

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
UNIFAL-MG**

MAYARA ÁTHINA REIS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÓLEO OBTIDO DAS AMÊNDOAS DE BARU
(*Dipteryx alata* Vog.) SOBRE MARCADORES DE RISCO CARDIOVASCULAR E
FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL EM RATOS NORMAIS E DISLIPIDÊMICOS**

Alfenas/MG

2016

MAYARA ÁTHINA REIS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÓLEO OBTIDO DAS AMÊNDOAS DE BARU
(*Dipteryx alata* Vog.) SOBRE MARCADORES DE RISCO CARDIOVASCULAR E
FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL EM RATOS NORMAIS E DISLIPIDÊMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Borges de Araújo Paula

Coorientadora: Profa. Dra. Stella Maris da Silveira Duarte

Alfenas/MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Reis, Mayara Áthina.

Avaliação dos efeitos do óleo obtido das amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) sobre marcadores de risco cardiovascular e funções hepática e renal em ratos normais e dislipidêmicos / Mayara Áthina Reis. -- 2016.

71 f. : il.

Orientadora: Fernanda Borges de Araújo Paula.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, 2016.

Bibliografia.

1. Dieta Hiperlipídica. 2. Lipídeos - toxicidade. 3. Dipteryx. 4. Dislipidemias. 5. Ácidos Graxos. I. Paula, Fernanda Borges de Araújo. II. Título.

CDD 612.01577

MAYARA ÁTHINA REIS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÓLEO OBTIDO DAS AMÊNDOAS DE BARU
(*Dipteryx alata* Vog.) SOBRE MARCADORES DE RISCO CARDIOVASCULAR E
FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL EM RATOS NORMAIS E DISLIPIDÊMICOS**

A Banca examinadora, abaixo-assinada, aprova a
Dissertação apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas.
Área de Concentração: Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 29 de julho de 2016.

Profa. Dra.: Fernanda Borges de Araújo Paula
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL- MG

Assinatura: 

Profa. Dra.: Éllen Cristina de Souza
Instituição: Universidade Federal de Lavras
UFLA-MG

Assinatura: 

Profa. Dra.: Carla Speroni Ceron
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL- MG

Assinatura: 

A minha família e amigos que,
ao acreditarem em mim,
me ajudaram a ter perseverança
para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, sobretudo, por sempre ter iluminado meu caminho.

A minha orientadora Profa Dra Fernanda Borges de Araújo Paula, pelos ensinamentos e principalmente pela confiança depositada em mim para o desenvolvimento deste trabalho.

As minhas preciosas e tão amadas: mãe Rita, avó Janet e tia Fátima. Que sempre me mostraram que o amor, a paciência, a dedicação e a esperança sempre nos levam a alcançar todos os nossos sonhos.

Aos meus irmãos, José Carlos Júnior e Nathália Áthina, que nunca duvidaram do meu potencial e sempre me fizeram acreditar que os sonhos são possíveis.

Ao meu pai, José Carlos (*in memorian*), e ao “paidrasto”, Ferdinando, que fizeram me sentir protegida e confiante para lutar pelos meus objetivos.

Ao Fernando, meu namorado, por todo amor, carinho, paciência e incentivo.

A minha amiga Renata Thaís, pelo imenso carinho e por estar sempre na torcida.

Aos tios Geraldo, Carol e Miguel e a prima Raíssa, por simplesmente acreditarem.

Aos meus padrinhos, aos demais familiares e amigos, por momentos alegres e de descontração.

Aos amigos e colegas de laboratório, que estiveram ao meu lado nessa trajetória dividindo os momentos de alegria, ansiedade e de muita dedicação: André, Bárbara, Bruno, Cláudia, Gabriela, Ivana, Jonatas, Krissia, Marcos, Mariane, Mayara, Naiane, Renan, Tayra e Zoroastro (*in memorian*).

A Dra. Sueli Regina Baggio e ao Prof Rômulo Dias Novaes, pelas colaborações, que se fizeram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de Patologia da UNIFAL-MG, por toda ajuda e atenção.

Aos professores Stella Maris, Maria Rita, Selmo e também as técnicas Damaris, Eliana, Lucinda, Márcia, e Romilda pela amizade, disposição e torcida.

A querida Fabiana, secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela imensa paciência e dedicação.

Aos membros da banca do exame de qualificação, Profas Carla S. Ceron e Marília G. A. G. Pereira, e da banca oficial, Profa Éllen Cristina de Souza e Profa Carla Speroni Ceron.

A Universidade Federal de Alfenas, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela maravilhosa oportunidade de desenvolvimento.

E por fim, a CAPES pelo apoio financeiro concedido para a realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

A lipotoxicidade está altamente relacionada ao desenvolvimento de alterações metabólicas, que constituem os principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis e suas complicações, tais como as doenças cardiovasculares (DCV) e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Estudos apontam que o consumo de alimentos funcionais e nutracêuticos podem contribuir para a redução ou prevenção de alterações ocasionadas por estas doenças. No cerrado brasileiro, está presente uma árvore conhecida popularmente como barueiro (*Dipteryx alata* Vog.), cujos frutos e sementes fazem parte da culinária local. O óleo obtido desta semente tem sido popularmente utilizado tanto na culinária como na medicina popular e preventiva. Embora exista alguns relatos de estudos envolvendo respostas metabólicas frente a ingestão de amêndoas de baru em modelos animal e humano, há carência de informações científicas a respeito dos efeitos biológicos do óleo extraído dessas amêndoas. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da ingestão do óleo extraído da semente do baru sobre marcadores de risco cardiovascular, morfologia de órgãos bem como as funções renal e hepática de ratos normais e dislipidêmicos. As sementes foram obtidas de frutos de baru coletados ao acaso, em Januária, Minas Gerais, Brasil, durante o mês de agosto de 2014. O óleo foi obtido por prensagem mecânica, utilizando-se 12 toneladas de força em prensa hidráulica. A análise do óleo por cromatografia gasosa (CG-MS) forneceu o perfil de ácidos graxos (AG) semelhante ao relatado por outros estudos, demonstrando a presença significativa de AG insaturados, sendo o AG monoinsaturado oleico o de maior quantidade, e em menor concentração AG saturados, sendo os ácidos palmítico e lignocérico em maior quantidade. Ratos machos Wistar (400 ± 25 g) foram divididos em quatro grupos: controle (1), óleo de baru (2), dislipidêmico (3) e dislipidêmico+óleo de baru (4). Os grupos 1 e 2 receberam água (10 mL/Kg) e óleo de baru (1 g/Kg), respectivamente; os grupos 3 e 4 foram tratados com emulsão rica em colesterol (10 mL/Kg), o último recebeu também óleo de baru (1 g/Kg), durante 15 semanas. Os animais foram pesados semanalmente e o consumo de água e ração foi quantificado durante todo o tratamento. Ao término do tratamento, os animais foram anestesiados e as amostras foram coletadas para determinação dos parâmetros: bioquímicos, peroxidação lipídica (PL) e morfologia hepática. Os resultados obtidos demonstraram que a administração da emulsão rica em lipídios foi capaz de induzir alterações metabólicas nos grupos 3 e 4, como dislipidemia e esteatose, bem como aumentou os valores de malonaldeído (MDA) na aorta dos animais do grupo 3, no ensaio de PL. O tratamento com o óleo de baru apresentou efeitos benéficos, como a diminuição dos valores de MDA na aorta dos animais dos grupos 2 e 4, proteção dos fígados dos animais do grupo 4, bem como não foi capaz de alterar a função renal dos animais. Os resultados obtidos são relevantes, demonstrando a segurança da utilização racional do óleo, uma vez que este é utilizado na medicina popular e preventiva assim como na culinária nacional.

Palavras-chave: Dieta hiperlipídica. Lipotoxicidade. Baru (*Dipteryx alata* Vog.). Dislipidemia. Ácidos graxos.

ABSTRACT

Lipotoxicity is highly related to the development of metabolic disorders, which are the main risk factors for the development of chronic diseases and their complications, such as cardiovascular disease (CVD) and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Studies indicate that the consumption of functional foods and nutraceuticals may contribute to the reduction or prevention of alterations caused by these diseases. In the Brazilian cerrado, this is a known popularly as tree barueiro (*Dipteryx alata* Vog.), whose fruits and seeds are part of the local cuisine. The oil from this seed has been popularly used both in cooking and in folk and preventive medicine. Although there are some reports of studies involving metabolic responses front intake baru almonds into animal models and human, there is a lack of scientific information about the biological effects of oil extracted from these kernels. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of extracted oil intake baru seed on cardiovascular risk markers, morphology organs as well as renal and hepatic functions of normal and dyslipidemic mice. The seeds were obtained from fruits baru collected at random in Januária, Minas Gerais, Brazil, during the month of August 2014. The oil was obtained by mechanical pressing, using 12 tons of force on hydraulic press. Oil analysis by gas chromatography (GC-MS) showed the profile of fatty acids (FA) similar to that reported in other studies demonstrating the significant presence of unsaturated FA, monounsaturated FA oleic in greater quantity, and a lesser concentration of saturated FA, palmitic and lignoceric acids in greater quantity. Male Wistar rats (400 ± 25 g) were divided into four groups: control (1), baru oil (2), dyslipidemia (3) and dyslipidemic Baru + oil (4). Groups 1 and 2 received water (10 ml / kg) and Baru oil (1g / kg), respectively; groups 3 and 4 were treated with cholesterol-rich emulsion (10 ml / kg), the latter also received Baru oil (1g / kg) for 15 weeks. Animals were weighed weekly and the consumption of water and feed were quantified throughout the treatment. After treatment, the animals were anesthetized and samples were collected for determination of parameters: biochemical, lipid peroxidation (LP) and liver morphology. The results showed that administration of rich emulsion lipids was able to induce metabolic changes in groups 3 and 4 as hyperlipidemia and fatty liver as well as increased malondialdehyde levels (MDA) in the aorta of animals of group 3, the test PL. Treatment with Baru oil showed beneficial effects, such as reduction of the MDA levels in the aorta of the animals of groups 2 and 4, to protect the livers of animals in group 4, and was not able to alter renal function of animals. The results obtained are relevant, demonstrating the safety of rational utilization of oil, since this is used in folk and preventive medicine as well in domestic cooking.

