado para produção de EROs , e o estresse oxidativo gerado, provoca distorções nas funções metabólicas do fígado (ANDREAZZA, et al, 2004).

3.5 FÍGADO

O fígado é o maior órgão do corpo humano representando de 2,5 a 4,5% da massa corporal total, com um peso médio de 1500g. É um órgão muito complexo que realiza várias funções vitais, muitas das quais ainda não passíveis de serem substituídas pelas mais modernas tecnologias terapêuticas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

As células mais importantes do fígado são os hepatócitos, constituindo cerca de 2/3 da sua massa. Entre os cordões de hepatócitos estão os capilares sinusóides revestidos por células endoteliais que demarcam o espaço de Disse, para dentro do qual se projetam abundantes microvilosidades da membrana basolateral do hepatócito, que está assim, em contato direto com o sangue arterial e venoso portal. Outros componentes estruturais do fígado são: estroma de tecido conjuntivo; veia central do lóbulo, nervos, vasos linfáticos, ducto biliar e os macrófagos, que no fígado são chamados de células de Kupffer, e são encontrados nos capilares sinusóides (LEE et al., 2001).

De um ponto de vista histológico, o fígado está organizado em lóbulos, com as áreas portais na periferia e as veias centrais no centro de cada lóbulo (CORMACK, 2003).

Este órgão recebe aproximadamente 25% do débito cardíaco total, o que lhe permite realizar numerosas funções vitais, essenciais à manutenção da homeostasia corporal. É considerado uma interface entre o aparelho digestivo e o sangue, pelo fato de que os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para serem utilizados

por outros órgãos. Dentre as diversas funções do órgão, destacam-se a regulação do metabolismo de diversos nutrientes, papel imunológico, síntese proteica e de outras moléculas, armazenamento de vitaminas e ferro, degradação hormonal e a inativação e excreção de drogas e toxinas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

A síntese do colesterol, assim como, a formação da maioria das lipoproteínas são realizadas no tecido hepático. Além dessas funções, o fígado é responsável por outras reações no metabolismo dos lipídios, como a oxidação de ácidos graxos para a produção de energia e síntese de fosfolipídios (MOTTA, 2000).

3.5 PLASMA SANGUÍNEO

O plasma sanguíneo é constituído por elementos sólidos e água. Os elementos sólidos do plasma são de aproximadamente 10% do conteúdo total, constituído principalmente de proteínas, gorduras, hidratos de carbono, eletrólitos, sais orgânicos e minerais, e hormônios (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Em cada litro de sangue existem 60 a 80 gramas de proteína. A maior parte é constituída pela albumina; em menor proporção estão as globulinas e o fibrinogênio, uma proteína fundamental no processo de coagulação do sangue.

Outro componente importante do plasma sanguíneo é o colesterol. Constituinte vital das membranas celulares e um precursor dos hormônios esteroides, hormônios sexuais, além da vitamina D e dos ácidos biliares que ajudam na digestão dos lipídeos (LEHNINGER et al. 1995).

O colesterol plasmático é proveniente de duas vias: a exógena através da alimentação e a endógena através da síntese de acetil-CoA. Metade do colesterol do organismo surge por síntese, aproximadamente 500mg/dia, sendo dois terços deste sintetizado no fígado (MAYES, 1994).

3.6 PERFIL LIPÍDICO E HIPERCOLESTEROLEMIA

A entrada de grandes quantidades de colesterol nos hepatócitos, em virtude de uma elevada ingestão de colesterol através da dieta, provoca a diminuição da síntese de receptores de LDL no fígado, como consequência, elevados níveis de colesterol permanecem no sangue.

Elevados níveis de colesterol na corrente sanguínea, é a principal característica da hipercolesterolemia, obtida através de dietas ricas em colesterol e por doenças genéticas específicas do metabolismo de lipoproteínas, que podem influenciar nos níveis da produção de colesterol e de outras gorduras, aumentando suas concentrações no sangue (GARCIA e OLIVEIRA, 1992).

As determinações bioquímicas do colesterol total, HDL- colesterol, LDL-colesterol e triacilgliceróis, após um jejum de 12 a 14 horas, definem o perfil lipídico sanguíneo. Os valores desses constituintes sanguíneos são afetados por diversos fatores como: sexo, idade, alimentação, hereditariedade entre outros.

Níveis de colesterol total acima de 240mg/dL é considerado hipercolesterolemia, sendo o nível desejado abaixo de 200mg/dL. Os níveis desejáveis de HDL devem ser superiores a 40mg/dL para homens e acima de 50mg/dL para mulheres. Já para o LDL-colesterol, níveis inferiores a 70mg/dL são considerados ideais, e níveis superiores a 169mg/dL são considerados altos. Os níveis de triacilgliceróis desejáveis devem ser inferiores a 150mg/dL (KRUMMEL, 2002).

3.6.1 Colesterol

O colesterol é um álcool de 27 átomos de carbono e que possui em sua estrutura o esqueleto tetracíclico do ciclopentanoperidrofenantreno. É um esteroide cuja a síntese no fígado tem como matéria prima uma molécula de acetil coenzima A (Ac-CoA) e envolve mais de 20 reações enzimáticas. Um desses caminhos é regulado por uma enzima chamada 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase (HMGCoA redutase) que cataliza a transformação do HMG CoA em mevalonato. Este, através de tantas outras reações aporta no intermediário estratégico, esqualeno, que após sofrer várias reações de ciclização chega ao colesterol (WIVIOTT e CANNON, 2006). Este esteroide é um importante constituinte do tecido animal em função de ser componente das membranas celulares e também ser precursor de hormônios esteroides, dos ácidos biliares e da vitamina D (SPOSITO et al., 2007).

O colesterol plasmático é proveniente da alimentação e da síntese do composto no próprio organismo sendo regulado por um sistema compensatório, ou seja, quando se ingere pouco colesterol, há um aumento na síntese do composto. O fígado é o órgão responsável por

aproximadamente 66% de todo o colesterol sintetizado no organismo, 15% é sintetizado no intestino e o restante em outros órgãos (MAYES, 1994).

Em virtude da insolubilidade, em água, do colesterol e de seus ésteres, estes são transportados no sangue na forma de aglomerados denominados de lipoproteínas (GARCIA e OLIVEIRA, 1992).

3.6.2 Lipoproteína

Lipoproteínas são agregados de macromoléculas, constituídos por uma capa hidrofílica composta por fosfolipídios, colesterol livre e proteínas envolvendo um núcleo hidrofóbico que contém triacilgliceróis, ésteres de colesterol e algumas vitaminas lipossolúveis (GARCIA e OLIVEIRA, 1992). Possuem a função de abastecer as células com lipídios provenientes da dieta ou sintetizados pelo organismo. Diferem quanto a densidade, origem, tamanho, conteúdo de apoproteínas e lipídeos, porém, a sua classificação se baseia na densidade que é determinada pela relação de proteína e gordura da mesma (GENEST, 2003).

De acordo com a densidade, as lipoproteínas são classificadas em: Quilomícrons, Lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), Lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), Lipoproteína de baixa densidade (LDL) e Lipoproteína de alta densidade (HDL) (RADER e WILSON, 1995).

As apoproteínas (Apo) são as proteínas presentes nestas partículas e exercem diversas funções como: agir como cofatores de enzimas, ligar-se em receptores da superfície celular, contribuir para a solubilização dos lipídios, além da função estrutural para a biossíntese das lipoproteínas (RADER e WILSON, 1995).

As funções fisiológicas das lipoproteínas envolvem uma série de processos metabólicos, nos quais ocorrem continuamente alterações e trocas entre as várias lipoproteínas, sendo referido como a cascata das lipoproteínas (KRUMMEL, 2002).

O metabolismo das lipoproteínas é extremamente complexo e envolve várias etapas importantes como: síntese de apolipoproteínas e sua modificação intracelular e secreção; modificação extracelular de apolipoproteínas e lipoproteínas; hidrólise de triacilgliceróis pelas enzimas lipase-lipoprotéica (LPL) e lipase-hepática (HP); transporte reverso de colesterol das células às lipoproteínas; e esterificação do colesterol pela ação da enzima lecitina colesterol acil transferase (LCAT) (WAITZBERG, 2002).

3.6.2.1 Quilomicrons

Os quilomícrons são as maiores lipoproteínas e as menos densas. São partículas sintetizadas no intestino com a função de transportar os triacilgliceróis e colesterol exógeno para outros tecidos do organismo. As apoproteínas predominantes antes da entrada na circulação sanguínea são apo B-48, A-I, A-II e A-IV. Sua composição e tamanho dependem do suprimento e características da dieta, mas em média, possui aproximadamente 84% de triacilgliceróis, 5% de colesterol esterificado, 2% de colesterol livre, 7% de fosfolipídios e 2% de apoproteínas (LEHNINGER, 1995).

Através do sistema linfático, os quilomicrons deixam o intestino e entram na circulação sanguínea através da veia subclávica esquerda. Na corrente sanguínea adquirem as apo C-II e E das HDLs plasmática (HUSSAIN, 1996)

Nos capilares do tecido adiposo e músculos ocorre a retirada de ácidos graxos e monoglicerídeos, após a hidrólise dos triacilgliceróis pela ação da enzima lípase lipoproteica (LPL), que utiliza a apo C-II como cofator. Com isso, os quilomícrons sofrem redução de tamanho (quilomícrons remanescentes). Esses remanescentes são retirados da circulação para o fígado devido o reconhecimento da apo-E pelo receptor de remanescente nas células hepáticas (GENEST, 2003).

3.6.2.2 VLDL

Os ácidos graxos provenientes dos quilomícrons, assim como os sintetizados no fígado, são transportados aos outros tecidos (principalmente para tecido adiposo e músculos) pelas VLDLs. Essa lipoproteína é rica em triacilgliceróis, mas possui também, colesterol, ésteres de colesterol e apoproteínas. Sua principal apoproteína é a apoB-100. Na circulação, os triacilgliceróis das VLDLs são hidrolisados pela ação da enzima lípase lipoproteica, e com a depleção desses lipídios, a partícula de VLDL é convertida a IDL, também chamada de VLDL remanescente (GENEST, 2003).

As IDLs são partículas mais densas e que contém colesterol, ésteres de colesterol e triacilgliceróis. Através da ação das lípases lipoproteicas, e consequente perda de triacilgliceróis, as IDLs se convertem em LDLs. Também podem ser captadas da circulação pelo fígado, através da interação das apoB-100 com receptores hepáticos (GARCIA e OLIVEIRA, 1992).

3.6.2.3 LDL

As LDLs são as principais condutoras de colesterol do organismo humano. Possuem cerca de 75% de ésteres de colesterol que é transportado para os tecidos periféricos, podendo depositar o excedente de colesterol nas artérias.

São absorvidas pelas células via receptores de LDL, através do reconhecimento da apo-B100. A absorção da LDL ocorre predominantemente no fígado, glândulas adrenais e tecido adiposo. A entrada de LDL na célula é seguida de um ataque lisossômico, com consequente hidrólise da apoB-100 e do colesterol esterificado. O aumento da concentração intracelular de colesterol livre apresenta os seguintes efeitos regulatórios: inibição da enzima hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA), impedindo a síntese de colesterol; inibição da síntese de receptores de LDL; estímulo da enzima acil-CoA colesterol aciltransferase (ACAT) para esterificação do colesterol citoplasmático (RADER e WILSON, 1995).

3.6.2.4 HDL

As HDLs são responsáveis pelo transporte reverso de colesterol, que consiste na remoção do colesterol livre de tecidos periféricos e de lipoproteínas de volta ao fígado para subsequente excreção na forma de ácidos biliares (LEHNINGER, 1995). São formadas nos hepatócitos, na mucosa intestinal e por remanescentes de lipoproteínas e suas principais apoproteínas são: apoA-I, A-II, C-I, C-II, C-III, E e J.

A absorção hepática das HDLs pode ser mediada através de um receptor da apoA-I, específico da HDL, ou através de interações entre lipídios. O colesterol livre em contato com a HDL é substrato da enzima Lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), resultando na formação de ésteres de colesterol e aumento o tamanho da partícula de HDL. O colesterol esterificado pode ser transferido para lipoproteínas que contém a apoB, pela proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), e retornar para o fígado em LDLs e VLDLs (TALL, 1995).

3.6.3 Fatores que influenciam no perfil lipídico sanguíneo

3.6.3.1 Ácidos Graxos da dieta

Os lipídios atuam de diversas formas nas células do organismo humano. Portanto, a ingestão desse componente é de fundamental importância para o funcionamento pleno do organismo. A ingestão de diferentes tipos de ácidos graxos influencia diretamente no perfil lipídico do sangue (MANN, 2002).

Os ácidos graxos saturados são considerados hipercolesterolêmicos e os mais preocupantes, neste sentido, são mirístico (C14:0), láurico (C12:0) e palmítico (C16:0). Esses ácidos graxos aumentam o nível de colesterol sanguíneo por reduzirem a atividade do receptor LDL-colesterol e reduzirem o espaço livre de LDL na corrente sanguínea (GRUNDY et al, 1990). Já os ácidos graxos poliinsaturados, naturalmente *cis*, são benéficos, uma vez que reduzem agregações das plaquetas e os triacilgliceróis e, conseqüentemente, o risco de doenças cardíacas (KINSELLA et al., 1990).

O tipo e quantidade de gordura na dieta também afetará a concentração de triacilgliceróis. Os ácidos graxos ômega-3, presentes em óleos de peixes, parecem ser mais eficientes em baixar a concentração de triacilgliceróis no plasma do que os óleos vegetais, geralmente ricos em ácidos graxos ômega-6 (MENSINK e. KATAN, 1992)

De acordo com Kinsella et al., 1990, a gordura poliinsaturada pode aumentar também a secreção de ácidos biliares e colesterol na bile pela elevação do número de receptores LDL, permitindo a não circulação desta lipoproteína no plasma.

3.6.3.2 Fibras dietéticas (FD) da dieta

A ingestão de FD é recomendada por apresentar benefícios relacionados, principalmente, aos aspectos digestivos e de absorção de nutrientes e dentre eles os mais evidentes são: diminuição do tempo de trânsito intestinal dos alimentos; diminuição da absorção intestinal da glicose; diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo e diminuição do conteúdo de calorias absorvidas. Essas propriedades fazem das fibras um adequado regulador intestinal (CALIXTO, et al 2001).

Um efeito bastante estudado é o da redução dos níveis de colesterol e LDL (Lipoproteína de baixa densidade) séricos, pois se sabe que uma alimentação rica em fibras solúveis é capaz de diminuir a concentração de colesterol sérico de 20% a 30% (RUBERFROID,1993). Isso se deve a capacidade das fibras de adsorver substâncias orgânicas, como os sais biliares, diminuindo o pool de ácidos biliares no ciclo entero-hepático, interferindo no metabolismo do colesterol (CONTI, 1990).

3.6.3.3 Estatina

As estatinas são os fármacos mais usados para tratamento da hipercolesterolemia em prevenção primária e secundária, com o propósito de diminuir os níveis de lipoproteínas plasmáticas ricas em colesterol. Estes efeitos são resultantes da atividade inibidora das estatinas sobre a enzima HMG-CoA redutase, com a propriedade de bloquear a conversão do substrato HMG-CoA em ácido mevalônico, inibindo os primeiros passos da biossíntese de colesterol (STANCU e SIMA, 2007).

O efeito das estatinas resulta da maior captação hepática de LDL através da expressão de receptores para esta lipoproteína, além da redução da biossíntese do colesterol endógeno, por inibição da enzima HMG-CoA redutase (LIAO e LAUFS, 2004).

As estatinas são inibidoras competitivas HMG-CoA redutase. Esses compostos possuem um grupo hidroximetilglutarílico (HMG) que se liga na mesma região enzimática do grupo HMG do substrato, bloqueando seu acesso ao sítio catalítico (CAMPO e CARVALHO, 2007).

3.6.3.3 Compostos fenólicos da dieta

Segundo Löest (2002), os compostos fenólicos reduzem a absorção de colesterol no intestino e diminuem a atividade da lipase pancreática. Para tal conclusão foi realizado um estudo utilizando o chá verde e observou-se um aumento da excreção de lipídios totais, colesterol (60%) e sais biliares (50%) nas fezes e redução do armazenamento excessivo de lipídeos no tecido hepático em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica.

A ação hipocolesterolemiantes dos compostos fenólicos pode ser atribuída, também, a redução na secreção da apoB e aumento da atividade da lipase de lipoproteínas, o que favorece a excreção de sais biliares (KUMAR, SUDHAHAR e VARALAKSHMI, 2005)

Outro efeito atribuído aos compostos fenólicos é a inibição da enzima HMG-CoA redutase reduzindo as concentrações de colesterol plasmático. Em estudo realizado com animais hipercolesterolêmicos, observou-se aumento das atividades de enzimas antioxidantes hepáticas e aumento da excreção fecal de esteróis (KIM et al., 2004).

4. REFERÊNCIAS

AGUILAR-GARCIA, C., GAVINO, G., BARAGANO-MOSQUEDA, M., HEVIA, P., GAVINO, V. C. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1228-1232, 2007.

ALONSO, A. M., CASTRO, R., RODRÍGUEZ, M. C., GUILLÉN, D. A., BARROSO, C.G. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols **Food Research International** n.37, p. 715–721, 2004.

ANDERSEN, O. M.; JORDHEIM, M. The anthocyanins. In: Markham, K.R. *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, cap. 10, p. 471-545, 2006.

ANDREAZZA, A. C., SOARES, D. G., KEHL, L. F., LIMA-BORELLA, M. L., SALVADOR, M. Transtornos neuropsiquiátricos e estresse oxidativo. In: IZQUIERDO, I., QUEVEDO, J., KAPCZINSKI, F. **Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos**. Porto Alegre: Artmed, p.489-496, 2004.

ANILA, L; VIJAYALAKSHMI, N.R Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera Indica* and *Embllica officinalis* in hipercholesterolemic rats. **Food Chemistry**, v.83, 2003

ANSTEE Q.M.; GOLDIN R.D. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. **Int. J. Exp. Path.** v. 87, p. 1–16. 2006.

ARAUJO, E.E.; SILVA, R.E. e ARAUJO, R.E Avaliação da qualidade de sementes de açaí armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.1, p.76-79, 1994.

BENAVENTE-GARCIA, O., CASTILLO,J., LORENTE,J., ORTUNO, A., DEL RIO, J.A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves **Food Chemistry** n.68 p.457-462, 2000.

BENVENUTI, S., PELLATI, F., MELEGARI, M., BERTELLI, D. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. **Journal of Food Science**.69, 164-169, 2004

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Introdução à química de alimentos**. 2aed.São Paulo: Varela; 1995.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.

BROUILLARD, R. Em Anthocyanins as food colors; MARKAKIS, P., ed.; Academic Press: New York, 1982.

BROUILLARD R.; WIGAND M.C.; DANGLES O., et al. pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. **Journal Chemical Society Perkin Trans**. v.2, p.1235-1241, 1991.

