



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS - NPPM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

GEOVANNI DE MORAIS LIMA

**EFEITOS DA MANTEIGA DA SEMENTE DO BACURI (*Platonia insignis* Mart.) EM
HAMSTERS COM HIPERCOLESTEROLEMIA INDUZIDA POR DIETA
HIPERCOLESTEROLÊMICA**

**TERESINA
2017**

GEOVANNI DE MORAIS LIMA

**EFEITOS DA MANTEIGA DA SEMENTE DO BACURI (*Platonia insignis* Mart.) EM
HAMSTERS COM HIPERCOLESTEROLEMIA INDUZIDA POR DIETA
HIPERCOLESTEROLÊMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. MARIA DO CARMO DE CARVALHO E MARTINS

**TERESINA
2017**

Universidade Federal do Piauí
Serviço de Processamento Técnico
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde

Lima, Geovanni de Moraes

L732e Efeitos da manteiga da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) em hamsters com hipercolesterolemia induzida por dieta hipercolesterolêmica / Geovanni de Moraes Lima. -- 2017.
72 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Pós-Graduação em Farmacologia, 2017.

“Orientadora : Profa. Dra. Maria do Carmo de Carvalho e Martins.” Bibliografia

1. Bacuri. 2. *Platonia insignis* Mart. 3. Perfil lipídico. 4. Atividade antioxidante. I. Título. II. Teresina – Universidade Federal do Piauí.

CDD 615

GEOVANNI DE MORAIS LIMA

**EFEITOS DA MANTEIGA DA SEMENTE DO BACURI (*Platonia insignis* Mart.) EM
HAMSTERS COM HIPERCOLESTEROLEMIA INDUZIDA POR DIETA
HIPERCOLESTEROLÊMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Farmacologia.

Data de aprovação: 31 de JULHO de 2017

BANCA EXAMINADORA

Maria do Carmo de Carvalho e Martins

Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo de Carvalho e Martins
Universidade Federal do Piauí – UFPI (Orientador)

Rosimeire Ferreira dos Santos

Prof^a. Dr^a. Rosimeire Ferreira dos Santos
Universidade Federal do Piauí - UFPI

Ana Mara de O. e Silva

Prof^a. Dr^a. Ana Mara de Oliveira e Silva
Universidade Federal de Sergipe – UFS

AGRADECIMENTOS

A Deus que com sua infinita misericórdia tem norteado a minha vida e me proporcionado oportunidades as quais jamais serei capaz de agradecer suficientemente.

À virgem Maria, a quem sempre recorro nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Gilvan e Auxiliadora, por sempre me apoiarem e darem o suporte necessário para a realização de cada um dos muitos sonhos que fizeram parte da minha história. Obrigado também pelos ensinamentos e por todo o amor – fundamentais para a construção de quem eu me tornei.

Às minhas irmãs, Giselle e Gabrielly, por serem minhas companheiras nesta vida e por todo o apoio, carinho e amor.

À minha orientadora, Prof^a Carminha, que ainda na graduação intermediou o primeiro contato que tive com a pesquisa científica. Além disso, me apoiou do início ao fim do mestrado e, desde sempre, tem sido uma fonte inesgotável de inspiração profissional.

Aos meus amigos do mestrado em farmacologia: Rafael, Antônio, Oscar, Irismara, Nathália, Gele, Larissa, Michel, João e Jalles. Estarei sempre na torcida por vocês, pois conheço e admiro o esforço e comprometimento de cada um.

A todos os professores do mestrado em farmacologia, especialmente à Prof^a Fernanda por todos os conselhos e também pela paciência em resolver cada um dos problemas que surgiram de última hora; à Prof^a Salete e Prof^a Aldeídia por participarem da banca de qualificação e terem contribuído para a escrita desta dissertação; à Prof^a Rosimeire e Prof^a Ana Mara pela pronta disponibilidade a integrarem a banca de defesa e colaborarem para a melhora deste trabalho.

Aos amigos do projeto hamster, Karol, Lays, Luciana, Vanessa e Cristian que compartilharam comigo não apenas momentos de muito trabalho, mas também momentos de muita felicidade e descontração. Jamais me esquecerei de vocês.

Aos demais professores que contribuíram para que essa pesquisa fosse realizada, Prof^a Karol, Prof Daniel e Prof Airton. Destacando também a importância do Prof Paulo Humberto, sempre disponível a esclarecer dúvidas e a auxiliar no planejamento e execução dos protocolos.

Aos funcionários do departamento de biofísica e fisiologia, Irlene, Lúcia, Paulinho, Adriana, Abreu e Esmeralda, pela amizade e pelo auxílio ao longo do desenvolvimento dos experimentos.

A equipe do laboratório do departamento de histologia e embriologia, Cristian, Guerra e Felipe, que auxiliaram nas análises histopatológicas.

Aos funcionários do Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais (NPPM), especialmente Patrícia e Gleice, que sempre estiveram disponíveis para a resolução de problemas.

Ao Benedito, do NPPM, por auxiliar no momento das análises bioquímicas.

Aos alunos da graduação que colaboraram de alguma forma para que esta pesquisa acontecesse, Nicolas, Acássio, Jean, Geraldo, João Guilherme, Andressa e Bianca.

Aos amigos de outros programas de mestrado, Larisse, Daila e Priscyla, com quem pude dividir a bancada algumas vezes e que ajudaram a tornar o laboratório um ambiente ainda mais agradável; agradecimento, em especial, ao Eduardo, que com seu bom humor alegrava qualquer ambiente e fazia com que esquecêssemos o cansaço.

Ao meu amigo Rafael, um irmão que o mestrado permitiu que conhecesse. Não há palavras para agradecer todas as suas contribuições e apoio nos momentos mais difíceis e também mais felizes dos últimos dois anos.

À minha amiga Karol, que foi e é luz na vida de todos que a conhecem e têm a oportunidade de tê-la em sua convivência diária. Agradeço por cada momento que compartilhamos, nossas conversas e piadas internas, que fizeram com que a pesquisa se tornasse mais leve e que a nossa amizade se fortalecesse.

À minha amiga Vanessa, com quem dividi o estágio docência e me acompanhou durante absolutamente todas as análises realizadas, sempre muito empenhada em ajudar - verdadeiro exemplo de amor ao próximo e de que, com fé, tudo está ao nosso alcance. Obrigado por todas as conversas, conselhos e orações.

À Universidade Federal do Piauí pela graduação em nutrição e, agora, pelo mestrado em farmacologia.

À Fundação do Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de mestrado concedida, que foi essencial para o financiamento desta pesquisa.

“Thus, the task is not so much to see what no one yet has seen, but to think what nobody yet has thought about that which everybody sees.”

Arthur Schopenhauer

LIMA, G. M. Efeitos da manteiga da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) em hamsters com hipercolesterolemia induzida por dieta hiperlipídica. 2017. 72 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Universidade Federal do Piauí, 2017.

RESUMO

O bacuri (*Platonia insignis* Mart.) tem sido utilizado na medicina popular por suas atividades anti-inflamatórias e cicatrizante, mas não há relatos de efeito hipocolesteremiante e, por isso, foi avaliado os efeitos da manteiga da semente do bacuri (MB) sobre o perfil lipídico, estado antioxidante, função hepática, peso dos órgãos e parâmetros metabólicos em hamsters. Além disso, foi avaliada a toxicidade aguda em ratos e a atividade antioxidante *in vitro*. Hamsters machos, recém-desmamados, receberam ração contendo caseína (20%), gordura de coco (13,5%) e colesterol (0,1%) durante 21 dias para indução da dislipidemia. O grupo controle normal (CN, n=8) recebeu ração padrão. Após indução, os animais com dislipidemia foram aleatoriamente separados em três grupos, todos mantidos com ração hiperlipídica durante os 28 dias de tratamento: controle dislipidemia (CD, n=8); MB 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10); MB 50 mg/kg/dia (MB-50, n=10). Ao final do tratamento foram determinadas as concentrações séricas de triglicérides (TG), colesterol total (CT), LDL colesterol (LDL-c), HDL-c, malondialdeído (MDA), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FAL), superóxido dismutase (SOD) em eritrócitos, peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal. Durante todo o período experimental, acompanhou-se a ingestão alimentar, ganho de peso e crescimento nasoanal dos grupos tratados e não tratados, e, ao final do período experimental, calculou-se os índices de massa corpórea e de Lee dos grupos. Para a toxicidade aguda, ratos foram divididos em dois grupos: grupo controle (tween 80 em água destilada) e grupo MB 2.000 mg/kg. Atividade antioxidante avaliada pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). A comparação entre grupos foi realizada por análise de variância e teste de Tukey. A pesquisa foi aprovada por Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA/UFPI 197/16). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos MB-25 e MB-50 com CN e CD em relação a TG e CT. Contudo, MB-25 apresentou HDL-C significativamente maior ($51,40 \pm 1,69$) ($p < 0,05$) e LDL-c menor ($103,80 \pm 6,87$) ($p < 0,05$), bem como MB-50 apresentou nível maior ($p < 0,05$) de HDL-c ($51,00 \pm 2,34$) e menor ($p < 0,05$) de LDLc ($100,50 \pm 3,95$) comparados a CD (LDLc= $132,70 \pm 9,41$; HLDc= $41,00 \pm 2,94$). Além disso, CD apresentou níveis de TG ($88,00 \pm 4,30$), COL ($183,00 \pm 9,00$), HDL-c ($41,00 \pm 2,94$) e LDL-c ($132,70 \pm 9,41$) maiores ($p < 0,05$) que CN (TG= $35,00 \pm 5,00$; CT= $95,00 \pm 3,50$; HDLc= $26,88 \pm 2,15$; LDLc= $60,60 \pm 2,26$). Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) em relação à: MDA, ALT, AST, FAL, peso do coração e da gordura retroperitoneal, ingestão alimentar, ganho de peso, crescimento nasoanal e massa corpórea. Entretanto, observou-se um aumento isolado no peso do fígado dos animais dos grupos MB-25 ($5,32 \pm 0,30$) e MB-50 ($5,23 \pm 0,32$), em relação aos do controle normal ($4,07 \pm 0,17$). A MB apresentou baixa toxicidade aguda e demonstrou potencial antioxidante *in vitro* ($EC_{50}=493,10 \mu\text{g/mL}$). Quanto aos níveis de SOD, não foram observadas diferenças entre MB-25 ($1.557 \pm 53,93$), CN ($1.437 \pm 71,70$) e CD ($1.430 \pm 128,90$), entretanto, MB-50 ($1.868 \pm 131,80$) apresentou níveis significativamente maiores ($p < 0,05$) que CN e CD. Em conclusão, o estudo demonstrou que a MB, nas doses e tempo de tratamento empregados, apresenta repercussões positivas sobre o perfil lipídico em hamsters hipercolesterolêmicos. A maior dose de 50 mg/kg produziu aumento isolado nos níveis de SOD, indicando atividade antioxidante e não apresentou toxicidade sistêmica. A MB não demonstrou toxicidade aguda e possui potencial antioxidante *in vitro*.

Palavras-chave: Bacuri; *Platonia insignis* Mart.; Perfil lipídico; Atividade antioxidante.

LIMA, G. M. Effects of bacuri seed butter (*Platonia insignis* Mart.) in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. 2017. Master's thesis (Pharmacology) – Postgraduate Program in Pharmacology, Medicinal Plants Research Center, Federal University of Piauí, 2017.

ABSTRACT

Bacuri (*Platonia insignis* Mart.) has been used in folk medicine for its anti-inflammatory and healing effects, but there are no reports of hypocholesterolemic effect and for this reason, we evaluated the effects of bacuri seed butter (MB) on blood lipid profile, antioxidant status, hepatic function and metabolic parameters in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. In addition, acute toxicity in rats and in vitro antioxidant activity were evaluated. Freshly weaned male hamsters were given chow containing casein (20%), coconut oil (13.5%) and cholesterol (0.1%) for 21 days to induce dyslipidemia. The normal control group (CN, n=8) received standard chow. After induction, the animals with dyslipidemia were randomly separated into three groups, all of them maintained with hyperlipidic chow during 28 days of treatment: Dyslipidemia control (CD, n=8); MB 25 mg/kg/d (MB-25, n=9) and 50 mg/kg/d (MB-50, n=9). At the end, the serum levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), LDL-cholesterol (LDLc), HDL-cholesterol (HDLc), malondialdehyde (MDA), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (FA), the erythrocytes levels of superoxide dismutase activity (SOD), and liver, heart and retroperitoneal adipose tissue weights were measured. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA, followed by Tukey's multiple comparisons test. The research was approved by the Committee on Ethics in Animal Use (CEUA/UFPI 197/16). There were no statistically significant differences between the groups MB-25 and MB-50 with CN and CD in relation to TG, COL. However MB-25 presented higher ($p<0.05$) HDLc (51.4 ± 1.69) and lower ($p<0.05$) LDLc (103.8 ± 6.87) levels, as well as MB-50 presented higher ($p<0.05$) HDLc (51.00 ± 2.34) and lower LDLc (100.5 ± 3.95) levels, compared to CD (LDLc= 132.7 ± 9.41 ; HDLc= 41.00 ± 2.94). Furthermore, CD has shown TG (88.0 ± 4.3), COL (183.00 ± 9.0), HDLc (41.00 ± 2.94) and LDLc (132.7 ± 9.41) levels higher ($p<0.001$) than CN (TG= 35.00 ± 5.0 ; CT= 95.00 ± 3.5 ; HDLc= 26.88 ± 2.15 ; LDLc= 60.60 ± 2.26). No differences were found ($p>0.05$) in relation to MDA, ALT, AST, FA, food intake, weight gain, nasoanal growth, body mass index, and heart and adipose tissue weights. However, MB (25 and 50 mg/kg/day) produced a significant ($p<0.05$) increase in liver weight ($5,32 \pm 0,30$; $5,23 \pm 0,32$, respectively), when compared to the normal control group. MB has shown antioxidant activity in vitro (EC₅₀=493.10 µg/mL) and no signs of acute toxicity in vivo. There was no difference between MB-25 ($1.557.24 \pm 132.10$), CN ($1.436.6 \pm 175.6$) and CD ($1.430.0 \pm 257.8$) in relation to SOD, but it was increased ($p<0.05$) in MB-50 (1.868 ± 131.80) compared to CN and CD. Thus, the present study demonstrated that MB had a positive impact on the serum lipid profiles in hypercholesterolemic hamsters. The higher dose of 50 mg/kg produced isolated increase in SOD levels, indicating antioxidant activity, and showed no systemic toxicity. Moreover, MB presented antioxidant activity in vitro and no acute toxicity in vivo.

Keywords: Bacuri; *Platonia insignis* Mart.; Lipid profile; Antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01 – Representação esquemática do processo de absorção de gorduras.....	16
FIGURA 02 – Representação esquemática do metabolismo das lipoproteínas plasmáticas.....	18
FIGURA 03 – Representação esquemática da formação de placas ateroscleróticas.....	20
FIGURA 04 – Fruto do bacurizeiro (<i>Platonia insignis</i> Mart.).....	24
FIGURA 05 – Delineamento das etapas do protocolo experimental.....	31
FIGURA 06 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> , pelo método DPPH, da manteiga da semente do bacuri.....	36
FIGURA 07 - Consumo de ração de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) durante 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	37
FIGURA 08 - Ganho de peso de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) durante 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	38
FIGURA 09 - Concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total, HDL-CT e LDL-CT de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	43
FIGURA 10 - Concentrações plasmáticas de malondialdeído de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	45
FIGURA 11 – Atividade da enzima mieloperoxidase de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	46

FIGURA 12 - Atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia)..... 47

FIGURA 13 – Micrografias de fígado de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia)..... 49

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – Necessidades nutricionais de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) alimentados <i>ad libitum</i>	30
TABELA 02 – Efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) sobre o peso de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>).....	39
TABELA 03 – Efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) sobre o comprimento nasoanal de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>).....	40
TABELA 04 – Índices de Lee e de massa corporal (IMC) de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) após 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	40
TABELA 05 – Peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) após 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	41
TABELA 06 – Efeito do tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) no índice aterogênico (IA), índice de risco arterial coronário (CRI), razão HDL/CT e razão LDL/CT em modelo experimental de dislipidemia induzida por dieta em hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>).....	44
TABELA 07 – Concentrações séricas de AST, ALT e FAL (U/L) de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).....	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA%	Percentual de atividade antioxidante
ABCA1	Proteína A1 de ligação ao cassete de ATP
ABCG1	Proteína G1 de ligação ao cassete de ATP
ABS	Absorbância
AG	Ácidos graxos
AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
ApoA1	Apolipoproteína A1
ApoB	Apolipoproteína B
AT1	Receptor de angiotensina II, tipo 1
CAT	Catalase
CETP	Proteína de transferência de colesterol esterificado
CL	Colesterol
CN	Grupo controle normal
Conc	Concentração
CONCEA	Conselho nacional de controle de experimentação animal
CD	Grupo controle dislipidemia
CRI	Índice de risco arterial coronário
CT	Colesterol total
DAG	Diacilglicerol
DL50	Dose letal média
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
EC50	Concentração que induz metade do efeito máximo
EPM	Erro padrão da média
FAL	Fosfatase alcalina
GPx	Glutaciona peroxidase
GSHNP	Grupos sulfidrílicos não-proteicos
Hb	Hemoglobina

HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase
IA	Índice aterogênico
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1
LCAT	Lecitina-colesterol aciltransferase
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LDLR	Receptor de lipoproteína de baixa densidade
LPA	Ácido lisofosfatídico
MAG	Monoacilglicerol
MB-25	Manteiga da semente de bacuri 25 mg/kg/dia
MB-50	Manteiga da semente de bacuri 50 mg/kg/dia
MCH-1	Proteína quimiotática de monócitos 1
MDA	Malondialdeído
MTP	Proteína de transferência de triglicerídeo microsomal
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NO	Óxido nítrico
OECD	Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PCO	Proteínas carboniladas
PKC	Proteína quinase C
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SB	Sais biliares
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SOD	Superóxido dismutase
SR-B1	Receptor scavenger classe B tipo 1
TBARS	Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicerídeos
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1
VLDL-c	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Metabolismo lipídico, dislipidemias e aterosclerose.....	15
1.2 A importância do estresse oxidativo e o tratamento da dislipidemia.....	21
1.3 Bacuri (<i>Platonia insignis</i> Mart.).....	23
2. OBJETIVOS	26
2.1 Geral.....	26
2.2 Específicos.....	26
3. METODOLOGIA	27
3.1 Obtenção da manteiga do bacuri.....	27
3.2 Determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> pela atividade sequestrante do radical livre DPPH.....	27
3.3 Animais.....	27
3.4 Avaliação de toxicidade aguda com dose fixa em ratos <i>Wistar</i>	28
3.5 Ensaio biológico.....	28
3.6 Dietas experimentais.....	29
3.7 Delineamento experimental.....	30
3.8 Análise de marcadores do metabolismo lipídico.....	32
3.8.1 Índices de aterosclerose.....	32
3.9 Avaliação de marcadores de hepatotoxicidade	32
3.10 Marcadores de estresse oxidativo e atividade antioxidante.....	33
3.10.1 Determinação do malondialdeído plasmático.....	33
3.10.2 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária.....	33
3.10.3 Determinação da atividade da mieloperoxidase plasmática.....	34
3.11 Análise histológica.....	35
3.12 Critérios éticos.....	35
3.13 Análise estatística.....	35
4. RESULTADOS	36
4.1 Determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> da manteiga da semente do bacuri.....	36

4.2 Toxicidade aguda da manteiga da semente do bacuri em ratos <i>Wistar</i>	36
4.3 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a ingestão alimentar de hamsters hipercolesterolêmicos.....	37
4.4 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a evolução ponderal, o crescimento e o peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal de hamsters hipercolesterolêmicos.....	38
4.5 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre o perfil lipídico de hamsters hipercolesterolêmicos.....	41
4.6 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a peroxidação lipídica de hamsters hipercolesterolêmicos.....	44
4.6.1 Concentrações de malondialdeído (MDA).....	45
4.6.2 Atividade da mieloperoxidase (MPO).....	45
4.7 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a atividade antioxidante de hamsters hipercolesterolêmicos.....	46
4.8 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a função hepática de hamsters hipercolesterolêmicos.....	47
4.9 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a morfologia do fígado de hamsters hipercolesterolêmicos.....	48
5. DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÃO	56
7. PERSPECTIVAS	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO A: PARECER DE APROVAÇÃO DOS PROTOCOLOS COM <i>Mesocricetus auratus</i> PELO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA/UFPI)	70
ANEXO B: PARECER DE APROVAÇÃO DO PROTOCOLO COM <i>Rattus norvegicus</i> PELO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	72

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares estão entre as principais causas de morte em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Apenas em 2013, as doenças cardiovasculares foram responsáveis pelo óbito de cerca de 17 milhões de pessoas, no mundo (ROTH et al., 2015). No ano de 2010, no Brasil, as doenças cardiovasculares foram as principais causas de morte (DUNCAN; STEVENS; SCHMIDT, 2012).