Key words: High-fat diet. Lipotoxicity. Baru (*Dipteryx alata* Vog.). Dyslipidemia. Fatty acids.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais ácidos graxos em alimentos.....	16
Tabela 2 - Classificação das lipoproteínas	18
Tabela 3 - Perfil de ácidos graxos totais do óleo de baru	38
Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos específicos do óleo de baru.....	39
Tabela 5 - Comparação do perfil dos ácidos graxos específicos das amêndoas de baru por diferentes métodos de extração.....	40
Tabela 6 - Comparação do perfil de ácidos graxos do óleo extraído de sementes comestíveis de diferentes plantas.....	41
Tabela 7 - Ganho de peso e consumo de ração e água de ratos Wistar.....	42
Tabela 8 - Perfil lipídico e glicemia de ratos Wistar.....	43
Tabela 9 - Função renal de ratos Wistar.....	49
Tabela 10 - Função hepática de ratos Wistar.....	59

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Amêndoas de baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	27
Figura 2 - Óleo de baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	28
Figura 3 - Processo de extração do óleo de baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	31
Figura 4 - Cromatograma obtido da análise do perfil de ácidos graxos do óleo de baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	38
Figura 5 - Fotomicrografias representativas do tecido hepático de ratos Wistar.	50
Figura 6 - Fotografias macroscópicas dos fígados de ratos Wistar.	53
Gráfico 1 - Peroxidação lipídica (PL) de soro e aorta de ratos Wistar.....	46
Gráfico 2 - Peso e morfologia do fígado de ratos Wistar.	52
Gráfico 3 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre a morfologia do fígado de ratos Wistar.....	54
Gráfico 4 - Proporção de células intersticiais no fígado de ratos Wistar.	56
Gráfico 5 - Porcentagem das áreas alteradas de hepatócitos de ratos Wistar.....	58

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

%	Por cento
°C	Grau Celsius
µg	Micrograma(s)
µL	Microlitro(s)
µM	Micromolar
µm²	Micrometro(s) quadrado(s)
µmol	Micromol(es)
ACAT	Acil CoA colesterol aciltransferase
AG	Ácido(s) graxo(s)
ALA	Ácido α Linolênico
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
Apo	Apolipoproteína
AST	Aspartato aminotransferase
AVC	Acidente vascular cerebral
CE	Colesterol esterificado
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CG MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CI	Células intersticiais
CNE	Colesterol não esterificado
CS	Capilar(es) sinusoide(s)
CT	Colesterol total
DH	Degeneração hidrópica
DHA	Ácido docosa hexanóico
DHGN	Doença hepática gordurosa não alcoólica
dL	Decilitro(s)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DVC	Doenças cardiovasculares
E	Esteatose
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FAL	Fosfatase Alcalina
FAME	Ésteres metílicos de ácidos graxos (<i>Fatty acid methyl esters</i>)
g	Gramas(s)
HDL	Lipoproteína de alta densidade (<i>High density lipoprotein</i>)
HMG	Hidroximetilglutaril
HN	Hepatócitos normais
HT	Hepatócitos totais
i.p.	Intraperitoneal
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
Kcal	Quilocalorias

KCl	Cloreto de potássio
Kg	Quilograma(s)
L	Litro(s)
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low density lipoprotein</i>)
LPL	Lipase lipoproteica
M	Molar
MDA	Malondialdeído/Malonaldeído
mg	Miligrama(s)
mL	Mililitro(s)
mm²	Milímetro(s) quadrado(s)
MPO	Enzima Mieloperoxidase
MUFAs	Ácidos graxos monoinsaturados (<i>Monounsaturated fatty acids</i>)
N	Número de células
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanometro(s)
nM	Nanomolar
nmol	Nanomol(es)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato salino
PCR	Proteína C reativa
PL	Peroxidação lipídica
PMSF	Fenil metilfluoridosulfóxido
PUFAs	Ácidos graxos poli insaturados (<i>Polyunsaturated fatty acids</i>)
QM	Quilomicrons
RNA	Ácido ribonucleico
SFA	Ácidos graxos saturados
TAG	Triacilgliceróis
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Espécies reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TNF	Fator de necrose tumoral
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa (<i>Very low density lipoprotein</i>)
Vv	Densidade de volume (%)
ω 3	Ômega 3
ω 6	Ômega 6
ω 9	Ômega 9

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	LIPÍDIOS	15
2.1.1	Lipoproteínas	17
2.1.1.1	<i>Metabolismo de lipoproteínas</i>	18
2.1.1.2	<i>Dislipidemias</i>	19
2.2	LIPOTOXICIDADE	21
2.2.1	Doenças cardiovasculares	22
2.2.2	Doença hepática gordurosa não alcoólica	24
2.3	BARU (<i>DIPTERYX ALATA</i> VOG.)	26
3.	OBJETIVOS	29
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	COLETA E PREPARO DO VEGETAL	30
4.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO	30
4.3	AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS	31
4.4	ENSAIOS BIOLÓGICOS	32
4.4.1	Animais	32
4.4.2	Avaliação de parâmetros biológicos	33
4.4.3	Obtenção das amostras	33
4.4.3.1	<i>Obtenção de soro</i>	33
4.4.3.2	<i>Obtenção do homogeneizado da artéria aorta</i>	33
4.4.4	Avaliação de marcadores de risco cardiovascular	34
4.4.4.1	<i>Avaliação do perfil lipídico e glicêmico</i>	34
4.4.4.2	<i>Avaliação da peroxidação lipídica</i>	34
4.4.5	Avaliação da função renal	34
4.4.6	Avaliação da função hepática	35
4.4.6.1	<i>Avaliação morfológica</i>	35
4.4.6.2	<i>Perfil proteico e enzimático</i>	35
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	OBTENÇÃO DO ÓLEO DE BARU	37
5.2	AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS	37
5.3	ENSAIOS BIOLÓGICOS	41
5.3.1	Avaliação de parâmetros biológicos	41
5.3.2	Avaliação de marcadores de risco cardiovascular	42

5.3.3	Avaliação da função renal	48
5.3.4	Avaliação da função hepática.....	49
5.3.4.1	<i>Avaliação morfológica</i>	35
5.3.4.2	<i>Perfil proteico e enzimático</i>	357
6.	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO

As dislipidemias, que se caracterizam por alterações qualitativas e ou quantitativas das lipoproteínas plasmáticas, têm sido associadas ao desenvolvimento de doenças crônicas, pois podem ter implicações patológicas graves, decorrentes da lipotoxicidade, acarretando complicações para a saúde da população (KHERA et al., 2011; ALONSO; CERVANTES, 2011; WALENBERGH et al., 2013).

As implicações ocasionadas pela lipotoxicidade estão associadas ao acúmulo de lipídios em órgãos e tecidos, resultando aumento do estresse oxidativo e desarranjo tecidual, os quais levam ao comprometimento dos órgãos e tecidos atingidos. Estas alterações podem levar ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis tais como as doenças cardiovasculares (DCV) e a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (KIM et al., 2012; D'SOUZA; NZIRORERA; KIENESBERGER, 2016; MOTA et al., 2016).

Estas doenças, que afetam tanto países em desenvolvimento como os desenvolvidos, apresentam altas taxas de prevalência, significativos índices de morbidade e mortalidade, gerando alto custo para os sistemas públicos e redução da qualidade de vida dos seus portadores (MOZAFFARIAN et al., 2014; KATSIKI; MIKHAILIDIS; MANTZOROS, 2016). Assim, a pesquisa de novas substâncias bioativas que apresentem atividade reguladora ou inibitória dos mecanismos patogênicos relacionados à lipotoxicidade é de fundamental importância para a prevenção das doenças crônicas não transmissíveis (ZHENG; GARDNER; CLARKE, 2011; GÓMEZ et al., 2014; KATSIKI; MIKHAILIDIS; MANTZOROS, 2016).

As amêndoas e o óleo de baru têm sido popularmente utilizados não somente pelo seu valor nutricional, mas também pelas suas propriedades terapêuticas. Tem sido relatado na literatura científica que as amêndoas do baru podem apresentar efeitos benéficos sobre o diabetes mellitus, a inflamação e estresse oxidativo induzido por ferro (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004; SIQUEIRA et al., 2012).

Estudos sobre a caracterização química do óleo de baru têm relatado a presença de diferentes ácidos graxos saturados e insaturados em sua composição, entre os quais se destacam os ácidos oleico (44 a 50%) e linoleico (28 a 31%), tanto pela quantidade observada no óleo como também pela atividade biológica dos mesmos, que poderia justificar vários efeitos benéficos do óleo de baru visando a saudabilidade, conforme relatado em alguns estudos (TAKEMOTO et al. 2001; VERA et al., 2009; FREITAS, NAVES, 2010).

Estudos envolvendo respostas metabólicas frente à ingestão de amêndoas torradas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) em modelo animal e humano, bem como relacionados à caracterização química das mesmas, demonstram a eficiência de seu consumo. No entanto, apesar da existência de relatos sobre o uso do óleo obtido desta semente na medicina popular como antirreumático e regulador da menstruação (FERREIRA, 1980; BARROS, 1982), se faz necessária a obtenção de informações científicas a respeito dos efeitos biológicos do óleo extraído destas amêndoas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Com o objetivo de melhor compreensão deste estudo, encontra-se evidenciada abaixo a revisão bibliográfica.

2.1 LIPÍDIOS

Os lipídios são moléculas orgânicas, solúveis em solventes orgânicos e praticamente insolúveis em água, formadas principalmente por ligações carbono-hidrogênio não polares. Encontram-se distribuídos em todos os tecidos e exercem funções biológicas importantes nos organismos vivos (BURTIS; BRUNS, 2016). Dos pontos de vista fisiológico e clínico, os lipídios biologicamente mais relevantes são os fosfolipídios, o colesterol, os triacilgliceróis (TAG) e os ácidos graxos (AG). No plasma, são transportados na forma de complexos macromoleculares conhecidos como lipoproteínas (SBC, 2013).

Derivado do ciclopentanoperidrofenantreno, o colesterol é essencial à vida. No organismo animal, é um elemento estruturante das membranas celulares. Além disso, atua como substrato para a síntese de ácidos biliares no fígado, dos hormônios esteróides nos tecidos na glândula adrenal, testículos, ovários e placenta assim como da vitamina D na pele (SBC, 2013; BURTIS; BRUNS, 2016).