BRUCKNER, G. Fatty acids and cardiovascular disease. In: CHOW, C.K., ed. Fatty acids in foods and their health implications. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 2008

CALIXTO, F.S; ALONSO, A.G. Metodologia para el análisis de fibra y carbohidratos. In: LAJOLO, F.M.; CALIXTO, F.S.; PENNA, E.W., MEMEZES, E.W. **Fibra dietética em Iberoamérica: Tecnologia y Salud**. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación em alimentos, São Paulo: Varela, 2001. p.17-25

CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 425-430, 2007.

CAMPOS, F.; MARTINO, H.; SABARENSE, C.; SANT´ANA, H. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alimentação e Nutrição, Araraquara**, v.19, n. 4, p. 481-490, 2008.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, p. 223S-229S, 2005.

CONTI, V.L.M. Fibras na nutrição humana. **Nutrição enteral e esportiva**, p.14-17, 1990.

CORMACK, D.H. Fundamentos de Histologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara koogan, 2003, 371p.

COSTA, N., ROSA, C. Alimentos funcionais. 1. Ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. 536p

DAILEY, J. F. The concept of blood. Dailey's notes on blood. Medical Consulting Group – Somerville, M.A.; 1 – 1991.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982.

FUJITA, K. et al. Novel findings for the development of drug therapy for various liver diseases: liver microsomal triglyceride transfer protein activator may be a possible therapeutic agent in non-alcoholic steatohepatitis. **J Pharmacol Sci**. v. 115, p. 270 – 273. 2011.

FULEKI, T. e FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Extraction and determination of total anthocyanin in crabberries. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 72-77, 1968.

GALVANO, F., LA FAUCI, L.. Cyanidins:metabolism and biological properties. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. V. 15, p. 2-11, 2004.

GALVANO, F.; FAUCI, L. L.; LAZZARINO, G.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A.; CIAPPELLANO, S.; BATTISTINI, N. C.; TAVAZZI, B.; GALVANO, G. Cyanidins: metabolism and biological properties. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, p. 2-11, 2004.

GARCIA, R. C.; OLIVEIRA, H. C. F. Fisiologia das lipoproteínas. In: QUINTÃO, E. **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro: Qualitymark Editora Ltda., Cap. 1, p. 1-30. 1992

GENEST, J. Lipoprotein disorders and cardiovascular risk. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, n.26, p.267-287, 2003.

GRUNDY, S. M., DENKE, M. A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **Journal Lipid Reserch**, 31: 1149, 1990.

GUERRA J.F, MAGALHÃES C.L, COSTA DC, SILVA ME, PEDROSA ML. Dietary acai modulates ROS production by neutrophils and gene expression of liver antioxidant enzymes in rats. **J Clin Biochem Nutr.**;49(3):188-94, 2011

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine.** 3 ed. New York: Oxford, 1996.

HALLIWELL, B., MURCIA, M. A., CHIRICO, S., ARUOMA, O. I. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** V. 35, p. 7-20,1995.

HARBONE, J. B. Variation in and functional significance of phenolic conjugation in plants. **Biochemistry of Plant Phenolics.** New York. p.457-474, 1979.

HIGDON, J., FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant function. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 89-143. 2003.

HRAZDINA, G., IREDALE, H., MATTICK, L.R. Anthocyanin composition of Brassica oleracea cv. Red Danish. **Phytochemistry**, v.16, n. 2, p. 297-299, 1977.

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays **Journal of Agricultural and Food Chemistry.**, 53, p.1841, 2005

HUSSAIN, M.M.,KANCHA, R.K., ZHOU, Z.Y., LUCHOOMUN, J., ZU, H.Y., BAKILLAH, A. Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors **Biochimica et Biophysica Acta**,1300, p.151-159, 1996.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** Décima Edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 317-338. 2004.

KANG J, ZHIMIN LI B, TONG WU, GITTE S. JENSEN , ALEXANDER G. SCHAUSS, XIANLI WU, Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, 122, p.610–617, 2010.

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

KIM, H.J., OH, G.T., PARK, Y.B., LEE, M.K., SEO, H.J., CHOI, M.S. Naringenin alters the cholesterol biosynthesis and antioxidant enzyme activities in LDL receptor-knockout mice under cholesterol fed condition. **Life Sci.** 74, 2004.

KING A, YOUNG G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **J Am Diet Assoc**, 1999.

KINSELLA, J. E., LOKESH, B., STONE, R. A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **American Journal Clinical Nutrition**, 52, p. 1, 1990.

KOSHI, A.S. Flavonoids from *Garcinia cambogia* lower lipid levels in hipercholesterolemic rats. **Food Chemistry**, v.72, p.289-294, 2001.

KRUMMEL, D. Nutrição na doença cardiovascular. In: MAHAN, L. K. & ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10ª ed. São Paulo: Roca, 2002. Cap. 26, p. 539-575.

KUMAR, SUDHAHAR, VARALAKSHMI. Role of lupeol and lupeol linoleate on lipemic-oxidative stress in experimental hypercholesterolemia. **Life Science**. 1329-35.2005

LEE, D.H, HA, M.H, Christiani DC. Body weight, alcohol consumption and liver enzyme activity a 4 year follow up study. **Int J Epidemiol**, v. 30, 2001.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 2ª ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LIAO, J.K., LAUFS, U. Pleiotropic effects of statins. **Annu Rev Pharmacol Toxicol** 2004

LICHTENTHÄLER, R., RODRIGUES, R. B., MAIA, J. G. S., PAPAGIANNPOULOS, M., FABRICIUS, H., & MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) fruits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 56, p.53–64, 2005

LÖEST, H.B.; NOH, S.K.; KOO, S.I. Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and α -tocopherol in rats ovariectomized. **J Nutr**. 2002.

LOPES, R.M., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., Flavonóides. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v.3, n.14, p.18-22, 2000.

LUBRANO, C.; ROBIN, J.; KHAIAT, A. Composition en acides gras, sterols, et tocopherols d'huiles de pulpe de fruits de six especes de palmiers de Guyane. **Oleagineux**, 49, 59–65, 1994.

MANN, J.I. Diet and risk of coronary heart disease and type 2 diabetes. **Lancet**, 360, 783–789, 2002.

MAYES, P. A. Colesterol: síntese, transporte e excreção. In: Murray, R. K.; Granner, D. K.; Mayes, P. A.; Rodwell, V. W. **Harper: Bioquímica**. 7a ed. São Paulo: Atheneu., Cap. 28, p. 262-274, 1994.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutr Hosp**, v.17, p. 271-278, 2002.

MAZZA, G., BROUILLARD, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solution. **Phytochemistry**, v. 29 n.4, p. 1097-1102, 1990.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v.25, p. 207-225, 1987.

MENSINK, R.P., KATAN, M.B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. **Arterioscler Thromb** 12, 911–919. 1992.

MOLLET B, ROWLAND I. Functional foods. At the frontier between food and pharma. **Curr Opin Biotechnol**, v.13, p.483–485, 2002.

MORAIS, J. L. C. Extração da trimiristina das sementes de ucuúba (*Virola surinamensis* Warb. Miristicaceae) com fluido supercrítico. Monografia (Mestrado em Química). Universidade Federal do Pará. Belém, 2000

MOTTA, V.T.. **Bioquímica Clínica: Princípios e interpretações**, 3° ed. Medbook, Porto Alegre, 2000, 400p.

NACZK, M. & SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111. 2004.

NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C. e MÜLLER, A. A.(Ed.) **Açaí**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 137 p. (Embrapa Amazônia Oriental, Sistemas de Produção, 4). 2005.

NAKANISHI N, NAKAMURA K, SUZUKI K, TATARA K. Lifestyle and the development of increased serum gamma-glutamyltransferase in middle-aged Japanese men. **Scand J Clin Lab Invest**;60(6):429-38, 2000.

OLIVEIRA, D., BASTOS, D. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova** (on line), 2011.

OLIVEIRA, M.S.P., FARIAS, J.T., PENA, R.S. Açaí: técnicas de cultivo e processamento –Fortaleza: Instituto Frutal, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P. AND TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage **Food Research International**, v. 40, p. 620 – 628, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L.A., DUNCAN, C.H.E., TALCOT, S.T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chem.** 115, 2009

PASSAMONTI, S. et al. The interaction of anthocyanins with bilitranslocases. **Bioch. Biophys. Res. Comm.**, v. 296, p.631-6, 2002.

POURCHET-CAMPOS, M.A. Fibra: a fração alimentar que desafia os estudiosos. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v.2, n.1, p.53-63, 1990.

POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H. e TALCOTT, S. T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) **Journal of Food Chem.**, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

RADER, D.J., WILSON, J.M. Gene therapy for lipid disorders. New York: **Scientific american**, p. 97-114, 1995.

RHODES, M. J. C. Physiologically-active compounds in plant foods:an overview **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 55, p. 371-397, 1996.

RIBEIRO, S.M.R.; QUEIROZ, M.E.L.R.; PELUZIO, M.C.G.; COSTA, N.M.B.; MATTA, S.L.P.; QUEIROZ, J.H. Antioxidantes na dieta. Em: Costa, N.M.B e Peluzio, M.C.G. *Nutrição Básica e Metabolismo*. Viçosa: UFV, p.235 -260, 2008.

RICE-EVANS, C.; NICOLAS, J.; MILLER, J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic. Biol. Med.**, v.20, p.933-956, 1996

ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A - Review**, n.1000, p.657–691, 2003

ROGEZ, H. Açai: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém, UFPA, 2000.

ROGEZ, H.; POMPEU, D.R.; AKWIE, S.N.T.; LARONDELLE, Y. Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: a comparison between ac, aifruits (Euterpe oleracea) and other anthocyanin-rich fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.24, p.796–800, 2011.

RUBERFROID, M. Dietary fiber, inulin and oli-gofrutose: a review comparing their physiological effects. **Critical Review of Food Science Nutrition**, Boca Raton, v. 33, n. 6, p.1303-1348, 1993.

SANTOS, G. B. **Açai: Aspectos químicos e farmacológicos**. 150p. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, 2001.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. “Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health” . **J. Sci. Food Agric.**, 80, p.1094-117, 2000.

SCALBERT, A.; WILLIANSO, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **J. Nutr.**, 130, p.2073S-85S, 2000.

SCHAUSS, A.G.; WU, X; PRIOR, R. L.; OU,B.; HUANG, D.; OWENS, J. AND SHANBROM, E. Antioxidant Capacity and Other Bioactivities of the Freeze-Dried

Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal. Agricultural Food Chemistry**. 54, 8604-8610, 2006.

SCHLESIER, K.; HARWAT, M.; BOHM, V.; BITSCH, R. Assessment of antioxidante activity by using different in vitro methods. **Free Radical Research**, v. 36, n. 2, p.177-187. 2002.

SCHNEIDER C.D; OLIVEIRA A.R. Radicais Livres de Oxigênio e Exercício: Mecanismos de Formação e Adaptação ao Treinamento Físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.10, n.4, p.308-313, 2004.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: source, chemistry, effects and applications**. 1 ed. Lancaster: Technomic Publishing Co, Inc., 1995, 331 p.

SIES, H. Biochemistry of Oxidative Stress. **Angew. Chem. Int. Edit.** v. 25, p. 1058-71. 1986.

SOARES, S. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, n. 15, v.1, p. 71-81. 2002.

SPOSITO, A.C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F.A.H.; BERTOLAMI, M.C. IV Diretriz Brasileira dislipidemia e prevenção da aterosclerose. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, V.88, 2007.

STANCU, C.; SIMA, A. Statins: mechanism of action and effects. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 5, n. 4, p. 378-387, 2007.

SUDHAHAR, V.; KUMAR, S.A.; VARALAKSHMI, P. Role of lupeol e lupeol linoleate on lipemic-oxidative stress in experimental hypercholesterolemia. **Life Science**, V.78, 2006.

SUN X, SEEBERGER J, ALBERICO T, WANG C, WHEELER CT, SCHAUSS AG, ZOU S. Açai palm fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves survival of flies on a high fat diet. **Exp Gerontol**. v.45, p. 243-251, 2010.

TALL, A.R. Plasma cholesteryl transfer protein and high density lipoproteins: new insights from molecular genetic studies. **J Internal Med**, 237:5-12, 1995.

WAITEZBERG, D.L. Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica. 3 ed. **Atheneu**, São Palo, 2002:55-78.

WIVIOTT, S.D.; CANNON, C.P. Update on lipid-lowering therapy and LDL cholesterol target. **Nature clinical practice cardiovascular medicine**. v.3, 2006.

WOLFE, K. & LIU, R. Structure-Activity Relationships of Flavonoids in the Cellular Antioxidant Activity Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8404-8411. 2008.

WOLFE, K.; LIU, R. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 8896–8907. 2007.

YOUSSEF W; MCCULLOUGH AJ. Diabetes mellitus, obesity and hepatic steatosis. *semin Gastrointest Dis* jan;13(1):17-30. Review 2002

CAPÍTULO 1

MORFOMETRIA DO FÍGADO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM RAÇÕES ADICIONADAS DE AÇAÍ

1 INTRODUÇÃO

A dislipidemia, caracterizada por elevados níveis de colesterol e triacilgliceróis no sangue, e a obesidade são fatores de risco para a doença hepática não alcoólica. O desenvolvimento de esteatose hepática é o primeiro processo na fisiopatologia da doença, podendo progredir, por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, para doenças mais graves, como a cirrose. A progressão da doença é influenciada pelo estresse oxidativo (MATTOS, 2005).

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, podendo causar danos ao metabolismo celular e, conseqüentemente, provocar o surgimento de diversas doenças. A defesa contra o estresse oxidativo é composta por enzimas que incluem a superóxido dismutase (SOD), glutationalperoxidase (GPx), catalase (CAT) e antioxidantes não enzimáticos como: ácido ascórbico, vitamina E, carotenóides, polifenóis entre outros (VALKO et al., 2007).

A ingestão de alimentos ricos em compostos fenólicos podem combater a dislipidemia através da inibição da atividade da HMG-CoA redutase hepática e pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes hepáticas contra stress oxidativo em modelos animais hipercolesterolêmicos (KIM et al.,2004). As fibras dietéticas podem reduzir o colesterol LDL sanguíneo através da ligação das fibras aos ácidos biliares, diminuindo o poder de reabsorção desse colesterol (BUTT et al.,2007). Ácidos graxos insaturados reduzem a síntese dos triacilgliceróis através da inibição das enzimas diacilglicerol aciltransferas, ácido graxo sintase e acetil CoA carboxilase, e dessa forma também combatem a dislipidemia (MOZAFFARIAN e WU, 2011).

O açaí, fruto típico da Amazônia, possui elevado teor de polifenóis, lipídios e fibras dietéticas. Os polifenóis são responsáveis pela alta capacidade antioxidante do fruto (SCHAUSS et al., 2006). A fração lipídica é formada por ácidos graxos poliinsaturados (11,1%), ácidos graxos monoinsaturados (60,2%) e ácidos graxos saturados (28,7%). Os

ácidos oleico (53,9%) e palmítico (26,7%) são os ácidos graxos predominantes. (LUBRANO et al, 1994). Outro componente importante do fruto são as fibras dietéticas que representam, em média, 5,9% da polpa do fruto, sendo a maioria (5,1%) de fibras insolúveis (ROGEZ, 2000).

Em função do açaí possuir componentes capazes de combater a dislipidemia, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito do açaí no perfil lipídico sanguíneo, nos parâmetros sanguíneos que avaliam danos no fígado, e na atividade das enzimas antioxidantes do fígado, além do estudo morfométrico do tecido hepático de animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica e não hipercolesterolêmica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AÇAÍ

O presente trabalho foi realizado com a polpa de açaí obtida por meio da maceração dos frutos utilizando água, em despoldadeira específica para o produto, seguindo o procedimento comercialmente utilizado nas indústrias do estado do Pará. Os frutos foram coletados no mês de junho nas Ilhas das Onças, latitude -1,42679 e longitude -48,55906, Município de Barcarena, Pará. A bebida foi congelada a -18°C e transportada até o laboratório de compostos bioativos da Universidade Federal de Viçosa.

2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO AÇAÍ

A composição química centesimal foi determinada avaliando-se os teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos. O teor de umidade foi determinado por secagem direta da amostra em estufa a 105°C e o teor de cinzas por incineração em mufla a 550°C e posterior resfriamento em dessecador até a temperatura ambiente, ambas por diferença do peso inicial. A determinação de lipídios totais ou extrato etéreo foi realizada por secagem da amostra em estufa a 105°C seguida por extração com éter, em extrator do tipo Soxhlet, e posterior remoção do solvente empregado por destilação. O teor de proteínas foi medido pelo método de Kjeldahl clássico e a quantificação de carboidratos foi obtida pelo cálculo da diferença percentual, subtraindo-se do total da soma de umidade, cinzas, lipídios e proteínas.

2.4 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

A determinação de fenólicos totais foi realizada de acordo com metodologia de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton e Rossi (1965), baseada na redução do ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul em meio alcalino. A absorvância das amostras foram medidas a 760 nm usando um espectrofotômetro marca Shimadzu modelo UV-VIS 1601Pc. O ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente por mL de extrato (mg AGE·mL⁻¹).

2.5 QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS TOTAIS

O conteúdo de antocianinas presente no açaí foi determinado pelo método de absorvância em pH único. O método consistiu da transferência quantitativa de uma alíquota (VALq) do Extrato Concentrado para balão volumétrico (VEd) de 10 mL, tendo o volume completado com solução Etanol 95% – HCl 1,5N (85/15), formando, dessa maneira, o Extrato Diluído (ED). Os valores de absorvância (DO) foram contrastados com os valores dos brancos (Solução Etanol-HCL 1,5N (85:15)). O cálculo do teor de Antocianinas Totais (AntT) por 100 gramas da fração avaliada foi efetuado de acordo com a equação 01

$$Ant T = \frac{DO \times VE1 \times VE2 \times 1000}{Val \times m \times E} \quad (1)$$

Onde: Ant T: teor de antocianina em mg de antocianina por 100g de amostra; DO: Densidade ótica do extrato diluído a 535 nm; VE1: Volume Total do extrato concentrado; VE2: Volume total do extrato diluído; Val: Volume da alíquota utilizada do extrato concentrado para fazer o extrato diluído; E: coeficiente de extinção molar.

2.6 DETERMINAÇÃO DAS PRINCIPAIS ANTOCIANINAS DO EXTRATO FENÓLICO DE AÇAÍ POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

As análises qualitativa e quantitativa das antocianinas do extrato fenólico de açaí liofilizado foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando as condições propostas por Gallori et al., (2004), com adaptações descritas a seguir:

- Fase móvel A - água ultrapura acidificada com 10 % de ácido fórmico
- Fase móvel B – Metanol 100%
- Detector de arranjo de diodos UV-visível SPD-M20A SHIMADZU;
- Coluna RP-18 LiChrospher (5µm), 250mm;
- Injeção: 50 µL
- Fluxo de 1 mL/minuto;
- Tempo de corrida de 35 minutos;
- Leitura dos cromatogramas a 520 nm.