A doença cardiovascular aterosclerótica responde por metade dos casos de morbimortalidade no mundo inteiro. A aterosclerose é caracterizada pela formação de placas de ateromas no interior do endotélio, com conseqüente comprometimento da capacidade elástica da musculatura lisa endotelial. Neste contexto, a dislipidemia, na qual é observada a presença de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, com elevação dos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e redução dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c), representa um fator-chave no seu desenvolvimento (XAVIER et al., 2013).

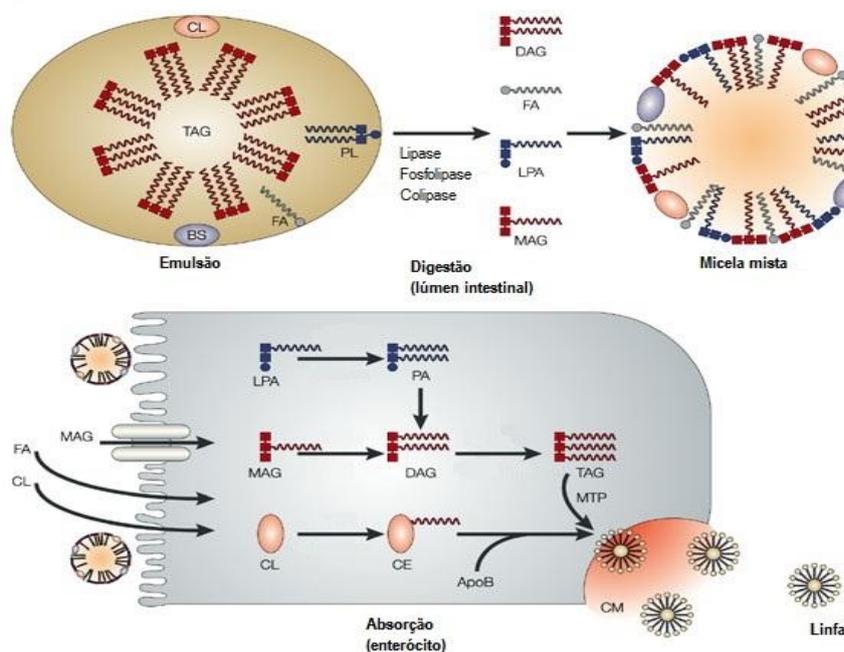
A dislipidemia, como conseqüência da ingestão de dietas hipercalóricas, encontra-se associada à depleção de enzimas antioxidantes e ao aumento do estresse oxidativo. Estudos demonstraram que a ingestão de dieta hiperlipídica aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (MATSUZAWA-NAGATA et al., 2008; VIJAYAKUMAR; SURYA; NALINI, 2004), além de reduzir a atividade de enzimas antioxidantes e aumentar os níveis de malondialdeído (MDA) e proteínas carboniladas (PCO) (NOEMAN; HAMOODA; BAALASH, 2011). E, que a elevação dos níveis de LDL-c, quando acompanhada de excesso de ROS, produz aumento da oxidação do LDL-c e, assim, aumento do risco de aterosclerose (AZUMI et al., 2002).

1.1 Metabolismo lipídico, dislipidemias e aterosclerose

As gorduras obtidas através da dieta são absorvidas no intestino, após as etapas de emulsificação e digestão, e captadas através da formação de micelas mistas, até que, por último, atinjam a linfa e a circulação (Figura 01). Durante a ingestão, os lipídios são submetidos à ação de lipases linguais e gástricas e

misturados através da peristalse antral, gerando glóbulos de gordura e fosfolipídios. Ao atingir o lúmen do duodeno, a emulsão é misturada ao suco pancreático, o que produz hidrólise da gordura, principalmente por ação da lipase pancreática, e, simultaneamente, ocorre solubilização promovida por sais biliares (SB), formando micelas de gordura, compostas por monoacilglicerol (MAG), diacilglicerol (DAG), ácidos graxos (AG), colesterol (CL) e ácido lisofosfatídico (LPA) (ROS, 2000; SHI; BURN, 2004). Para que sejam captados, os lipídios dissociam-se das micelas, o que permite a sua difusão passiva através da membrana microvilosa, na qual, o MAG e os AG sofrem reesterificação, dentro do retículo endoplasmático, para formar triacilglicerol, e o colesterol é convertido em éster de colesterol (SHI; BURN, 2004). Em seguida, são transportados para a linfa por meio de quilomícrons, cuja formação é facilitada pela proteína de transferência de triglicerídeo microssomal (MTP), na presença da Apolipoproteína B48 (ApoB48). Posteriormente, os quilomícrons alcançam a circulação através do ducto torácico (HUI; HOWLES, 2005).

Figura 01: Representação esquemática do processo de digestão e absorção de gorduras.



Fonte: Adaptado de Shi e Burn, 2004.

Legenda: TAG, triacilglicerol; CL, colesterol; BS, sais biliares; FA, ácidos graxos livres; PL, fosfolipídios; DAG, diacilglicerol; LPA, ácido lisofosfatídico; MAG, monoacilglicerol; CE, éster

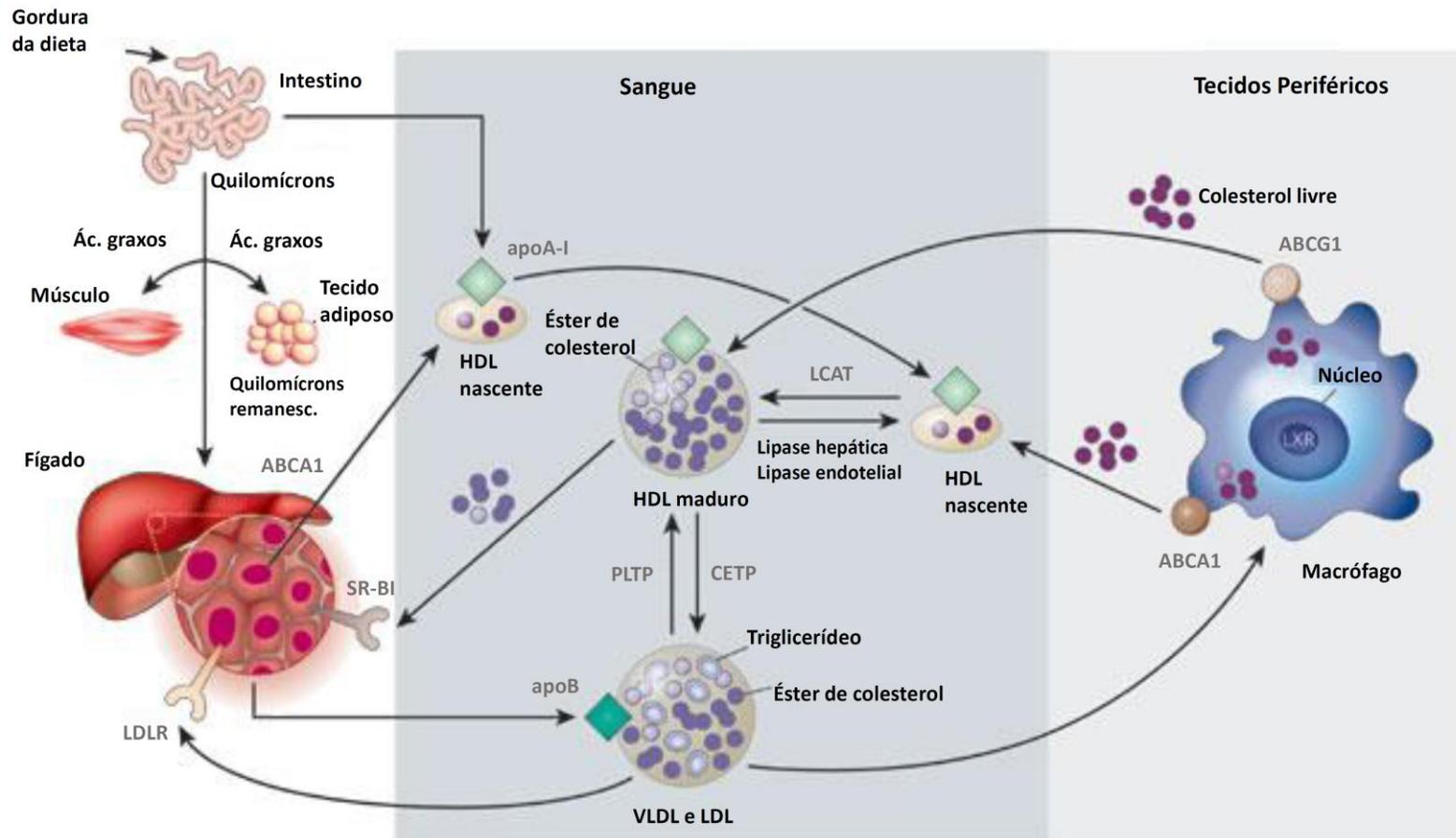
de colesterol; MTP, proteína de transferência de triglicérido microsomal; ApoB, Apolipoproteína B; CM, quilomícrons.

Os quilomícrons são lipoproteínas grandes que transportam lipídios hidrofóbicos, como os triglicéridos e ésteres de colesterol, em seu interior, enquanto apresentam apolipoproteínas e fosfolipídios na membrana externa, conferindo transporte adequado a esses lipídios em meio aquoso (ROS, 2000). Após distribuição pelos tecidos periféricos, parte dos quilomícrons é hidrolisada por ação da lipoproteína lipase (LPL), liberando o colesterol e os triglicéridos para metabolização e/ou armazenamento nos tecidos-alvo, e os quilomícrons remanescentes ligam-se a receptores, no fígado, sendo captados, com posterior liberação do seu conteúdo de lipídios, e, em seguida, submetidos à degradação (FRANSSEN et al., 2011).

No fígado, o colesterol e os triglicéridos, após serem liberados dos quilomícrons remanescentes, são transportados através da Apolipoproteína B100 (apoB) presente na lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c), que pode sofrer hidrólise pela lipoproteína lipase, produzindo LDL-c que, ao atingir tecidos periféricos, liga-se às células, como, por exemplo, aos macrófagos, através do receptor de LDL-c (LDLR), liberando o seu conteúdo de colesterol e triglicéridos (Figura 02) (OLOFSSON; STILLEMARCK-BILLTON; ASP, 2000).

A HDL, por sua vez, é produzida no intestino delgado e no fígado, e promove o efluxo de colesterol das células de tecidos periféricos através da proteína A1 de ligação ao cassete de ATP (ABCA1) e da proteína G1 de ligação ao cassete de ATP (ABCG1) para a HDL nascente e HDL-c madura, respectivamente, que apresentam Apolipoproteína AI (apo-AI) no seu interior. A HDL madura pode realizar o transporte reverso do colesterol de duas maneiras: transferindo o seu conteúdo de colesterol esterificado para a LDL, por meio da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), permitindo assim que a LDL sofra recaptação pelo LDL-R hepático e posterior degradação; ou, ainda, retornar ao fígado e ser captada pelo receptor scavenger classe B tipo 1 (SR-B1), levando, ao final, ao catabolismo do colesterol transferido e à liberação do HDL-c de volta para a circulação (CHARLTON-MENYS; DURRINGTON, 2008; RADER; DAUGHERTY, 2008).

Figura 02: Representação esquemática do metabolismo das lipoproteínas plasmáticas.



Fonte: Adaptado de Rader e Daugherty, 2008.

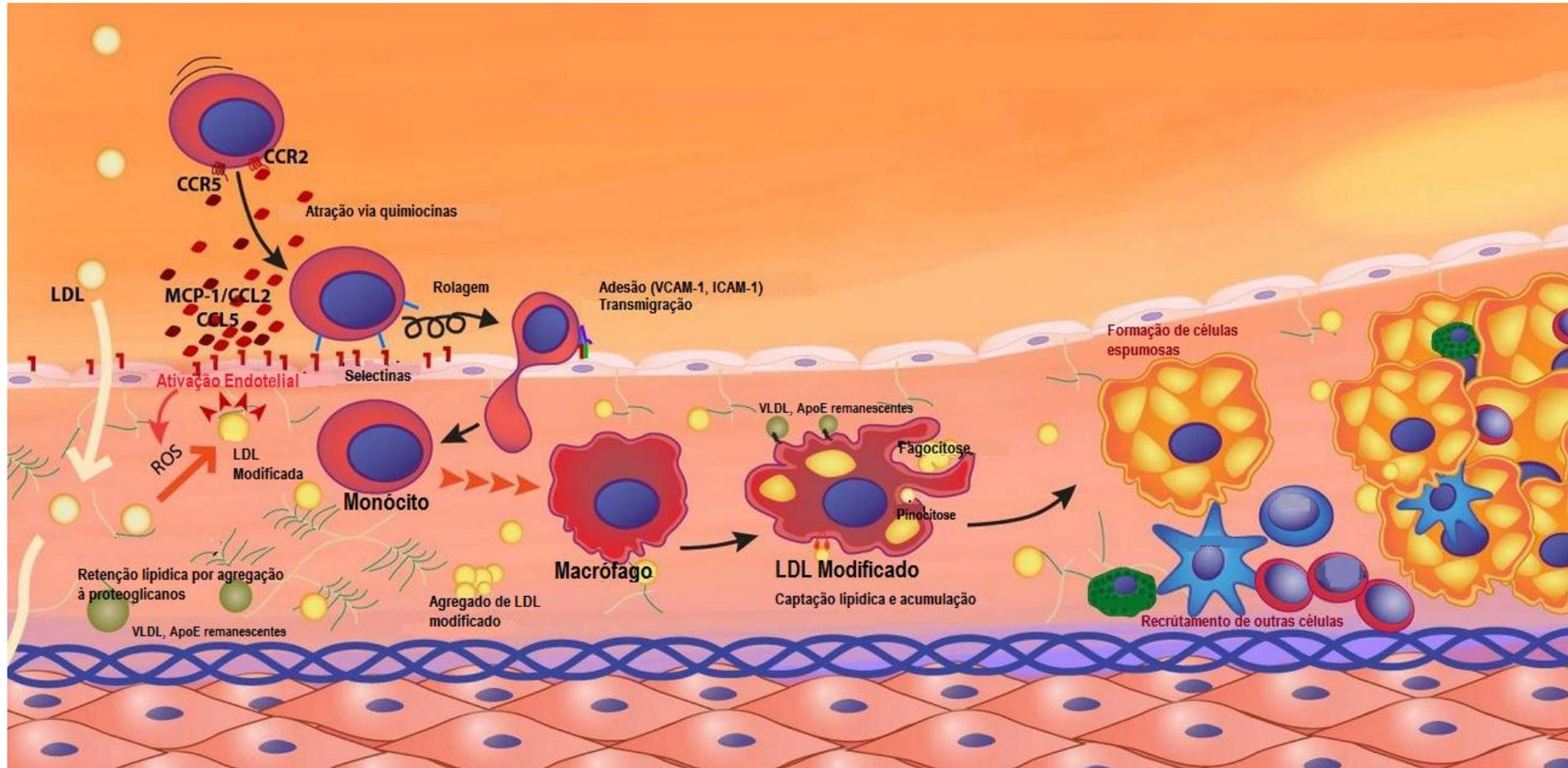
Legenda: ABCA1, proteína A1 de ligação ao cassete de ATP; ABCG1, proteína G1 de ligação ao cassete de ATP; SR-B1, receptor scavenger classe B tipo 1; apoA-1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; LCAT, lecitina-colesterol aciltransferase; PLTP, proteína de transferência de fosfolipídios; CETP, proteína de transferência de ésteres de colesterol.