Os TAG são formados pela ligação de três ácidos graxos com uma molécula de glicerol, por meio de ligações éster. São armazenados nos tecidos adiposo e muscular, constituindo uma das principais formas de armazenamento energético do organismo (TRIGUERO et al., 2012; SBC, 2013).

Os fosfolipídios compreendem uma classe especial de lipídios que possuem em sua estrutura, além de AG e glicerol, o ácido fosfórico (fosfato) e uma molécula nitrogenada. Formam a estrutura básica das membranas celulares, além de participarem de vias de sinalização em resposta a estímulos internos e externos ao organismo (BURTIS; BRUNS, 2016).

Os AG, derivados dos hidrocarbonetos, são ácidos carboxílicos que possuem 4 a 36 carbonos no seu comprimento. São classificados de acordo com o comprimento da cadeia de carbono (curta, média ou longa), número de duplas ligações na cadeia de carbono (saturados, monoinsaturados ou poli-insaturados) e com a configuração das duplas ligações (cis ou trans). Na Tabela 1 estão listados alguns dos AG mais comuns e suas principais fontes (MOREIRA, 2003).

Tabela 1 - Nomenclatura, tamanho da cadeia e fontes de principais ácidos graxos em alimentos.

Nomenclatura sistemática	Tamanho da cadeia	Nome comum	Fontes
Monoinsaturados			
<i>Cis</i>			
9-tetradecaenóico	C14:1	Miristoléico	Manteiga
9-hexadecaenóico	C16:1	Palmitoléico	Alimentos marinhos, carne
9-ocatadecaenóico	C18:1	Oléico	Oliva, canola
11-octadecaenóico	C18:1	Vacênico	Alimentos marinhos
<i>Trans</i>			
9-octadecaenóico	†18:1	Elaídico	Gorduras hidrogenadas
11-octadecaenóico	†18:1	Trans vacênico	Gorduras hidrogenadas, manteiga
Poli-insaturados			
<i>Cis</i>			
9,12-octadienóico	C18:2	Linoléico	Girassol, Açafrão
6,9,12-octatrienóico	C18:3	γ -linolênico	Prímula
8,11,14-eicosatrienóico	C20:3	Dihomo- γ -linolênico	Fígado de tubarão
5,8,11,14-eicosatetraenóico	C20:4	Araquidônico	Ovos, muitas gorduras animais
9,12,15-octatrienóico	C18:3	α -Linolênico (ALA)	Soja, canola
5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	C20:5	Timnodônico (EPA)	Alimentos marinhos

Fonte: MOREIRA, p. 7, 2003.

Nota: Dados tratados pelo autor.

Estes compostos estão amplamente distribuídos na natureza e além de apresentarem valor nutricional, podem também influenciar fatores de risco cardiovasculares, bem como o metabolismo lipídico, exercendo efeitos benéficos ou prejudiciais sobre a saúde. As características químicas associadas à quantidade de AG ingeridos na alimentação são fatores determinantes de tais efeitos (SANTOS et al., 2013, HANKE et al., 2013).

Os AG poli-insaturados (PUFAs), ácido α -linolênico (ω -3, C18:3) e ácido linoleico (ω -6, C18:2), e os AG monoinsaturados (MUFAs), ácido oleico (ω -9, C18:1), são considerados essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a obtenção através da dieta (MARTIN et al., 2006).

O AG simples α -linolenico (ω -3), é sintetizado a partir da dessaturação do AG linoleico (ω -6) com a participação da delta-15-desaturase, não presente nos animais, sendo apenas as plantas capazes de sintetizar o ácido α -linolenico. Após subseqüentes dessaturações ou alongamentos de cadeia, o ácido α -linolenico pode ser convertido primeiramente em estearidônico, convertido em eicosatetraenóico e posteriormente

convertido em ácido eicosapentaenoico (EPA), este por sua vez, após processos de alongamentos, dessaturação e oxidação dá origem ao ácido docosa-hexaenoico (DHA) (CALDER, 2012).

Sendo de grande importância biológica, após a sua ingestão pelos animais, os PUFAs ômega-3 e ômega-6, compõem os fosfolipídios de membrana, atuando assim como AG verdadeiramente funcionais, podendo também ser relacionados à conversão enzimática dos mesmos em eicosanóides. Os eicosanóides desempenham diversas atividades, dentre elas modulam a resposta inflamatória e resposta imunológica, a exemplo a produção das prostaglandinas, tendo significativo papel em atividades biológicas importantes como agregação plaquetária ou crescimento e diferenciação celular (VIOLA, 1997; ZIBOH, 2000; CARMO; CORREIA, 2009; MARSMAN et al., 2011; PRINCE et al., 2014).

2.1.1 Lipoproteínas

As lipoproteínas são macromoléculas formadas por associações entre lipídeos e proteínas, denominadas apolipoproteínas (Apo), que permitem a solubilização e o transporte dos lipídeos no meio aquoso plasmático. Estas macromoléculas são formadas no fígado, intestino ou no plasma por transformação de lipoproteínas pré-existentes. Possuem um núcleo apolar hidrofóbico de TAG e colesterol esterificado (CE), rodeado por uma camada polar hidrófila de fosfolipídios, colesterol livre e Apo, além de antioxidantes lipossolúveis (TRIGUERO et al., 2012).

Entre as diferentes classificações propostas para as lipoproteínas, aquela relacionada à sua densidade tem sido a mais utilizada. A variação na densidade de cada classe depende principalmente da proporção de lipídeos e de proteínas em sua estrutura, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação das lipoproteínas de acordo com a composição.

	Quilomicrons	VLDL	IDL	LDL	HDL
Densidade (g/L)	< 950	950-1.006	1.006-1.019	1.006-1.063	1.063-1.210
Diâmetro (nm)	80-500	25-80	20-35	20-28	4-10
Mobilidade eletroforética	Origem	Pré-beta	Pré-beta	Beta	Alfa-1
Proteínas (%)	1-2	7-10	10-12	20-22	45-55
Colesterol (%)	8	20-35	40-45	45-58	20-25
Triacilgliceróis (%)	84	50-55	25-30	10-15	8-28
Apolipoproteínas	A-I, A-II, A-IV, B-48, C, E	B-100, E	B-100, E	B-100	A-I, A-II, A-IV, C, D, E
Origem	Intestinal	Hepática	VLDL	VLDL	Intestinal e hepática

Legenda: VLDL - Lipoproteína de densidade muito baixa, IDL - Lipoproteína de densidade intermediária, LDL - Lipoproteína de baixa densidade, HDL - Lipoproteína de alta densidade.

Fonte: TRIGUERO et al., p. 1126, 2012.

Nota: Traduzido pelo autor.

2.1.1.1 Metabolismo de lipoproteínas

Os mecanismos exatos de formação das diferentes lipoproteínas ainda não são totalmente esclarecidos, porém a teoria mais aceita propõe que a incorporação de seus diferentes constituintes ocorre ao longo da migração do retículo endoplasmático para o aparelho de Golgi, onde poderiam ser formadas vesículas secretoras que se fundem com a membrana celular e libertam as lipoproteínas nascentes no plasma e na linfa (TRIGUERO et al., 2012; ERRICO et al., 2013).

Os quilomicrons (QM) são formados nas células intestinais, após a absorção de partículas lipídicas provenientes da dieta e lançados para o interior do sistema linfático, alcançando, assim, a circulação pelo ducto torácico (SBC, 2013).

Na circulação, os QM são hidrolisados por meio de uma reação catalisada pela enzima lipase lipoproteica (LPL), localizada na superfície endotelial de capilares do tecido adiposo e músculos. Este processo leva à liberação de AG, glicerol e colesterol não esterificado (CNE) e à formação de partículas remanescentes de QM. Estes últimos são captados pelo fígado enquanto que aos AG podem ser capturados pelos tecidos adiposo, muscular e pelo fígado. Esta via é denominada de via exógena (SBC, 2013).

A via endógena é responsável pelo transporte de lipídeos de origem hepática. Assim, as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) são sintetizadas no fígado a partir dos TAG e fosfolipídeos. Na circulação, são hidrolisadas pela LPL e também pela lipase

hepática, sendo progressivamente convertidas em partículas cada vez menores e mais ricas em colesterol, as VLDL remanescentes, também denominadas de lipoproteínas de densidade intermediária (IDL). Estas podem ser depuradas pelo fígado, via receptores específicos ou convertidas em lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que possuem em sua composição quantidades expressivas de colesterol e apenas resíduos de TAG. Finalmente, as LDL resultantes da cascata lipolítica das lipoproteínas são captadas no fígado e nos tecidos periféricos, via receptores de LDL (SBC, 2013).

No interior das células, o colesterol livre pode ser esterificado por ação da enzima acil-CoA colesterol aciltransferase (ACAT), para depósito. O aumento do conteúdo de colesterol no meio intracelular hepático inibe a atividade da enzima hidroximetilglutaril (HMG) CoA redutase, inibindo assim a sua síntese (TRIGUERO et al., 2012; ERRICO et al., 2013; SBC, 2013).

Já as lipoproteínas de alta densidade (HDL) são formadas no fígado, intestino e circulação. Grande parte dos precursores da HDL é proveniente da lipólise de lipoproteínas ricas em TAG, como VLDL e os QM. Por meio de um processo chamado transporte reverso do colesterol, as HDL transportam o colesterol que é sintetizado ou depositado nos tecidos periféricos para o fígado, onde este é captado por receptores específicos denominados SR-B1. Este mecanismo tem sido considerado com a base de proteção do organismo contra a deposição de quantidades excessivas de colesterol nos tecidos (LEANÇA et al., 2010).

Embora esta seja uma das ações mais conhecidas desta lipoproteína, é importante enfatizar que as HDL possuem outras ações que também contribuem para a proteção do leito vascular tais como, a remoção de lipídeos oxidados da LDL, a inibição da fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio e a estimulação da liberação de óxido nítrico (LEANÇA et al., 2010).

Assim, em condições normais, estas vias atuam no controle da síntese e do catabolismo das lipoproteínas, sendo responsáveis, portanto, pela manutenção dos níveis séricos de lipídios tais como colesterol total (CT) e TAG, dentro dos limites desejáveis (TRIGUERO et al., 2012; ERRICO et al., 2013; SBC, 2013).