De 0 a 5 minutos, 5% da fase móvel B; 5 a 10 minutos, gradiente linear 10% B; 10 a 30 minutos, 25% B; 30 à 35 minutos, 5% B, para condicionamento da coluna.

Utilizou-se como padrão externo as antocianinas: cianidina 3-Oglucosideo, da empresa Sigma-Aldrich, PM 484,84; e cianidina 3-Orutinosideo, da empresa Sigma-Aldrich, PM 630,97. Estas foram ressuspensas separadamente em solução de HCl 1% e as absorvidades molares foram respectivamente 26900 e 28840. Injetou-se os padrões separadamente para obtenção do tempo de retenção de cada antocianina.

2.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAÍ

A capacidade antioxidante foi medida pelo método TEAC baseada no método descrito por Re et al, 2007.

O radical cátion ABTS^{•+} (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate, Sigma) foi preparado 16 horas antes do ensaio e armazenado em ambiente escuro. A produção do radical deu-se pela mistura de uma solução aquosa de 7 mM de ABTS com 140mM de persulfato de potássio. Este radical foi diluído e com etanol até que a absorbância atingisse valor de $0,700 \pm 0,02$ a 734nm. O ensaio foi realizado em espectrofotômetro, adicionando-se 50 μ L de amostra / Trolox e 250 μ L de radical ABTS^{•+}.

Foi construída uma curva com o padrão Trolox, redução (%) em função da concentração de Trolox. Os resultados foram expressos em μ M Trolox equivalentes por grama de extrato.

2.8 ENSAIO IN VIVO

O experimento foi conduzido nos laboratório de Biofármacos, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) e Biologia Estrutural, do Departamento de Biologia Geral (DBG), ambos pertencentes à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

2.8.1 Animais

Foram utilizadas 36 ratas da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da

Universidade Federal de Viçosa, com idade de 12 semanas e pesos entre 200 e 250 gramas. Os animais foram mantidos em caixas individuais em ambiente com temperatura de 25°C e ciclo de claro/escuro de 12 horas, recebendo água ad libitum e alimentados diariamente com porções de 20g de ração uma vez por dia. Todos os procedimentos foram seguindo as normas do Colégio Brasileiro de experimentação animal e aprovados pelo comitê de ética da Universidade Federal de Viçosa (n°61/2012) (ANEXO 1).

2.8.1 Dietas e composição da ração

Os animais foram divididos em 6 grupos com seis animais em cada grupo. Com base no estudo de Costa (1992), foi adicionado 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico em ração comercial da marca Presence, para produzir hipercolesterolemia nos ratos, exceto para as rações do grupo controle e dos grupos A_{2,5} e A_{5,0} (Tabela 1). O primeiro grupo (C), recebeu somente a ração comercial. O segundo grupo (CC), recebeu a ração comercial adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. Os grupos A_{2,5} e A_{5,0} receberam a ração comercial adicionada de 2,5 e 5% de açaí, respectivamente. Os grupos AC_{2,5} e AC_{5,0} receberam a ração comercial adicionada de 1% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 2,5% e 5% de açaí, respectivamente.

Tabela 1 – Composição das diferentes rações utilizadas no experimento

Grupos	Proteínas (/)	Lipídios (/)	Carboidratos(/)	Cinzas (/)	Umidade(/)
C	22,40±0,5	5,80±0,3	53,20±1,5	6,90±0,3	11,7±0,4
CC	22,17±0,5	6,74±0,3	52,66±1,4	6,83±0,3	11,6±0,4
A _{2,5}	22,07±0,7	6,72±0,6	52,88±0,9	6,83±0,5	11,5±0,6
A ₅	21,75±0,9	7,65±0,4	52,70±1,2	6,70±0,4	11,2±0,5
AC _{2,5}	21,85±0,4	7,66±0,5	52,42±1,9	6,77±0,3	11,3±0,4
AC ₅	21,50±0,6	8,30±0,5	52,71±1,7	6,69±0,4	10,8±0,5

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí.

O preparo das rações foi realizado da seguinte forma: a ração comercial foi triturada em um moinho e em seguida foram realizadas as misturas em um misturador de rações de acordo com as formulações de cada grupo. Assim que foram retiradas do misturador as rações

foram repeletizadas e em seguida passaram por um processo de secagem a 50°C durante 4 horas. O processamento foi realizado no Centro de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

2.8.2 Controle de peso dos animais e consumo alimentar

Semanalmente os ratos foram pesados para observar o crescimento ponderal. Também foi realizada a quantificação do consumo alimentar. Para tanto, as dietas ofertadas aos animais foram pesadas diariamente, sendo que os dados da diferença entre a dieta ofertada e o restante não consumido e sobras no fundo da gaiola foram utilizados para o cálculo do consumo total no período do experimento.

2.8.3 Eutanásia e coleta dos tecidos

Após trinta dias de experimento, os animais, em jejum, foram anestesiados utilizando 90mg/g de Ketamina e 10mg/Kg de xilazina, administrados por via intraperitoneal e em seguida eutanasiados através da retirada total do sangue por punção cardíaca. Amostras de sangue foram colocadas em tubos teste de 5ml e centrifugadas a 3.000rpm por 15 minutos para separação do plasma e em seguida foram realizadas as análises bioquímicas do sangue. O fígado foi removido e pesado em balança analítica e dois fragmentos hepáticos de cada animal foram rapidamente separados, um dos quais foi congelado e armazenado em freezer -80°C e o outro imerso em solução fixadora de Karnovsky.

O índice hepatossomático (IHS) foi obtido pela relação entre o peso do fígado (PF) e o peso corporal (PC), sendo $IHS = \frac{PF}{PC} \times 100$.

2.8.4 Análises bioquímicas do sangue

Os parâmetros analisados foram: colesterol total (método enzimático-colorimétrico, peroxidase), colesterol HDL (método enzimático-colorimétrico, direto), triacilgliceróis (método enzimático colorimétrico, peroxidase), creatinina (método colorimétrico, Jaffé modificado), aspartato aminotransferase – AST (método cinético UV), alanina aminotransferase – ALT (método cinético UV), δ -GT, albumina e proteínas totais. Os

reagentes dos respectivos Kits (Marca Bioclin) foram preparados e a leitura foi realizada no analisador Bioquímico multiparamétrico – Alizé. O resultado de colesterol-LDL foi estimado pela equação de Friedewald: $LDL = CT - HDL - \frac{Triacilgliceróis}{5}$, (onde Triacilgliceróis/5 representa o colesterol VLDL e CT representa o colesterol total).

2.8.5 Atividades das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) no tecido hepático

Para determinar a atividade da CAT o tecido hepático foi macerado com tampão fosfato 50 mM com triton X-100. O homogenato resultante foi centrifugado à 5000rpm à 4°C por 10 minutos. O sobrenadante resultante foi utilizado para mensuração da atividade enzimática, a qual foi determinada pela taxa de decaimento do peróxido de hidrogênio lido em espectrofotômetro, modelo Multiskan GO (Thermo Scientific, Vantaa, Finlândia) a 240nm, segundo metodologia de Aebi (1984).

A atividade da SOD foi determinada segundo Dieterich et al. (2000) adaptado. Basicamente, o tecido hepático foi homogeneizado com tampão fosfato 50 mM e centrifugado a 12000rpm à 4°C por 10 minutos. O sobrenadante resultante foi utilizado para a mensuração espectrofotométrica, modelo Multiskan GO (Thermo Scientific, Vantaa, Finlândia) a 570 nm da atividade da enzima. Este método baseia-se na habilidade da superóxido dismutase retirar o superóxido, diminuindo assim a razão de autooxidação do pirogalol.

A quantidade de proteínas presentes no tecido hepático utilizado nas análises de CAT e SOD foram mensuradas segundo metodologia de Lowry et al (1951).

2.8.6 Morfometria

Os fragmentos de fígado foram fixados por 24 horas solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) e em seguida foram transferidos para álcool 70%. A desidratação foi realizada em série etanólica crescente (70%, 80%, 90%, 95% e 100%), com trocas a cada 30 minutos, procedendo-se ao final da série a inclusão em glicol metacrilato (Historesin®, Leica). Foram obtidas 10 secções de 3 µm de espessura utilizando-se micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) usando navalhas de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina/borato de sódio 1% para análises morfométricas. As preparações foram montadas

com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha). Para evitar a repetição das análises nas mesmas células os cortes foram feitos de modo semi-seriado em intervalos regulares de 15 µm. As preparações foram analisadas em microscópio de luz (Olympus BX-60®, Tóquio, Japão) e as imagens capturadas usando um fotomicroscópio (Olympus AX 70 TRF), utilizando objetiva de 40x. A morfometria foi realizada utilizando o software para análises de imagem Image Pro Plus 4.5® (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

Para as análises morfométricas foram contados os pontos coincidentes sobre os seguintes componentes hepáticos: núcleo de hepatócito, citoplasma de hepatócito, grandes vasos sanguíneos, células de Kupffer, capilares sinusóides, infiltrados leucocitários e gotículas de gordura. Para quantificar os elementos citados, foi utilizada uma grade de 247 pontos e foram considerados como pontos a interseção entre duas linhas perpendiculares. Foram feitas 5 repetições por animal, totalizando mil duzentos e trinta e cinco pontos.

2.5 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Os resultados foram expressos em média e desvio-padrão (média±dp). Comparações entre os grupos foram feitas usando o programa Statistica (ANOVA/MANOVA), através do teste de Student-Newman-Keuls (SNK) e a significância estatística foi estabelecida para $p < 0,10$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICO DO AÇAÍ

A avaliação da composição centesimal realizada no açaí utilizado no experimento está apresentada na tabela 2.

Tabela 2 – Composição centesimal do açaí

Componentes	Quantidade em (g/100g)
Umidade	88,7,±0,34
Proteínas	1,08±0,02
Lipídios	4,85±0,09
Carboidratos	4,90±0,38
Cinzas	0,47±0,02

Em função do teor de sólidos apresentado, a polpa de açaí utilizada no estudo foi classificada como açaí médio, pois apresenta teor de sólidos entre 11 e 14%. Esse parâmetro é muito influenciado pelo manipulador no momento da obtenção da polpa, resultando em quantidades de sólidos diferentes e conseqüentemente, teores diferentes de proteínas, lipídios, compostos fenólicos e outros, fazendo com que seja mais adequado apresentar os valores em base seca de açaí, para facilitar a comparação com outros trabalhos.

O teor de proteínas da polpa de açaí utilizada no experimento foi de aproximadamente 9,45g/100g de base seca. Rogez (2000) obteve valor ligeiramente superior, 10,05g/100g de base seca, e Menezes et al (2008), 8,48g/100g de base seca.

Os lipídios representam grande parte da matéria seca do açaí, sendo responsável pelo alto valor energético do fruto. Nesse estudo o valor obtido para esse componente foi de 42,95g/100g de base seca. Menezes (2008) e Rogez (2000) encontraram valores de 40,75g/100g e 52,64 g de lipídios por 100g de base seca do fruto, respectivamente.

O açaí não possui quantidades elevadas de açúcares simples e amido, porém apresenta alto teor de carboidratos não digeríveis pelo organismo humano, as fibras. A quantidade de carboidratos totais da polpa de açaí utilizada nesse estudo foi de 43,4g/100g de

base de seca da polpa. Gordon et al (2012) encontraram valores de 48g/100g de base seca para frutos em estágio de maturação intermediário e de 36g/100g de base seca em frutos maduros. A polpa de açaí liofilizada utilizada no estudo de Menezes (2008) apresentou valores de 42,53g/100g.

A quantidade de cinzas da polpa de açaí utilizada no estudo foi de 4,2g/100g de base seca, sendo que valores semelhantes foram encontrados por Menezes (2008) e Gordon (2012), de 3,84g/100g e 4g/100g de base seca, respectivamente.

As variações ocorridas nos componentes da polpa de açaí apresentadas por diferentes autores pode ser explicada pela grande diversidade genética do fruto, pelo estágio de maturação e pela época do ano que o fruto foi colhido (ROGEZ, 2000).

3.2 QUANTIFICAÇÃO DOS POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A quantidade de compostos fenólicos da polpa de açaí apresenta grande variação quando se compara os diversos estudos já existentes sobre o assunto. Em muitos casos a variação se deve a origem, estágio de maturação e período do ano em que foram coletados os frutos e, em outros casos, o motivo da variação é a falta de informação sobre a quantidade de água do material em análise, visto que na maioria dos casos é adicionada água para a obtenção da polpa.

Tabela 3 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro do açaí

Componentes	Açaí
Fenólicos totais (mgAGE/100g b.s)	2088,3±98,2
Antocianinas (mg/100g b.s)	522,2±18,9
ABTS (µMol Trolox/g)	22,5±1,52

Neste estudo a quantidade de compostos fenólicos encontrada na polpa de açaí foi de 2088 mgAGE/100g de base seca (Tabela 3), resultado inferior ao obtido por Gordon et al (2012) que foi de 3437 mgAGE/100g em base seca. Schauss et al (2006) obteve valores inferiores ao obtido neste estudo 1390 mgAGE/100g de base seca. Paz et al (2015) também encontraram valores de fenólicos totais inferiores a este estudo, 1808 mgAGE/100g de base

seca, porém o autor não menciona a origem e período de coleta do fruto utilizado no estudo, dificultando a comparação com outros trabalhos.

O teor de antocianinas apresentou as mesmas variações observadas nos compostos fenólicos quando se compara os resultados obtidos aos diversos trabalhos já realizados. Neste estudo o teor de antocianinas encontrado foi de 522,8 mg/100g em base seca. Schauss et al (2006), ao estudar açaí liofilizado, encontrou valores de 319mg/100g em base seca de antocianinas, e Constant (2003) encontrou valores de antocianinas de aproximadamente 127,3mg/100g em base úmida.

3.3 DOSAGEM QUANTITATIVA E QUALITATIVA POR CLAE DA POLPA DE AÇAÍ

Através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e utilizando padrões das duas principais antocianinas presentes na polpa de açaí descritas na literatura (cianidina 3-O-glucosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo) foi realizada a confirmação da presença e a quantificação dessas antocianinas na polpa de açaí utilizadas no estudo.

A quantidade de cianidina 3-O-rutinosídeo foi superior ao teor de cianidina 3-O-glucosídeo assim como nos trabalhos de outros autores. Considerando que essas duas antocianinas compõem a totalidade desse pigmento no açaí, a distribuição foi de 59,07% de cianidina-3-rutinosídeo e 40,93% de cianidina-3-glucosídeo. Pompeu et al (2009), obtiveram resultado similar onde as quantidades das antocianinas foram distribuídas em 62% cianidina 3-O-rutinosídeo e 38% cianidina 3-O-glucosídeo.

Em estudo realizado por Rosso et al (2008), foi identificado e quantificado por CLAE as antocianinas da polpa de açaí. Nesse estudo, as antocianinas majoritárias foram cianidina 3-O-rutinosídeo e a cianidina 3-O-glucosídeo, porém foram encontradas outras antocianinas como perlagonidina 3-O-glucosídeo e peonidina 3-O-glucosídeo.

Em outro estudo realizado por Del Pozo-Insfran et al (2006) onde foi quantificada as antocianinas da polpa de açaí por CLAE, não foi encontrada cianidina 3-O-rutinosídeo mas encontraram a cianidina 3-O-glucosídeo e a perlagonidina 3-O-glucosídeo com os respectivos valores de 1040 ± 58.2 e 74.4 ± 2.90 mg/L de polpa fresca.

3.4 ENSAIO IN VIVO

Nesse estudo buscou-se apresentar dados que evidenciassem a influência dos componentes do açaí nos parâmetros bioquímicos do sangue de ratos alimentados com dietas hipercolesterolêmica e não hipercolesterolêmica, assim como o efeito desses componentes na prevenção de danos no tecido hepático.

3.4.1 Controle da massa corporal, consumo de alimentos e composição da ração

Primeiramente, foi avaliada a influência da adição de açaí no ganho de massa corporal e na ingestão de alimentos dos animais (Tabela 4).

No início do experimento, não houve diferença significativa entre as médias das massas corporais dos grupos testados. Após 30 dias, verificou-se que o grupo CC obteve maior ganho de massa corporal do que todos os outros grupos. Os grupos AC_{2,5} e AC₅ foram os que apresentaram maior consumo de alimentos, mas mesmo tendo maior consumo e recebendo colesterol em suas dietas, apresentaram ganhos de peso semelhantes aos grupos A_{2,5}, A₅.

Tabela 4 – Massa inicial dos animais, Ingestão de alimento e ganho de massa corporal de ratos alimentados com as diferentes dietas.

Grupos	Peso inicial (g)	Consumo (g/30dias)	Ganho de peso (g)
C	220,00±14,14 ^a	491,12±28,95 ^b	15,83±9,70 ^c
CC	227,50±22,07 ^a	497,18±31,51 ^b	41,66±7,52 ^a
A _{2,5}	223,33±16,63 ^a	501,39±50,91 ^b	28,33±7,52 ^b
A ₅	233,33±22,07 ^a	490,09±47,88 ^b	26,66±5,16 ^b
AC _{2,5}	222,50±10,83 ^a	562,76±30,06 ^a	26,66±8,16 ^b
AC ₅	227,50±14,74 ^a	545,62±37,15 ^a	34,16±4,91 ^b

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí. Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

A suplementação de açaí na ração hipercolesterolêmica provocou aumento no consumo de alimento, fato não observado por Souza et al (2010) que, utilizando suplementação com 2% de açaí, verificaram redução na ingestão de alimentos quando se comparou com grupo que recebia ração hipercolesterolêmica sem açaí. Mas assim como no estudo citado, neste estudo não houve efeito da suplementação de açaí no consumo dos animais que não receberam dietas hipercolesterolêmicas.

3.4.2 Análise Bioquímica do sangue dos animais

Na tabela 5 estão mostradas as médias dos índices hepatossomáticos e das atividades das enzimas ALT, AST e γ -GT dos animais utilizados no experimento. Esses parâmetros foram utilizados para avaliar os danos causados no tecido hepático. Com relação ao índice hepatossomático, os grupos que receberam colesterol em suas dietas não apresentaram diferença significativa entre si, mas todos apresentaram IHS superiores aos grupos A_{2,5} e A₅, que receberam açaí em suas dietas mas não receberam colesterol. Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos para as enzimas AST (TGO), ALT (TGP) e γ -GT.

Tabela 5 – Índice Hepatossomático e atividade das enzimas ALT, AST e γ -GT de ratos alimentados com diferentes dietas.