O nível de colesterol sérico é regulado pela quantidade de colesterol ingerida e pelo processo de síntese *de novo*, através de complexos mecanismos de retroalimentação. Assim, a ingestão excessiva de colesterol desencadeia, principalmente, uma redução da atividade da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA redutase) - enzima limitante na biossíntese de colesterol –, enquanto a sua baixa ingestão regula positivamente a quantidade e a atividade desta enzima, resultando, por último, em elevação dos níveis de colesterol e, com isso, do seu transporte por meio de lipoproteínas de densidades mais baixas (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002).

Na hipercolesterolemia, como resultado da ingestão de alimentos ricos em gordura e açúcares simples, observa-se elevação dos níveis plasmáticos de colesterol total e de LDL-c, redução dos níveis de HDL-c e, em alguns casos, é acompanhada de hipertrigliceridemia, que contribui com um aumento marginal no risco de aterosclerose (CHANG; ROBIDOUX, 2017). Além disso, baixos níveis de HDL-c, por si só, representam elevado risco de aterosclerose, mesmo quando houver redução dos níveis de LDL-c em pacientes hipercolesterolêmicos, em razão do papel do HDL-c-c no transporte reverso do colesterol (CASTELLI et al., 1998).

A formação da placa aterosclerótica ocorre pelo acúmulo de lipoproteínas de densidade mais baixa, que se encontram elevadas na circulação, na camada íntima das artérias (Figura 03). Durante a aterosclerose, as partículas de LDL que se depositam nas artérias são retidas e sofrem modificações provocadas por espécies reativas de oxigênio (ROS), bem como pela mieloperoxidase e pela esfingomielinase, produzindo uma LDL modificada (RADER; DAUGHERTY, 2008). Por sua vez, a LDL modificada ativa células endoteliais, promovendo o aumento da expressão da proteína quimiotática de monócitos 1 (MCH-1) e de moléculas que facilitam a adesão de monócitos, entre elas, as selectinas e a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1) (LINTON et al., 2015). Esses monócitos sofrem posterior diferenciação, gerando macrófagos que, posteriormente, transformam-se em células espumosas. Com a progressão das lesões, ocorre infiltração de células imunes, como os linfócitos T e mastócitos que em conjunto com macrófagos produzem citocinas inflamatórias, levando à apoptose e formando núcleo necrótico (WANG et al., 2012). Por último, as placas causam estreitamento arterial e sua progressão pode levar a ataques cardíacos e morte (BERG et al., 2002).

Figura 03: Representação esquemática da formação de placas ateroscleróticas.



Fonte: Adaptado de Linton et al., 2015.

Legenda: LDL, lipoproteína de baixa densidade; VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade; ROS, espécies reativas de oxigênio; ApoE, Apolipoproteína E; CCR5, receptor C-C de quimiocina tipo 5; CCR2, receptor C-C de quimiocina tipo 2; MCP-1, proteína quimiotática de monócitos 1; CCL2, ligante de quimiocinas 2; CCL5, ligante de quimiocinas 5; VCAM-1, molécula de adesão celular vascular 1; ICAM-1, molécula de adesão intercelular 1.

1.2 A importância do estresse oxidativo e o tratamento da dislipidemia

O estresse oxidativo está envolvido na patogênese de diversas doenças crônicas e os principais sistemas oxidantes endógeno, responsáveis pela produção de espécies reativas incluem a óxido nítrico sintase, a xantina oxidase e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH oxidase) (HARRISON et al., 2003). A óxido nítrico sintase medeia a produção de espécies reativas de nitrogênio a partir do óxido nítrico, cujo produto terminal de oxidação é o nitrito, induzindo modificações em proteínas e lipídios, como a observada na aterosclerose, em que ocorre nitração da tirosina, gerando o radical 3-nitrotirosina (LEOPOLD; LOSCALZO, 2009). O ânion superóxido (O_2^-) é produzido principalmente pela xantina oxidase, na conversão de xantina em ácido úrico, ao utilizar o oxigênio como aceptor de elétrons, e sua atividade aumentada está relacionada à aterosclerose (RIZZO et al., 2009; PATETSIOS et al., 2001). O sistema NADPH oxidase também é responsável pela produção de O_2^- na aterosclerose e sua ativação, assim como do sistema xantina oxidase, pode ser mediada via receptores AT1 de angiotensina II (WARNHOLTZ et al., 1999; LANDMESSER, 2007). Espécies reativas de oxigênio, como o superóxido, e reativas de nitrogênio, como o peroxinitrito, também podem ser produzidas durante a respiração mitocondrial, no metabolismo do ácido araquidônico e pelo citocromo P450 (LEOPOLD; LOSCALZO, 2009; TAYLOR; DAVIDGE; ROBERTS, 2009).

O aumento da produção de espécies reativas e a redução de antioxidantes levam ao estresse oxidativo. No organismo, o sistema antioxidante é regulado pela quantidade desses compostos obtidos de maneira exógena, a partir da dieta, e através da produção endógena (IRSHAD, M.; CHAUDHURI, 2002; RODRIGO; MIRANDA; VERGARA, 2011). E as principais enzimas endógenas com atividade antioxidante descritas são a superóxido dismutase (SOD), a glutathione peroxidase (GPx) e a catalase (CAT). A SOD apresenta especificidade para a dismutação de O_2^- , gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2), enquanto a GPx reduz hidroperóxidos orgânicos e H_2O_2 , e a CAT decompõe H_2O_2 (MIAO; CLAIR, 2009; WEYDERT; CULLEN, 2010; BUETTNER, 2011).

O desequilíbrio do sistema antioxidante, que por sua vez desencadeia aumento da produção de espécies reativas, desempenha papel crucial na

aterosclerose, promovendo a oxidação da LDL, que se encontra elevada na hiperlipidemia (HARRISON et al., 2003). A LDL, após penetrar no endotélio vascular, está sujeita à oxidação, levando à formação da LDL-oxidada ou modificada que, juntamente à outras moléculas pró-oxidantes, como o peroxinitrito, pode inibir a atividade do óxido nítrico (NO) sobre a musculatura lisa vascular, inibindo a vasodilatação mediada pelo endotélio e, com isso, aumentando o risco de eventos aterotrombóticos (NAKAJIMA; NAKANO; TANAKA, 2006; STEFFEN et al., 2007).

O acúmulo de LDL-oxidada no endotélio é acompanhado pela captação dessas partículas pelos macrófagos, bem como pelo recrutamento e diferenciação de monócitos, seguido da formação de células espumosas, as quais darão início à geração de placas de ateroma (RADER; DAUGHERTY, 2008). E a ativação da proteína quinase C (PKC) parece estar relacionada com os mecanismos intracelulares envolvendo a captação da LDL-oxidada por macrófagos, e a sua inibição resulta em menor desenvolvimento de aterosclerose mediada pela LDL-oxidada (FENG et al., 2000; OSTO et al., 2008a). Outras proteínas envolvidas na resposta ao estresse são as quinases c-Jun N-terminal, que são encontradas em placas ateroscleróticas avançadas e estão envolvidas no estresse oxidativo induzido por hipercolesterolemia, bem como na disfunção vascular (OSTO et al., 2008b).

Desta forma, o avanço da placa aterosclerótica, através do acúmulo e da oxidação da LDL-c no endotélio vascular, promovido pelo aumento de fatores pró-oxidantes, levam à formação do núcleo apoptótico e aumentam o risco de morte por doença cardiovascular. Portanto, a prevenção e o tratamento da dislipidemia são a chave para a redução da morbimortalidade por aterosclerose (JELLINGER, 2017).

O tratamento da dislipidemia envolve a terapia farmacológica e não-farmacológica. A mudança de hábitos alimentares, com restrição da ingestão de gordura saturada e de colesterol, e a prática de exercícios físicos reduzem o risco de desenvolvimento de aterosclerose e representam a terapia não-farmacológica (XAVIER et al., 2013). A terapia farmacológica se dá a partir do emprego de estatinas, resinas e ezetimiba, entre outros, que auxiliam na regulação dos níveis séricos de colesterol, reduzindo à síntese de colesterol no fígado, a sua absorção intestinal ou inibindo o seu transporte (XAVIER et al., 2013; MAGALHÃES et al., 2004). Por outro lado, sabe-se que o uso desses medicamentos é limitado em virtude dos seus efeitos adversos, entre eles, a mialgia, o aumento de

transaminases hepáticas, e alterações da motilidade intestinal, tais como constipação ou diarreia (GRUNDY et al., 2014; BADER et al., 2010).

O emprego de plantas medicinais e de seus produtos na terapêutica das dislipidemias tem sido crescente em virtude de produtos naturais apresentarem um menor custo e maior facilidade de obtenção, quando comparados a medicamentos sintéticos. Além disso, a riqueza de espécies de plantas com atividade farmacológica já investigada aumenta o interesse popular por esses produtos e tem impulsionado a busca por terapias alternativas (SIMÕES et al., 1998). As plantas medicinais são frequentemente utilizadas no tratamento da dislipidemia e obesidade pela população, que consideram o seu uso como sendo mais seguro que o tratamento com medicamentos sintéticos (SILVA; FREIRE 2010; MONTELES; PINHEIRO, 2007; BORBA; MACEDO, 2006).

1.3 Bacuri (*Platonia insignis* Mart.)

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), espécie frutífera pertencente à família Clusiaceae, é uma planta arbórea, tipicamente tropical, e apresenta um caule ereto, medindo de 15 a 25 m de altura, cujas áreas de ocorrência abrangem os Estados do Pará, Maranhão e Piauí (SINIMBÚ-NETO; MARTINS; BARBOSA, 2001; SOUZA et al., 2001). O bacuri, fruto do bacurizeiro, é um dos mais importantes entre os frutos da floresta amazônica e tem se destacado por sua fineza e nobreza, sendo bastante disputado entre coletores e consumidores. Sua polpa, de cor branca e odor pungente, utilizada na produção de sucos, doces e outras sobremesas (Figura 04) (CLEMENT; VENTURIERI, 1990; FERREIRA et al., 1987; CAVALCANTE et al., 1996; SHANLEY; MEDINA, 2005).

Figura 04: Fruto do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.).



Fonte: Perrone, 2017.

O bacuri apresenta forma oblata e oblonga; possui resinas em seu pericarpo e apresenta espessura grossa, com peso total do fruto variando de 200 a 1.000 g. Além disso, a sua casca apresenta cor amarelada, enquanto sua polpa é esbranquiçada e succulenta (SILVA et al., 2010). Em virtude de suas características sensoriais, tem impulsionado o agronegócio, aumentando o seu consumo pela população do Norte e Meio-Norte do Brasil (MOURÃO; BELTRATI, 1995; ALVES; JENNINGS, 1979; VILLACHICA et al., 1996). Outrossim, compostos voláteis presentes no bacuri apresentam importância na produção de novos sabores e aromas de interesse para a indústria de alimentos (UEKANE et al., 2017). Além disso, estudos *in vitro* têm demonstrado que o bacuri se apresenta como uma importante fonte de compostos antioxidantes, o que amplia ainda mais o seu potencial econômico na região (RUFINO et al., 2010; VIEIRA et al., 2011; COSTA JÚNIOR et al., 2011).

Na medicina popular, o fruto da *Platonia insignis* Mart. tem sido utilizado como anti-inflamatório e cicatrizante, e também no tratamento de diarreias, eczemas e queimaduras (SHANLEY; MEDINA, 2005; AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; OLIVEIRA-JÚNIOR; CONCEIÇÃO, 2010; BRAGA, 1976). Atividade anti-inflamatória (COSTA JÚNIOR et al., 2013a), neuroprotetora (COSTA JÚNIOR et al., 2010), cicatrizante (SANTOS-JÚNIOR et al., 2010), antiplasmodial (MARTI et al., 2010) e leishmanicida (COSTA JÚNIOR et al., 2013b) também foram identificadas na polpa e subprodutos do bacuri, como a casca e as sementes. Além disso, composto isolado do fruto do bacuri demonstrou potencial como anti-hipertensivo

(ARCANJO et al., 2014) e foi demonstrada atividade antioxidante e anticonvulsivante na sua fração acetato de etila (COSTA-JÚNIOR et al., 2011a). Nenhum estudo até o momento identificou os efeitos da manteiga da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) em modelo de dislipidemia experimental, e, em virtude da existência de trabalhos indicando importante atividade antioxidante do bacuri e de seus subprodutos (VIEIRA et al., 2011; COSTA JÚNIOR et al., 2011a; RUFINO et al., 2010), o presente trabalho objetivou investigar os seus efeitos sobre a dislipidemia em hamsters submetidos à dieta hiperlipídica.

2 OBJETIVOS

2.1.1 Geral

Avaliar o efeito da manteiga da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) no metabolismo lipídico, estresse oxidativo e função hepática em modelo experimental de dislipidemia.

2.1.2 Específicos

- Avaliar a toxicidade aguda *in vivo* da manteiga da semente de bacuri (*Platonia insignis* Mart.);
- Determinar o potencial antioxidante *in vitro* da manteiga do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) através do ensaio com difenil-picril-hidrazil (DPPH);
- Analisar o efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sobre os níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol total e frações em hamsters hipercolesterolêmicos;
- Determinar o efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sobre a ingestão alimentar, ganho de peso, crescimento nasoanal e massa corpórea (índice de massa corporal e índice de Lee);
- Identificar o efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sobre a atividade das enzimas superóxido dismutase eritrocitária e mieloperoxidase plasmática, e sobre os níveis de malondialdeído plasmático em hamsters hipercolesterolêmicos;
- Verificar o efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sobre o peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal, bem como na atividade de enzimas hepáticas (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e fosfatase alcalina) em hamsters hipercolesterolêmicos;
- Analisar o efeito do tratamento com a manteiga da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sobre a morfologia do fígado em hamsters hipercolesterolêmicos.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção da manteiga do bacuri

A manteiga da semente de bacuri (*Platonia insignis* Mart) utilizada nos protocolos animais e estudo *in vitro* foi fornecida pela empresa Amazon Velas Indústrias e Comércio Ltda, intitulada “Manteiga da semente de bacuri virgem / Manteiga do bacuri”.

3.2 Determinação da atividade antioxidante *in vitro* pela atividade sequestrante do radical livre DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de captura de radicais 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) segundo Sousa et al. (2007). As determinações foram realizadas em triplicata em concentrações crescentes (30, 60, 120, 240, 480, 720, 960 e 1000 mg/mL) da solução etanólica da manteiga do bacuri. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 517 nm, após 30 minutos do início da reação.

3.3 Animais

Para os protocolos de toxicidade aguda em dose fixa foram utilizados 12 *Rattus norvegicus* machos, adultos, provenientes do biotério do Centro de Ciências Agrárias da UFPI. Para os demais experimentos, foram utilizados 36 hamsters (*Mesocricetus auratus*), machos, recém-desmamados, com 16 dias de idade, com padrão sanitário convencional, provenientes do biotério da Empresa ANILAB Animais de Laboratório, Criação e Comércio LTDA - EPP registrada no CONCEA sob o CIAEP N° 01.0264.2014. O transporte destes animais até a Universidade Federal do Piauí foi realizado em avião por uma empresa especializada (Biotécnicas Comércio e Instalações Ltda).

Os animais foram mantidos por um período de aclimatação de 20 dias. Durante todo o período de aclimatação e do protocolo experimental, ficaram dispostos em gaiolas individuais, em local arejado, com temperatura em torno de 20

a 25 °C, umidade relativa de 55 %, sendo expostos ao ciclo claro-escuro de 12 horas e com acesso a água e ração *ad libitum*. As rações destinadas aos animais (de acordo com grupo experimental) foram pesadas e trocadas a cada dois dias para verificar a quantidade ingerida por cada animal, desprezando-se qualquer remanescente da dieta. Os animais foram avaliados a cada três dias quanto ao peso corporal, enquanto o comprimento nasoanal foi determinado no primeiro dia de indução de hipercolesterolemia, no primeiro dia de tratamento e no dia da eutanásia. A partir desses dados, foi obtido o índice de Lee, um índice de massa corporal utilizado para roedores calculada pela razão entre a raiz cúbica do peso e o comprimento nasoanal, e o produto dessa operação multiplicado por 10³; enquanto o índice de massa corporal foi calculado pela razão entre o peso e a comprimento nasoanal elevado ao quadrado.

3.4. Avaliação de toxicidade aguda com dose fixa em ratos

Rattus norvegicus machos (250-350 g), adultos, foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos contendo seis animais cada um, sendo o controle tratado com veículo (tween 80 em água destilada) e o grupo manteiga de bacuri tratado com 2.000 mg/kg da manteiga da semente do bacuri. O tratamento foi realizado em dose única e os animais foram observados por 8 horas no primeiro dia do tratamento, e a partir daí diariamente por 14 dias. Os parâmetros avaliados foram: estado de alerta, sedação, ptose palpebral, dispneia, micção, diarreia, convulsão, atividade motora espontânea, reflexo postural, piloereção, resposta ao tato e morte, dentre outros. A toxicidade aguda foi avaliada com base no número de mortes, de acordo com o protocolo 420 (método da dose fixa) da *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) (VAN DEN HEUVEL et al., 1990; WHITEHEAD; CURNOW, 1992).

3.5 Ensaio biológico

O protocolo experimental foi conduzido no Biotério de Experimentação do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Piauí. Utilizou-se hamsters, no modelo experimental, em virtude da semelhança do seu metabolismo lipídico ao

de seres humanos, transportando uma parcela significativa do seu colesterol plasmático por meio da lipoproteína LDL. Além disso, são mais sensíveis à dietas suplementadas com alto teor de gordura do que outros roedores (FROTA et al, 2008).

O número de animais escolhido para compor cada grupo experimental foi baseado em artigos publicados recentemente, em que testaram hipóteses semelhantes à do presente estudo (UM et al., 2013; YAO et al., 2014, THOMAZ et. al 2014).

3.6 Dietas experimentais

A alimentação dos animais durante os primeiros 20 dias de adaptação foi realizada com ração comercial AIN-93. Após esse período, foram distribuídos para compor diferentes grupos, que receberam: ração comercial para hamsters em crescimento AIN-93 (controle normal), durante 49 dias; ração hipercolesterolêmica, contendo 20 % de caseína, 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol, durante 49 dias (21 dias para indução de hipercolesterolemia + 28 dias de período experimental), para grupos controle dislipidemia e tratados com manteiga da semente do bacuri (25 mg/kg/dia ou 50 mg/kg/dia).