2.1.1.2 Dislipidemias

As dislipidemias formam um grupo de distúrbios caracterizados por anormalidades quantitativas e ou qualitativas das lipoproteínas plasmáticas. Segundo a V Diretriz Brasileira

sobre Dislipidemias (SBC, 2013), podem ser classificadas de acordo com os dados laboratoriais ou com a etiologia do distúrbio apresentado.

Em seres humanos, a classificação laboratorial compreende quatro tipos principais: a hipercolesterolemia isolada, caracterizada pela elevação isolada do CT, em geral representada por aumento colesterol LDL (LDL-C); a hipertrigliceridemia isolada, observada quando há elevação isolada dos TAG, em geral representada por aumento do colesterol VLDL, ou dos QM, ou de ambos; a hiperlipidemia mista, caracterizada por valores aumentados do CT e dos TAG e a categoria denominada HDL baixa, podem ser observados valores diminuídos de colesterol HDL isoladamente ou em associação com aumento de LDL-C e ou de TAG (SBC, 2013; BURTIS; BRUNS, 2016).

A classificação etiológica divide as dislipidemias em primárias e secundárias (SBC, 2001; SBC, 2007). A importância desta classificação pode ser atribuída ao fato de que muitas das dislipidemias secundárias podem ser curáveis com o controle da doença de base, enquanto as primárias são apenas controláveis (SBC, 2013).

As dislipidemias primárias caracterizam-se pelo aumento ou diminuição dos lipídios plasmáticos, resultantes de alterações genéticas que interferem nos mecanismos de síntese ou de remoção das lipoproteínas circulantes. Entre as mais frequentes destacam-se: a síndrome da hiperquilomiconemia, a hipercolesterolemia familiar, a hiperlipidemia familiar combinada, a disbetalipoproteinemia, a hipertrigliceridemia familiar e a hipoalfalipoproteinemia familiar (SBC, 2001; DATTA; COLE; SHORTLAND, 2011; KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013).

Podem ser classificadas laboratorialmente com base nos aspectos genotípicos e fenotípicos. O primeiro aspecto é realizado por meio de análises moleculares dos tipos e números de mutações gênicas. Já fenotipicamente, é determinado o perfil lipídico que considera principalmente as concentrações séricas de CT, LDL, TAG e HDL (MARTINEZ; LOPES, 2004; SBC, 2007).

As dislipidemias secundárias resultam de alterações nas concentrações plasmáticas das lipoproteínas, secundárias a uma causa específica. Podem ser observadas em decorrência do uso de medicamentos, patologias e hábitos de vida. Entre as causas mais frequentes podemos citar: diabetes mellitus descompensado, hipotireoidismo, insuficiência renal crônica, hepatopatias colestáticas, obesidade, uso de corticoesteróides, isotretinoína, etilismo, tabagismo, sedentarismo e ingestão excessiva de alimentos ricos em ácidos graxos (MARTINEZ; LOPES, 2004; DATTA; COLE; SHORTLAND, 2011).

As dislipidemias podem ter implicações patológicas, decorrentes da lipotoxicidade, comumente observada em diversos tecidos ou órgãos, que podem levar a sérias complicações para a saúde da população, demonstradas por meio de estudos epidemiológicos e experimentais, desenvolvidos com diferentes populações ou com modelos experimentais variados (DEGIROLAMO; SHELNESS; RUDELL, 2009; AJJAN; ARIËNS, 2009; ALONSO; CERVANTES, 2011; KHERA et al., 2011).

2.2 LIPOTOXICIDADE

A lipotoxicidade pode ser definida como um processo no qual se observa um acúmulo de lipídios e uma super ativação das vias de sinalização que levam à disfunção celular (MOTA et al., 2016; D'SOUZA; NZIRORERA; KIENESBERGER, 2016).

Vários lipídios tais como, ácidos graxos livres, fosfatidilcolina, ceramidas, colesterol livre, triacilgliceróis e ácidos biliares, têm sido apontados como lipotóxicos. Ainda, evidências científicas têm associado o aumento dos níveis séricos de CT, LDL, TAG e AG assim como as concentrações reduzidas de HDL à lipotoxicidade em diferentes órgãos ou tecidos. (WALENBERGH et al., 2013).

Assim, o excesso de lipídios na circulação bem como no meio intracelular pode resultar em morte celular, disfunção mitocondrial, estresse do retículo endoplasmático, acúmulo de ceramidas e exposição aumentada a espécies reativas de oxigênio (ERO) (KIM et al., 2012; MOTA et al., 2016; D'SOUZA; NZIRORERA, KIENESBERGER 2016).

Tem sido demonstrado que a peroxidação lipídica contribui significativamente para os efeitos tóxicos decorrentes do excesso de lipídios no organismo. A interação entre ERO e lipídios acumulados no meio intracelular, pode levar a um processo autocatalítico que somente estará terminado quando ocorrer escassez das reservas de PUFA's e oxigênio, que são os substratos para que a peroxidação lipídica ocorra (DOS SANTOS et al., 2007).

Os produtos finais da peroxidação lipídica podem ser apontados como aldeídos, ésteres, cetonas, alcoóis e até mesmo hidrocarbonetos provenientes da clivagem de hidroperóxidos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; LOUREIRO et al., 2002). Subsequentemente, os peróxidos lipídicos podem interagir com macromoléculas tais como, DNA mitocondrial, RNA e proteínas mitocondriais, levando à disfunção celular (SCHRAUWEN et al., 2010).

Neste contexto, tanto os efeitos tóxicos diretos como aqueles secundários a lipotoxicidade têm sido associados aos principais mecanismos que levam ao

desenvolvimento de doenças crônicas associadas à dislipidemia (KIM et al., 2012; WALENBERGH et al., 2013; D'SOUZA; NZIRORERA, KIENESBERGER, 2016).

Entre estas, as DCV e a DGHNA ocupam posição de destaque no cenário mundial, tendo em vista as suas prevalências, os altos índices de morbidade e mortalidade ocasionados pelas mesmas, bem como o alto custo para os sistemas públicos e a redução da qualidade de vida dos portadores destas doenças (MOZAFFARIAN et al., 2014; KATSIKI; MIKHAILIDIS; MANTZOROS, 2016).

2.2.1 Doenças cardiovasculares

As DCV constituem uma das mais reconhecidas e importantes causas de morte no mundo todo, afetando países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo responsáveis por cerca de 30% das mortes globais (CABALLERO-GEORGE, 2015; CHUI et al., 2015). Abrangem uma gama de desordens, que incluem doenças vasculares, doenças do miocárdio, distúrbios da condução elétrica cardíaca e doença cardíaca congênita.

Segundo as projeções da Organização Mundial de Saúde (OMS), a tendência de elevação na prevalência de DCV tende a persistir, principalmente nos países em desenvolvimento. Estima-se que em 2030, cerca de 23,6 milhões de pessoas morram de DCV no mundo (MENDIS; PUSKA; NORRVING, 2011; MOZAFFARIAN et al., 2014).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (2011), tais doenças são apontadas como a causa de 29,4% dos óbitos registrados no Brasil. Entre estas, as síndromes coronarianas agudas, o acidente vascular cerebral (AVC) e a insuficiência cardíaca descompensada têm sido apontados como as principais causas de morte e de hospitalização (ANDRADE et al., 2013).

As DCV têm sido apontadas como responsáveis por grandes prejuízos socioeconômicos em todo o mundo, sendo consideradas como problemas de saúde pública no Brasil, à medida que parecem existir fatores de risco para estas doenças disseminadas na população de todos os níveis socioeconômicos (MANSUR; FAVARATO 2012; GO et al., 2013).

Assim, é de grande interesse buscar por tratamentos de sucesso para aumentar a sobrevivência de pacientes que sofrem dessas desordens para reduzir o impacto destas doenças no sistema de saúde global (PAGIDIPATI; GAZIANI, 2013).

Dentre os processos patológicos que levam ao desenvolvimento de tais doenças, a aterosclerose é, indiscutivelmente, o que mais acomete indivíduos em todo o mundo (PUSKA, 1986; MCINTOSH, 1989; ROSS, 1993; GO et al., 2013).

A aterosclerose é caracterizada pelo acúmulo de lipídios no endotélio vascular e formação de placas que emergem da camada íntima das artérias em resposta à agressão endotelial. Acomete principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre e é responsável pela complicação das principais DCV, tais como: doença arterial coronariana, AVC, doença arterial periférica e falência cardíaca (SOEHNLEIN, 2012).

Diversos estudos desde Dawber (1980) têm fornecido uma visão sobre os fatores de risco envolvidos na etiologia da doença cardiovascular aterosclerótica (SANTOS FILHO; MARTINEZ, 2002; ALVES et al., 2009; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2009), sendo observado que fatores tais como a hipertensão arterial, as dislipidemias, a obesidade, o diabetes mellitus e alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em calorias, gorduras saturadas, colesterol e sal, consumo de bebida alcoólica, tabagismo e sedentarismo podem aumentar o risco de desenvolvimento da aterosclerose (ALVES et al., 2009). Além destes, fatores não controláveis como idade, sexo e hereditariedade também devem ser considerados (ERBEL; BUDOFF, 2012; SBC, 2013).

Apesar dos mecanismos celular e molecular da aterogênese não estarem totalmente elucidados é conhecido que esta patologia envolve uma série de fatores inflamatórios e células do sistema de defesa imunológico interagindo por diferentes vias metabólicas e que o aumento da concentração sérica de colesterol, principalmente da LDL, tem sido apontado como o principal fator de risco para o desenvolvimento da aterosclerose (ALVES et al., 2009; RIZZO et al., 2009).

O aumento da permeabilidade vascular a LDL favorece a sua retenção no espaço subendotelial. Estas lipoproteínas podem passar por processos oxidativos mediados por ERO, levando a modificações estruturais e funcionais destas macromoléculas (MOORE; TABAS, 2011; PALMEFORS et al., 2014).