Grupos	IHS	ALT	AST	δ -GT
C	3,07±0,22 ^{bc}	52,33±13,10 ^a	119,50±41,97 ^a	4,00±0,89 ^a
CC	3,51±0,41 ^a	55,00±8,71 ^a	177,16±83,10 ^a	3,50±1,04 ^a
A _{2,5}	2,84±0,22 ^c	40,50±8,40 ^a	104,66±16,25 ^a	4,83±1,47 ^a
A ₅	2,83±0,29 ^c	49,33±9,22 ^a	115,83±56,97 ^a	5,50±2,66 ^a
AC _{2,5}	3,39±0,41 ^{ab}	48,00±11,78 ^a	156,83±86,10 ^a	5,51±1,64 ^a
AC ₅	3,39±0,11 ^{ab}	43,01±16,08 ^a	152,16±32,04 ^a	4,66±1,50 ^a

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí. Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

Quando o tecido hepático sofre algum dano e os hepatócitos são destruídos, sua membrana é rompida, fazendo com que enzimas hepáticas específicas sejam liberadas para o sangue. Por esta razão, sua dosagem no sangue é um biomarcador de lesão hepática. Neste estudo não houve diferença significativa entre as atividades das enzimas estudadas (ALT, AST e Gama GT). Em função dos grupos CC e C não apresentarem diferença significativa entre eles nesses parâmetros, os resultados sugerem que a dieta hipercolesterolêmica utilizada no estudo, não foi capaz de provocar danos hepáticos no período experimental de 30 dias.

O perfil lipídico sanguíneo dos ratos (Tabela 6) foi analisado e observou-se, como era esperado, que o grupo Controle Colesterol (CC) apresentou um valor de colesterol total estatisticamente superior ao Controle (C), mostrando que o modelo utilizado foi adequado para elevar os níveis de colesterol nos animais. Dentre os grupos que receberam colesterol em suas dietas, somente o AC_{2,5} diferiu estatisticamente do grupo CC. Não houve diferença

significativa entre os grupos que não receberam colesterol em suas dietas. Esses resultados estão de acordo com os resultados obtidos no estudo de Souza et al (2010), em que a suplementação de 2% de açaí provocou diminuição do colesterol total em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (contendo 1% de colesterol e 0,25% de ácido cítrico) e não alterou em ratos alimentados com dieta sem colesterol.

Para o colesterol-HDL, o grupo AC₅ apresentou valores superiores aos grupos A_{2,5} e A₅, porém não houve diferença significativa entre os grupos que receberam colesterol em suas dietas. Para o colesterol-LDL, o grupo CC apresentou média estatisticamente superior a todos os grupos. O açaí não influenciou na redução do colesterol-LDL nos grupos que não receberam colesterol em suas dietas (C, A_{2,5} e A₅), porém nos grupos que receberam, a redução foi de 35% no grupo AC_{2,5} e 20% no grupo AC₅. Conseqüentemente, a relação entre colesterol-LDL e colesterol-HDL (LDL/HDL) foi menor para os grupos AC_{2,5} e AC₅ que para o grupo CC.

Tabela 6 – Perfil lipídico do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas.

Grupos	CT mg/Dl	HDL mg/dL	LDL mg/dL	CT/HDL	LDL/HDL	Triacilgliceróis
C	106,96±11,15 ^c	43,10±9,08 ^{ab}	33,77±7,76 ^c	2,56±0,50 ^b	0,84±0,35 ^c	133,80±45,49 ^a
CC	165,13±35,47 ^a	50,45±8,28 ^{ab}	85,44±22,12 ^a	3,28±0,53 ^a	1,70±0,53 ^a	129,55±55,95 ^a
A _{2,5}	97,96±12,04 ^c	39,28±3,98 ^b	46,93±6,48 ^c	2,49±0,19 ^b	1,19±0,10 ^{bc}	32,71±14,02 ^b
A ₅	104,61±18,62 ^c	40,54±7,57 ^b	55,01±14,26 ^{bc}	2,59±0,28 ^b	1,35±0,30 ^b	45,30±8,65 ^b
AC _{2,5}	130,30±36,10 ^{bc}	47,58±12,48 ^{ab}	55,68±15,60 ^{bc}	2,72±0,09 ^{ab}	1,21±0,37 ^{bc}	135,18±89,08 ^a
AC ₅	154,00±27,44 ^{ab}	53,81±8,99 ^a	68,14±12,69 ^b	2,93±0,8 ^{ab}	1,27±0,19 ^b	92,95±31,23 ^{ab}

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí. Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

Esses resultados podem ser em função dos compostos fenólicos, das fibras e ácidos graxos insaturados presentes no açaí, que são capazes de reduzir o teor de colesterol plasmático. As fibras tem a capacidade de adsorver substâncias orgânicas, como os sais biliares, diminuindo o pool de ácidos biliares no ciclo entero-hepático, interferindo no metabolismo do colesterol (BROWN et al., 1999). A ingestão de ácidos graxos mono e poli insaturados está associada a diminuição do colesterol total e colesterol-LDL sanguíneo, devido serem oxidados com maior facilidade e entrarem nas células como corpos cetônicos ao invés de permanecerem na corrente sanguínea (ROS, 2008). Com relação aos compostos fenólicos, estudos comprovam o efeito dos flavonoides na redução do colesterol sanguíneo pela inibição da atividade da HMG-CoA redutase hepática, pelo aumento da atividade de

enzimas antioxidantes hepáticas contra estresse oxidativo e pelo aumento da excreção fecal de esteróis em modelos animais hipercolesterolêmicos (KIM, et al., 2004)

Os grupos A_{2,5} e A₅ apresentaram médias de triacilgliceróis inferiores a todos os grupos, com exceção do grupo AC₅. Quando comparados com o grupo C, que também não recebia colesterol em sua dieta, os grupos A_{2,5} e A₅ apresentaram valores, aproximadamente, 3,5 vezes menores. Em alguns casos, a diminuição do peso corporal e a diminuição da ingestão de alimentos pode provocar a diminuição de triacilgliceróis no sangue (POULLAIN et al., 1989). No entanto, nesse estudo não houve diferença significativa entre os animais dos grupos A_{2,5}, A₅ e C com relação ao consumo de alimentos e ganho de peso dos animais, excluindo essa justificativa. Porém, esses resultados podem ser explicados através da quantidade de ácidos graxos insaturados presentes no açaí que inibem a ação de enzimas importantes relacionadas ao metabolismo do VLDL, e assim diminuindo os triacilgliceróis no plasma (CONNOR, 1997).

Para avaliar o efeito dos tratamentos nas funções renais, foram mensurados os valores de proteínas plasmáticas, creatinina e albumina no sangue dos animais (Tabela 7). Não houve diferença significativa entre os grupos que receberam açaí em suas dietas dos grupos C e CC nos parâmetros albumina e creatinina. Com relação as proteínas, o grupo CC apresentou média superior a todos os outros grupos, com exceção do grupo AC₅. Os grupos A_{2,5}, A₅, AC_{2,5} e AC₅ apresentaram valores de proteínas semelhantes ao grupo C.

Tabela 7 – Proteínas totais, Creatinina e Albumina do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas.

Grupos	Proteínas (g/L)	Albumina (g/L)	Creatinina (g/L)
C	8,84±0,68 ^{bc}	4,37±0,22 ^{ab}	0,76±0,17 ^{ab}
CC	10,11±1,08 ^a	4,56±0,56 ^{ab}	0,89±0,15 ^a
A _{2,5}	8,22±0,84 ^c	4,08±0,19 ^b	0,70±0,07 ^b
A ₅	9,01±1,06 ^{bc}	4,42±0,32 ^{ab}	0,72±0,12 ^{ab}
AC _{2,5}	8,09±0,56 ^c	4,12±0,19 ^b	0,72±0,05 ^{ab}
AC ₅	9,54±0,94 ^{ab}	4,63±0,33 ^a	0,82±0,09 ^{ab}

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

A diminuição das proteínas totais no sangue pode ocorrer em função de hemorragias, falta de ingestão adequada na dieta e pela incapacidade do fígado produzir albumina em caso de infecção grave (RIBEIRO et al, 2006). Os níveis de Creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que altos níveis desse parâmetro indicam deficiência no funcionamento renal (MIZOI, et al, 2008). Como não houve diferença significativa entre os grupos C e CC para os parâmetros albumina e creatinina, podemos afirmar que as dietas utilizadas não provocaram danos funcionais nos rins no período experimental de 30 dias.

3.4.3 Avaliação da atividade antioxidante

A capacidade antioxidante do fígado foi investigada através da quantificação da atividade enzimática da catalase e da superóxido dismutase. As atividades das enzimas não apresentaram diferença significativa entre todos os grupos testados (Figura 1).

Em condições normais, há um equilíbrio entre as reações que envolvem os oxidantes (EROs) e os antioxidantes, sendo mantidas as condições ideais para metabolismo normal das células. Esse equilíbrio é mantido por meio da ação de enzimas antioxidantes como, a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT). A SOD é um dos mais efetivos antioxidantes enzimáticos intracelulares e cataliza a dismutação do radical superóxido em oxigênio molecular (O_2) e em uma espécie menos reativa, o H_2O_2 . Contudo, o H_2O_2 em níveis aumentados, é também tóxico para o organismo e deve ser detoxificado pela catalase e/ou peroxidases. A CAT é muito eficiente na conversão do H_2O_2 em água e em oxigênio molecular. Como neste estudo não houve diferença significativa entre os grupos para a atividade dessas enzimas, podemos concluir que a presença dos antioxidantes naturais do açaí não interferiu na atividade dessas enzimas.

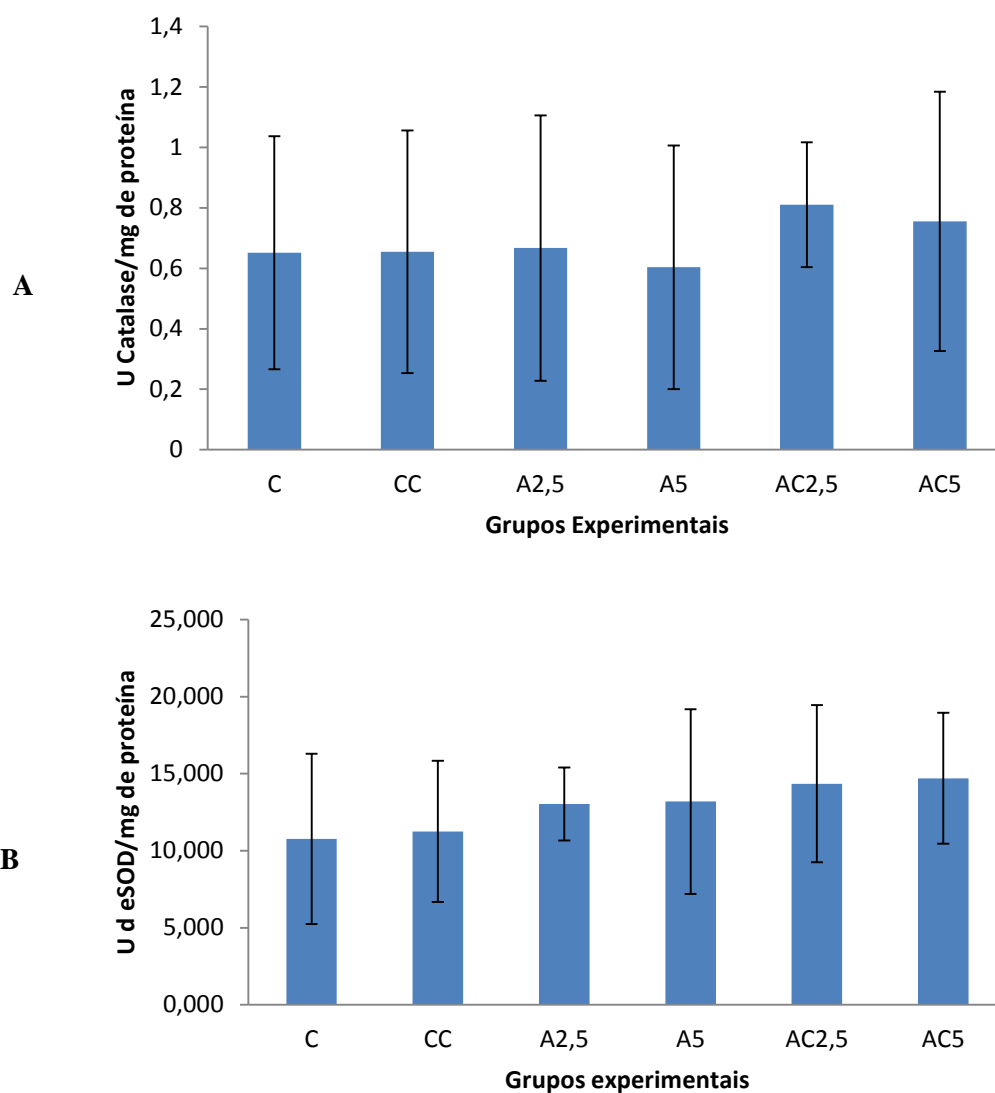


Figura 1. A - Atividade da catalase (CAT); B – Atividade da superóxido dismutase (SOD), ambas no tecido hepático de ratos Wistar.

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açai; A₅: ração comercial com adição de 5% de açai; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açai; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açai. Teste one way Anova.

3.4.4 Efeito dos tratamentos no tecido hepático dos animais

Os dados da estereologia hepática são mostrados na Tabela 8. O grupo CC apresentou maior diâmetro nuclear e volume nuclear do que os grupos C, A_{2,5}, A₅ e AC_{2,5}. Não houve diferença para esses parâmetros entre os outros grupos e o grupo C. As alterações no tamanho

e na forma do núcleo de células pode ser sinal do aumento da atividade metabólica ou alguma patologia desenvolvida no órgão (BRAUNBECK, 1990).

Não houve diferença no volume do citoplasma entre todos os grupos testados. O volume do hepatócito foi maior no grupo CC do que nos grupos A₅ e A_{2,5} e entre os demais grupos não houve diferença significativa. A relação nucleoplasmática foi maior no grupo AC₅ do que nos demais grupos. Todos os outros grupos apresentaram RNP semelhantes estatisticamente.

Tabela 8. Parâmetros estereológicos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas

Grupos	DN (μm)	VN (μm ³)	Vcit (μm ³)	Vhep (μm ³)	RNP
C	11,56±0,41 ^{bc}	813,13±86,54 ^{bc}	6698,10±686,57 ^a	7511,23±761,81 ^{ab}	0,121±0,00 ^b
CC	12,16±0,46 ^a	947,16±110,13 ^a	7355,40±993,59 ^a	8302,57±1098,24 ^a	0,129±0,00 ^b
A _{2,5}	11,25±0,38 ^{bc}	747,99±73,99 ^{bc}	5939,85±492,27 ^a	6687,85±544,74 ^{ab}	0,126±0,01 ^b
A ₅	11,14±0,67 ^{bc}	730,65±129,29 ^{bc}	6196,86±1123,29 ^a	6927,52±1249,36 ^b	0,118±0,00 ^b
AC _{2,5}	10,86±0,60 ^c	676,59±112,07 ^c	5827,65±1074,95 ^a	6504,24±1183,57 ^b	0,116±0,00 ^b
AC ₅	11,72±0,56 ^{ab}	849,64±125,03 ^{ab}	6004,45±1431,32 ^a	6854,09±1550,58 ^{ab}	0,144±0,01 ^a

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

Os dados de histomorfometria hepáticas são mostrados na Tabela 9. O percentual de núcleo do grupo AC₅ foi maior que os valores apresentados por todos os outros grupos. Não houve diferença significativa nesse parâmetro entre os grupos que não receberam colesterol em suas dietas. Entre os grupos que receberam colesterol em suas dietas, o grupo AC_{2,5} apresentou percentual de núcleo inferior aos grupos AC₅ e CC.

Os grupos que não receberam colesterol em suas dietas não apresentaram diferenças significativas entre si para os parâmetros percentual de citoplasma e percentual de hepatócitos. Entre os grupos que receberam colesterol em suas dietas, o grupo CC apresentou maior percentual de citoplasma e de hepatócitos do que o grupo AC₅.

Com relação ao percentual de capilares sinusóides, os grupos C, A_{2,5}, A₅ e AC₅ apresentaram valores maiores estatisticamente que o grupo CC. Não houve diferença significativa entre os grupos para os percentuais de células de Kupffer e vasos sanguíneos.

Houve diferença significativa no acúmulo de gotículas lipídicas no citoplasma das células. O grupo CC apresentou maior percentual de gotículas de gordura no fígado que todos os grupos estudados. Entre os grupos que não receberam colesterol em suas dietas não houve

diferença significativa desse parâmetro. Porém, para os grupos que receberam colesterol, o açaí influenciou na diminuição do percentual de gotículas de gordura no tecido hepático, onde o destaque foi para o grupo que recebeu a menor dose de açaí (AC_{2,5}) apresentando percentual 77% menor que o grupo CC. A diminuição apresentada pelo grupo AC₅ foi de, aproximadamente, 41%. Uma das explicações para o aumento de gordura no citoplasma dos hepatócitos é que a dieta rica em gordura estimula a expressão do receptor α do fígado (LXR α) aumentando a atividade da ácido graxo sintase. Quando a síntese de ácidos graxos livres é maior que os mecanismos responsáveis por seu catabolismo, os triacilgliceróis excedentes são acumulados no fígado contribuindo para a esteatose (AI et al. 2011)

Tabela 9. Parâmetros histomorfométricos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas

Grupos	Núcleo (%)	Citoplasma(%)	Hepatócito (%)	CS (%)	Kupffer (%)	GL (%)	VS (%)
C	7,78±0,44 ^c	64,08±0,94 ^a	71,87±1,18 ^b	26,10±1,21 ^a	1,66±0,11 ^a	0,28±0,34 ^c	0,35±0,16 ^a
CC	8,44±0,38 ^b	65,37±1,54 ^a	73,81±1,68 ^a	23,93±1,71 ^b	1,83±0,23 ^a	6,35±3,91 ^a	0,41±0,15 ^a
A _{2,5}	8,00±0,51 ^{bc}	63,56±1,46 ^{ab}	71,56±1,28 ^b	26,39±1,40 ^a	1,70±0,11 ^a	0,56±0,47 ^c	0,33±0,09 ^a
A ₅	7,59±0,33 ^c	64,27±1,24 ^a	71,86±1,34 ^b	26,16±1,52 ^a	1,60±0,21 ^a	0,79±0,51 ^c	0,36±0,14 ^a
AC _{2,5}	7,57±0,33 ^c	65,08±0,60 ^a	72,66±0,69 ^{ab}	25,43±0,64 ^a	1,60±0,08 ^a	1,45±0,42 ^c	0,29±0,15 ^a
AC ₅	8,97±0,79 ^a	62,32±1,51 ^b	71,29±1,09 ^b	26,36±1,09 ^a	1,82±0,10 ^a	3,69±0,77 ^b	0,51±0,17 ^a

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açaí; A₅: ração comercial com adição de 5% de açaí; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

As células de Kupffer estão envolvidas na defesa do organismo retirando os materiais tóxicos da circulação portal (NAITO et al., 2004). Nesse estudo não houve diferença significativa entre todos os grupos testados.

Nas figura 2, 3 e 4 são mostradas as imagens representativas do tecido hepático de ratos Wistar expostos aos diferentes tratamentos do experimento. Nas imagens podem ser observados: núcleo de hepatócito, capilar sinusóide, citoplasma, hepatócitos, gotícula lipídica e células de Kupffer.