A ração hipercolesterolêmica foi formulada seguindo as recomendações nutricionais para hamsters em fase de crescimento (animal com 35 a 130g), segundo o *National Research Council* (1995) (Tabela 01), com adição de uma mistura de minerais e vitaminas adequadas ao crescimento de roedores, de acordo com recomendações da AIN-93 (REEVES et al., 1993).

Tabela 01: Necessidades nutricionais de hamsters (*Mesocricetus auratus*) alimentados *ad libitum*.

Componentes da dieta/energia	% / Kg de Ração
Fibra alimentar	5 a 15
Carboidratos	65
Lipídios	4 a 20
Proteínas	18 a 24

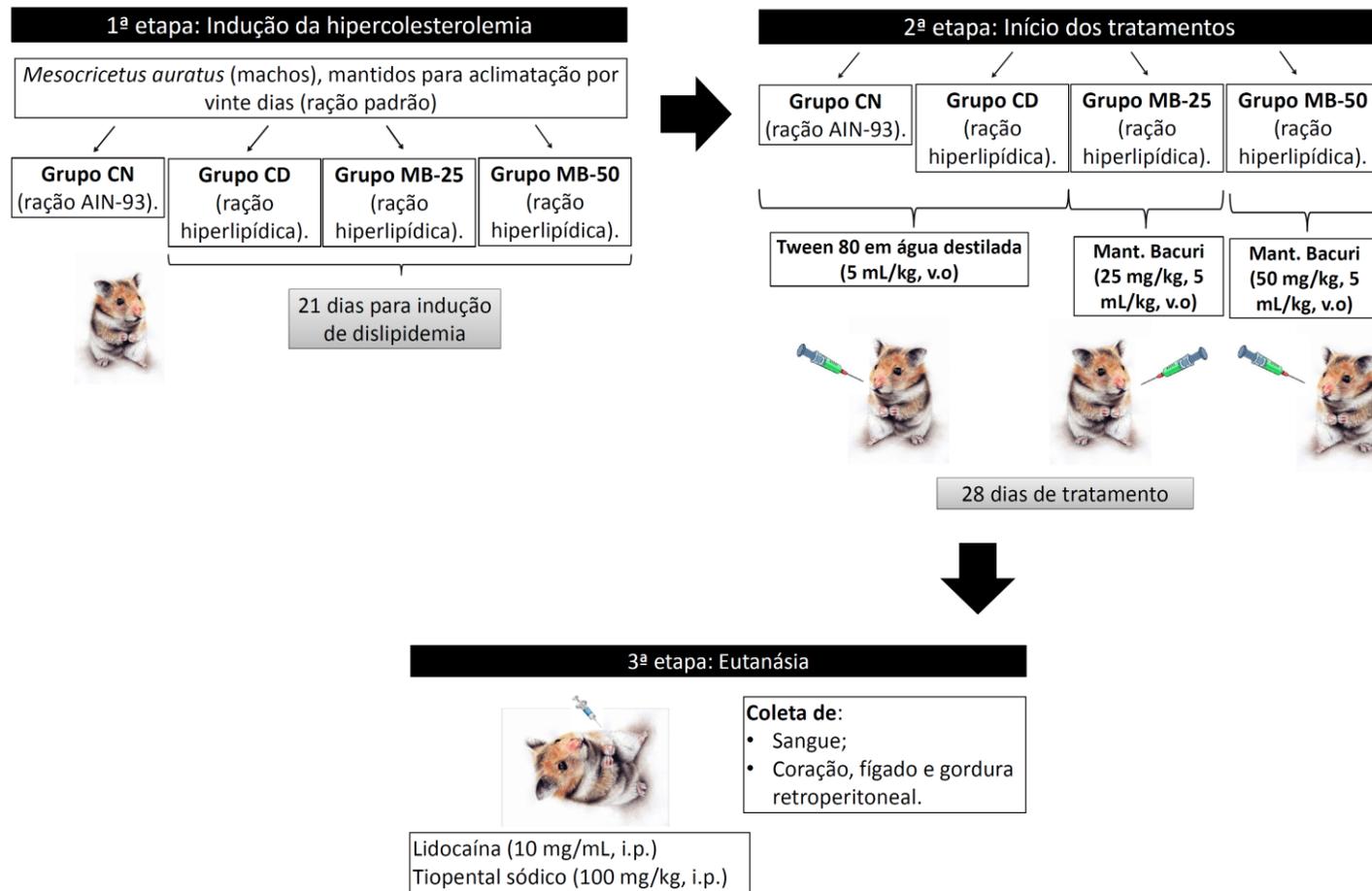
Fonte: *National Research Council* (1995).

3.7 Delineamento experimental

Os hamsters receberam ração comercial padrão durante os 20 dias de adaptação. Após esse período, os animais foram aleatoriamente separados em 4 grupos: 1. Controle normal (n=8) – mantido com ração padrão para hamsters em crescimento durante todo o período experimental; 2. Controle dislipidemia (n=8) – mantido com a ração hiperlipídica, durante todo o período experimental, contendo caseína (20%), gordura de coco (13,5%) e colesterol (0,1%), obtida da empresa Pragsoluções Biociências (Jaú, SP); 3. Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (v.o.) (n=10); e 4. Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (n=10). Os grupos 3 e 4, tratados com a manteiga de bacuri, também foram mantidos com ração hiperlipídica durante todo o período experimental, sendo o tratamento iniciado após 21 dias recebendo dieta hiperlipídica para indução de hipercolesterolemia.

A manteiga de bacuri, nas doses de 25 e 50 mg/kg/dia, respectivamente foi administrada uma vez ao dia, por via oral, dissolvida em Tween 80 em água destilada, com volume de 5 mL/kg. Os grupos controle normal e hipercolesterolêmico recebiam diariamente volume correspondente de veículo (Tween 80 em água destilada). Após 28 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados por aplicação inicial de lidocaína (10 mg/mL) e posteriormente de tiopental sódico na dose de 100 mg/kg de peso corporal por via intraperitoneal. Foi realizada coleta de sangue venoso e de material biológico (fígado, coração, aorta e gordura retroperitoneal) para análises posteriores (Figura 05).

Figura 05: Delineamento das etapas do protocolo experimental.



Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia.

3.8 Análise de marcadores do metabolismo lipídico

Os testes para determinação do perfil lipídico no plasma seguiram o padrão analítico recomendado pelo *National Cholesterol Education Program* (WARNICK; WOOD, 1995). As análises foram realizadas no Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí. Foram utilizados kits da marca Labtest (Minas Gerais, Brasil) e as amostras foram analisadas em duplicata.

O teor de triglicerídeos no plasma foi determinado através de kit enzimático contendo as enzimas lipase lipoprotéica, glicerolquinase e glicerol-3-fosfato peroxidase (SOLONI et al., 1971). O colesterol total foi determinado baseado no método enzimático-colorimétrico com colesterol esterase, colesterol oxidase e 4-aminoantipirina. O colesterol presente na lipoproteína de alta densidade (HDL) foi quantificado após precipitação das lipoproteínas que contêm apolipoproteína B (VLDL e LDL), seguida da quantificação do colesterol presente no sobrenadante. O agente precipitante é o ácido fosfotúngstico/cloreto de magnésio (PTA/MgC) (ABELL et al., 1952). O nível de lipoproteína de baixa densidade (LDL) foi obtido mediante uso da fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

3.8.1 Índices de aterosclerose

O índice de risco arterial coronário (CRI) foi calculado pela razão entre os níveis plasmáticos de LDL-c e o HDL-c, de acordo com Draper et al. (1996). O Índice aterogênico (IA) foi calculado segundo Dobiasova e Frohlich (2001), pela razão entre os níveis plasmáticos de triglicerídeos e o HDL-c.

A razão HDL/CT foi calculada pela razão entre os níveis plasmáticos de HDL-c e colesterol total, enquanto a razão LDL/CT foi calculada pela razão entre os níveis de LDL-c e colesterol total, segundo metodologia proposta por Lee et al. (2014).

3.9 Avaliação de marcadores de hepatotoxicidade

Para investigação de possível toxicidade sistêmica, o fígado dos animais foi removido e pesado em balança analítica. Os níveis séricos de Aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FAL) foram obtidos através de método colorimétrico enzimático utilizando kits comerciais e analisador automático.

3.10 Marcadores de estresse oxidativo e atividade antioxidante *in vivo*

3.10.1 Determinação do malondialdeído (MDA) plasmático

As concentrações de MDA foram determinadas pela produção de substância reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com o método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Para isso, 200 µL do plasma ou água destilada (branco) foram adicionados a 350 µL de ácido acético a 20% (pH 3,5) e 600 µL de ácido tiobarbitúrico 0,5%. Em seguida, a mistura foi incubada em banho-maria por 45 minutos a 100°C e posteriormente resfriada em banho de gelo durante 15 minutos. Após isso, foram adicionados 50 µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) 8,1%. A mistura foi então agitada, e depois centrifugada por 15 minutos a 12000 rpm a 25°C. O sobrenadante foi coletado para leitura de absorbância nos comprimentos de onda de 532, 510 e 560 nm no espectrofotômetro, para posterior cálculo da absorbância corrigida, proposta para minimizar a interferência dos pigmentos heme e da hemoglobina (PYLES; STEJSKAL; EINZIG, 1993).

$$ABS = 1,22 \times [A532 - (0,56 \times A510) + (0,44 \times A560)]$$

Antes do processamento das amostras, uma curva analítica de calibração foi preparada utilizando MDA como padrão, em concentrações de 1, 5, 10, 25 e 50 nmol/mL. Os resultados foram expressos em nmol de MDA por mL de plasma.

3.10.2 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária (SOD)

A atividade da enzima foi determinada de acordo com o método descrito por Das et al. (2000), em que foi analisada a quantidade de SOD capaz de inibir em 50% a formação de nitrito em reação de ponto final.

Para a mistura da reação, em tubos de ensaio foram adicionados 1.110 µL de tampão fosfato, 75 µL L-metionina, 40 µL de Triton X-100, 75 µL de cloreto de hidroxilamina, 100 µL de EDTA e 100 µL da amostra tampão fosfato (branco). Após essa etapa, a mistura foi incubada em banho-maria a 37°C por 5 minutos. Após esse período, foram adicionados 80 µL de riboflavina a todos os tubos, os quais foram expostos a luz durante 10 minutos. E então, 1 mL do reagente de Griess foi adicionado ao sistema e a leitura de absorbância foi realizada em comprimento de onda de 543 nm.

Uma curva analítica de calibração foi construída utilizando nitrito de sódio em concentrações variando entre 5 e 50 μM . O cálculo da atividade da SOD foi feito com base na absorbância do controle (v_0) e absorbância do teste (v), conforme a fórmula: $\text{SOD} = v_0 / v - 1$. Por fim, foi determinada a quantidade de superóxido dismutase capaz de inibir em 50 % a formação de nitrito.

Os resultados da SOD foram expressos em U/g de hemoglobina (Hb). Para isso, paralelamente à preparação das amostras para análise desta enzima foram preparadas amostras para determinação da concentração de hemoglobina nos eritrócitos. Os resultados obtidos foram utilizados para cálculo da atividade enzimática, segundo as seguintes fórmulas:

$$\text{SOD (U/mL)} = \text{Absorbância} \times \text{diluição}$$

$$\text{SOD (U/g Hb)} = \text{SOD (U/mL)} / [\text{Hg}] \text{ (g/mL)}$$

A determinação da hemoglobina foi realizada colocando-se 5 mL de solução de drabkin em tubo de ensaio, em triplicata, seguida da adição de 20 μL de lisado de eritrócitos. Após isso, as amostras foram homogeneizadas e, em seguida, lidas em espectrofotômetro a 540 nm. Para preparo da amostra padrão, adicionaram-se 20 μL de padrão de hemoglobina a 5 mL de solução de drabkin, em um tubo de ensaio, previamente preparado e identificado, seguido da leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

3.10.3 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO)

A medida de atividade da MPO baseia-se na velocidade de oxidação do substrato o-dianisidina na presença de H_2O_2 e evidenciada pela mudança de absorbância medida a 450 nm (BRADLEY et al., 1982). A leitura foi realizada em microplaca ELISA com 10 μL de material e 200 μL da solução de leitura, preparada pela mistura de 27 mL de H_2O destilada com 3 mL de tampão fosfato pH 6,0, 15 mL de H_2O_2 a 1% e 5 mg de o-dianisidina.

A monitorização da velocidade de formação do produto de oxidação da o-dianisidina foi realizada pela observação do aumento da absorbância da mistura a 450 nm. As leituras foram obtidas em intervalos de 1 minuto. A atividade da MPO foi calculada a partir da velocidade máxima da reação, e o resultado foi expresso em U MPO/ μL de amostra. Uma unidade de MPO é definida como a quantidade de H_2O_2 (μmol) degradada por minuto.

3.11 Análise histológica do fígado

Após a eutanásia, o fígado dos animais foi removido e preservado em formol tamponado 10 % por 48 horas. Em seguida, foram feitas secções transversais e escolhidos três cortes do fígado de cada animal. Estes cortes foram submetidos às técnicas histológicas habituais com inclusão em parafina para obtenção de cortes de 5 μm de espessura que, posteriormente, foram corados com hematoxilina-eosina (HE) pela equipe do Laboratório de Histologia da UFPI.

Para estudo morfométrico foi utilizado um microscópio óptico comum (Nikon Eclipse E200) acoplado à uma câmera fotográfica (Digital color SCC-131, Samsung).

3.12 Critérios éticos

Todos os procedimentos relacionados ao uso de animais foram realizados segundo as normas preconizadas no “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (*Institute of Laboratory Animals Resources, National Academy of Science, Washington, D.C., 1996*), pelos princípios éticos estabelecidos para Experimentação Animal pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e pela legislação nacional em vigor - Lei 11.794, de 08.10.2008 e Lei 9.605, de 12.02.98 (BRASIL, 2008; BRASIL, 1998). A pesquisa foi aprovada na Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer 197/2016 e 00) (**Anexos A e B**).

3.13 Análise estatística

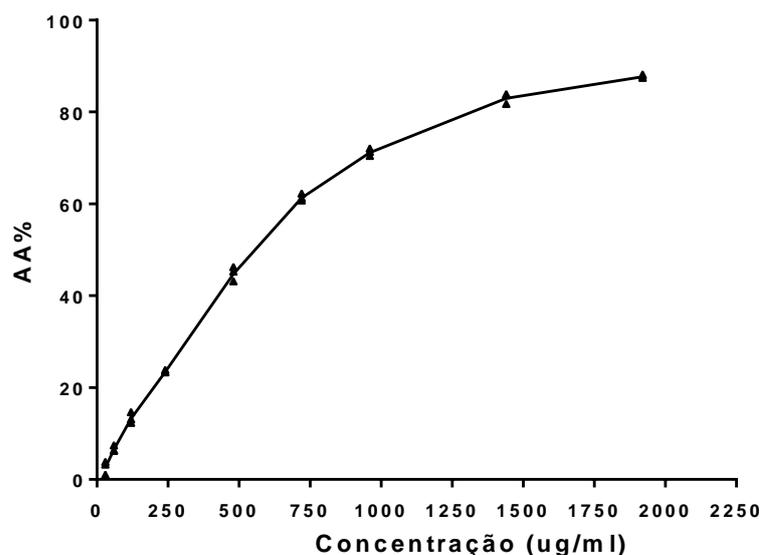
Os valores foram representados como média \pm erro padrão da média. A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA/one-way) seguida de pós-teste de Tukey para comparação múltipla. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Determinação da atividade antioxidante *in vitro* da manteiga da semente do bacuri

Na avaliação da atividade antioxidante *in vitro*, em todas as concentrações testadas, a manteiga da semente do bacuri foi capaz de reduzir parcialmente os níveis do radical DPPH, tendo a maior capacidade antioxidante com as maiores concentrações testadas, de 960, 1.440 e 1.920 $\mu\text{g/mL}$, apresentando 71,1, 82,9 e 87,6 % de inibição do radical, respectivamente (Figura 06). A concentração que induz metade do efeito máximo (EC50) da manteiga de bacuri foi de 493,1 $\mu\text{g/mL}$, com intervalo de confiança de 460,2-531,1.

Figura 06: Atividade antioxidante *in vitro* da manteiga da semente do bacuri pelo método DPPH.



Legenda: AA% = percentual de atividade antioxidante; Conc = concentração da manteiga de bacuri ($\mu\text{g/ml}$).

4.2 Toxicidade aguda da manteiga da semente do bacuri em *Rattus norvegicus*

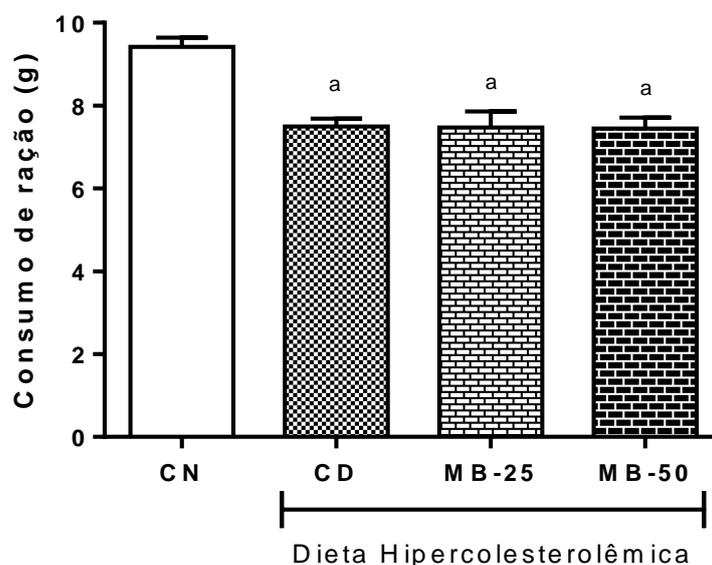
Após a administração da manteiga da semente de bacuri, em dose única de 2,0 g/kg, v.o., não foram observadas mortes ou mudanças em parâmetros

comportamentais que fossem indicativas de toxicidade sistêmica aguda. E em virtude da ausência de mortes não foi possível determinar a dose letal média (DL50).

4.3 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a ingestão alimentar em hamsters hipercolesterolêmicos

No que se refere ao consumo médio de ração, identificou-se que os grupos hipercolesterolêmicos apresentaram redução significativa do consumo ($p < 0,05$), quando comparados ao grupo controle normal (Figura 07). Por outro lado, o consumo de ração não diferiu entre os grupos tratados com a manteiga do bacuri ($p > 0,05$) em relação ao controle dislipidemia.