A LDL oxidada atua como um sinalizador para o recrutamento de monócitos, induzindo reações inflamatórias dentro da parede arterial, que promove o desenvolvimento de placas ateroscleróticas. As modificações oxidativas de LDL ocorrem principalmente na íntima, em microambientes escassos de antioxidantes do plasma. No entanto, a oxidação da LDL pode ocorrer também no plasma de forma menos intensa. Um estudo *ex vivo* mostrou que o conteúdo de LDL na placa aterosclerótica era aproximadamente 70 vezes mais elevado do que a sua concentração plasmática (NISHI et al., 2002). A concentração

plasmática elevada de LDL oxidada está correlacionada com a vulnerabilidade e à ruptura de lesões ateroscleróticas. Acontecendo a ruptura, essa LDL oxidada pode atingir a corrente sanguínea e o seu nível plasmático pode ser um possível marcador de risco coronariano (WITZTUM, 1994; HOLVOET et al., 2001; NISHI et al., 2002; SIGALA et al., 2010).

O acúmulo de LDL oxidada na parede vascular contribui para a liberação de uma série de citocinas e fatores de crescimento. Neste processo, há um aumento da resposta inflamatória estimulando a migração de monócitos para a íntima bem como a sua diferenciação em macrófagos, que através de receptores *scavenger*, podem captar a LDL oxidada, levando à formação de células espumosas (*foam cell*), que constituem o principal componente das estrias gordurosas (lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose) (CORRÊA-CAMACHO; DIAS-MELICIO; SOARES, 2007; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2009).

Durante os estágios iniciais de desenvolvimento da placa aterosclerótica, a doença é clinicamente silenciosa, mas durante sua evolução, as placas podem se tornar instáveis e, eventualmente se romper expondo um núcleo pró-trombótico. Este processo resulta na ativação de plaquetas e de fatores de coagulação com a formação de um trombo, o qual pode obstruir parcial ou completamente o lúmen do vaso. Nesta situação observam-se manifestações clínicas como sintomas isquêmicos, que, não raramente, podem causar danos irreversíveis ao órgão afetado (MOORE; TABAS, 2011).

Portanto, os mecanismos que levam ao desenvolvimento da aterosclerose têm sido relacionados a uma associação de fatores tais como: anormalidades lipídicas, estresse oxidativo, ativação plaquetária, trombose, inflamação e alterações metabólicas (CORRÊA-CAMACHO; DIAS-MELICIO; SOARES, 2007; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2009; MOORE; TABAS, 2011).

2.2.2 Doença hepática gordurosa não alcoólica

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é conhecida como a principal doença hepática no mundo ocidental e pode ocorrer em qualquer idade, inclusive na infância e adolescência. É uma condição clínica, multifatorial, na qual estão incluídas diversas doenças hepáticas, abrangendo desde a esteatose simples à condições mais graves como esteatohepatite, fibrose hepática, cirrose e eventualmente, o carcinoma hepatocelular (KOEK; LIEDORP; BAST, 2011; MACHADO; DIEHL, 2016).

De acordo com dados da literatura, a DHGNA atinge entre 25 e 30% da população mundial (ARGUELLO et al., 2015). Devido à estreita relação com diversos fatores de risco cardiovasculares tais como obesidade, dislipidemia, diabetes mellitus, hipotensão e tabagismo, a DHGNA tem despertado a atenção mundial, já que pode contribuir para o aumento da morbidade e da mortalidade por doença hepática e cardiovascular (KATSIKI; MIKHAILIDIS; MANTZOROS, 2016).

Enquanto a esteatose simples apresenta um prognóstico benigno em relação à função hepática, a esteatohepatite confere um risco de mortalidade quase duas vezes maior, devido às complicações hepáticas decorrentes desta patologia (MUSSO; GAMBINO; CASSADER, 2013).

A hipótese mais aceita sobre a patogênese da esteatohepatite propõe o seu desenvolvimento em duas fases. A primeira fase seria a esteatose hepática, determinada por anormalidades metabólicas decorrentes de lipólise aumentada, de maior captação de AG livres pelos hepatócitos, de aumento da síntese de lipídios assim como da redução da oxidação de AG livres e da exportação de TAG pelo fígado. Estes fatores contribuem para o acúmulo excessivo de gorduras nos hepatócitos, que ocorre na forma de gotículas de lipídios e poderiam sensibilizar o fígado, levando à segunda fase que está associada ao estresse oxidativo e à indução da inflamação. Além do aumento da produção de adipocinas, que afetam vias de sinalização celular, nesta fase tem sido observado também, o aumento do estresse oxidativo assim como da produção de citocinas pró-inflamatórias tais como, fator de necrose tumoral (TNF), Interleucinas 1 e 6 e proteína C reativa (TAKAHASHI; SOEJIMA; FUKUSATO, 2012; WALENBERGH et al., 2013).

Por outro lado, uma proposição mais recente aponta para o fato de que a esteatose simples e a esteatohepatite podem ser duas patologias distintas, cujo desenvolvimento estaria associado ao acúmulo de espécies lipídicas tóxicas e pró-inflamatórias que poderiam interagir, levando ao desenvolvimento da esteatohepatite enquanto que no caso da esteatose simples, o fígado estaria livre de alterações inflamatórias e fibróticas (MUSSO; GAMBINO; CASSADER, 2013).

Embora o mecanismo molecular que leva à transição da esteatose à esteatohepatite ainda não esteja totalmente esclarecido, vários estudos apontam que o acúmulo de lipídios, como AG, TAG e colesterol livre nos hepatócitos, poderia levar à lipotoxicidade hepática, desregulando o metabolismo mitocondrial e lisossomial, além de induzir o estresse do retículo endoplasmático, que poderia resultar em apoptose (MUSSO; GAMBINO; CASSADER, 2013; MOTA et al., 2016).

Tem sido demonstrado que o acúmulo de colesterol livre pode lesar os hepatócitos levando à desregulação mitocondrial e diretamente, devido ao rompimento da integridade da membrana mitocondrial e do retículo endoplasmático. Estes processos contribuem para a lesão oxidativa e para o estresse do retículo endoplasmático. Além disso, o acúmulo de partículas de LDL oxidada pode ativar células de Kupffer e células estreladas, levando à inflamação e fibrose hepática (KOEK; LIEDORP; BAST, 2011).

De acordo com Takahashi e Soejima (2014), o metabolismo de lipídios alterado, a hepatotoxicidade mediada pelos AG livres, o estresse oxidativo, a produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias, o transporte anormal de colesterol intra-hepático, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, hipoadiponectinemia e apoptose são importantes fatores que em conjunto contribuem para o desenvolvimento da segunda fase que leva ao desenvolvimento da esteatose hepática também denominada esteatohepatite.

As alterações histológicas decorrentes destes distúrbios se iniciam com processos reversíveis como degeneração hidrópica e esteatose microvesicular. Se a alteração metabólica persistir, os processos se tornam mais acentuados, acarretando em desarranjo tecidual, infiltrado inflamatório e esteatose macrovesicular. Nesta fase, as alterações acarretadas nestas células podem ser revertidas, porém, se a condição primária não for modificada, pode levar a processos mais graves como a cirrose hepática ou até mesmo carcinoma hepatocelular (TOMINAGATA et al., 1995; DÂMASO et al., 2006; ARGUELLO et al., 2015).

2.3 BARU (*DIPTERYX ALATA* VOG.)

No Cerrado, o segundo maior bioma brasileiro, está disseminada uma árvore da família Leguminosae, conhecida popularmente por baru (*Dipteryx alata* Vog.), fonte de renda da população regional, a partir da utilização da madeira, frutos e sementes (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004).

O barueiro floresce de novembro a maio e produz fruto de julho a outubro. Seu fruto é uma drupa e contém uma única semente de cor castanha, denominada amêndoa (BOZZA, 2004; SANO; BRITO; & RIBEIRO, 2006).

A polpa e a amêndoa de baru são comestíveis e apresentam valor energético de cerca de 300 kcal/100g e 476 a 560 kcal/100g respectivamente (PINHO et al., 2015). As amêndoas, no entanto, como a maioria das sementes de leguminosas, contém inibidor de tripsina, que afeta indiretamente a absorção de aminoácidos essenciais, não sendo

recomendada, então, a semente *in natura*. Processos de tratamento térmico podem inativar os inibidores de tripsina, tornando-as comestíveis. Assim, as sementes (FIGURA 1) são indicadas para o consumo após serem torradas ou então fazendo parte de diferentes receitas de doces e licores enquanto que a polpa, levemente adocicada, geralmente é consumida *in natura* ou na forma de doces (TOGASHI; SCARBIERI, 1994).

Figura 1 - Amêndoas de baru (*Dipterx alata* Vog.)



Legenda: **A** - amêndoas *in natura*. **B** - amêndoas em processo de torrefação.

Fonte: Do autor.

A partir das amêndoas do baru, pode ser obtido um óleo (FIGURA 2) com alto grau de instauração (75 a 80%), semelhante ao azeite de oliva (75 a 95%), com potencial para utilização na cozinha e que apresenta em sua composição alfa tocoferol, AG insaturados, saturados e aminoácidos essenciais (RODRIGUES, 2015). Além do valor nutricional e da possibilidade do uso culinário, o óleo da semente de baru pode apresentar também propriedades medicinais, uma vez que tem sido relatado o seu uso na medicina popular e preventiva como antirreumático e regulador da menstruação (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004).

Figura 2 - Óleo de baru (*Dipterx alata* Vog.).



Fonte: Do autor.

Segundo Vera et al. (2009), os AG insaturados estão presentes em maiores concentrações que os ácidos graxos saturados (SFA) nas amêndoas do baru. Ainda neste estudo foi demonstrado que os ácidos linoleico e oleico se destacaram como principais ácidos graxos insaturados. De acordo com Sano et al. (2004) o teor de ácido linoleico nas amêndoas do baru é superior ao óleo de amendoim, de coco, do azeite de oliva assim como do dendê. Entre os SFA, foram relatados os ácidos palmítico, esteárico, lignocérico e behênico como principais componentes desta classe de lipídios (VERA et al., 2009).

A presença destes AG no óleo obtido da semente do baru pode ter importantes implicações sobre a saúde, uma vez que a quantidade e o tipo de lipídios ingeridos podem influenciar o metabolismo lipídico, resistência à insulina e risco cardiovascular (SBC, 2007; BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

Embora alguns autores tenham demonstrado que a semente do baru, pode apresentar um efeito saciante, importante no diabetes mellitus tipo II, além de reduzir a pressão arterial, a inflamação e o estresse oxidativo induzido por ferro (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004; SIQUEIRA et al., 2012), há ainda poucos estudos relacionados aos efeitos da ingestão do óleo isolado desta semente sobre a saúde de seres vivos.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar os efeitos da ingestão do óleo extraído da amêndoa do baru (*Dipteryx alata* Vog.) sobre marcadores de risco cardiovascular, bem como sobre as funções hepática e renal em ratos normais e dislipidêmicos.

Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar o perfil de ácidos graxos (AG) presentes no óleo fixo obtido da semente do baru;
- b) Verificar os efeitos da ingestão do óleo sobre o perfil lipídico e glicêmico no soro de ratos normais e dislipidêmicos;
- c) Analisar os efeitos da ingestão do óleo sobre as concentrações de uréia, creatinina, ácido úrico, albumina e atividades de aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) e fosfatase alcalina (FAL) no soro de animais normais e dislipidêmicos;
- d) Avaliar os efeitos da ingestão do óleo de baru sobre a peroxidação lipídica (PL) no soro e em artéria aorta de ratos normais e dislipidêmicos;
- e) Verificar os efeitos da ingestão do óleo sobre a morfológica hepática em ratos normais e dislipidêmicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos utilizados no presente estudo encontram-se evidenciados abaixo.

4.1 COLETA E PREPARO DO VEGETAL

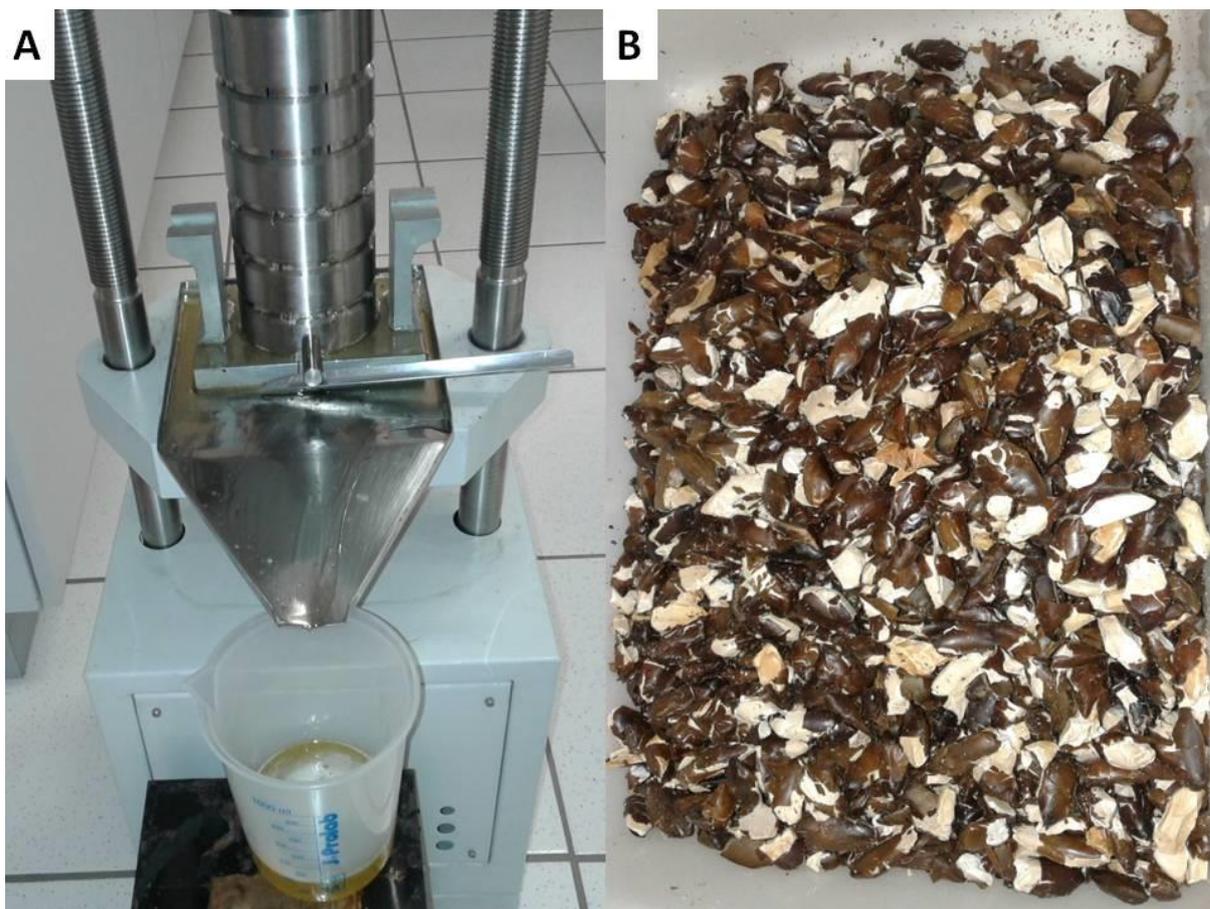
As amêndoas, coletadas durante o mês de agosto de 2014, foram obtidas de produtores locais da região de Januária, Minas Gerais, Brasil. Estas foram armazenadas no Laboratório de Bioquímica Clínica da UNIFAL-MG, em embalagens plásticas, em temperatura de 2 a 8°C.

4.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO

As amêndoas foram selecionadas e submetidas à torrefação em estufa com circulação de ar a 150° C por 45 minutos, conforme descrito por Lemos (2012), para inativação dos compostos antinutricionais presentes na semente *in natura*.

A extração do óleo foi então realizada por prensagem mecânica utilizando-se prensa hidráulica, conforme ilustrado na Figura 3, em temperatura ambiente (25°C) com pressão de 3 a 12 toneladas (FERREIRA et al., 2006). O óleo obtido foi armazenado em frasco âmbar, em temperatura entre 2 e 8°C.

Figura 3 - Processo de extração do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.).



Legenda: **A** - Processo de extração do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) por prensagem mecânica e **B** - Torta da semente de baru após extração do óleo.

Fonte: Do autor.

4.3 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Para avaliação da composição de AG, foi realizada a análise em cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS), utilizando um Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas GC-MS QP-2010 Plus Shimadzu[®] Corporation (Kyoto, Japão). A preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foi realizada segundo Hartman & Lago (1973) e as condições cromatográficas foram estabelecidas segundo Horwitz (2010) e Firestone (2014). Estes ensaios foram realizados no Instituto de Tecnologia de Alimentos, em Campinas-SP.

4.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os materiais e métodos utilizados para avaliação biológica encontram-se evidenciados abaixo.

4.4.1 Animais

Este estudo foi realizado de acordo com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alfenas e registado com protocolo nº 06/2016.

Foram utilizados ratos machos Wistar, com peso de 400 ± 25 g, obtidos no Biotério da Universidade Federal de Alfenas. Os animais foram mantidos em caixas de polietileno, em que receberam água e ração comercial *ad libitum*. Foram utilizados 40 animais, divididos em 4 grupos experimentais com 10 animais cada, conforme descrito abaixo:

- a) Grupo 1 (controle): animais não dislipidêmicos tratados com água (10 mL/Kg);
- b) Grupo 2 (óleo): animais não dislipidêmicos tratados com o óleo da semente de baru (1g/Kg de peso corporal);
- c) Grupo 3 (dislipidêmico): animais dislipidêmicos tratados com água;
- d) Grupo 4 (dislipidêmico tratado com óleo): animais dislipidêmicos tratados com o óleo da semente de baru (1g/Kg de peso corporal).

Para induzir a dislipidemia os animais foram tratados diariamente com uma emulsão rica em lipídeos (10 mL/Kg), preparada segundo Li et al. (2011) com modificações, e de acordo com o protocolo adotado neste estudo, a emulsão foi composta por colesterol (0,05 g/mL), colato de sódio (0,01 g/mL), banha vegetal (0,15 g/mL), propilenoglicol (10%, v/v), tween 80 (10%, v/v) e vitamina D (4 µg/mL).

A concentração de óleo administrada foi estimada com base no estudo de Sekhon-Loodu et al. (2014).

A administração da água, da emulsão rica em lipídios bem como do óleo de baru foi realizada por gavagem, diariamente, durante 15 semanas.

4.4.2 Avaliação de parâmetros biológicos

O peso corporal médio dos animais foi determinado semanalmente. Para determinar o consumo médio diário de ração e água, a quantidade consumida em 24 horas foi verificada três vezes por semana, durante as 15 semanas de tratamento (CARVALHO et al., 2009).

4.4.3 Obtenção das amostras

Ao término das 15 semanas, após 12 horas em jejum, os animais foram anestesiados com tiopental (90 mg/Kg de peso corporal i.p.). O sangue colhido por punção da aorta abdominal foi distribuído em tubos siliconizados sem aditivo para obtenção de soro. Em seguida, os animais foram submetidos à eutanásia para coleta de órgão e fragmentos. O fígado foi retirado e armazenado em formaldeído a 10% para posterior análise histológica, enquanto que uma porção da artéria aorta foi armazenada a -80°C, em tampão fosfato salino (PBS) 0,1 M contendo inibidores de proteases, para avaliação da peroxidação lipídica.

4.4.3.1 Obtenção de soro

O soro foi obtido por centrifugação do sangue colhido em tubos siliconizados a 1500g durante 10 minutos e dividido em duas alíquotas, sendo uma porção armazenada com inibidores de protease e EDTA a -80°C e outra porção armazenada sem aditivos. A porção contendo aditivos foi utilizada para avaliação da peroxidação lipídica e a outra porção utilizada para a avaliação de marcadores de risco cardiovascular bem como das funções hepática e renal.

4.4.3.2 Obtenção do homogeneizado da artéria aorta

A aorta obtida foi homogeneizada a 4°C, em PBS 0,1 M, fenilmetilfluoridosulfóxido (PMSF) 50 µg/mL, benzamidina 100 µM e tripsina 50µM equivalente a 12 vezes o peso fresco do tecido. O homogeneizado foi centrifugado a 3000g, por 10 minutos a 4°C, sendo utilizado o sobrenadante para a determinação da peroxidação lipídica (JONES; ABDALLA; FREITAS, 1995).

4.4.4 Avaliação de marcadores de risco cardiovascular

A avaliação de marcadores de risco cardiovascular foi realizada a partir da análise de parâmetros evidenciados abaixo.