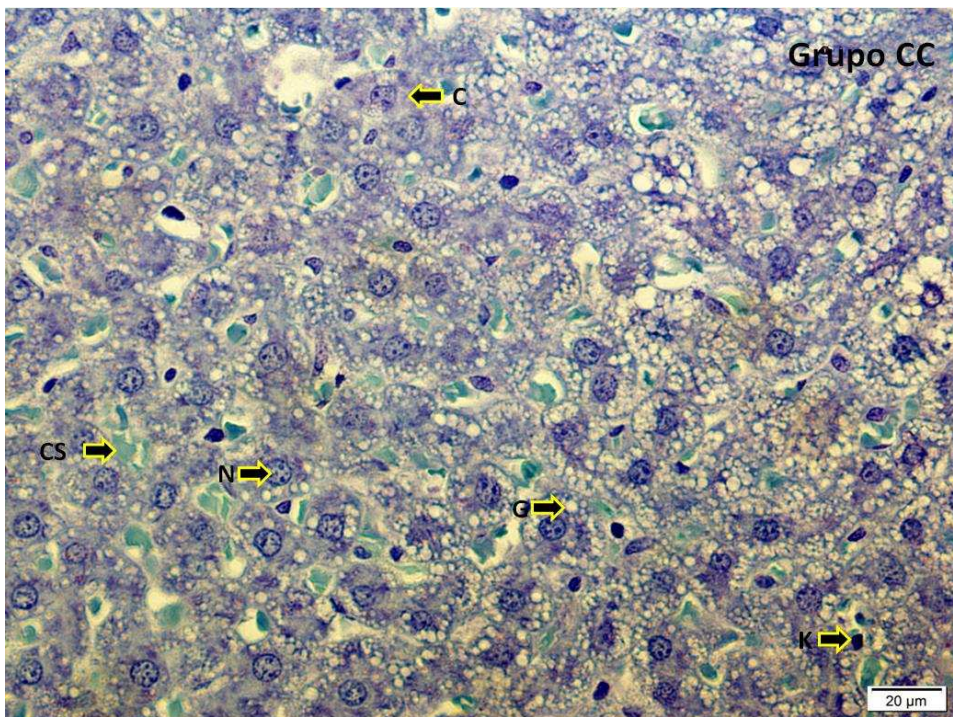
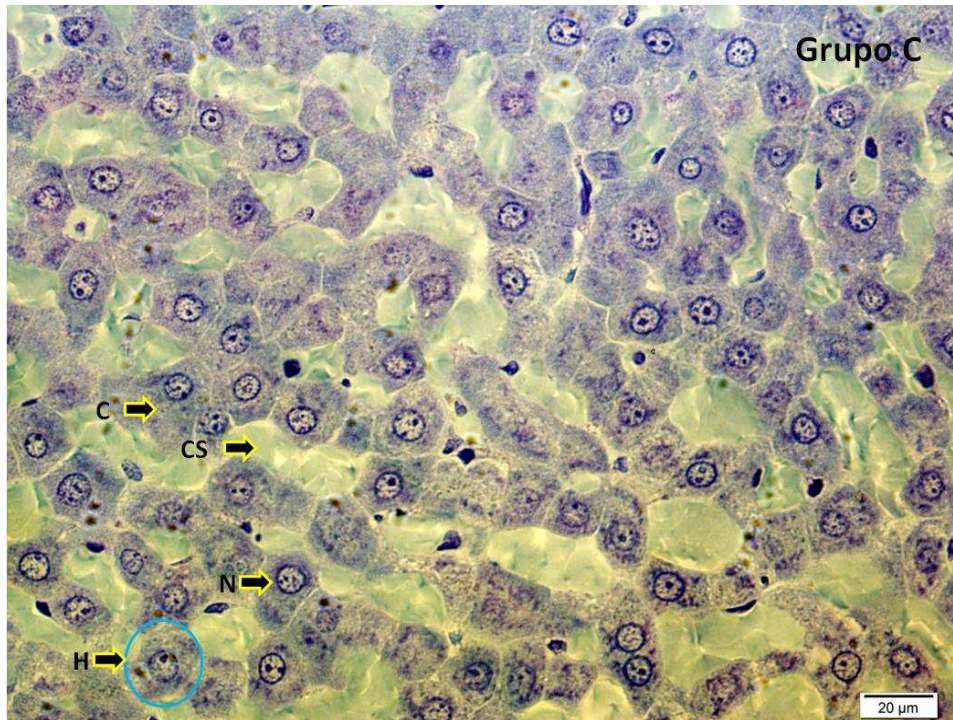


Figura 2 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos C e CC.

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

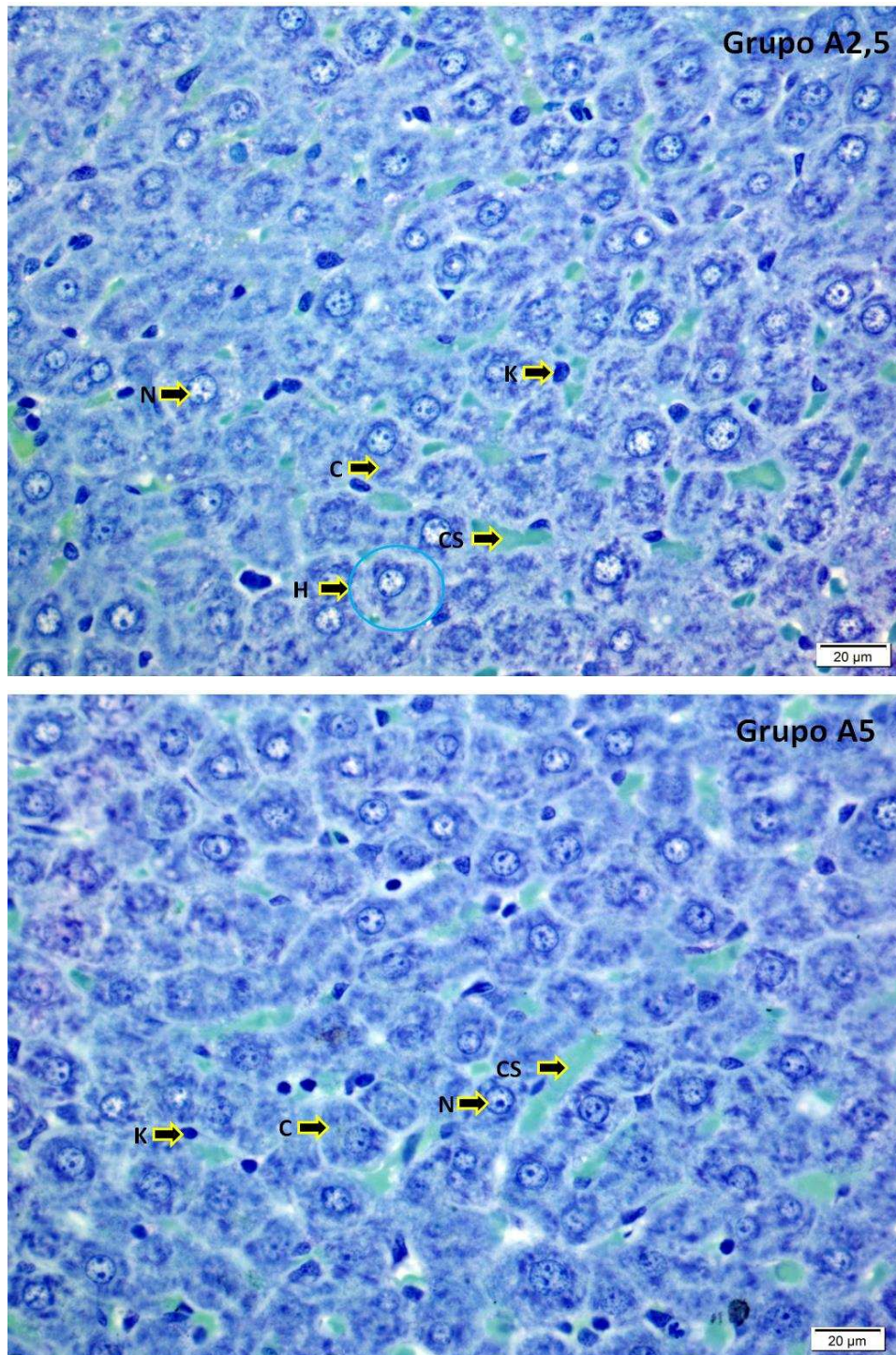


Figura 3 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos A_{2,5} e A₅.

A_{2,5}: ração comercial com adição de 2,5% de açúcar; A₅: ração comercial com adição de 5% de açúcar; N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

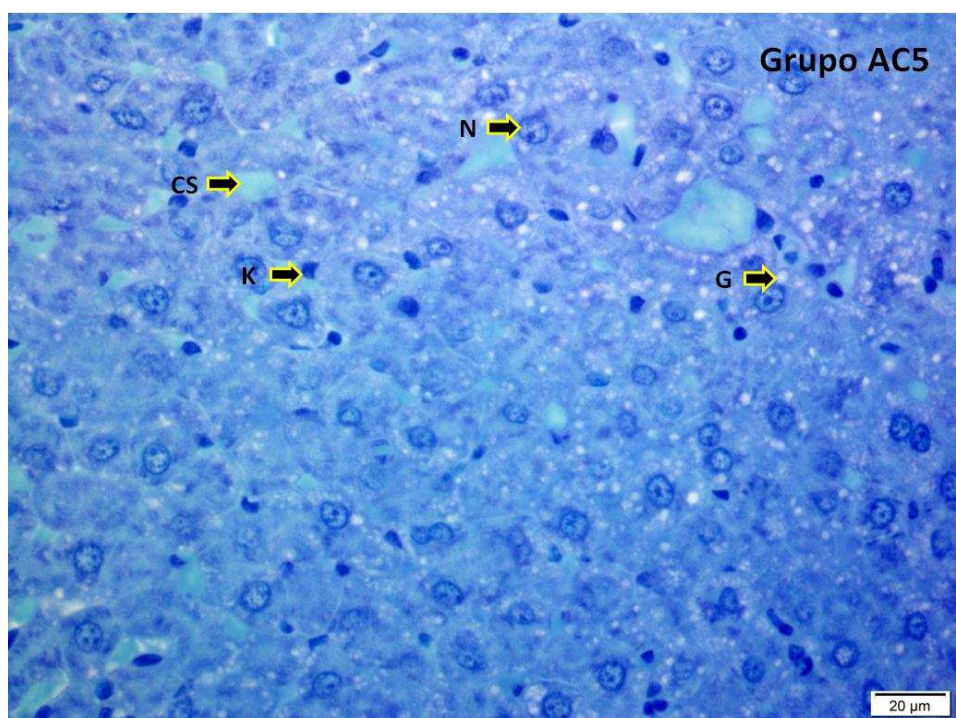
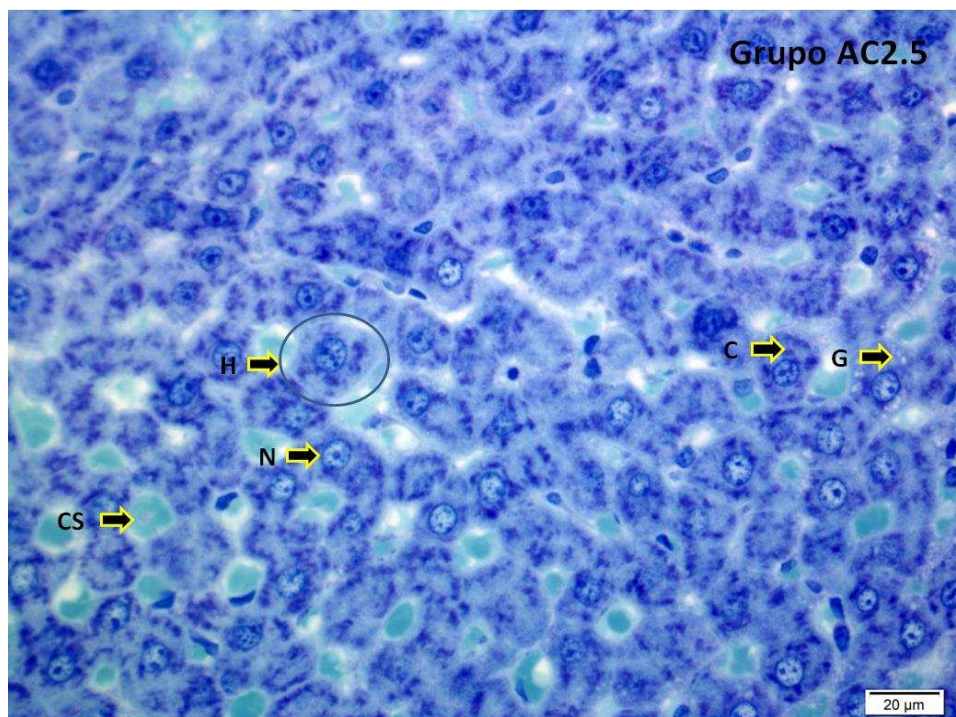


Figura 4 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos AC_{2,5} e AC₅.

AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açai; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açai; N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

4 CONCLUSÃO

A polpa de açaí utilizada no experimento apresentou teor 1,06% de proteínas, 4,85% de lipídios, 4,90% de carboidratos totais, 0,47% de cinzas e 88,7% de umidade.

Os compostos fenólicos do fruto foram de 2088,3 mg/100b.s, sendo que 522,2mg/100g b.s de antocianinas. Os dados obtidos por cromatografia mostraram que a quantidade de cianidina 3-O-rutinosideo foi superior ao teor de cianidina 3-O-glucosideo.

Observou-se que a suplementação com 2,5% de açaí foi eficaz para reduzir o colesterol total e o colesterol-LDL sanguíneo, assim como reduzir o percentual de gotículas de gordura no citoplasma dos hepatócitos dos animais que receberam dietas hipercolesterolêmicas. Em animais que receberam dietas não hipercolesterolêmicas, o açaí diminuiu os níveis de triacilgliceróis sanguíneos.

5 REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in Vitro. *Methods of Enzimology*, v.105; p.121-127:1984

AI 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. **J. Inter. Med. Res.** v. 39, p. 1219 – 1229. 2011

BRAUNBECK, J.B.; STORCH, V.; BRESCH, H. Species-specific reaction of liver ultrastructure in zebrafish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroamine. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 19, p. 405-418, 1990.

BROWN, L., ROSNER, B., WILLET, W., SACKS, S.M. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **Am J Clin Nutr**, 69:30–42, 1999.

BUTT, M.S.; SHAHZADI, N.; SHARIF, M.K.; NASIR, M. Guar gum: a miracle therapy for hypercholesterolemia, hyperglycemia and obesity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. V.47, p. 389-396, 2007.

CONSTANT, P.B.L Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe Oleracea M.*). 199p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 2003

CONNOR, W.E.; CONNOR, S.L.; KATAN, M.B.; GRUNDY, S.M.; WILLETT, W.C. Clinical debate. Should a low-fat, high-carbohydrate diet be recommended for everyone? **N Engl J Med** 337, 562–567, 1997.

COSTA, N.M.B. Investigation into the cholesterol lowering property of Baked bean (*Phaseolus Vulgaris*). Tese (Doutorado em Ciência de alimentos – Nutrição Humana). 1992

DEL POZO-INSFRAN D, PERCIVAL SS, TALCOTT ST. Acai (*Euterpe oleracea Mart.*) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **J Agric Food Chem**;54:1222–9, 2006.

DIETERICH, S.; BIELIGK, U.; BEULICH, K.; HASENFUSS G.; PRESTLE, J. Gene Expression of Antioxidative Enzymes in the Human Heart: Increased Expression of Catalase in the End-Stage Failing Heart. **Circulation**, v. 101, p.33-39, 2000.

GALLORI, S., BILIA, A.R., BERGONZI, M.C., BARBOSA, W.L.R., VINCIERI, F.F., Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (ac- ai palm). **Chromatographia** 59, 739–743, 2004.

GENKINGER JM, PLATZ EA, HOFFMAN SC, COMSTOCK GW, HELZLSOUER KJ. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a communitydwelling population in Washington County, Maryland. **Am J Epidemiol**;160:1223–1233, 2004

GORDON, A., CRUZ A P. et al Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açai fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**. 133 p 256-263 2012

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde–glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology** v.27, p.137-138, 1965.

KIM, H.J., OH, G.T., PARK, Y.B., LEE, M.K., SEO, H.J., CHOI, M.S. Naringenin alters the cholesterol biosynthesis and antioxidant enzyme activities in LDL receptor-knockout mice under cholesterol fed condition. **Life Sci**. 74:1621-34, 2004.

KUTCHI, H.C. The gastrointestinal secretion. In “Physiology”. Berne RM, Levy MN. 4ª. Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998

LOWRY, OH.; ROSEBROUGH, NJ.; FARR, AL.; RANDALL, RJ.; Protein measurement with folin phenol reagent. **J. Biol. Chem**. v.193; p.265-75:1951

LUBRANO, C.; ROBIN, J.; KHAIAT, A. Composition en acides gras,sterols, et tocopherols d’huiles de pulpe de fruits de six especes de palmiers de Guyane. **Oleagineux**, 49, 59–65, 1994.

MATOS S.L. et al. **Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats**. Braz. arch. biol. technol. v.48, p. 203-209. 2005.

MENEZES, E. M. S. Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açaí pré-congelada (*Euterpe oleracea*, Mart.). Universidade federal rural do rio de janeiro – instituto de tecnologia, p. 83, 2005.

MENEZES, E.M. S. et al. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada **Acta Amazonia** vol. 38(2) 2008: 311 - 316

MIZOI, C. S.; DEZOTI, C.; VATTIMO, M. F. F. Função renal de pacientes de unidade de terapia intensiva: creatinina plasmática e proteína carreadora do retinol urinário. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.20, n. 4, p. 385-393, 2008.

MOZAFFARIAN, D.; WU, J.H. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: Effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. **J. Am. Coll. Cardiol.**, 58, 2047–2067, 2011.

NAITO, M., HASEGAWA, G., EBE, Y., YAMAMOTO, T. Differentiation and unction of Kupffer cells. **Medical Electron Microscopy** 37:16-28, 2004.

PAZ, M. et al Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds **Food Chemistry**.172 462–468 2015

POMPEU, DR.; SILVA, EM.; ROGEZ, H. Optimization of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpeoleracea* using response surface methodology. **Bioresour. Technol.**, 100(23):6076-82.2009

POULLAIN, M. G., VACHER, D., CEZARD, J. P. , Serum lipids in the rat refed after starving. Influence of the molecular form of nitrogen-protein, peptides or free amino-acids. **Metabolic Clinical Experimental**, 38, 740-744. 1989.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999

RIBEIRO, J. N.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; FERREIRA Jr., D. B. F.;PINTO, A. S. Avaliação dos parâmetros sanguíneos de hepatotoxicidade em coelhos normais submetidos a tratamentos com antocianina e antocianina+naringenina. **RBAC**, v. 38, n. 1, p. 23-27, 2006.

ROGEZ, H. Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém, UFPA, 2000.

ROS, E., MATAIX, J. Fatty acid composition of nuts and implications for cardiovascular health. **Br J Nutr** 99:447–8, 2008.