Figura 07: Consumo de ração de hamsters (*Mesocricetus auratus*) durante 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).

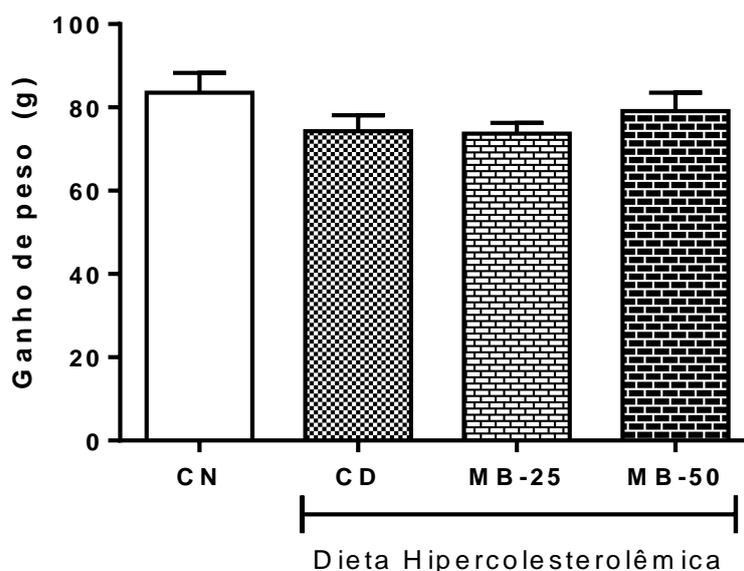


Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia; ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo Controle normal, testes de one-way ANOVA e Tukey.

4.4 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a evolução ponderal, o crescimento e o peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal de hamsters hipercolesterolêmicos

Na avaliação do ganho de peso, verificou-se que a ingestão de dieta hipercolesterolêmica não promoveu alteração significativa ($p>0,05$) do ganho de peso dos animais com hipercolesterolemia induzida por dieta, quando comparados aos animais do grupo controle normal. Da mesma maneira, o tratamento com a manteiga do bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) não interferiu neste parâmetro em relação ao grupo hipercolesterolêmico não tratado ou ao grupo controle normal (Figura 08).

Figura 08: Ganho de peso de hamsters (*Mesocricetus auratus*) durante 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).



Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia. Testes de one-way ANOVA e Tukey.

No que se refere à evolução ponderal antes, durante e ao final dos tratamentos, observou-se que os grupos hipercolesterolêmicos, tratados ou não com a manteiga do bacuri, não diferiram estatisticamente ($p>0,05$) quando comparados ao grupo controle normal. Além disso, não foram observadas diferenças

significativas ($p>0,05$) dentro dos grupos entre o peso medido antes, durante e ao final dos tratamentos (Tabela 02).

Tabela 02: Efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) sobre o peso de hamsters (*Mesocricetus auratus*).

Grupos	Peso corporal em gramas (Média \pm EPM)				
	Antes do tratamento	7 dias	14 dias	21 dias	Final
Controle normal (CN, n=8)	114,37 \pm 4,08	123,00 \pm 4,33	128,00 \pm 4,46	133,5 \pm 4,47	132,12 \pm 4,52
Controle dislipidemia (CD, n=8)	113,25 \pm 6,43	122,25 \pm 7,37	131,25 \pm 5,28	135,75 \pm 5,43	134,87 \pm 4,41
Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10)	112,44 \pm 5,24	125,62 \pm 4,69	129,25 \pm 5,30	134,25 \pm 5,16	132 \pm 5,36
Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (MB-50, n=10)	112,87 \pm 4,14	121,75 \pm 3,94	125,87 \pm 5,03	127,87 \pm 15,66	129,25 \pm 5,60

Legenda: Testes de one-way ANOVA e Tukey.

No que concerne ao crescimento dos animais, não foram identificadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos nas medidas de comprimento nasoanal aferidas no momento anterior à indução da hipercolesterolemia, no início ou no final dos tratamentos (Tabela 03). Dentro dos grupos também não foram encontradas diferenças estatísticas no comprimento dos animais medido em qualquer um dos momentos avaliados.

Tabela 03: Efeito do tratamento com a manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) sobre o comprimento nasoanal de hamsters (*Mesocricetus auratus*).

Grupos	Média ± EPM		
	Indução	Início do tratamento	Final
Controle normal (CN, n=8)	15,24 ± 0,26	16,55 ± 0,20	16,75 ± 0,43
Controle dislipidemia (CD, n=8)	15,00 ± 0,35	16,67 ± 0,57	17,12 ± 0,41
Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10)	14,66 ± 0,88	16,17 ± 0,21	17,2 ± 0,33
Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (MB-50, n=10)	15,70 ± 0,25	16,10 ± 0,33	17,35 ± 0,14

Legenda: Testes de one-way ANOVA e Tukey.

Conforme observado na Tabela 04, os hamsters tratados com a manteiga do bacuri não apresentaram diferenças ($p>0,05$) no índice de Lee e no índice de massa corporal (IMC), quando comparados entre si ou em relação ao grupo controle dislipidemia e ao grupo controle normal (Tabela 04). Da mesma maneira, os animais hipercolesterolêmicos não tratados não diferiram significativamente ($p>0,05$), no índice de Lee e no IMC em relação ao grupo controle normal.

Tabela 04: Índices de Lee e de massa corporal (IMC) de hamsters (*Mesocricetus auratus*) após 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).

Grupos	Média ± EPM	
	Índice de Lee	IMC (g/cm ²)
Controle normal (CN, n=8)	307,30 ± 3,33	0,48 ± 0,01
Controle dislipidemia (CD, n=8)	301,98 ± 10,27	0,46 ± 0,02
Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10)	301,56 ± 3,21	0,46 ± 0,01
Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (MB-50, n=10)	296,95 ± 3,78	0,43 ± 0,01

Legenda: Testes de one-way ANOVA e Tukey.

A ingestão de dieta hiperlipídica não promoveu alterações no peso do fígado, do coração ou da gordura retroperitoneal no grupo controle dislipidemia, quando confrontado com o grupo controle normal (Tabela 05). Do mesmo modo, o tratamento com a manteiga de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) não provocou alteração significativa ($p > 0,05$) no peso dos órgãos (fígado e coração) ou da gordura retroperitoneal em relação ao grupo controle dislipidemia. Entretanto, observou-se um aumento isolado ($p < 0,05$) do peso do fígado de animais tratados com a MB, em quando comparados ao grupo controle normal.

Tabela 05: Peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal de hamsters (*Mesocricetus auratus*) após 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).

Grupos	Média ± EPM		
	Fígado (g)	Coração (g)	Gordura Retroperitoneal (g)
Controle normal (CN, n=8)	4,07 ± 0,17	0,56 ± 0,03	1,43 ± 0,12
Controle dislipidemia (CD, n=8)	4,96 ± 0,25	0,59 ± 0,03	1,64 ± 0,13
Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10)	5,32 ± 0,30 ^a	0,59 ± 0,03	1,77 ± 0,22
Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (MB-50, n=10)	5,23 ± 0,32 ^a	0,54 ± 0,02	1,40 ± 0,18

Legenda: ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle normal, testes de one-way ANOVA e Tukey.

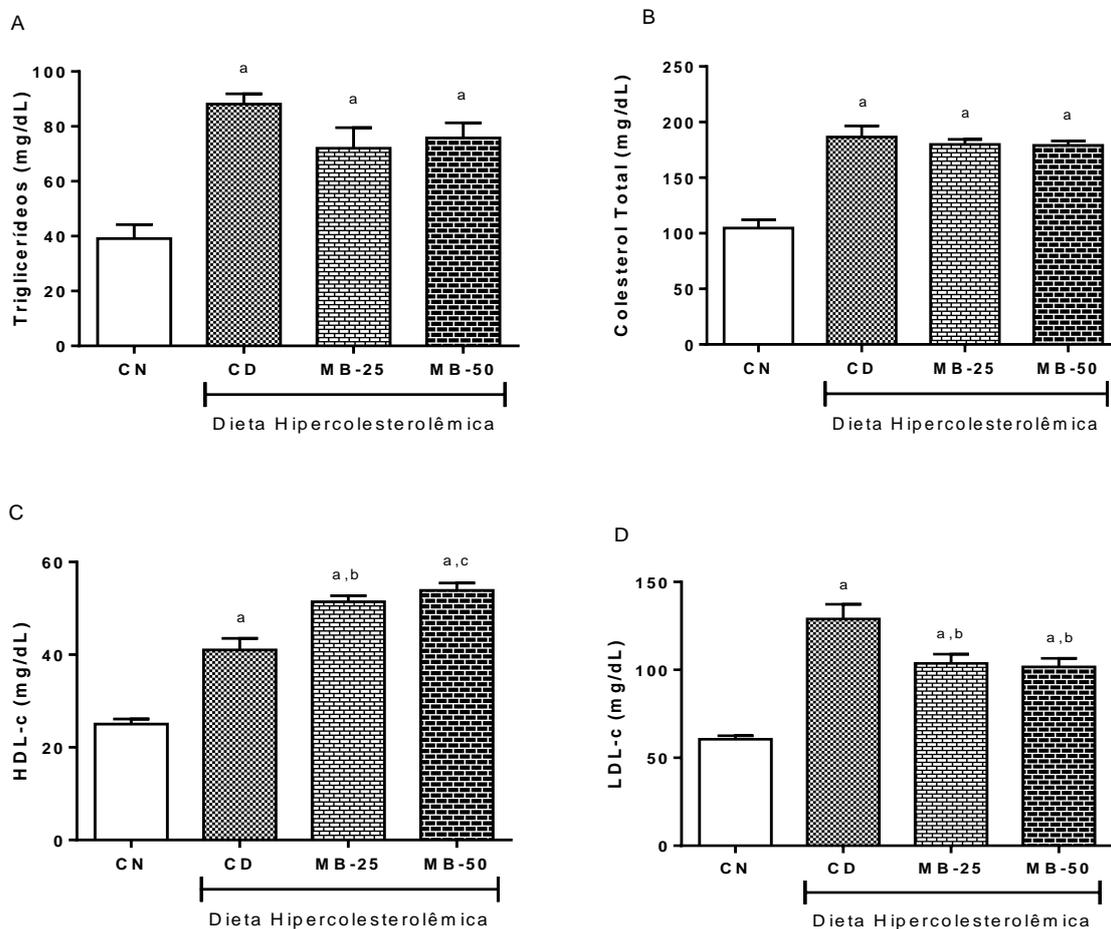
4.5 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre o perfil lipídico de hamsters hipercolesterolêmicos

Na avaliação do perfil lipídico, verificou-se que os grupos hipercolesterolêmicos apresentaram níveis de triglicerídeos (Figura 09A) e colesterol total (Figura 09B) significativamente maiores ($p < 0,0001$) que o grupo controle normal. Quando confrontados ao grupo controle dislipidemia, os grupos tratados com a manteiga do bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) nos níveis de triglicerídeos e colesterol total.

No que se refere aos níveis de HDL-c, os grupos que receberam dieta hipercolesterolêmica apresentaram níveis significativamente maiores ($p < 0,05$) dessa lipoproteína plasmática quando comparados ao grupo controle normal (Figura 09C). Por sua vez, também houve diferença significativa, com elevação dos níveis de HDL-c, dos grupos tratados com a manteiga de bacuri nas doses de 25 mg/kg/dia ($p < 0,01$) e 50 mg/kg/dia ($p < 0,0001$), em relação ao grupo controle dislipidemia. Não foi encontrada diferença estatística ($p > 0,05$) quando confrontados os tratamentos entre si.

Na análise dos níveis de LDL-c, identificou-se que os grupos hipercolesterolêmicos apresentaram valores significativamente maiores ($p < 0,0001$), do que o grupo controle normal (Figura 09D). Por outro lado, ao comparar-se os níveis de LDL-c dos grupos tratados, observou-se redução significativa desse parâmetro nos grupos tratados com a manteiga na dose de 25 mg/kg ($p < 0,05$) e 50 mg/kg ($p < 0,01$), em relação ao grupo hipercolesterolêmico não tratado. Quando comparados entre si, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os dois tratamentos.

Figura 09: Concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total, HDL-c e LDL-c de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).



Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia; ^a $p < 0,001$ em relação ao grupo controle normal; ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo controle dislipidemia; ^c $p < 0,01$ em relação ao controle dislipidemia, testes de one-way ANOVA e Tukey.

Ao avaliar-se o Índice Aterogênico (IA), observou-se que o tratamento com a manteiga do bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) promoveu redução significativa ($p < 0,05$) do IA quando confrontado com o grupo controle dislipidemia, mas não em relação ao grupo controle normal (Tabela 06). No que se refere ao Índice de Risco Arterial Coronário (CRI), o tratamento dos animais com hipercolesterolemia induzida por dieta com a manteiga de bacuri promoveu redução significativa ($p < 0,05$) no CRI,

em comparação ao grupo controle dislipidemia. Adicionalmente, o tratamento com a dose maior de manteiga de bacuri (50 mg/kg/dia) produziu diminuição significativa ($p < 0,05$) do CRI em relação ao grupo controle normal. No que diz respeito às razões HDL/CT e LDL/CT, identificou-se que animais hipercolesterolêmicos não-tratados apresentaram valores significativamente menores ($p < 0,05$) de razão HDL/CT, em comparação aos grupos tratados com a manteiga do bacuri, mas sem diferença estatística ($p > 0,05$) em relação aos animais do grupo controle normal, e, além disso, apresentaram valores maiores ($p < 0,05$) de razão LDL/CT, quando confrontados aos grupos controle normal e manteiga de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).

Tabela 06: Efeito do tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) no índice aterogênico (IA), índice de risco arterial coronário (CRI), razão HDL/CT e razão LDL/CT em modelo experimental de dislipidemia induzida por dieta em hamsters (*Mesocricetus auratus*).

Grupos	Parâmetros (Média ± EPM)			
	Índice Aterogênico (IA)	Índice de Risco Arterial Coronário (CRI)	HDL/CT	LDL/CT
Controle normal (CN, n=8)	1,47 ± 0,16	2,42 ± 0,19	0,238 ± 0,01	0,578 ± 0,04
Controle dislipidemia (CD, n=8)	2,14 ± 0,16 ^a	3,14 ± 0,19 ^a	0,219 ± 0,02	0,691 ± 0,07 ^a
Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10)	1,4 ± 0,16 ^b	2,01 ± 0,11 ^b	0,285 ± 0,01 ^{a,b}	0,576 ± 0,03 ^b
Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (MB-50, n=10)	1,4 ± 0,15 ^b	1,88 ± 0,09 ^{a,b}	0,300 ± 0,01 ^{a,b}	0,568 ± 0,01 ^b

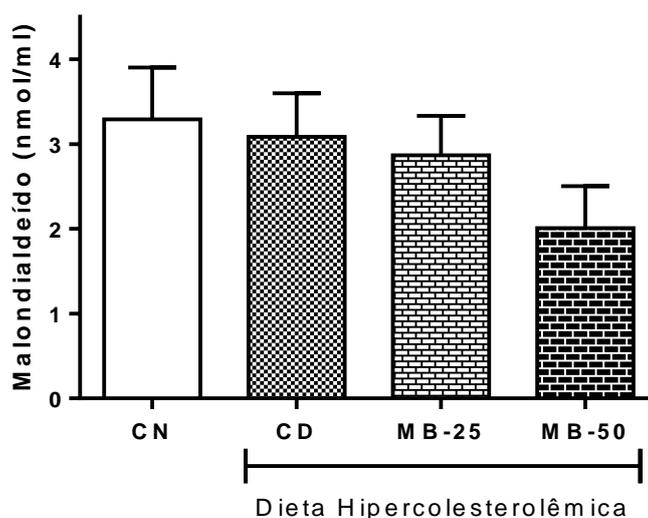
Legenda: ^a $p < 0,05$ em relação ao controle normal; ^b $p < 0,05$ em relação ao controle dislipidemia, testes de one-way ANOVA e Tukey.

4.6 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre marcadores de peroxidação em hamsters hipercolesterolêmicos

4.6.1 Concentrações de Malondialdeído (MDA)

Verificou-se que os grupos hipercolesterolêmicos não apresentaram alterações significativas ($p>0,05$) nos níveis de malondialdeído plasmático, quando comparados ao grupo que recebeu ração padrão (controle normal) (Figura 10). Além disso, os grupos tratados com a manteiga do bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia), embora tenham demonstrado menores níveis de MDA, não apresentaram alterações significativas ($p>0,05$), em relação aos animais hipercolesterolêmicos não tratados (grupo controle dislipidemia).

Figura 10: Concentrações plasmáticas de malondialdeído de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com a manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).



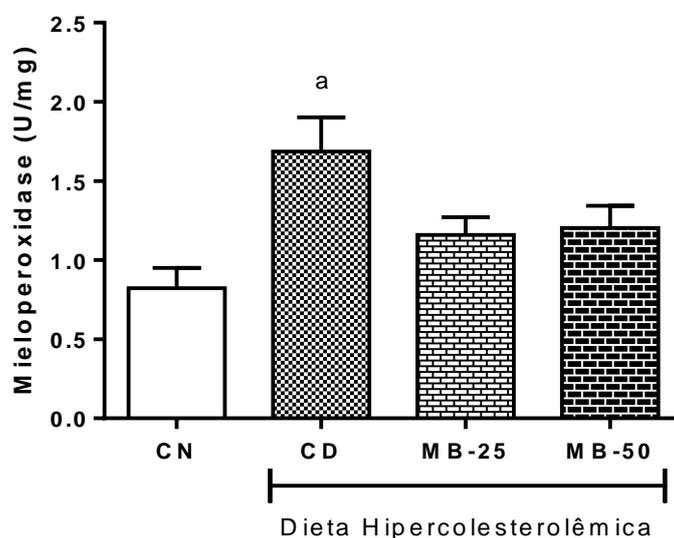
Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia. Testes de one-way ANOVA e Tukey.