4.4.4.1 Avaliação do perfil lipídico e glicemia

As concentrações de CT, TAG, colesterol HDL e glicose foram determinadas no soro por método enzimático colorimétrico em aparelho automatizado Labmax Pleno, utilizando kits comerciais da marca Labtest®. A concentração de lipoproteínas aterogênicas foi estimada através da diferença entre a concentração de CT e de colesterol HDL, e expressa como colesterol não HDL (SBC, 2013; BURTIS; BRUNS, 2016).

4.4.4.2 Avaliação da peroxidação lipídica

Foi avaliada através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), estimada como dialdeído malônico, também conhecido como malonaldeído (MDA), por fluorimetria. Para cada 150 µL de amostra ou de padrão foram adicionados 750 µL de ácido fosfórico 1,22 M, 1,350 mL de água e 750 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67% em ácido acético 50%. Após homogeneização por 30 segundos, as amostras foram incubadas em banho-maria a 95°C, durante 60 minutos. Em seguida, as mesmas foram resfriadas em banho de gelo. Foram adicionados 1,8 mL de metanol e 0,2 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M para cada alíquota de 1,0 mL de amostra ou de padrão.

As leituras foram realizadas em espectrofluorímetro Varian, Cary eclipse, ($\lambda_{\text{excitação}}$: 532 nm e $\lambda_{\text{emissão}}$: 553 nm) e a concentração de MDA foi estimada utilizando uma curva padrão com tetraetoxipropano (GRIFFITHS; LUNEC, 1989).

4.4.5 Avaliação da função renal

A concentração de ácido úrico e de uréia foram determinadas no soro por método enzimático colorimétrico e a concentração de creatinina foi determinada, também no soro, segundo o método de Jaffé modificado em aparelho automatizado Labmax Pleno, utilizando kits comerciais da marca Labtest® (BURTIS; BRUNS, 2016).

4.4.6 Avaliação da função hepática

A avaliação da função hepática foi realizada a partir da análise de parâmetros evidenciados abaixo.

4.4.6.1 Avaliação morfológica

Após fixação em formaldeído 10%, os órgãos foram submetidos a exame macroscópico para inclusão em parafina. Os fígados tiveram pelo menos três de seus lobos seccionados em fragmentos, sendo todos feitos por cortes transversais. Posteriormente, os fragmentos foram emblocados em parafina, por processamento histológico de rotina. Foi realizada a obtenção de cortes teciduais em microtomia para posterior processo de coloração em hematoxilina e eosina segundo Prophet et al. (1992) e Michalany (1998).

Utilizando-se método estereológico, foram examinadas as alterações morfológicas, em um sistema de teste de 100 pontos em uma área de teste padrão de $22 \times 10^3 \mu\text{m}^2$. Para cada grupo, foram amostrados aleatoriamente 60 campos histológicos ($\times 400$ ampliação). Os campos histológicos foram capturados utilizando-se a câmera digital Axiocam ICc3 (Zeiss, Germany).

Foram estimadas as densidades de volume (V_v , %) de: hepatócitos totais (HT), células intersticiais (CI), capilares sinusoides (CS), hepatócitos normais (HN), degeneração hidrópica (DH), esteatose (E). A V_v foi estimada por pontos contados e utilizando-se a seguinte fórmula: $V_v = PP \text{ [estrutura]}/PT$, onde PP é o número de pontos situados sobre a estrutura de interesse e PT é o total de pontos inseridos no sistema de teste. As áreas dos núcleos foram determinadas através da medição de 120 núcleos de hepatócitos para cada animal. As análises morfológicas foram realizadas utilizando-se o software de análise de imagens Image Pro-Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) (FREITAS et al., 2016).

4.4.6.2 Perfil proteico e enzimático

Foi realizada por meio de determinações no soro da concentração de albumina, por método colorimétrico, e da atividade das enzimas AST, ALT e FAL, por método cinético em aparelho automatizado Labmax Pleno, utilizando kits comerciais da marca Labtest® (BURTIS; BRUNS, 2016).

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os valores observados na avaliação morfológica e na peroxidação lipídica foram analisados utilizando-se o programa estatístico Graph Pad Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Foram submetidos à análise de variância de uma via (one-way ANOVA) e ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. As comparações múltiplas entre as médias desses tratamentos foram realizadas utilizando-se o teste Dunn's. Os testes foram considerados significantes quando o valor de P foi menor que 0,05.

Os valores observados para as variáveis dos demais parâmetros avaliados foram submetidos à one-way ANOVA. As comparações múltiplas entre as médias desses tratamentos foram realizadas a partir do software Sisvar utilizando-se o teste Tukey. Os testes foram considerados significantes quando o valor de P foi menor que 0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão do presente estudo encontram-se evidenciados abaixo.

5.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO DE BARU

Entre os vários métodos disponíveis para a extração de óleos vegetais, o método de extração por prensagem, adotado no presente estudo, é um dos mais comuns, seguido por métodos de extração com solventes.

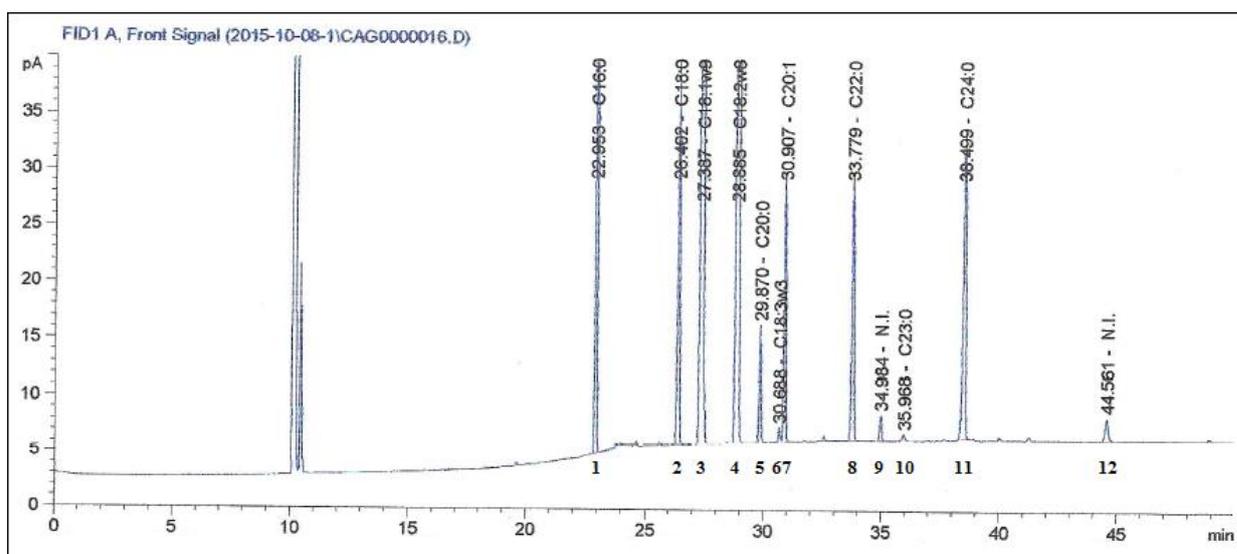
No presente estudo, foram obtidos cerca de 270 mL do óleo para cada 1000 g da semente de baru, sendo o rendimento médio estimado em 30%, demonstrando que o rendimento do método por prensagem mecânica se assemelha ao observado em outros estudos que utilizaram métodos de extração com solventes para a obtenção do óleo de baru, sendo obtido cerca de 33% de extrato etéreo (VERA et al., 2009).

A extração realizada por prensagem mecânica em prensa hidráulica (não contínua) garante a obtenção de um óleo que apresenta qualidade superior aos óleos obtidos por extração com solventes ou por refino, pois é realizada em temperatura ambiente, sem que haja a deterioração dos compostos presentes neste óleo (RAMALHO; SUAREZ, 2013; AGEITEC, 2016). Entretanto, um dos inconvenientes apresentados por este método é a possibilidade de um menor rendimento em relação aos demais.

Sendo assim, os resultados apresentados neste trabalho demonstraram que o protocolo de extração do óleo de baru, adotado neste estudo, foi capaz de garantir uma extração tão eficiente quanto aquelas realizadas com o uso de solventes.

5.2 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

A Figura 4 e as Tabelas 3 e 4 apresentam os dados obtidos na análise cromatográfica do óleo de baru.

Figura 4 - Cromatograma obtido da análise do perfil de ácidos graxos do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.).

Legenda: 1 - Ácido Palmítico, 2 - Ácido Esteárico, 3 - Ácido Oleico, 4 - Ácido Linoleico, 5 - Ácido Araquídico, 6 - Ácido α linolênico, 7 - Ácido Cis-11-eicosenóico, 8 - Ácido Behênico, 9 - Composto não identificado, 10 - Ácido Tricosanóico, 11 - Ácido Lignocérico, 12 - Composto não identificado.

Fonte: Do autor.

Tabela 3 - Perfil de ácidos graxos totais (%) do óleo extraído das amêndoas de baru por prensagem mecânica.

Ácidos graxos	Totalizados	% Área	g/100g
Saturado		20,14	19,25
Monoinsaturado		49,58	47,40
Poli-insaturado		29,49	28,19
<i>Trans</i>		0,00	0,00
NI		0,79	0,76
TOTAL		100,00	

Legenda: NI - Não identificado

Fonte: Do autor.

A análise do perfil de AG do óleo extraído da semente de baru demonstrou a presença de MUFAs, seguidos pelos PUFAs (TABELA 3). Entre os MUFAs, foi observado que o ácido oleico é o componente majoritário, enquanto que entre os PUFAs, o ácido linoleico foi o predominante. Em menor quantidade, foi observada também a presença de SFA, como ácido palmítico, seguido pelos ácidos lignocérico, esteárico, behênico e araquídico (TABELA 4).

Estes resultados corroboram com dados relatados por outros autores, que também observaram perfis de AG semelhantes ao obtido neste estudo, ao analisar o óleo obtido das

sementes de baru (VALLILO; TAVARES; AUED, 1990; TOGASHI; SGARBIERI, 1994; TAKEMOTO, 2001; LEMOS, 2012).

Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos específicos do óleo extraído das amêndoas de baru por prensagem mecânica.