ROSSO VV. et al., Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and acai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, p. 91–299, 2008.

SOUZA, M. O., SILVA, M., SILVA, M., OLIVEIRA, R.P., PEDROSA, M. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, 26, p.804–810, 2010.

SCHAUSS AG, WU X, PRIOR RL, OU B, HUANG D, OWENS J, ET. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **J Agric Food Chem**;54:8604–10, 2006

SINGLETON, V. L., & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144–158, 1965.

VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, MAZUR M, TELSNER J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**.;39(1):44-84, 2007.

CAPÍTULO 2

MORFOMETRIA DO FÍGADO E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETAS HIPERCOLESTEROLÊMICAS ADICIONADAS DE AÇAÍ INTEGRAL E RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO AÇAÍ

1 INTRODUÇÃO

As modificações dos padrões alimentares e a inatividade física provocaram um aumento na prevalência de dislipidemia, caracterizada pela elevação do colesterol total, colesterol-LDL e triacilgliceróis associada à diminuição do colesterol-HDL no sangue e considerada um dos principais causadores de doenças cardiovasculares (BRUCKNER, G., 2008). O colesterol-LDL é considerado aterogênico, enquanto que o colesterol-HDL é considerado protetor contra as lesões ateroscleróticas. Portanto, a redução do colesterol-LDL é considerada a etapa inicial no combate as doenças cardiovasculares (OLSON, 1998).

Alterações no perfil lipídico podem ser normalizadas através da ingestão de alimentos que possuam componentes capazes de modificar os níveis de colesterol plasmático, como: fibras dietéticas, ácidos graxos insaturados, fitoesteróis e compostos fenólicos, encontrados comumente em alimentos de origem vegetal como frutas e legumes (GENKINGER, 2004).

O açaí, um fruto típico da Amazônia, possui elevado teor de compostos fenólicos e, dentre eles, as antocianinas são as substâncias os mais abundantes. Duas antocianinas são predominantes nesse fruto: a cianidina-3- glicosídeo e a cianidina 3-rutinosídeo (PACHECO-PALENCIA et al., 2007). Possui também uma fração lipídica correspondente a, aproximadamente, 9% da parte comestível do fruto e composta de 11,1% de ácidos graxos poliinsaturados, 60,2% de ácidos graxos monoinsaturados e 28,7% de ácidos graxos saturados. Os ácidos oleico (53,9%) e palmítico (26,7%) são os ácidos graxos predominantes. São encontrados também esteroides, como: β -sitosterol, stigmasterol, 5-avenasterol e campesterol (LUBRANO et al, 1994). Outro componente importante do açaí são as fibras dietéticas que representam, em média, 5,9% da polpa do fruto, sendo a maioria (5,1%) de fibras insolúveis (ROGEZ, 2000). Todos os componentes citados possuem propriedades capazes de reduzir o colesterol sanguíneo e com isso, tornam-se aliados importantes no combate a doenças cardiovasculares (KIM et al., 2004).

Em função de sua composição e, principalmente, devido ao alto teor de compostos fenólicos, o açaí vem recebendo muita atenção de pesquisadores em todo mundo. Estudos já realizados demonstraram que o fruto possui alta capacidade antioxidante *in vitro* (KANG, et al., 2010) atividade anti-inflamatória (XIE, et al., 2011) e atividade antiproliferativa contra células leucêmicas HL-60 (DEL POZO-INSFRAN, 2006). Em outro estudo, o açaí apresentou um efeito hipocolesterolêmico, onde uma dieta com 2% de açaí foi capaz de reduzir os níveis de colesterol plasmático e colesterol LDL de ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (SOUZA et al., 2010).

No presente estudo, foi investigada a influência do açaí e do resíduo obtido na extração de compostos fenólicos do açaí, no perfil lipídico, nos parâmetros sanguíneos de avaliação de danos hepáticos e renais, na atividade das enzimas antioxidantes hepáticas e nos parâmetros morfométricos dos hepatócitos em animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Açaí

O açaí utilizado na elaboração das rações foi obtido meio da maceração dos frutos utilizando água, em despolpadeira específica para o produto, seguindo o procedimento comercialmente utilizado nas indústrias do estado do Pará. Os frutos foram coletados no mês de junho nas Ilhas das Onças, latitude -1,42679 e longitude -48,55906, Município de Barcarena, Pará. A bebida foi congelada a -18°C e transportada até o laboratório de compostos bioativos da Universidade Federal de Viçosa, onde foi liofilizada para posterior utilização nas rações.

2.1.2 Resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí

O resíduo da extração de compostos fenólicos foi obtido da seguinte forma: Porções de 100 g da bebida liofilizada foram pesadas e deixadas em repouso com 100 mL de etanol 70% (v/v) acidificado com HCl até pH 2, em ambiente refrigerado ($7\pm 1^{\circ}\text{C}$) e com ausência de luz. Após 24 horas, as amostras foram filtradas em funil de Buchner utilizando papel Whatman n° 1 sob vácuo, e submetidas a novas extrações nas mesmas condições. Foram realizadas 3 extrações em cada porção de açaí liofilizado e o resíduo obtido na filtração foi armazenado congelado até sua utilização na fabricação das rações.

2.2 ENSAIO IN VIVO

O experimento foi conduzido nos laboratório de Biofármacos, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) e Biologia Estrutural, do Departamento de Biologia Geral (DBG), ambos pertencentes à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

2.2.1 Animais

Foram utilizadas 42 ratas da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa, com idade de 12 semanas e pesos entre 200 e 250 gramas. Os animais foram mantidos em caixas individuais em ambiente com temperatura de 25°C e ciclo de claro/escuro de 12 horas, recebendo água ad libitum e alimentados diariamente com porções de 20g de ração uma vez por dia. Todos os procedimentos foram seguindo as normas do Colégio Brasileiro de experimentação animal e aprovados pelo comitê de ética da Universidade Federal de Viçosa (n°61/2012) (ANEXO 1).

2.2.2 Dietas e preparo das rações

Os animais foram divididos em 7 grupos com seis animais em cada grupo. Com base no estudo de COSTA, (1992), foi adicionado 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico em ração comercial da marca Presence, para produzir hipercolesterolemia nos ratos, as exceções foram as rações do grupo controle e dos grupos A_{2,5} e A_{5,0} (Tabela 1). O primeiro grupo (C), recebeu somente a ração comercial. O segundo grupo (CC), recebeu a ração comercial adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. O grupo E, recebeu a ração comercial adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico e mais 10mg de estatina por Kg de massa corporal. Os grupos AC_{2,5} e AC_{5,0} receberam a ração comercial adicionada de 1% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 2,5% e 5% de açai, respectivamente. Os grupos REF_{2,5} e REF_{5,0} receberam a ração comercial adicionada de 1% de colesterol, 0,1% de ácido cólico e 2,5% e 5% do resíduo obtido da extração de compostos fenólicos do açai.

O preparo das rações foi realizado da seguinte forma: a ração comercial foi triturada em um moinho e em seguida foram realizadas as misturas em um misturador de rações de acordo com as formulações de cada grupo. Assim que foram retiradas do misturador as rações foram repletizadas e em seguida passaram por um processo de secagem a 50°C durante 4 horas. O processamento foi realizado no Centro de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Tabela 1 – Composição química das rações utilizadas no experimento.

Grupos	Proteínas (/)	Lipídios (/)	Carboidratos(/)	Cinzas (/)	Umidade(/)
C	22,4±0,5	5,80±0,3	53,2±1,5	6,9±0,3	11,6±0,4
CC	22,17±0,5	6,742±0,3	52,66±1,4	6,83±0,3	11,5±0,4
E	22,17±0,5	6,742±0,3	52,66±1,4	6,83±0,3	11,5±0,4
AC _{2,5}	21,85±0,4	7,66±0,5	52,42±1,9	6,76±0,3	11,7±0,4
AC ₅	21,40±0,6	8,30±0,5	52,70±1,7	6,696±0,4	10,8±0,5
REF _{2,5}	21,79±0,5	7,52±0,4	52,68±1,1	6,76±0,4	11,2±0,5
REF ₅	21,40±0,5	8,32±0,6	52,70±1,7	6,69±0,4	10,8±0,3

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí., REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí

2.2.3 Controle de peso dos animais e consumo alimentar

Semanalmente os ratos foram pesados para observar o crescimento ponderal. Também foi realizada a quantificação do consumo alimentar. Para tanto, as dietas ofertadas aos animais foram pesadas diariamente, sendo que os dados da diferença entre a dieta ofertada e o restante não consumido e sobras no fundo da gaiola foram utilizados para o cálculo do consumo total no período do experimento.

2.2.4 Eutanásia e coleta dos tecidos

Após trinta dias de experimento, os animais, em jejum, foram anestesiados utilizando 90mg/g de Ketamina e 10mg/Kg de xilazina, administrados por via intraperitoneal e em seguida eutanasiados através da retirada total do sangue por punção cardíaca. Amostras de sangue foram colocadas em tubos teste de 5ml e centrifugadas a 3.000rpm por 15 minutos para separação do plasma e em seguida foram realizadas as análises bioquímicas do sangue. O fígado foi removido e pesado em balança analítica e dois fragmentos hepáticos de cada animal foram rapidamente removidos, um dos quais foi congelado e armazenado em freezer -80°C e o outro imerso em solução fixadora de Karnovsky (Karnovsky, 1965)

O índice hepatossomático (IHS) foi obtido pela relação entre o peso do fígado (PF) e o peso corporal (PC), sendo $IHS = \frac{PF}{PC} \times 100$.

2.2.5 Análises bioquímicas do sangue

Os parâmetros analisados foram: colesterol total (método enzimático-colorimétrico, peroxidase), colesterol HDL (método enzimático-colorimétrico, direto), triacilgliceróis (método enzimático colorimétrico, peroxidase), creatinina (método colorimétrico, Jaffé modificado), aspartato aminotransferase – AST (método cinético UV), alanina aminotransferase – ALT (método cinético UV), δ -GT, albumina e proteínas totais. Os reagentes dos respectivos Kits (Marca Bioclin) foram preparados e a leitura foi realizada no analisador Bioquímico multiparamétrico – Alizé. O resultado de colesterol-LDL foi estimado pela equação de Friedewald: $LDL = CT - HDL - \frac{Triacilgliceróis}{5}$, (onde Triacilgliceróis/5 representa o colesterol VLDL e CT representa o colesterol total).

2.2.6 Atividades das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) no tecido hepático

Para determinar a atividade da CAT o tecido hepático foi macerado com tampão fosfato 50 mM com triton X-100. O homogenato resultante foi centrifugado à 5000rpm à 4°C por 10 minutos. O sobrenadante resultante foi utilizado para mensuração da atividade enzimática, a qual foi determinada pela taxa de decaimento do peróxido de hidrogênio lido em espectrofotômetro, modelo Multiskan GO (Thermo Scientific, Vantaa, Finlândia) a 240nm, segundo metodologia de Aebi (1984).

A atividade da SOD foi determinada segundo Dieterich et al, (2000) adaptado. Basicamente, o tecido hepático foi homogeneizado com tampão fosfato 50 mM e centrifugado a 12000rpm à 4°C por 10 minutos. O sobrenadante resultante foi utilizado para a mensuração espectrofotométrica, modelo Multiskan GO (Thermo Scientific, Vantaa, Finlândia) a 570 nm da atividade da enzima. Este método baseia-se na habilidade da superóxido dismutase retirar o superóxido, diminuindo assim a razão de autooxidação do pirogalol.

A quantidade de proteínas presentes no tecido hepático utilizado nas análises de CAT e SOD foram mensuradas segundo metodologia de Lowry et al (1951).

2.2.7 Morfometria

Os fragmentos de fígado foram fixados por 24 horas solução de Karnovsky e em seguida foram transferidos para álcool 70%. A desidratação foi realizada em série etanólica crescente (70%, 80%, 90%, 95% e 100%), com trocas a cada 30 minutos, procedendo-se ao final da série a inclusão em glicol metacrilato (Historesin®, Leica). Foram obtidas 10 secções de 3 µm de espessura utilizando-se micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) usando navalhas de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina/borato de sódio 1% para análises morfométricas. As preparações foram montadas com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha). Para evitar a repetição das análises nas mesmas células os cortes foram feitos de modo semi-seriado em intervalos regulares de 15 µm. As preparações foram analisadas em microscópio de luz (Olympus BX-60®, Tóquio, Japão) e as imagens capturadas usando um fotomicroscópio (Olympus AX 70 TRF), utilizando objetiva de 40x. A morfometria foi realizada utilizando o software para análises de imagem Image Pro Plus 4.5® (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

Os componentes hepáticos utilizados para realização do estudo morfométrico dos cortes histológicos foram: núcleo, citoplasma, hepatócitos, grandes vasos sanguíneos, células de Kupffer, capilares sinusoides, infiltrados leucocitários e gotículas de gordura. Para quantificar os elementos citados no fígado, foi utilizada uma grade de 247 pontos e foram considerados os pontos a interseção entre duas linhas perpendiculares. Foram feitas 5 repetições por animal, totalizando mil duzentos e trinta e cinco pontos por animal.

2.3 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Os resultados foram expressos em média e desvio-padrão (média±dp). Comparações entre os grupos foram feitas usando o programa Statistica (ANOVA/MANOVA), através do teste de Student-Newman-Keuls (SNK) e a significância estatística foi estabelecida para $p < 0,10$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo investigou os efeitos dos componentes do açaí integral e do resíduo da extração de compostos fenólicos nos parâmetros bioquímicos do sangue de ratos alimentados com dietas enriquecidas de colesterol, assim como o efeito desses componentes na prevenção de danos no tecido hepático que podem ser causados por uma dieta hipercolesterolêmica.

3.1 CONTROLE DA MASSA CORPORAL E CONSUMO DE ALIMENTOS

Primeiramente verificou-se o efeito do açaí e do resíduo da extração de compostos fenólicos no consumo de alimento dos animais. Observou-se que os grupos que receberam as rações com adição de açaí e colesterol consumiram maior quantidade de alimento que os outros grupos. Não houve diferença significativa no consumo entre os demais grupos estudados. No estudo de Souza (2010), o grupo que recebeu dieta hipercolesterolêmica e açaí apresentou menor consumo de alimentos, não ocorrendo o mesmo neste estudo. Com relação ao ganho de peso, os grupos AC_{2,5}, E, C, REF_{2,5} e REF₅ obtiveram ganho de massa inferior ao grupo CC.

Tabela 2 – Massa inicial dos animais, Ingestão de alimento e ganho de massa corporal de ratos alimentados com as diferentes dietas.

Grupos	Peso inicial (g)	Consumo (g/30dias)	Ganho de peso (g)
C	220,00±14,14 ^a	491,12±28,95 ^b	15,83±9,70 ^c
CC	227,50±22,07 ^a	497,18±31,51 ^b	41,66±7,52 ^a
E	226,50±24,07 ^a	459,60±43,9 ^b	5,8±8,6 ^c
AC _{2,5}	222,50±10,83 ^a	562,76±30,06 ^a	26,66±8,16 ^b
AC ₅	227,50±14,74 ^a	545,62±37,15 ^a	34,16±4,91 ^{ab}
REF _{2,5}	230,00±11,40 ^a	469,61±37,51 ^b	15,83±9,70 ^c
REF ₅	226,66±11,25 ^a	507,98±34,35 ^b	26,66±7,52 ^b

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí, REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

Para avaliar os danos causados no tecido hepático foram analisados os parâmetros: índice hepatossomático, ALT, AST e γ -GT dos animais utilizados no experimento. Esses dados estão apresentados na tabela 3.

Com relação aos parâmetros índice hepatossomático, AST e ALT, não houve diferença significativa entre os grupos testados. Como os animais utilizados neste estudo não apresentaram diferença significativa para IHS e atividade de ALT e AST, indica que nenhum dos tratamentos provocou danos no tecido hepático no período experimental de 30 dias. Para os valores de γ -GT, o grupo E apresentou menor valor que os grupos AC_{2,5} e REF₅. A diferença na atividade da enzima gama-glutamil transferase entre o grupo E e os grupos AC_{2,5} e REF₅ pode ser explicada por alguns estudos que evidenciam forte relação da δ -GT com aumento do índice de massa corpórea (IMC), sugerindo que o peso corporal pode ser o fator principal da elevação dos níveis séricos de enzimas hepáticas (NAKANISHI et al, 2000).

Tabela 3 – Índice hepatossomático e atividade das enzimas ALT, AST e γ -GT de ratos alimentados com diferentes dietas.

Grupos	IHS	ALT	AST	δ -GT
C	3,07±0,22 ^a	52,33±13,10 ^a	119,50±41,97 ^a	4,00±0,89 ^{ab}
CC	3,51±0,41 ^a	55,00±8,71 ^a	177,16±83,10 ^a	3,50±1,04 ^{ab}
E	3,33±0,28 ^a	53,0±16,14 ^a	107,33±41,24 ^a	2,83±1,94 ^b
AC _{2,5}	3,39±0,41 ^a	48,00±11,78 ^a	156,83±86,10 ^a	5,51±1,64 ^a
AC ₅	3,39±0,11 ^a	43,01±16,08 ^a	152,16±32,04 ^a	4,66±1,50 ^{ab}
REF _{2,5}	3,29±0,42 ^a	40,50±6,34 ^a	141,16±68,19 ^a	4,00±1,09 ^{ab}
REF ₅	3,42±0,22 ^a	48,32±11,84 ^a	151,83±72,81 ^a	5,66±1,21 ^a

C: ração comercial, CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí, REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por Médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

O perfil lipídico sanguíneo dos ratos foi analisado e observou-se, como era esperado, que o grupo Controle Colesterol (CC) apresentou um valor de colesterol total estatisticamente superior ao Controle (C), mostrando que o método utilizado para produzir hipercolesterolemia nos animais foi eficiente.

Houve redução do colesterol total do grupo estatina quando comparado ao grupo controle Colesterol. Este resultado é devido as estatinas atuarem na inibição da enzima HMG-CoA redutase que é um componente chave na síntese do colesterol (CAMPO e CARVALHO, 2007). O grupo estatina também apresentou níveis de colesterol-LDL menores que o grupo

CC, pelo fato das estatinas induzirem o aumento de receptores LDL, onde a lipoproteína LDL se fixa no tecido hepático, ocorrendo depuração de partículas com apo B-100, por endocitose. O aumento de atividade dos receptores de LDL hepático é um dos fatores mais importantes para diminuição dos níveis de LDL plasmático (BROWN, 2008).

Os grupos AC_{2,5}, REF_{2,5} e REF₅ apresentaram valores de colesterol total inferiores ao apresentado pelo grupo CC, evidenciando o efeito hipocolesterolêmico do fruto (Tabela 4). Para o LDL-colesterol, o grupo CC apresentou média estatisticamente superior a todos os demais grupos estudados. Quando comparados ao grupo CC, os grupos E, AC_{2,5} e REF₅ apresentaram valores, aproximadamente, 33% mais baixos de LDL-colesterol. Com relação ao HDL-colesterol e triacilgliceróis, não houve diferença significativa entre os grupos estudados.