4.6.2 Atividade da mieloperoxidase (MPO)

Na avaliação da atividade da MPO, identificou-se que os animais que receberam apenas a dieta hiperlipídica (grupo dislipidemia) apresentaram níveis

significativamente maiores ($p < 0,05$) desta enzima, quando comparados ao grupo normal. Em contrapartida, a manteiga do bacuri (25 e 50 mg/kg) preveniu que houvesse aumento significativo ($p > 0,05$) da atividade da mieloperoxidase em animais tratados, em relação ao grupo controle normal (Figura 11). Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos com hipercolesterolemia induzida por dieta.

FIGURA 11: Atividade da enzima mieloperoxidase de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).



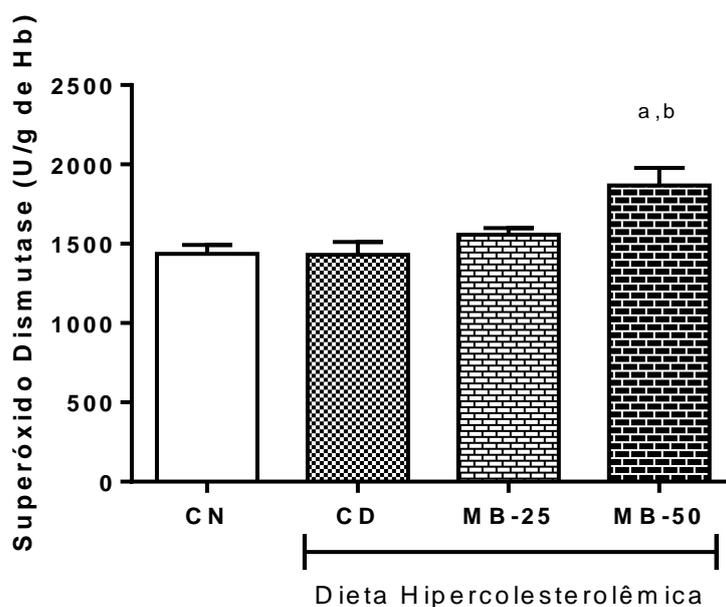
Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia; ^a $p < 0,05$ em relação ao controle normal, testes de one-way ANOVA e Tukey.

4.7 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a atividade antioxidante de hamsters hipercolesterolêmicos

No que se refere à atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), os animais hipercolesterolêmicos não tratados não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), quando comparados ao grupo controle normal. Por outro lado, embora não tenha sido notada mudanças nos níveis de SOD do grupo manteiga de bacuri na dose de 25 mg/kg/dia em relação aos controles normal e dislipidemia, o tratamento com a maior dose da manteiga (50 mg/kg/dia) promoveu aumento significativo ($p < 0,05$)

deste parâmetro, em relação aos dois grupos controles (normal e dislipidemia). Não foram identificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) quando comparados os valores de SOD dos animais tratados com a dose de 25 e 50 mg/kg/dia (Figura 12).

Figura 12: Atividade da enzima superóxido dismutase eritrocitária de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).



Legenda: CN, controle normal; CD, controle dislipidemia; MB-25, manteiga da semente do bacuri na dose de 25 mg/kg/dia; MB-50, manteiga da semente do bacuri na dose de 50 mg/kg/dia; ^a $p < 0,05$ em relação ao controle normal; ^b $p < 0,05$ em relação ao controle dislipidemia, testes de one-way ANOVA e Tukey.

4.8 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a função hepática de hamsters hipercolesterolêmicos

Na avaliação das concentrações séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FAL) não foi encontrada diferença estatística ($p > 0,05$) entre os animais do grupo controle dislipidemia e controle normal (Tabela 07). De maneira semelhante, os animais tratados com a manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia) não diferiram ($p > 0,05$) nos

níveis de AST, ALT e FAL quando comparados aos grupos controles (normal e dislipidemia) ou entre si.

Tabela 07: Concentrações séricas de AST, ALT e FAL (U/L) de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).

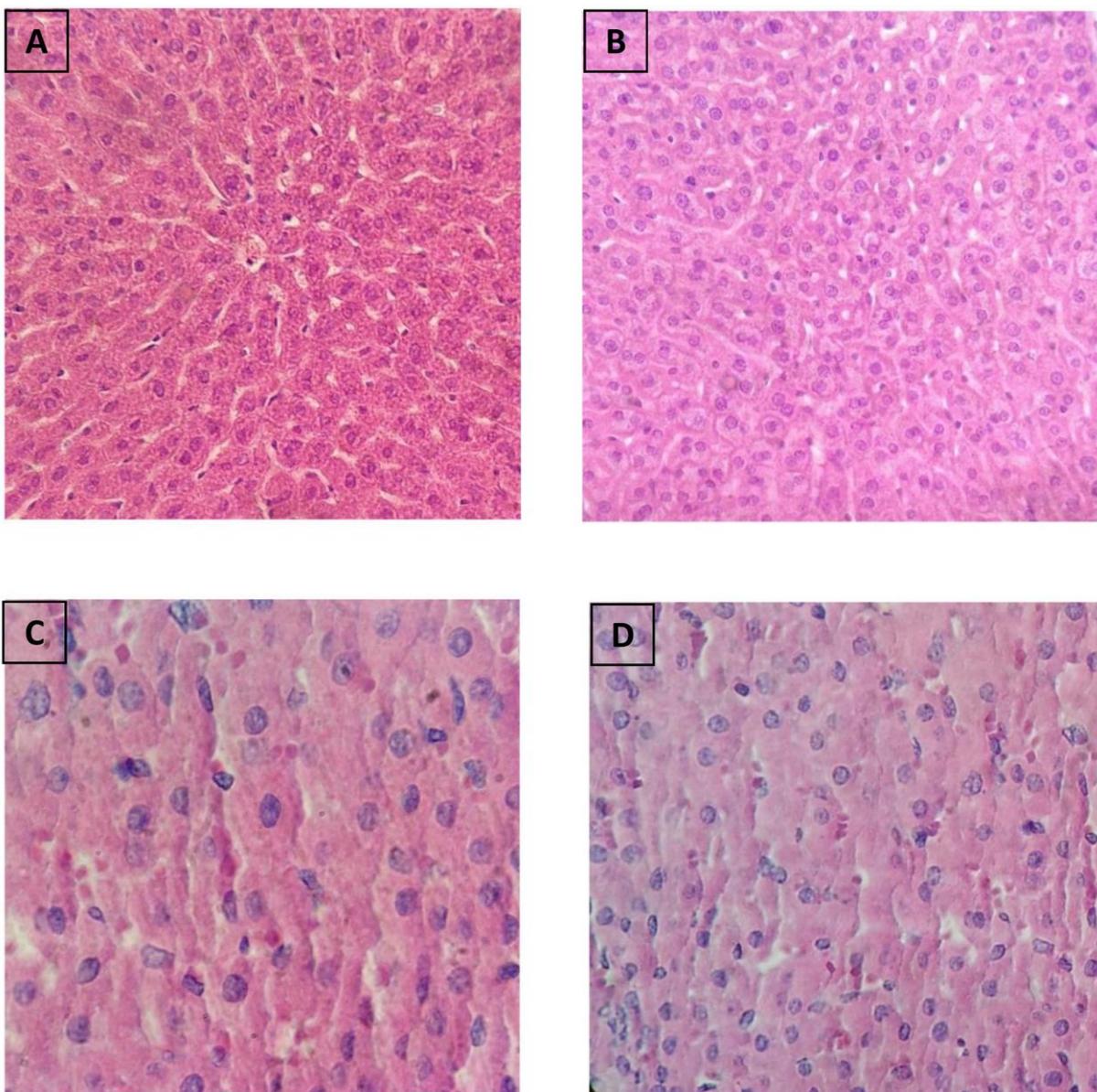
Grupos	Parâmetros (Média ± EPM)		
	AST (U/L)	ALT (U/L)	FAL (U/L)
Controle normal (CN, n=8)	61,42 ± 5,69	73,66 ± 6,95	267,66 ± 41,97
Controle dislipidemia (CD, n=8)	69,85 ± 14,36	65,50 ± 7,93	363,6 ± 78,83
Manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (MB-25, n=10)	71,87 ± 5,11	68,16 ± 4,94	353,66 ± 53,53
Manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (MB-50 (n=10)	80,28 ± 6,28	83,28 ± 4,8	320,62 ± 13,25

Legenda: AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; FAL, fosfatase alcalina. Testes de one-way ANOVA e Tukey.

4.9 Efeitos da administração da manteiga da semente do bacuri sobre a morfologia do fígado de hamsters hipercolesterolêmicos

Na avaliação das micrografias dos cortes do fígado de hamsters normais, observou-se a ausência de alterações estruturais, através da preservação do parênquima hepático (Figura 13A). Por outro lado, os animais do grupo dislipidemia (Figura 13B) apresentaram sinusóides dilatados e prejuízo da arquitetura tecidual - características condizentes com a esteatose hepática. Embora o núcleo celular dos animais tratados com a manteiga do bacuri (Figuras 13C e 13D) tenha apresentado-se íntegro, a morfologia do citoplasma não se encontra compatível com a de hepatócitos normais, possivelmente por conta do processamento tecidual.

FIGURA 13: Micrografias de fígado de hamsters (*Mesocricetus auratus*) ao final de 28 dias de tratamento com manteiga da semente de bacuri (25 ou 50 mg/kg/dia).



Legenda: A, controle normal (ampliação de 400X); B, controle dislipidemia (ampliação de 400X); C, manteiga de bacuri 25 mg/kg/dia (ampliação de 1000X); D, manteiga de bacuri 50 mg/kg/dia (ampliação de 1000X).

5 DISCUSSÃO

O uso de fármacos no tratamento das dislipidemias está associado ao desenvolvimento de efeitos adversos que afetam a musculatura esquelética e o trato gastrointestinal (GRUNDY et al., 2014; XAVIER et al., 2013). Plantas medicinais têm sido empregadas no tratamento de diversas doenças metabólicas, apresentando, com isso, potencial uso no tratamento da dislipidemia, tendo em vista a redução de efeitos adversos comumente observados com uso de fármacos sintéticos. Neste trabalho, mostramos que o uso da manteiga da semente de *P. insignis* Mart. promoveu melhorar os níveis de lipoproteínas plasmáticas em modelo de hipercolesterolemia induzida por dieta. Adicionalmente, verificamos redução do risco de doenças cardiovasculares e aumento da atividade antioxidante de enzima superóxido dismutase, sem alterar o crescimento, o consumo de ração ou a função hepática de hamsters hipercolesterolemizados.

Inicialmente, realizou-se a avaliação da toxicidade aguda, tendo em vista a ausência de estudos investigando a toxicidade aguda associada ao uso da manteiga do bacuri e, conseqüentemente, o desconhecimento dos seus efeitos adversos. Para isso, utilizou-se o teste de dose fixa em que se avalia a manifestação de sinais de toxicidade mediante a exposição à dose fixa de substâncias (VAN DEN HEUVEL et al., 1990). A administração da dose de 2.000 mg/kg da manteiga do bacuri não promoveu morte ou quaisquer sinais de toxicidade aguda, não sendo possível determinar a DL50 (dose letal 50) da manteiga, o que indica segurança quanto a sua utilização em regime de tratamento utilizado no modelo de dislipidemia induzida por dieta.

A hipercolesterolemia induzida por dieta rica em lipídios é um modelo amplamente utilizado na avaliação de compostos com alegação de efeito hipolipidêmico, uma vez que o aumento da ingestão de gordura dietética promove alterações nos níveis de lipoproteínas plasmáticas em roedores de modo semelhante ao observado em seres humanos (BUETTNER et al., 2007). Neste sentido, o presente trabalho utilizou a suplementação da ração com óleo de coco e colesterol para indução de dislipidemia, por meio de ração previamente testada através de protocolo piloto. O óleo de coco é rico em ácidos graxos saturados, como o ácido láurico (C12:0) e o ácido mirístico (C14:0), e produz elevação dos níveis de

triglicerídeos, colesterol total e LDL-colesterol (EYRES et al., 2016; TAISHI et al., 1994). E do mesmo modo, o acréscimo de colesterol à dieta sabidamente promove elevação dos níveis plasmáticos de colesterol total, contribuindo para à indução de dislipidemia (STAMLER; SHEKELLE, 1988; KLEEMANN et al., 2007).

O metabolismo lipídico de *Mesocricetus auratus* torna esta espécie um dos melhores modelos para o estudo de dislipidemia, uma vez que apresenta semelhança ao de humanos, no qual o transporte de colesterol no sangue ocorre principalmente na forma de LDL-colesterol; e com aumento da ingestão de lipídios da dieta, de maneira diferente de outros roedores, apresentam elevação não apenas dos níveis plasmáticos de LDL-colesterol, mas também de triglicerídeos (NISTOR et al., 1987; SPADY; DIETSCHY, 1988; ZHANG et al., 2009; GAO et al., 2010). Assim, avaliou-se os efeitos da manteiga do bacuri sobre o perfil lipídico de hamsters com hipercolesterolemia induzidos por dieta e observou-se que embora não tenha havido redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol total, a manteiga produziu redução dos níveis plasmáticos de LDL-colesterol concomitante à elevação dos níveis de HDL-colesterol.

A HDL-colesterol é inicialmente sintetizada no fígado, na forma de apolipoproteína A1, e transferida para a circulação sanguínea, onde se liga à fosfolipídios e ao colesterol, além de promover o efluxo do colesterol armazenado em células, incluindo macrófagos subendoteliais, e, posteriormente, transporta o colesterol para o fígado para que seja excretado nas fezes, reduzindo com isso o risco de doença aterosclerótica (ALI et al., 2012). A redução da LDL-colesterol, por sua vez, também se associa à redução do risco cardiovascular em virtude de que, quando em excesso na circulação, a LDL pode atravessar o endotélio vascular e acumular-se, sofrendo oxidação e sendo fagocitada por macrófagos, dando início à formação de lesões ateroscleróticas (LIBBY et al., 2000). Neste sentido, prosseguiu-se para avaliação do risco de aterogenicidade por meio de utilização de índices de risco cardiovascular dos animais tratados com a manteiga da semente do bacuri.

O índice aterogênico (IA) é considerado melhor preditor do risco de doença aterosclerótica do que os níveis de LDL-c ou de colesterol total isolados (KINOSIAN et al., 1995); e o índice de risco coronário (CRI), por sua vez, apresenta capacidade de predição semelhante àquela observada para o IA (MILLÁN et al., 2009). A observação de que o tratamento com a manteiga de bacuri promoveu

redução do IA e do CRI quando comparado com o grupo controle dislipidemia. Esse achado merece destaque, uma vez que elevados valores de IA correlacionam-se com elevação da pressão sanguínea e com disfunções e doenças metabólicas, tais como a hiperinsulinemia (JEPPESEN et al., 1998). Portanto, a redução dos valores de IA, bem como do CRI, nos animais tratados com a manteiga do bacuri, representam um menor risco de desenvolvimento de aterosclerose.

As razões HDL/CT e LDL/CT permitem relacionar de maneira confiável os níveis do colesterol total e suas frações à severidade da aterosclerose coronária (NAITO et al., 1979). Observou-se que animais hipercolesterolêmicos não-tratados apresentaram valores menores de razão HDL/CT e maiores de razão LDL/CT. Esses resultados indicam maior risco de severidade da aterosclerose no grupo controle dislipidemia quando comparado aos grupos tratados com a manteiga de bacuri. De maneira semelhante, porém utilizando diferente espécie animal, Basu et al. (2007) observaram que o óleo da semente de *Hippophaea rhamnoides* promoveu aumento na razão HDL-c/CT e redução do risco de aterosclerose em coelhos hipercolesterolêmicos, após trinta dias de suplementação com 1% de colesterol.

O óleo da semente do bacuri apresenta, predominantemente, em sua composição ácidos graxos saturados, como o ácido palmítico, e monoinsaturados, como o oleico e o palmitoleico (BENTES et al., 1986). A ingestão de ácidos graxos saturados promove aumento do colesterol total e da LDL-colesterol por aumentar a síntese de colesterol hepática e por reduzir a atividade dos receptores de LDL, enquanto ácidos insaturados (poli ou monoinsaturados) promovem aumento da atividade e da quantidade de receptores de LDL, bem como do seu mRNA, aumentando, assim, a sua velocidade de renovação (FERNANDEZ; WEST, 2005). Neste sentido, sugere-se que os efeitos da manteiga do bacuri sobre o perfil lipídico deram-se, ao menos em parte, ao seu conteúdo de ácidos graxos insaturados. Entretanto, sabe-se que compostos secundários provenientes do metabolismo de plantas também podem influenciar positivamente no perfil lipídico de animais hipercolesterolêmicos (BOUDJEKO et al., 2013).

A família Clusiaceae, a qual pertence o bacuri, é rica em metabólitos secundários com atividade antioxidante já descrita na literatura. Entre os compostos descritos destacam-se as xantonas e o floroglucinol, que pertencem ao grupo dos compostos fenólicos. O bacuri, por sua vez, apresenta as xantonas como compostos

majoritários, conforme determinado em frações diclorometano e etil acetato da semente do bacuri (COSTA JÚNIOR et al., 2012). Miura et al. (2001), ao investigar os efeitos da mangiferina, uma xantona, em camundongos com hipercolesterolemia induzida por dieta rica em colesterol, observaram que a mesma promoveu redução dos níveis de colesterol total nos animais tratados. Em outro estudo, Bao et al. (2016) demonstraram que a dimetoxixantona e a trimetoxixantona melhoraram o metabolismo lipídico em ratos obesos induzidos por dieta rica em frutose, ao reduzir os níveis de colesterol total, triglicerídeos e LDL-colesterol, e ao elevar os níveis de HDL-colesterol. Neste contexto, levantou-se a hipótese de que os efeitos da manteiga do bacuri observados sobre o perfil lipídico podem ter ocorrido também por contribuição do seu conteúdo de compostos antioxidantes do grupo das xantonas.

Avaliou-se o potencial antioxidante da manteiga da semente de *P. insignis* Mart. *in vitro*, através do método de sequestro de radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), e observamos que a manteiga apresentou elevada capacidade de eliminação de radical DPPH. O ensaio do DPPH é baseado na doação de átomos de hidrogênio da substância com atividade antioxidante para o radical estável de DPPH, resultando em redução de DPPH para DPPH₂, sendo assim neutralizado (MISHRA et al., 2012). Em seguida, verificamos o potencial antioxidante da manteiga em protocolo *in vivo*, e identificamos que embora não tenha havido elevação da concentração plasmática de malondialdeído (MDA) nos animais não tratados, em relação aos animais normais, houve aumento da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos eritrócitos, bem como uma tendência à redução do MDA no plasma de hamsters tratados com a manteiga do bacuri, acompanhada de redução dos níveis de mieloperoxidase (MPO) dos grupos tratados. O MDA é um produto da peroxidação lipídica e o aumento dos seus níveis ocorre quando há aumento de espécies reativas no organismo, o que é observado em situações de estresse oxidativo (DEL RIO et al., 2005). A SOD, por sua vez, é uma enzima integrante do sistema antioxidante endógeno, que tem capacidade de dismutar o radical superóxido (O₂⁻) em oxigênio molecular (O₂) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Este último é capaz de atravessar as membranas celulares para então ser convertido em H₂O por outras enzimas do sistema antioxidante, e dessa forma reduz o risco de estresse oxidativo (MRUK et al., 2002). A MPO é uma enzima que produz espécies reativas oxidantes e está intimamente relacionada com a peroxidação

lipídica na doença cardiovascular, contribuindo para o dano tecidual e para o desenvolvimento de placas ateromatosas (NICHOLLS; HAZEN, 2005). Neste estudo, demonstrou-se que a manteiga do bacuri promoveu aumento significativo na atividade da SOD nos animais tratados, além de promover redução dos níveis de MPO, sugerindo importante atividade antioxidante *in vivo*, mesmo na presença de baixo grau de estresse oxidativo, conforme observado pelos níveis de MDA plasmáticos.

Além disso, verificou-se que a ingestão de dieta hiperlipídica não promoveu aumento do ganho de peso dos animais dislipidêmicos ou alteração da ingestão alimentar e do crescimento em relação ao grupo controle normal. Acreditamos que esses resultados possam ser atribuídos em parte ao período de tratamento utilizado, visto que o tempo total de dieta hiperlipidêmica foi de apenas 7 semanas, e outros trabalhos utilizaram protocolos de maior duração, com 12 a 16 semanas, para indução de obesidade em hamsters (DECORDÉ et al., 2008; SUH et al., 2011; VIDÉ et al., 2015; COSTA et al., 2011). Estudos semelhantes ao nosso, com protocolos mais curtos, não demonstraram diferenças no ganho de peso, na ingestão alimentar ou no crescimento de hamsters mantidos com dieta hipercolesterolêmica por 3 a 8 semanas (CHAN et al., 1999; CHANG et al., 2003; TZANG et al., 2009). Também verificamos que o tratamento com a manteiga do bacuri não promoveu alterações relacionadas a esses mesmos parâmetros, desse modo demonstrando que a manteiga não produziu efeitos deletérios no metabolismo animal.

Por último, avaliou-se marcadores de função hepática (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina), bem como peso do fígado, coração e gordura retroperitoneal, além da análise histopatológica de secções do fígado, e foi observado que a indução de dislipidemia nos grupos hipercolesterolêmicos ou o tratamento com a manteiga da semente do bacuri não produziram hepatotoxicidade ou alterações no peso do coração ou da gordura retroperitoneal, embora tenha sido verificado um aumento isolado no peso do fígado desses animais. Além disso, observou-se também que a ingestão de dieta hiperlipídica produziu esteatose hepática, que tem como característica principal o acúmulo de triglicerídeos nos hepatócitos (CHOI; DIEHL, 2008). De maneira semelhante, porém utilizando dieta hipercolesterolêmica composta de ração padrão

acrescida de 1% de colesterol, Martinello et al. (2006) observaram que a ingestão de dieta hipercolesterolêmica por hamsters, durante 10 semanas, não promoveu aumento dos níveis das enzimas AST e ALT hepáticas. Por outro lado, Lai et al. (2016), utilizando dieta hipercolesterolêmica composta de ração padrão suplementada com 11,5% de óleo de coco, 11,5% de óleo de milho e 1% de colesterol, observaram que hamsters hipercolesterolêmicos, com dislipidemia induzida por 12 semanas, apresentaram aumento significativo dos níveis de AST e ALT, em relação ao grupo controle normal. Também de maneira diferente, Yang et al. (2017) verificaram que hamsters alimentados, ao longo de 8 semanas, com dieta hiperlipídica composta de 94,9% de ração padrão, 5% de óleo de Ching-Shan e 0,1% de colesterol, apresentaram aumento significativo dos níveis séricos de AST e ALT.

6 CONCLUSÃO

A análise dos resultados obtidos indica que a manteiga da semente do bacuri, nas doses e no tempo de tratamento aqui utilizados, produz repercussões favoráveis no perfil lipídico dos animais, mais precisamente nas frações de colesterol HDL e LDL, e, adicionalmente, promove redução no risco de aterosclerose. Além disso, demonstrou importante ação antioxidante *in vitro* e a sua administração *in vivo* promoveu aumento da atividade da superóxido dismutase, e redução da peroxidação lipídica. A manteiga apresentou baixo ou nenhum efeito tóxico agudo *in vivo*, nem alterou o peso do coração e da gordura retroperitoneal, a atividade de enzimas hepáticas, o ganho de peso, o crescimento, a massa corporal ou a ingestão alimentar de hamsters hipercolesterolêmicos

7 PERSPECTIVAS

- Avaliar a toxicidade crônica da manteiga da semente de *P. insignis* Mart.;
- Identificar o mecanismo pelo qual a manteiga da semente de *P. insignis* Mart. promove aumento dos níveis de HDL-colesterol;
- Investigar os efeitos da manteiga da semente de *P. insignis* Mart. sobre as concentrações de enzimas antioxidantes (catalase e glutathione peroxidase), de marcador de peroxidação de proteínas (proteínas carbonilas);
- Verificar o efeito da manteiga da semente de *P. insignis* Mart. sobre os níveis de LDL-oxidada.

REFERENCIAS

- ABELL, L. L.; LEVY, B. B.; BRODIE, B. B.; KENDALL, F. E. A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, p. 357-366, 1952.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ALI, K. M.; WONNERTH, A.; HUBER, K.; WOJTA, J. Cardiovascular disease risk reduction by raising HDL cholesterol—current therapies and future opportunities. **British journal of pharmacology**, v. 167, n. 6, p. 1177-1194, 2012.
- ALVES, S.; JENNINGS, W. G. Volatile composition of certain Amazonian fruits. **Food Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 149-159, 1979.
- ARCANJO, D. D.; COSTA-JÚNIOR, J. S.; MOURA, L. H.; FERRAZ, A. B.; ROSSATTO, R. R.; DAVID, J. M.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; OLIVEIRA, R. C.; CITÓ, A. M.; OLIVEIRA, A. O. Garcinielliptone FC, a polyisoprenylated benzophenone from *Platonia insignis* Mart., promotes vasorelaxant effect on rat mesenteric artery. **Natural product research**, v. 28, n. 12, p. 923-927, 2014.
- ASSUNÇÃO, M. L.; FERREIRA, H. S.; DOS SANTOS, A. F.; CABRAL, C. R.; FLORÊNCIO, T. M. Effects of dietary coconut oil on the biochemical and anthropometric profiles of women presenting abdominal obesity. **Lipids**, v. 44, n. 7, p. 593-601, 2009.
- AZUMI, H.; INOUE, N.; OHASHI, Y.; TERASHIMA, M.; MORI, T.; FUJITA, H.; SHINKE, T. Superoxide generation in directional coronary atherectomy specimens of patients with angina pectoris. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 22, n. 11, p. 1838-1844, 2002.
- BADER, T. The myth of statin-induced hepatotoxicity. **The American journal of gastroenterology**, v. 105, n. 5, p. 978, 2010.
- BAO, L.; HU, L.; ZHANG, Y.; WANG, Y. Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from *Lomatogonium rotatum*. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 11, n. 4, p. 1417-1424, 2016.
- BASU, M.; PRASAD, R.; JAYAMURTHY, P.; PAL, K.; ARUMUGHAN, C.; SAWHNEY, R. C. Anti-atherogenic effects of seabuckthorn (*Hippophaea rhamnoides*) seed oil. **Phytomedicine**, v. 14, n. 11, p. 770-777, 2007.
- BENTES, M.H.S.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, C.N.; GODOY, R.L.O.; CABRAL, J.A.S.; MAIA, J.G.S. Estudo químico das sementes de bacuri. **Acta Amazônica**, v.16/17 (único), p.363-368, 1986.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. **Biochemistry**. 5th ed. New York: W.H. Freeman & Company, 2002. 1515p.

BORBA, A, M.; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 771-782, 2006.

BOUDJEKO, T.; NGOMOYOGOLI, J. E. K.; WOGUIA, A. L.; YANOU, N. N. Partial characterization, antioxidative properties and hypolipidemic effects of oilseed cake of *Allanblackia floribunda* and *Jatropha curcas*. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 352, 2013.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206-209, 1982.

BRASIL. Lei n. 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9605.htm>. Acesso 05 setembro de 2016.

BRASIL. Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei n. 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília; (196); Seção 1:1-4, 2008.

BUETTNER, G. R. Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 11, n. 4, p. 341-346, 2011.

BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, v. 15, n. 4, p. 798-808, 2007.

CASTELLI, W. Lipoproteins and cardiovascular disease: biological basis and epidemiological studies. **Value in Health**, v. 1, n. 2, p. 105-109, 1998.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 6. ed. Belém: CNPq/Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996.

CHAN, P. T.; FONG, W. P.; CHEUNG, Y. L.; HUANG, Y.; HO, W. K. K.; CHEN, Z. Y. Jasmine green tea epicatechins are hypolipidemic in hamsters (*Mesocricetus auratus*) fed a high fat diet. **The Journal of nutrition**, v. 129, n. 6, p. 1094-1101, 1999.

CHANG, Y.I.; ROBIDOUX, J. Dyslipidemia management update. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 33, p. 47-55, 2017.

CHARLTON-MENYS, V.; DURRINGTON, P. N. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. **Experimental physiology**, v. 93, n. 1, p. 27-42, 2008.

CHOI, S. S.; DIEHL, A. M. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. **Current opinion in lipidology**, v. 19, n. 3, p. 295-300, 2008.

CHUN-YI, N.G.; KAMISAH, Y.; FAIZAH, O.; JAARIN, K. The role of repeatedly heated soybean oil in the development of hypertension in rats: association with vascular inflammation. **International journal of experimental pathology**, v. 93, n. 5, p. 377-387, 2012.

CLEMENT, C.R.; VENTURIERI, G.A. bacuri and cupuassu. In: NAGY, S.; SHAW, P.E.; WARDOWISKI, W.G. Fruits of tropical and subtropical origin: composition, properties and uses. **Lake Alfred: Florida Department of Citrus**, 1990. p.178-192.

COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; COSTA, J. P.; CITÓ, A. M. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. M. Superoxide dismutase and catalase activities in rat hippocampus pretreated with garcinielliptone FC from *Platonia insignis*. **Pharmaceutical biology**, v. 50, n. 4, p. 453-457, 2012.

COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; TOMÉ, A. R.; CITÓ, A. M. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. V. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart.(Bacuri) on epilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, n. 4, p. 678-684, 2011a.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; FREITAS, R. M.; HENRIQUES, J. A. P.; SAFFI, J. Evaluation of effects of ethanolic extract (EE) from *Platonia insignis* Mart. on pilocarpine-induced seizures. **Journal of biological Science**, v. 10, p. 747-753, 2010.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; FEITOSA, C.M.; CITÓ, A. M. G. L.; FREITAS, R. M.; SAFFI, J. Evaluation of antioxidant effects in vitro of Garcinielliptone FC (GFC) isolated from *Platonia insignis* Mart. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 52, p. 293-299, 2011b.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A.; LIMA, S. G.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; FREITAS, R. M.; SPEROTTO, A. R. M.; PÉRES, V. F.; MOURA, D. J.; SAFFI, J. Investigation of biological activities of dichloromethane and ethyl acetate fractions of *Platonia insignis* Mart. seed. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 112, n. 1, p. 34-41, 2013a.

COSTA JUNIOR, J.S.; ALMEIDA, A.A.C.; FERRAZ, A.B.F.; ROSSATTO, R.R.; SILVA, T.G.; SILVA, P.B.N.; MILITÃO, G.C.G.; CITO, A.M.G.L.; SANTANA, L.C.L.R.; CARVALHO, F.A. A.; FREITAS, R.M.. Citotoxic and leishmanicidal properties of garcinielliptone FC, a prenylated benzophenone from *Platonia insignis*. **Natural Product Research**, v. 27, n. 4-5, p. 470-474, 2013b.

COSTA, R. R.; VILLELA, N. R.; MARIA DAS GRAÇAS, C. S.; BOA, B. C.; CYRINO, F. Z.; SILVA, S. V.; LISBOA, P. C.; BOUSKELA, E. High fat diet induces central obesity, insulin resistance and microvascular dysfunction in hamsters. **Microvascular research**, v. 82, n. 3, p. 416-422, 2011.

DAS, K.; SAMANTA, L.; CHAINY, G. B. D. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase using nitrite formation by superoxide radicals. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 37, p. 201-204, 2000.

DÉCORDÉ, K.; TEISSÈDRE, P. L.; SUTRA, T.; VENTURA, E.; CRISTOL, J. P.; ROUANET, J. M. Chardonnay grape seed procyanidin extract supplementation prevents high-fat diet-induced obesity in hamsters by improving adipokine imbalance and oxidative stress markers. **Molecular nutrition & food research**, v. 53, n. 5, p. 659-666, 2009.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases**, v. 15, n. 4, p. 316-328, 2005.

DOBIÁŠOVÁ, M.; FROHLICH, J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER HDL). **Clinical biochemistry**, v. 34, n. 7, p. 583-588, 2001.

DRAPER, M. W.; FLOWERS, D. E.; HUSTER, W. J.; NEILD, J. A.; HARPER, K. D.; ARNAUD, C. A controlled trial of raloxifene (LY139481) HCl: impact on bone turnover and serum lipid profile in healthy postmenopausal women. **Journal of bone and mineral research**, v. 11, n. 6, p. 835-842, 1996.

DUNCAN, B.B.; STEVENS, A.; SCHMIDT, M.I. **Mortalidade por doenças crônicas no Brasil: situação em 2010 e tendências de 1991 a 2010**. Em: Saúde Brasil 2011: uma análise da situação de saúde e a vigilância da saúde da mulher. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação de Saúde; Pp. 93–104, 2012.

EYRES, L.; EYRES, M. F.; CHISHOLM, A.; BROWN, R. C. Coconut oil consumption and cardiovascular risk factors in humans. **Nutrition reviews**, p. nuw002, 2016.

FENG, J. J.; HAN, J.; PEARCE, S.F.; SILVERSTEIN, R. L.; GOTTO, A. M.; HAJJAR, D. P.; NICHOLSON, A.C. Induction of CD36 expression by oxidized LDL and IL-4 by a common signaling pathway dependent on protein kinase C and PPAR- γ . **Journal of lipid research**, v. 41, n. 5, p. 688-696, 2000.

FERREIRA, F. R.; FERREIRA, S. A. N.; CARVALHO, J. D. U. Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.9, p.11-22, 1987.

FERNANDEZ, M. L.; WEST, K. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids¹. **The Journal of nutrition**, v. 135, n. 9, p. 2075-2078, 2005.

- FONSECA, E. T. **Frutas do Brasil**. Rio de Janeiro: Inst. Nac, Livro, 1954.
- FRANSSEN, R.; MONAJEMI, H.; STROES, E. S. G.; KASTELEIN, J. J. P. Obesity and dyslipidemia. **Medical Clinics of North America**, v. 95, n. 5, p. 893-902, 2011.
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.
- FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-Lowering Properties of Whole Cowpea Seed and Its Protein Isolate in Hamsters. **Journal of food science**, v. 73, n. 9, 2008.
- GAO, S.; HE, L.; DING, Y.; LIU, G. Mechanisms underlying different responses of plasma triglyceride to high-fat diets in hamsters and mice: roles of hepatic MTP and triglyceride secretion. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 398, n. 4, p. 619-626, 2010.
- GRUNDY, S. M.; ARAI, H.; BARTER, P.; BERSOT, T. P.; BETTERIDGE, D. J.; CARMENA, R.; SADIKOT, S. An International Atherosclerosis Society Position Paper: global recommendations for the management of dyslipidemia-full report. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 8, n. 1, p. 29-60, 2014.
- HARRISON, D.; GRIENGLING, K. K.; LANDMESSER, U.; HORNIG, B.; DREXLER, H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. **The American journal of cardiology**, v. 91, n. 3, p. 7-11, 2003.
- HUI, D. Y.; HOWLES, P. N. Molecular mechanisms of cholesterol absorption and transport in the intestine. In: Seminars in cell & developmental biology. **Academic Press**, 2005. p. 183-192.
- IRSHAD, M.; CHAUDHURI, P. S. **Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body**. 2002.
- JELLINGER, P.S.; HANDELSMAN, Y.; ROSENBLIT, P. D.; BLOOMGARDEN, Z. T.; FONSECA, V. A.; GARBER, A. J.; PESSAH-POLLACK, R. American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. **Endocrine Practice**, v. 23, n. s2, p. 1-87, 2017.
- JENKINS, P. J.; HARPER, R. W.; NESTEL, P. J. Severity of coronary atherosclerosis related to lipoprotein concentration. **Br Med J**, v. 2, n. 6134, p. 388-391, 1978.
- JEPPESEN, J. O.; HEIN, H. O.; SUADICANI, P.; GYNTELBERG, F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease. **Circulation**, v. 97, n. 11, p. 1029-1036, 1998.

KINOSIAN, B.; GLICK, H.; PREISS, L.; PUDER, K. L. Cholesterol and coronary heart disease: predicting risks in men by changes in levels and ratios. **Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research**, v. 43, n. 5, p. 443-450, 1995.

KLEEMANN, R., VERSCHUREN, L., VAN ERK, M. J., NIKOLSKY, Y., CNUBBEN, N. H., VERHEIJ, E. R.; KAZNACHEEV, V. Atherosclerosis and liver inflammation induced by increased dietary cholesterol intake: a combined transcriptomics and metabolomics analysis. **Genome biology**, v. 8, n. 9, p. R200, 2007.

LAI, Y. S.; YANG, T. C.; CHANG, P. Y.; CHANG, S. F.; HO, S. L.; CHEN, H. L.; LU, S. C. Electronegative LDL is linked to high-fat, high-cholesterol diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in hamsters. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 30, p. 44-52, 2016.