Tabela 4 – Perfil lipídico do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas.

Grupos	CT mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL	CT/HDL	LDL/HDL	Triacilgliceróis
C	106,96±11,15 ^c	43,10±9,08 ^a	33,77±7,76 ^c	2,56±0,50 ^a	0,84±0,35 ^b	133,80±45,49 ^a
CC	165,13±35,47 ^a	50,45±8,28 ^a	85,44±22,12 ^a	3,28±0,53 ^a	1,70±0,53 ^a	129,55±55,95 ^a
E	116,41±21,0 ^c	42,28±7,57 ^a	56,89±14,26 ^b	2,75±0,34 ^a	1,36±0,38 ^{ab}	86,11±36,8 ^a
AC _{2,5}	130,30±36,10 ^{bc}	47,58±12,48 ^a	55,68±15,60 ^b	2,72±0,09 ^a	1,21±0,37 ^{ab}	135,18±89,08 ^a
AC ₅	154,00±27,44 ^{ab}	53,81±8,99 ^a	68,14±12,69 ^b	2,93±0,81 ^a	1,27±0,19 ^{ab}	92,95±31,23 ^a
REF _{2,5}	126,16±16,89 ^{bc}	42,96±6,75 ^a	64,61±22,59 ^b	3,00±0,67 ^a	1,58±0,75 ^a	92,95±23,23 ^a
REF ₅	129,73±16,08 ^{bc}	48,26±10,38 ^a	57,71±9,09 ^b	2,76±0,53 ^a	1,23±0,0,28 ^{ab}	118,75±32,23 ^a

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí,. REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

A redução do colesterol total e LDL-colesterol obtido pelo grupo AC_{2,5} podem ser em função dos compostos fenólicos, fibras e ácidos graxos insaturados presentes no açaí, que são capazes de reduzir o teor de colesterol sanguíneo. Os resultados obtidos pelos grupos que receberam o resíduo da extração de compostos fenólicos são atribuídos as fibras e aos lipídios. Os compostos fenólicos podem inibir a ação da enzima HMG-CoA redutase reduzindo as concentrações de colesterol plasmático (KIM et al, 2004). As fibras tem a capacidade de adsorver substâncias orgânicas, como os sais biliares, diminuindo o pool de ácidos biliares no ciclo entero-hepático, interferindo no metabolismo do colesterol (CONTI, 1990; BROWN et al., 1999) . A ingestão de ácidos graxos mono e poli insaturados está associada a diminuição do colesterol total e colesterol-LDL sanguíneo, devido serem oxidados com maior facilidade e

entrarem nas células como corpos cetônicos ao invés de permanecerem na corrente sanguínea (ROS, 2008).

A relação LDL/HDL foi estatisticamente diferente somente entre os grupos CC e C. Não houve diferença significativa entre os grupos testados para o indicador de risco cardiovascular CT/HDL (Tabela 4).

Na tabela 5 estão apresentados os dados de proteínas totais, albumina e creatinina do sangue dos animais. Esses parâmetros foram utilizados para avaliar o efeito dos tratamentos nas funções renais. Observou-se que os grupos E e AC_{2,5} apresentaram valores de proteínas plasmáticas menores que o grupo CC. Os valores de Albumina foram diferentes somente entre os grupos AC₅ e E. Os grupos E, AC_{2,5}, REF_{2,5} e REF₅ apresentaram menores valores de creatinina quando comparados ao grupo CC.

Tabela 5 – Proteínas totais, Creatinina e Albumina do sangue de ratos alimentados com diferentes dietas.

Grupos	Proteínas	Albumina	Creatinina
C	8,84±0,68 ^{ab}	4,37±0,22 ^{ab}	0,76±0,17 ^{ab}
CC	10,11±1,08 ^a	4,56±0,56 ^{ab}	0,89±0,15 ^a
E	8,40±0,56 ^b	4,08±0,31 ^b	0,69±0,07 ^b
AC _{2,5}	8,09±0,56 ^b	4,12±0,19 ^{ab}	0,72±0,05 ^b
AC ₅	9,54±0,94 ^{ab}	4,63±0,33 ^a	0,82±0,09 ^{ab}
REF _{2,5}	8,99±0,68 ^{ab}	4,26±0,22 ^{ab}	0,69±0,07 ^b
REF ₅	9,04±1,27 ^{ab}	4,30±0,32 ^{ab}	0,73±0,08 ^b

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açaí; REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

A diminuição de proteínas totais no sangue pode ocorrer em função de hemorragias, falta de ingestão adequada na dieta e pela incapacidade do fígado produzir albumina em caso de infecção grave. A creatinina é o mais importante marcador da função renal, pois é produzida regularmente pelos músculos e excretada através da urina. A insuficiência renal ocasiona a elevação dos níveis de creatinina no soro (MIZOI et al., 2008). Em função dos valores apresentados entre os dois grupos controle não diferirem entre si nos três parâmetros observados, podemos concluir que a dieta hipercolesterolêmica não afetou o funcionamento desse órgão ao longo do período experimental de 30 dias.

3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante do fígado foi investigada através da quantificação da atividade enzimática da catalase e da superóxido dismutase. Não houve diferença significativa entre os todos os grupos testados com relação as atividades das duas enzimas.

Neste estudo não foi observado o efeito antioxidante dos compostos fenólicos do açaí demonstrado em outros trabalhos, como o de Novello (2011), em que os ratos modelo knockout ApoE que receberam doses de 2% e 6% de açaí liofilizado apresentaram redução na atividade das enzimas SOD e CAT. Levando em consideração que os grupos CC e C não apresentaram diferença significativa para os valores das atividades dessas enzimas, podemos também considerar que a dieta não provocou estresse oxidativo elevado (Figura 1).

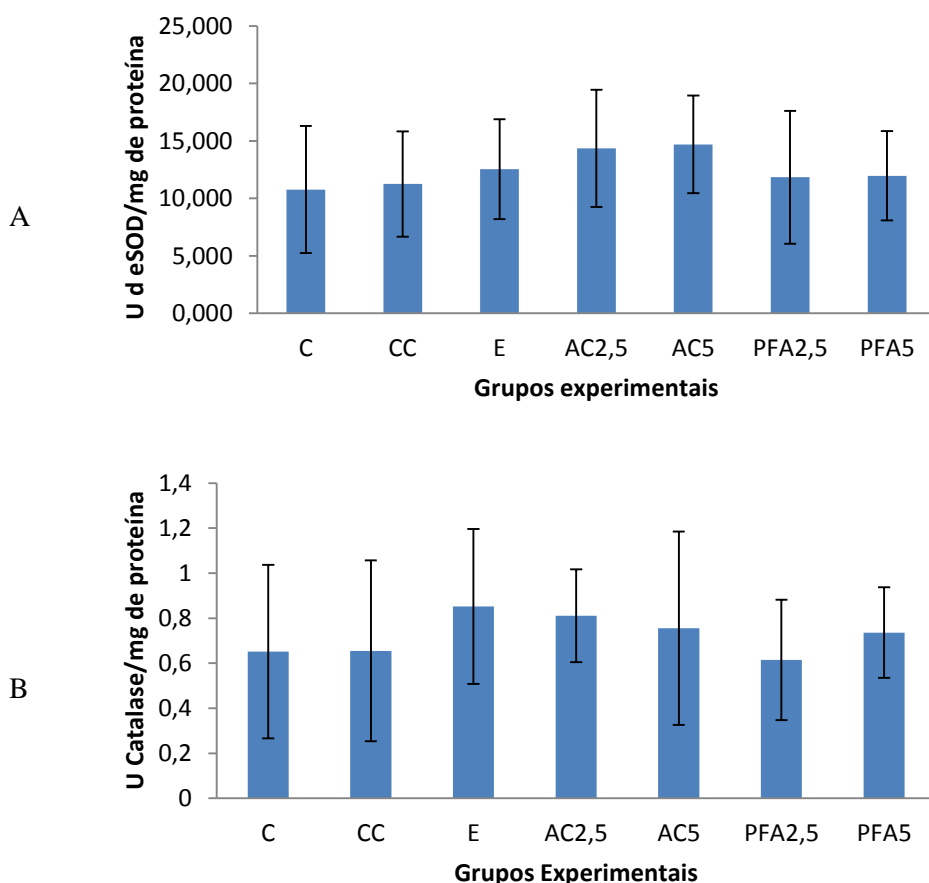


Figura 1. A - Atividade da superóxido dismutase (SOD); B – Atividade da catalase (CAT), ambas no tecido hepático de ratos Wistar.

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de

açai; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açai. REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açai; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 10% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açai; Teste one way Anova.

3.3 EFEITO DOS TRATAMENTOS NO TECIDO HEPÁTICO DOS ANIMAIS

Os dados da estereologia hepática são mostrados na Tabela 6. Não houve diferença significativa entre todos os grupos testados para as médias de volume citoplasmático e volume do hepatócito. Com relação ao diâmetro do núcleo e volume do núcleo, o grupo AC_{2,5} apresentou média inferior a todos os outros grupos testados. Também houve diferença significativa na relação nucleoplasmática, onde o grupo AC_{2,5} apresentou valor inferior aos grupos REF₅, AC₅ e E. A relação nucleoplasmática do grupo AC₅ foi maior que os grupos C, CC, REF_{2,5} e AC_{2,5}. As alterações no tamanho e na forma do núcleo de células podem ser sinal do aumento da atividade metabólica ou alguma patologia desenvolvida no órgão (BRAUNBECK et al., 1990).

Tabela 6. Parâmetros estereológicos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas

Grupos	DN (µm)	VN (µm ³)	Vcit (µm ³)	Vhep (µm ³)	RNP
C	11,56±0,41 ^a	813,13±86,54 ^a	6698,10±686,57 ^a	7511,23±761,81 ^a	0,12±0,00 ^c
CC	12,16±0,46 ^a	947,16±110,13 ^a	7355,40±993,59 ^a	8302,57±1098,24 ^a	0,12±0,00 ^{bc}
E	11,70±0,28 ^a	841,60±63,87 ^a	6503,48±1097,74 ^a	7345,08±1179,37 ^a	0,12±0,01 ^{ab}
AC _{2,5}	10,86±0,60 ^b	676,59±112,07 ^b	5827,65±1074,95 ^a	6504,24±1183,57 ^a	0,11±0,00 ^c
AC ₅	11,72±0,56 ^a	849,64±125,03 ^a	6004,45±1431,32 ^a	6854,09±1550,58 ^a	0,14±0,01 ^a
REF _{2,5}	11,58±0,81 ^a	823,52±161,09 ^a	6353,45±1256,36 ^a	7176,98±1415,4 ^a	0,12±0,00 ^{bc}
REF ₅	11,76±0,68 ^a	860,11±158,54 ^a	6212,79±1183,78 ^a	7070,54±1316,70 ^a	0,14±0,01 ^{ab}

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açai; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açai. REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açai; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açai; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

Os dados de histomorfometria hepática são mostrados na Tabela 7. Os grupos AC₅ e REF₅ apresentaram percentual de núcleo maior que os grupos C e AC_{2,5}. Entre os demais grupos não houve diferença estatística significativa. Com relação ao percentual de citoplasma, o grupo AC₅ apresentou percentual inferior a todos os grupos, com exceção do grupo REF₅. Entre os demais grupos não houve diferença estatística significativa. Os grupos REF_{2,5} e CC

apresentaram percentuais de hepatócitos maiores que os grupos C e AC₅. Entre os outros grupos os percentuais foram semelhantes estatisticamente. Não houve diferença significativa entre todos os grupos estudados para os percentuais de células de Kupffer e vasos sanguíneos.

Os animais que receberam açúcar (grupos AC_{2,5} e AC₅) em suas dietas apresentaram percentuais de gotículas de gordura inferiores aos apresentados pelo grupo CC, o mesmo não ocorreu com os animais que receberam o resíduo da extração de compostos fenólicos (REF_{2,5} e REF₅). As reduções dos percentuais de gotículas de gordura dos grupos AC_{2,5} e AC₅ foram de 77% e 41%, respectivamente. O grupo C foi o que apresentou menor percentual de gotículas de gordura no tecido hepático devido não receber colesterol em sua dieta.

Uma das explicações para o aumento de gordura no citoplasma dos hepatócitos é que a dieta rica em gordura estimula a expressão do receptor α do fígado (LXR α) aumentando a atividade da ácido graxo sintase. Quando a síntese de ácidos graxos livres é maior que os mecanismos responsáveis por seu catabolismo, os triacilgliceróis excedentes são acumulados no fígado contribuindo para a esteatose (AI et al. 2011)

Tabela 7. Parâmetros histomorfométricos hepáticos de ratos Wistar submetidos a diferentes dietas

Grupos	Núcleo (%)	Citoplasma(%)	Hepatócito (%)	CS (%)	Kupffer (%)	GL (%)	VS (%)
C	7,78±0,44 ^b	64,08±0,94 ^a	71,87±1,18 ^b	26,10±1,21 ^a	1,66±0,11 ^a	0,28±0,34 ^e	0,35±0,16 ^a
CC	8,44±0,38 ^{ab}	65,37±1,54 ^a	73,81±1,68 ^a	23,93±1,71 ^b	1,83±0,23 ^a	6,35±3,91 ^a	0,41±0,15 ^a
E	8,42±0,81 ^{ab}	64,25±3,76 ^a	72,68±3,69 ^{ab}	24,92±2,04 ^{ab}	1,89±0,29 ^a	3,21±2,32 ^{cd}	0,49±0,22 ^a
AC _{2,5}	7,57±0,33 ^b	65,08±0,60 ^a	72,66±0,69 ^{ab}	25,43±0,64 ^{ab}	1,60±0,08 ^a	1,45±0,42 ^{de}	0,29±0,15 ^a
AC ₅	8,97±0,79 ^a	62,32±1,51 ^b	71,29±1,09 ^b	26,36±1,09 ^a	1,82±0,10 ^a	3,69±0,77 ^{bcd}	0,51±0,17 ^a
REF _{2,5}	8,45±0,26 ^{ab}	65,28±0,41 ^a	73,74±0,48 ^a	24,27±0,49 ^{ab}	1,76±0,11 ^a	5,81±0,87 ^{ab}	0,21±0,12 ^a
REF ₅	8,81±0,88 ^a	63,35±1,54 ^{ab}	72,28±1,34 ^{ab}	25,49±1,42 ^{ab}	1,86±0,19 ^a	4,16±1,43 ^{abc}	0,40±0,11 ^a

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol; E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açúcar; AC₅: ração comercial com 1% de colesterol e 5% de açúcar. REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açúcar; REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açúcar; CS: Capilares sinusóides; GL:gotículas lipídicas; VS: vasos sanguíneos; Teste one way Anova. Os resultados estão representados por médias±desvio padrão. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem ao nível de 10% de probabilidade pelo Teste de SNK.

Nas figuras 2, 3, 4 e 5 são mostradas as imagens representativas do tecido hepático de ratos Wistar expostos aos diferentes tratamentos do experimento.

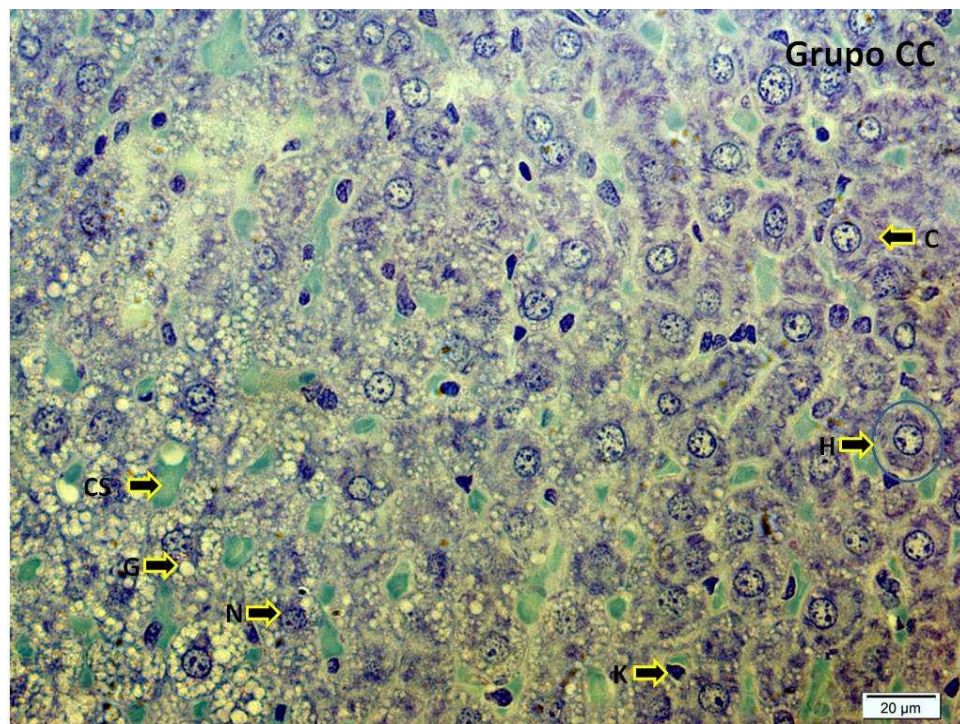
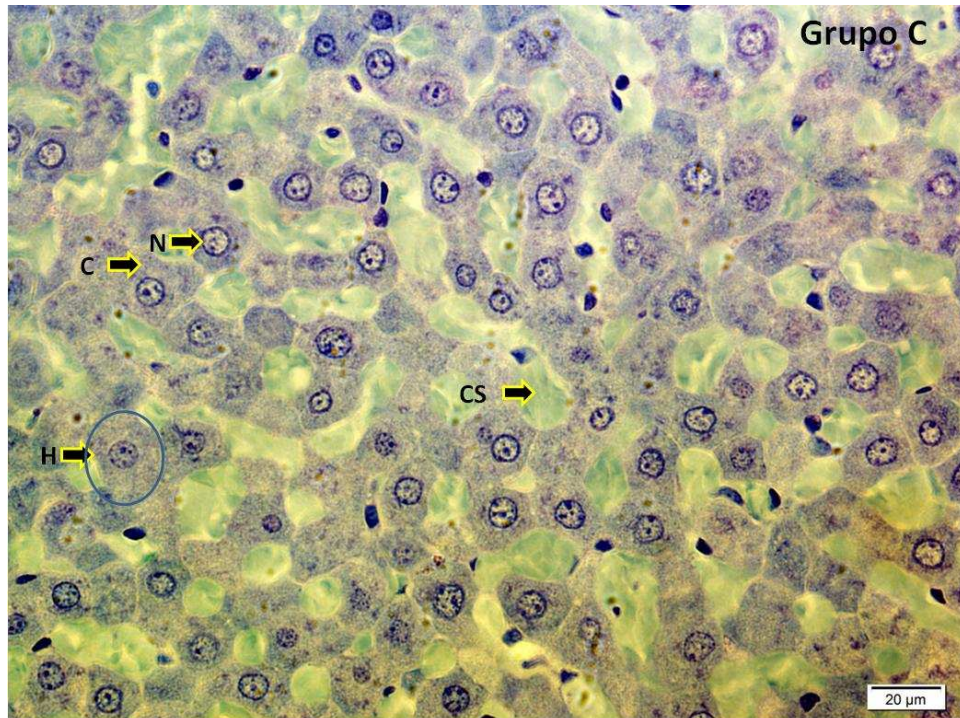


Figura 2 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos C e CC.