LANDMESSER, U.; SPIEKERMANN, S.; PREUSS, C.; SORRENTINO, S.; FISCHER, D.; MANES, C.; MUELLER, M.; DREXLER, H. Angiotensin II induces endothelial xanthine oxidase activation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 27, n. 4, p. 943-948, 2007.

LEE, H. S.; NAM, Y.; CHUNG, Y. H.; KIM, H. R.; PARK, E. S.; CHUNG, S. J.; KIM, J. H.; SOHN, U. D.; KIM, H. C.; OH, K. W.; JEONG, J. H. Beneficial effects of phosphatidylcholine on high-fat diet-induced obesity, hyperlipidemia and fatty liver in mice. **Life sciences**, v. 118, n. 1, p. 7-14, 2014.

LEOPOLD, J. A.; LOSCALZO, J. Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 12, p. 1673-1706, 2009.

LIBBY, P. Changing concepts of atherogenesis. **Journal of internal medicine**, v. 247, n. 3, p. 349-358, 2000.

LINTON, M. F.; YANCEY, P. G.; DAVIES, S. S.; JEROME, W. G.; LINTON, E. F.; VICKERSM, K.C. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. In: DE GROOT, L. J.; BECK-PECCOZ, P.; CHROUSOS, G.; DUNGAN, K.; GROSSMAN, A.; HERSHMAN, J. M.; KOCH, C.; MCLACHLAN, R.; NEW, M.; REBAR, R.; SINGER, F.; VINIK, A.; WEICKERT, M. O. **Endotext**. South Dartmouth: MDtext, 2000.

MAGALHÃES, M. E. C.; BRANDÃO, A. A.; FREITAS, E. V.; POZZAN, R.; BRANDÃO, A. P. Novas perspectivas no tratamento das dislipidemias. **Rev Socerj**, v. 17, p. 1-7, 2004.

MARTI, G.; EPARVIER, V.; MORETTI, C.; PRADO, S.; GRELLIER, P.; HUE, N.; LITAUDON, M. Antiplasmodial benzophenone derivatives from the root barks of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v. 71, n. 8, p. 964-974, 2010.

MARTINELLO, F.; SOARES, S. M.; FRANCO, J. J.; SANTOS, A. C.; SUGOHARA, A.; GARCIA, S. B.; CURTI, C.; UYEMURA, S. A. Hypolipemic and antioxidant

activities from *Tamarindus indica* L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 810-818, 2006.

MIAO, L.; CLAIR, D. K. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 4, p. 344-356, 2009.

MILLÁN, J.; PINTÓ, X.; MUÑOZ, A.; ZÚÑIGA, M.; RUBIÉS-PRAT, J.; PALLARDO, L. F.; ASCASO, J. F. Lipoprotein ratios: physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. **Vascular health and risk management**, v. 5, p. 757, 2009.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

MIURA, T.; FUKUTA, C.; ICHIKI, H.; IWAMOTO, N.; KATO, M.; KUBO, M.; KOMATSU, Y.; ISHIDA, T.; OKADA, M.; TANIGAWA, K. Hypolipidemic activity of mangiferin in cholesterol-fed mice. **Journal of Traditional Medicine**, v. 18, n. 3, p. 119-121, 2001.

MONTELES, R.; PINHEIRO, C. U. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 7, n. 2, 2007.

MOURÃO, K. S. M.; BELTRATI, C. M. Morfologia dos frutos, sementes e plântulas de *Platonia insignis* Mart.(Clusiaceae). I. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento. *Acta Amazonica*, v. 25, n. 1/2, p. 11-32, 1995.

MRUK, Dolores D. et al. Antioxidant superoxide dismutase-a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. **Contraception**, v. 65, n. 4, p. 305-311, 2002.

NAITO, H. K.; GREENSTREET, R. L.; DAVID, J. A.; SHELDON, W. L.; SHIREY, E. K.; LEWIS, R. C.; PROUDFIT, W. L.; GERRITY, R. G. HDL-cholesterol concentration and severity of coronary atherosclerosis determined by cine-angiography. **Artery**, v. 8, n. 2, p. 101-112, 1979.

NAKAJIMA, K.; NAKANO, T.; TANAKA, A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. **Clinica Chimica Acta**, v. 367, n. 1, p. 36-47, 2006.

NICHOLLS, S. J.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 25, n. 6, p. 1102-1111, 2005.

NISTOR, A.; BULLA, A.; FILIP, D.A.; RADU, A. The hyperlipidemic hamster as a model of experimental atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 68, n. 1-2, p. 159-173, 1987.

NOEMAN, S. A.; HAMOODA, H. E.; BAALASH, A. A. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 3, n. 1, p. 17, 2011.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

OLIVEIRA-JUNIOR, S. R.; CONCEIÇÃO, G. M. Espécies vegetais nativas do cerrado utilizadas como medicinais pela Comunidade Brejinho, Caxias, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Geociências**, v. 7, n. 2, 2010.

OLOFSSON, S.O.; STILLEMARCK-BILLTON, P.; ASP, L. Intracellular assembly of VLDL: two major steps in separate cell compartments. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 10, n. 8, p. 338-345, 2000.

OSTO, E.; KOUROEDOV, A.; MOCHARLA, P.; AKHMEDOV, A.; BESLER, C.; ROHRER, L.; VON ECKARDSTEIN, A.; ILICETO, S.; VOLPE, M.; LUSCHER, T. F.; COSENTINO, F. Inhibition of protein kinase C β prevents foam cell formation by reducing scavenger receptor A expression in human macrophages. **Circulation**, v. 118, n. 21, p. 2174-2182, 2008a.

OSTO, E.; MATTER, C. M.; KOUOEDOV, A.; MALINSKI, T.; BACHSCHMID, M.; CAMICI, G. G.; KILIC, U.; STALLMACH, T.; BOREN, J.; ILICETO, S.; LUSCHER, T. F.; COSENTINO, F. c-Jun N-terminal kinase 2 deficiency protects against hypercholesterolemia-induced endothelial dysfunction and oxidative stress. **Circulation**, v. 118, n. 20, p. 2073-2080, 2008b.

PATETSIOS, P.; SONG, M.; SHUTZE, W. P.; PAPPAS, C.; RODINO, W.; RAMIREZ, J. A.; PANETTA, T. F. Identification of uric acid and xanthine oxidase in atherosclerotic plaque. **The American journal of cardiology**, v. 88, n. 2, p. 188-191, 2001.

PYLES, L. A.; STEJSKAL, E. J.; EINZIG, S. Spectrophotometric measurement of plasma 2-thiobarbituric acid-reactive substances in the presence of hemoglobin and bilirubin interference. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 202, n. 4, p. 407-419, 1993.

RADER, D. J.; DAUGHERTY, A. Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 904-913, 2008.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J nutr**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

RIZZO, M.; KOTUR-STEVLJEVIC, J.; BERNEIS, K.; SPINAS, G.; RINI, G. B.; JELIC-IVANOVIC, Z.; SPASOJEVIC-KALIMANOVSKA, V.; VEKIC, J. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. **Translational Research**, v. 153, n. 5, p. 217-223, 2009.

RODRIGO, R.; MIRANDA, A.; VERGARA, L.. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 412, n. 5, p. 410-424, 2011.

ROS, E. Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. **Atherosclerosis**, v. 151, n. 2, p. 357-379, 2000.

ROTH, G. A.; FOROUZANFAR, M. H.; MORAN, A. E.; BARBER, R.; NGUYEN, G.; FEIGIN, V. L.; MURRAY, C. J. Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality. **New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 14, p. 1333-1341, 2015.

RUFINO, M. D. S. M., ALVES, R. E., DE BRITO, E. S., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SANTOS JÚNIOR, R. Q.; SOARES, L. C.; MAIA FILHO, A. L. M.; ARAUJO, K. S.; SANTOS, I. M. S. P.; COSTA JÚNIOR, J. S.; SAFFI, J. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). **ConScientiae Saúde**, v. 9, n. 4, p. 575-581, 2010.

SHANLEY, P. MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Uteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, p.1-7, 2005.

SHI, Y.; BURN, P. Lipid metabolic enzymes: emerging drug targets for the treatment of obesity. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 8, p. 695-710, 2004.

SILVA, T. S.; FREIRE, E. M. X. Abordagem etnobotânica sobre plantas medicinais citadas por populações do entorno de uma unidade de conservação da caatinga do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 4, p. 427-435, 2010.

SILVA, V. K. L.; FIGUEIREDO, R. W.; BRITO, E. S.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, E. A. T. Estabilidade da polpa do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) congelada por 12 meses. **Ciênc. Agrotec.** v. 34, n. 5, p. 1293-1300, 2010.

SIMÕES, C.M.O. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul**, 5.ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998. v.1.

SINIMBÚ NETO, F. A.; MARTINS, A. B. G.; BARBOSA, J. C. Viabilidade in vitro de grãos de pólen de bacurizeiro – Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 593-600, 2011.

SOUSA, C. D. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. D.; ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, V. A. B.; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; LIMA, P. S. C. Variabilidade das características físicas de frutos de germoplasma de bacuri da região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 677-683, 2001.

SOLONI, F. G. Simplified manual micromethod for determination of serum triglycerides. **Clinical Chemistry**, v. 17, n. 6, p. 529-534, 1971.

SPADY, D. K.; DIETSCHY, J. M. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. **Journal of Clinical Investigation**, v. 81, n. 2, p. 300, 1988.

STAMLER, J.; SHEKELLE, R. Dietary cholesterol and human coronary heart disease. The epidemiologic evidence. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 112, n. 10, p. 1032-1040, 1988.

STEFFEN, Y.; JUNG, T.; KLOTZ, L.O.; SCHEWE, T.; GRUNE, T.; SIES, H. Protein modification elicited by oxidized low-density lipoprotein (LDL) in endothelial cells: Protection by (-)-epicatechin. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 42, n. 7, p. 955-970, 2007.

SUH, J. H.; ROMAIN, C.; GONZÁLEZ-BARRIO, R.; CRISTOL, J. P.; TEISSÈDRE, P. L.; CROZIER, A.; ROUANET, J. M. Raspberry juice consumption, oxidative stress and reduction of atherosclerosis risk factors in hypercholesterolemic golden Syrian hamsters. **Food & function**, v. 2, n. 7, p. 400-405, 2011.

TAISHI, O. D. A.; SEIICHIRO, A. O. E.; IMANISHI, S.; KANAZAWA, Y.; SANADA, H.; AYANO, Y. Effects of dietary oat, barley, and guar gums on serum and liver lipid concentrations in diet-induced hypertriglyceridemic rats. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 40, n. 2, p. 213-217, 1994.

TAYLOR, R. N.; DAVIDGE, S.; ROBERTS, J. M. Endothelial Cell Dysfunction and Oxidative. **Chesley's hypertensive disorders in pregnancy**, p. 143, 2009.

TZANG, B. S.; YANG, S. F.; FU, S. G.; YANG, H. C.; SUN, H. L.; CHEN, Y. C. Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. **Food chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1450-1455, 2009.

UEKANE, T. M.; NICOLOTTI, L.; GRIGLIONE, A.; BIZZO, H. R.; RUBIOLO, P.; BICCHI, C.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; REZENDE, C. M. Studies on the volatile fraction composition of three native Amazonian-Brazilian fruits: Murici (*Byrsonima crassifolia* L., Malpighiaceae), bacuri (*Platonia insignis* M., Clusiaceae), and sapodilla (*Manilkara sapota* L., Sapotaceae). **Food Chemistry**, v. 219, p. 13-22, 2017.

UM, M. Y.; HWANG, K. H.; AHN, J.; HA, T. Y. Curcumin Attenuates Diet-Induced Hepatic Steatosis by Activating AMP-Activated Protein Kinase. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 113, n. 3, p. 152-157, 2013.

VAN DEN HEUVEL, M. J.; CLARK, D. G.; FIELDER, R. J.; KOUNDAKJIAN, P. P.; OLIVER, G. J. A.; PELLING, D.; WALKER, A. P. The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD50 test. **Food and Chemical Toxicology**, v. 28, n. 7, p. 469-482, 1990.

VIDÉ, J.; VIRSOLVY, A.; ROMAIN, C.; RAMOS, J.; JOUY, N.; RICHARD, S.; CRISTOL, J.P.; ROUANET, J.M. Dietary silicon-enriched spirulina improves early atherosclerosis markers in hamsters on a high-fat diet. **Nutrition**, v. 31, n. 9, p. 1148-1154, 2015.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. D Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p.888-897, 2011.

VIJAYAKUMAR, R. S.; SURYA, D.; NALINI, N. Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. **Redox Report**, v. 9, n. 2, p. 105-110, 2004.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J.E.U. de; MÜLLER, C.H.; DIAZ, S.C.; ALMANZA, M. **Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia**. Lima: Tratado de Cooperacion Amazônica. Secretaria-Pro-tempore, 1996. 367p.

WANG, T.; PALUCCI, D.; LAW, K.; YANAGAWA, B.; YAM, J.; BUTANY, J. Atherosclerosis: pathogenesis and pathology. **Diagnostic Histopathology**, v. 18, n. 11, p. 461-467, 2012.

WARNICK, G. R.; WOOD, P. D. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. **Clinical chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1427-1433, 1995.

WARNHOLTZ, A.; NICKENIG, G.; SCHULZ, E.; MACHARZINA, R.; BRASEN, J. H.; SKATCHKOV, M.; HEITZER, T.; STASCH, J. P.; GRIENDLING, K. K.; HARRISON, D. G.; BOHM, M.; MEINERTZ, T.; MUNZEL, T. Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis. **Circulation**, v. 99, n. 15, p. 2027-2033, 1999.

WEYDERT, C. J.; CULLEN, J. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. **Nature protocols**, v. 5, n. 1, p. 51-66, 2010.

WHITEHEAD, A.; CURNOW, R. N. Statistical evaluation of the fixed-dose procedure. **Food and Chemical Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 313-324, 1992.

XAVIER H. T., IZAR M. C., FARIA NETO J. R., ASSAD M. H., ROCHA V. Z., SPOSITO A. C., FONSECA F. A., DOS SANTOS J. E., SANTOS R. D., BERTOLAMI M. C., FALUDI A. A., MARTINEZ T. L. R., DIAMENT J., GUIMARÃS A., FORTI N. A., MORIGUCHI E., CHAGAS A. C. P., COELHO O. R., RAMIRES J. A. F. V Diretriz

Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v.101, n.4, 2013.

YANG, T. H.; YAO, H. T.; CHIANG, M. T. Red algae (*Gelidium amansii*) hot-water extract ameliorates lipid metabolism in hamsters fed a high-fat diet. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2017.

YAO, Y., HAO, L., SHI, Z., WANG, L., CHENG, X., WANG, S., REN, G., Mung Bean Decreases Plasma Cholesterol by Up-regulation of CYP7A. **Plant Foods Hum Nutr.** V. 69, n.2, p.134-136. 2014.

ZHANG, Z.; WANG, H.; JIAO, R.; PENG, C.; WONG, Y.; YEUNG, V.; HUANG, Y.; CHEN, Z. Choosing hamsters but not rats as a model for studying plasma cholesterol-lowering activity of functional foods. **Molecular nutrition & food research**, v. 53, n. 7, p. 921-930, 2009.

ANEXO A: Parecer de aprovação dos protocolos com *Mesocricetus auratus* pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEa/UFPI).



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br

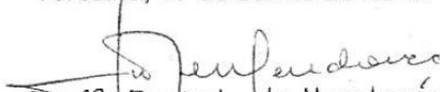


CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “**Avaliação dos efeitos de alimentos ou de seus derivados sobre o metabolismo lipídico, estresse oxidativo, estado inflamatório e reatividade vascular em modelo experimental de dislipidemia**”, protocolo nº 197/16, sob a responsabilidade da **Profa. Dra. MARIA DO CARMO DE CARVALHO E MARTINS– Biofísica e Fisiologia/ CCS/ UFPI** que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de Pesquisa Científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data **17/06/2016**.

Vigência do Projeto	Julho/ 2016 à Dezembro/ 2018
Espécie/Linhagem	Hamster
Nº de Animais	50
Peso/ Idade	16 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério da empresa ANILAB (Animais de Laboratório, Criação e Comércio LTDA- EPP) registrada no CONCEA sob CIEP Nº01.0264.2014

Teresina, 17 de Junho de 2016.


Prof^a Ivete L. de Mendonça
 Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
 Coordenadora



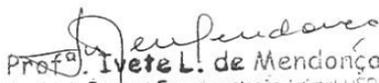
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br



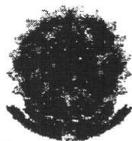
CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "**Avaliação dos efeitos de alimentos ou de seus derivados sobre o metabolismo lipídico, estresse oxidativo, estado inflamatório e reatividade vascular em modelo experimental de dislipidemia**", sob a responsabilidade da Profa. Dra. **MARIA DO CARMO DE CARVALHO E MARTINS**, com Carta de Aprovação deste Comitê sob o nº **197/16**, teve a solicitação de Acréscimo de Animais (76 Hamsters) e mais 27 Camundongos que serão utilizados nos "testes de avaliação de toxicidade aguda e toxicidade aguda in vitro), **Aprovada por este Comitê.**

Teresina, 04 de Novembro de 2016.


Prof.ª **Ivete L. de Mendonça**
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
Coordenadora

ANEXO B: Parecer de aprovação do protocolo com *Rattus norvegicus* pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEa/UFPI).



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO COM ANIMAIS
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 32155734 – e-mail: ceeapi@ufpi.br

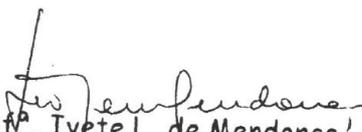
Teresina, 16 de maio de 2012.

Ao (A)

Prof (a): Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira e Francisco de Assis Oliveira
Departamento: UFPI/CCS/NPPM

Sr. (a) Pesquisador (a),

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado: “**Estudo químico-farmacológico de plantas medicinais do cerrado e da caatinga do nordeste brasileiro e de produtos sintéticos e seus derivados bioativos.**”, foi avaliado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais – CEEa/UFPI teve parecer **APROVADO sob o nº. 008/12**. Esclarecemos que o mesmo se encontra de acordo com os requisitos exigidos para apreciação de projetos de pesquisa.


Prof.^a Ivete L. de Mendonça
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
Coordenadora

Atenciosamente,