C: ração comercial e CC: ração comercial com adição de 1% de colesterol;; N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

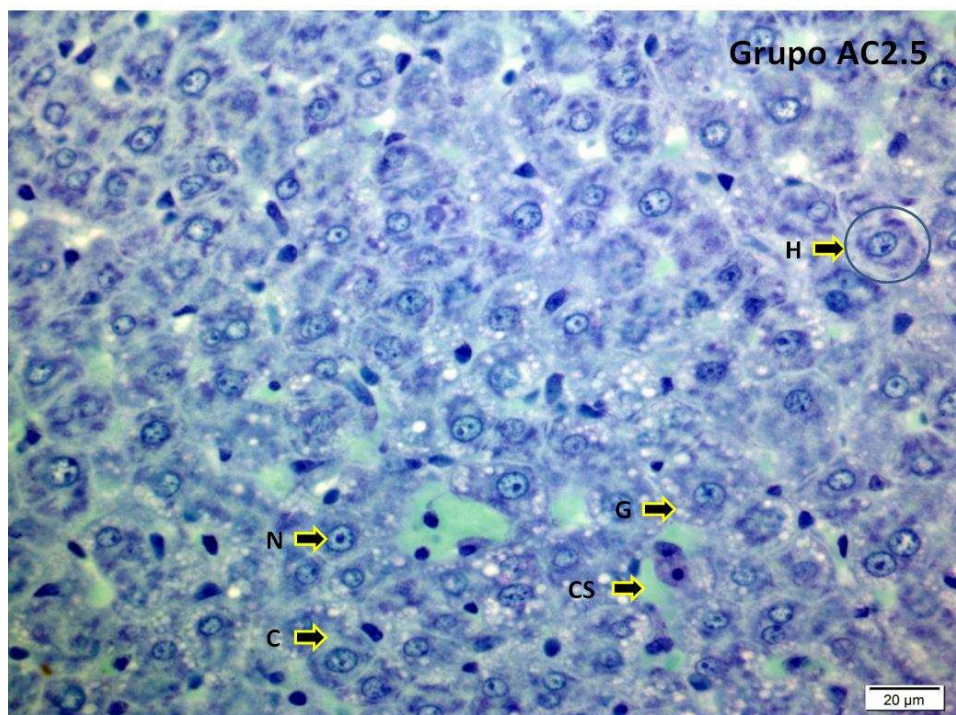
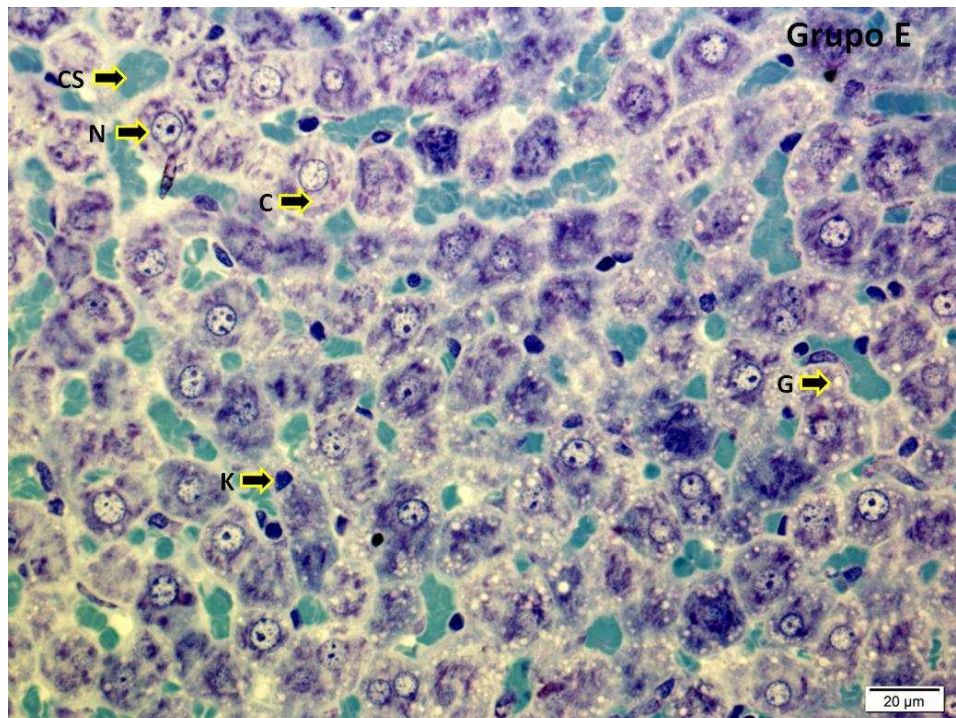


Figura 3 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos E e AC_{2.5}. E: comercial com adição de 1% de colesterol e 10mg de estatina; AC_{2.5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de açaí; N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

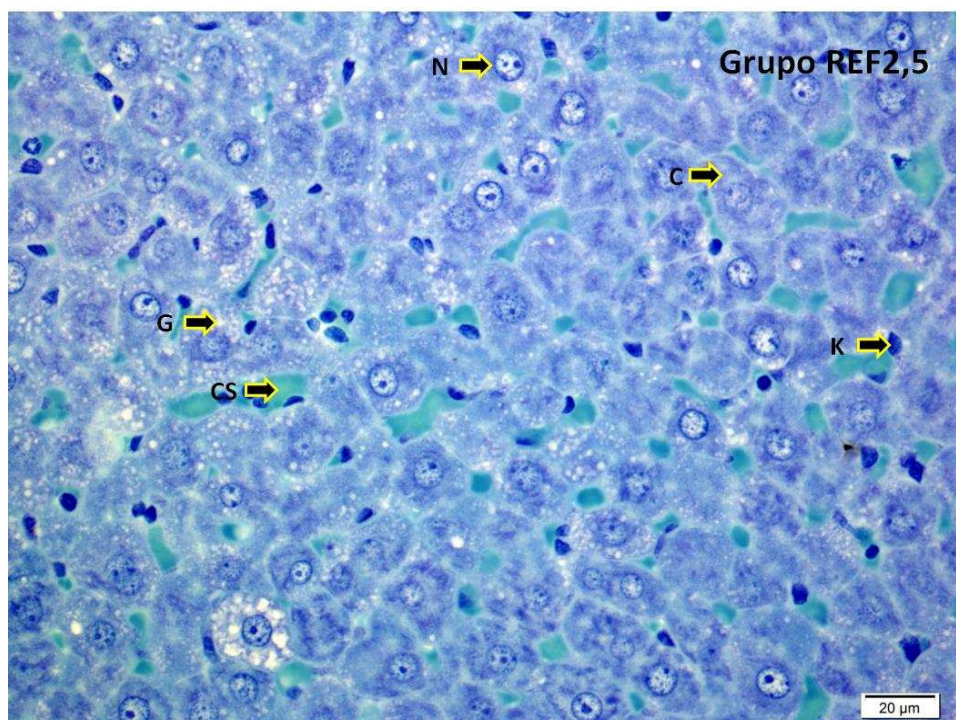
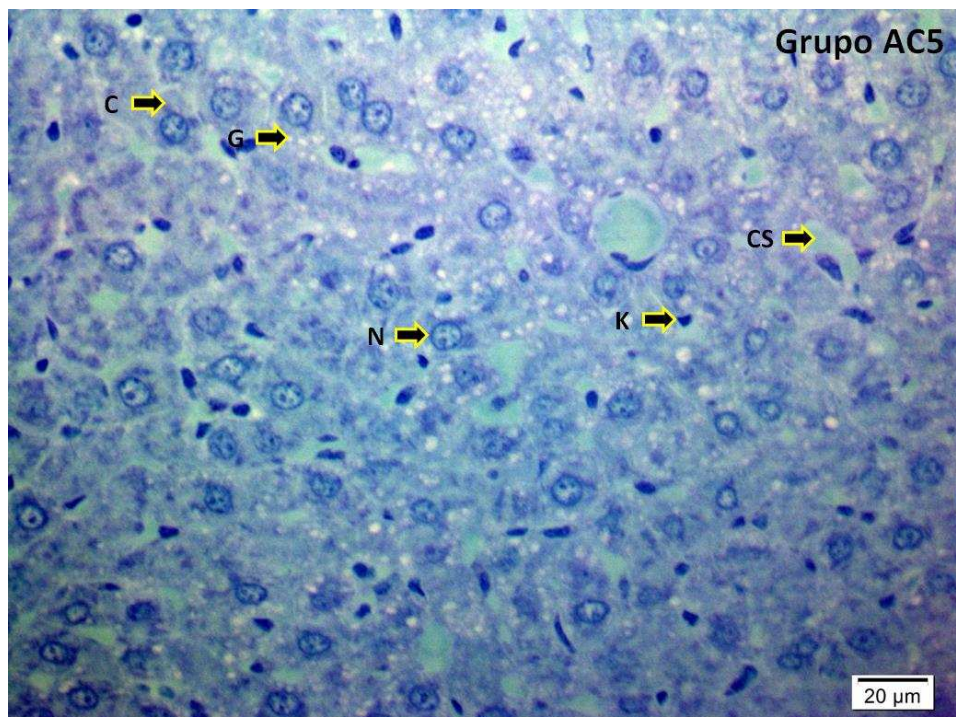


Figura 4 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar dos grupos AC₅ e REF_{2,5}. AC₅: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 5% de açúcar; REF_{2,5}: ração comercial com adição de 1% de colesterol e 2,5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açúcar; N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

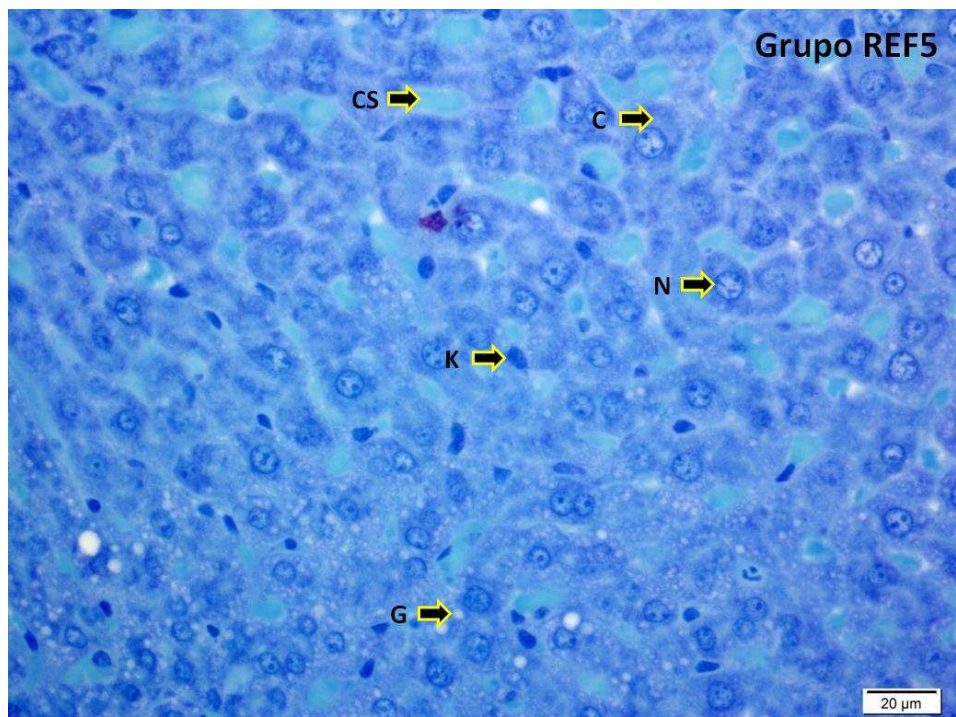


Figura 5 - Fotomicrografias representativas de corte histológico do fígado de ratos Wistar do grupo REF₅.

REF₅: ração comercial com adição 1% de colesterol e 5% de resíduo da extração de compostos fenólicos do açaí N: núcleo; C: citoplasma; H: hepatócito; CS: capilares sinusóides; K: macrófago (célula de kupffer) e G: gotículas de gordura.

4 CONCLUSÃO

A suplementação com 2,5% de açaí se mostrou eficiente na redução do colesterol total, colesterol-LDL e gotículas de gordura no tecido hepático de animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica. A suplementação com açaí e com o resíduo da extração de compostos fenólicos provocou a diminuição do colesterol-LDL.

5 REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in Vitro. *Methods of Enzimology*, v.105; p.121-127:1984

AI 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. **J. Inter. Med. Res.** v. 39, p. 1219 – 1229. 2011.

BRAUNBECK, J.B.; STORCH, V.; BRESCH, H. Species-specific reaction of liver ultrastructure in zebrafish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmogairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroamine. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 19, p. 405-418, 1990.

BROWN, L., ROSNER, B., WILLET, W., SACKS, S.M. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **Am J Clin Nutr**, v.69, p.30–42, 1999.

BROWN, W.V. Safety of statins. **Curr Opin Lipidol.** v.19, p. 558-562, 2008.

BRUCKNER, G. Fatty acids and cardiovascular disease. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 2008

CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 425-430, 2007.

CONTI, V.L.M. Fibras na nutrição humana. *Nutrição enteral e esportiva*, p.14-17, 1990.

COSTA, N.M.B. Investigation into the cholesterol lowering property of Baked bean (*Phaseolus Vulgaris*). Tese (Doutorado em Ciência de alimentos – Nutrição Humana). 1992

DEL POZO-INSFRAN D, PERCIVAL SS, TALCOTT ST. Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **J Agric Food Chem**, V.54, p.1222–9, 2006.

DIETERICH, S.; BIELIGK, U.; BEULICH, K. Gene Expression of Antioxidative Enzymes in the Human Heart: Increased Expression of Catalase in the End-Stage Failing Heart. **Circulation**, v.101, p. 33-39, 2000.

GENKINGER, J.M.; PLATZ, E.A.; HOFFMAN, S.C.; COMSTOCK, G.W.; HELZLSOUER, K.J. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a communitydwelling population in Washington County, Maryland. **Am J Epidemiol**, v.160, p.1223–1233, 2004

KANG J, ZHIMIN LI B, TONG WU, GITTE S. JENSEN , ALEXANDER G. SCHAUSS, XIANLI WU, Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chem**, 122, p.610–617, 2010.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde–glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137-138, 1965.

KIM, H.J.; OH, G.T.; PARK, Y.B.; LEE, M.K.; SEO, H.J.; CHOI, M.S. Naringenin alters the cholesterol biosynthesis and antioxidant enzyme activities in LDL receptor-knockout mice under cholesterol fed condition. **Life Sci**. 74:1621-34, 2004

LOWRY, OH.; ROSEBROUGH, NJ.; FARR, AL.; RANDALL, RJ.; Protein measurement with folin phenol reagent. **J. Biol. Chem**. v.193; p.265-75:1951

LUBRANO, C.; ROBIN, J.; KHAIAT, A. Composition en acides gras,sterols, et tocopherols d'huiles de pulpe de fruits de six especes de palmiers de Guyane. **Oleagineux**, 49, 59–65, 1994.

MIZOI, C. S.; DEZOTI, C.; VATTIMO, M. F. F. Função renal de pacientes de unidade de terapia intensiva: creatinina plasmática e proteína carreadora do retinol urinário. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.20, n. 4, p. 385-393, 2008.

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 -/- / Alexandre Azevedo Novello. –Dissertação de Mestrado- Viçosa, MG, 2011.

NAKANISHI, N.; NAKAMURA, K.; SUZUKI, K.; TATARA, K. Lifestyle and the development of increased serum gamma-glutamyltransferase in middle-aged Japanese men. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 60, Issue 6, p. 429-438, 2000.

OLSON, R.E. Discovery of the lipoproteins, their role in fat transport and their significance as risk factors. **J Nutr** 128:439S–43,1998.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P. AND TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage **Food Research International**, v. 40, p. 620 – 628, 2007.

ROGEZ, H. Açai: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém, UFPA, 2000.

ROS, E., MATAIX, J. Fatty acid composition of nuts and implications for cardiovascular health. **Br J Nutr** v. 99, p. 447–8, 2008

SOUZA, M. O., SILVA, M., SILVA, M., OLIVEIRA, R.P., PEDROSA, M. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, 26, p.804–810, 2010.

XIE C, KANG J, BURRIS R, FERGUSON ME, SCHAUSS AG, NAGARAJAN S. Açai juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Atherosclerosis**. v. 216, p.327–333, 2011.

CONCLUSÕES GERAIS

O presente estudo observou que o açaí integral é capaz de reduzir o colesterol total, colesterol-LDL e o acúmulo de gotículas de gordura no tecido hepático em animais com dieta hipercolesterolêmica, porém, em animais que com dieta não hipercolesterolêmica os níveis de colesterol não são afetados, mas provocam a diminuição dos triacilgliceróis desses animais.

O resíduo da extração dos compostos fenólicos do açaí não apresentou o mesmo efeito na redução de gotículas de gordura do tecido hepático apresentado pelo açaí integral.

Viçosa, 13 de dezembro de 2012

Ilmo. Sr.
Paulo César Stringheta
Coordenador do Projeto
DTA/UFV

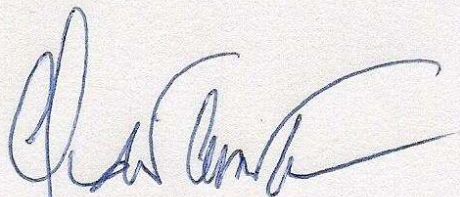
Sr. Coordenador,

Após avaliação da Metodologia utilizada no Projeto de Pesquisa intitulado “*Avaliação do efeito da ingestão crônica de açaí sobre perfil lipídico e no desenvolvimento de doenças hepáticas*”, aqui nomeado Processo 61/2012, a CEUA/UFV emite parecer favorável ao protocolo de utilização de animais proposto, baseado nas Normas para o uso de animais no ensino, pesquisa e extensão do DVT/UFV, no Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, nas Normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e na legislação vigente.

Acresce a esse Parecer a exigência de Relatório Final de Atividades conforme itens a seguir:

RESUMO DOS RESULTADOS FINAIS OBTIDOS A PARTIR DOS EXPERIMENTOS ENVOLVENDO A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS NO PROJETO DE PESQUISA

1. Número do protocolo de submissão do projeto de pesquisa à CEUA/UFV:
2. Metodologia completa obrigatoriamente com:
 - Local (is) Geral e específico oficial (is) onde ocorreram a experimentação;
 - O nome científico do animal em questão;
 - Número Total de Animais Utilizados na Pesquisa.
3. Resultados:
4. Nome do Coordenador do Projeto:
Assinatura:
5. Nome do Responsável Técnico:
Assinatura:
Inscrição em CRMV:



Prof. Cláudio C Fonseca

Comissão de Ética no Uso de Animais da UFV