Ácido Graxo		% Área	g/100g
C 16:0	Palmítico	6,14	5,87
C 18:0	Estearico	4,54	4,34
C 18:1 (ω -9)	Oléico	46,71	44,65
C 18:2 (ω -6)	Linoléico	29,34	28,05
C 20:0	Araquídico	1,20	1,15
C 18:3 (ω -3 α)	Alfa linolênico	0,15	0,14
C 20:1 (ω -11)	Cis-11-eicosenóico	2,87	2,74
C 22:0	Behênico	3,33	3,18
N.I.	Não Identificado	0,32	0,31
C 23:0	Tricosanóico	0,08	0,08
C 24:0	Lignocérico	4,85	4,64
N.I.	Não Identificado	0,47	0,45
TOTAL		100,00	

Legenda: NI - Não identificado.

Fonte: Do autor.

A Tabela 5 apresenta os dados obtidos no presente estudo e aqueles relatados por Takemoto et al. (2001) e por Lemos (2012). Podemos observar que tanto o perfil de AG, como a concentração dos mesmos, são semelhantes aos resultados obtidos no presente estudo, exceto em relação ao ácido alfa-linolênico (C 18:3, ω -3 α), cujo teor encontrado em nosso estudo foi inferior ao relatado por Lemos (2012).

Tabela 5 - Comparação do perfil dos ácidos graxos específicos (% m/m) do óleo extraído das amêndoas de baru.

Ácido Graxo		Do autor ¹	LEMOS, 2012 ²	TAKEMOTO et al., 2001 ³
C 16:0	Palmítico	5,87	7,56	7,6
C 18:0	Estearico	4,34	4,34	5,4
C 18:1 (ω -9)	Oléico	44,65	44,58	50,4
C 18:2 (ω -6)	Linoléico	28,05	30,92	28,0
C 20:0	Araquídico	1,15	1,24	1,07
C 18:3 (ω -3 α)	Alfa linolênico	0,14 ^a	2,19 ^b	---
C 20:1 (ω -11)	Cis-11-eicosenóico	2,74	2,55	---
C 22:0	Behênico	3,18	2,51	2,6
C 23:0	Tricosanóico	0,08	---	---
C 24:0	Lignocérico	4,64	2,96	2,1
Outros		0,79	1,14	2,7

Legenda: (---) compostos não identificados.

Nota: Extrações realizadas por: ¹Prensagem mecânica, ²Soxhlet (solvente hexano) e ³Soxhlet (solvente éter etílico).

Fonte: Do autor.

Esta discrepância pode ser atribuída não somente a fatores tais como variedade genética, maturidade, condições climáticas e geográficas, época do ano, intensidade da luz solar e tipo de solo como também a fatores relacionados ao período pós-colheita, que incluem os processos de armazenamento, preparo das amostras para a análise e método de extração.

Conforme apresentado na Tabela 6, o perfil de AG do óleo de baru obtido no presente estudo demonstra ser semelhante ao perfil de AG de algumas sementes comestíveis, tais como o amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (FONSECA; GUTIERREZ, 1974), a macadâmia (*Macadamia integrifolia*) e a amêndoa (*Prunus dulcis*) (VENKATACHALAM; SATHE, 2006) bem como a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) (FERREIRA et al., 2006).

Tabela 6 - Comparação do perfil de ácidos graxos (% m/m) do óleo extraído de sementes comestíveis de diferentes plantas.

Ácido Graxo	Baru ¹	Amendoim ²	Macadâmia ³	Amêndoa ³	Castanha-do-Brasil ⁴
C 16:0 - Palmítico	5,87	11,4	8,88	7,36	13,0
C 18:1 (ω -9) - Oléico	44,65	41,7	58,51	60,93	51,0
C 18:2 (ω -6) - Linoléico	28,05	38,5	1,81	29,21	34,0
C 18:3 (ω -3 α) α -linolênico	0,14	1,2	2,58	0,1	---
Saturados	19,25	18,65	18,2	9,09	15,0
Monoinsaturados	47,40	41,7	77,4	61,6	51,0
Poli-insaturados	28,19	39,65	4,4	29,31	34,0

Legenda: (---) composto não identificado.

Fonte: ¹ - Do autor. ² - FONSECA; GUTIERREZ, 1974. ³ - VENKATACHALAM; SATHE, 2006. ⁴ - FERREIRA et al., 2006.

O ácido palmítico é o AG saturado que está presente em maior quantidade nessas cinco sementes comestíveis, assim como os AG insaturados oleico e linoleico, que são os maiores representantes dos MUFAs e PUFAs, respectivamente.

A concentração total de SFA presente na semente de baru apresenta-se semelhante às concentrações encontradas na macadâmia e no amendoim. A concentração total de MUFAs presente na semente de baru apresenta-se semelhante às concentrações encontradas no amendoim e na castanha-do-Brasil. A concentração de PUFAs presente na semente de baru apresenta-se semelhante às concentrações encontradas na amêndoa e na castanha-do-Brasil.

Assim, os resultados obtidos corroboram com dados da literatura, que demonstram a importância do óleo de baru (SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004) e reforçam a possibilidade de seu uso como alimento funcional.

5.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os resultados e discussão dos ensaios biológicos estão evidenciados abaixo.

5.3.1 Avaliação de parâmetros biológicos

Não houve diferença estatística significativa no ganho de peso de nenhum dos grupos, durante todo o experimento, como demonstra a Tabela 7. Por outro lado, o consumo

médio de ração e água dos animais tratados com a emulsão rica em lipídios (grupos 3 e 4) foi menor quando comparados aos animais não tratados com a emulsão (1 e 2).

Tabela 7 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre o ganho de peso e o consumo de ração e água em ratos Wistar.

GRUPOS	Média de peso dos animais			Consumo médio de ração	Consumo médio de água
	1ª semana	8ª semana	15ª semana		
1	160,8±25,6 ^a	362,3±27,9 ^a	425,9±34,3 ^a	101,1±3,5 ^a	125,8±2,3 ^a
2	162,0±25,7 ^a	350,6±30,2 ^a	408,3±27,1 ^a	102,2±4,2 ^a	126,8±3,0 ^a
3	163,4±27,3 ^a	346,4±32,7 ^a	405±39,7 ^a	89,4±3,2 ^b	120,6±2,5 ^b
4	170,2±26,6 ^a	364,3±24,7 ^a	413,3±23,3 ^a	93,6±2,7 ^b	115,2±4,2 ^b

Legenda: Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Os resultados representam a média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (P<0,05). Média de peso dos animais (g), consumo médio de ração (g/Kg de peso corporal) e consumo médio de água (mL/Kg de peso corporal).

Fonte: Do autor.

Considerando que os animais tratados com a emulsão rica em lipídios receberam uma dieta hipercalórica, esperava-se que os mesmos apresentassem maior ganho de peso em relação aos animais não tratados. Entretanto, o menor consumo de ração e de água pelos animais tratados com a emulsão poderia justificar os resultados obtidos quanto ao peso dos animais. O consumo de grandes quantidades de gordura promove maior sensação de saciedade e plenitude (SANTOS, 2010), justificando a menor ingestão de ração e água pelos animais que receberam a emulsão rica em lipídios.

5.3.2 Avaliação de marcadores de risco cardiovascular

A avaliação do perfil lipídico foi feita por meio da determinação dos parâmetros TAG, CT, Colesterol HDL e Colesterol não- HDL, cujos resultados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre o perfil lipídico e a glicemia em ratos Wistar.

Parâmetros avaliados (mg/dL)	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
CT	77,9 ± 10,9 ^a	77,7 ± 11,9 ^a	137,4 ± 19,5 ^b	129,2 ± 22,6 ^b
Colest. não-HDL	33,0 ± 8,5 ^a	35,7 ± 9,4 ^a	104,4 ± 17,4 ^b	96,4 ± 21,0 ^b
Colesterol HDL	44,9 ± 3,2 ^a	42,0 ± 2,8 ^a	32,8 ± 4,4 ^b	31,8 ± 5,0 ^b
TAG	77,8 ± 15,4 ^a	70,0 ± 20,1 ^a	64,1 ± 18,5 ^a	62,3 ± 21,8 ^a
Glicose	160,8 ± 14,9 ^a	156,4 ± 10,2 ^a	169,9 ± 16,2 ^a	169,1 ± 14,8 ^a

Legenda: CT: Colesterol total; TAG: Triacilgliceróis. Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Os resultados representam a média ± desvio padrão de determinações realizadas em duplicata. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (P<0,05). O número de animais (n) para cada teste realizado variou entre nove (9) e dez (10).

Fonte: Do autor.

O tratamento com a emulsão rica em lipídios foi capaz de induzir dislipidemia nos grupos 3 e 4, segundo a Tabela 8, demonstrada pelo aumento significativo nos níveis de CT e de colesterol não HDL no soro desses animais quando comparados com os grupos 1 e 2. Concretizando um quadro de dislipidemia, o colesterol HDL sofreu uma redução significativa no soro dos animais pertencentes aos grupos 3 e 4 quando comparados com os grupos 1 e 2. O protocolo de indução de dislipidemia adotado, conforme previsto, não induziu alteração significativa nos valores de TAG, quando os grupos 3 e 4 foram comparados aos grupos 1 e 2, já que a emulsão utilizada é rica em colesterol.

Apesar da existência de variações nos valores de referência para o perfil lipídico de animais de laboratório, devido a fatores tais como linhagem, gênero e idade de cada espécie bem como de acordo com diferenças geográficas e manuseio dos mesmos, os resultados observados neste estudo para o grupo 1 estão de acordo com dados da literatura científica, que têm demonstrado níveis séricos de CT variando entre 37 e 85 mg/dL, colesterol não-HDL variando entre 8,9 e 41,4 mg/dL, colesterol HDL variando entre 39 e 72 mg/dL e TAG variando entre 33 e 79 mg/dL em ratos Wistar tratados com ração comercial *ad libitum*, com peso e idades aproximados aos dos animais utilizados no presente estudo (400 ± 25g, 25 a 30 semanas de idade) (MELO et al., 2012; IHEDIOHA; NOEL-UNEKE; IHEDIOHA, 2013; LIMA et al., 2014). Os valores médios de CT apresentados pelos grupos 3 e 4, estão abaixo dos valores relatados por Li et al. (2011), cujos valores se situaram em torno de 7

mmol/L (equivalente a 270,7 mg/dL). Esta discrepância poderia ser atribuída principalmente às modificações induzidas no protocolo de indução da dislipidemia bem como as diferentes linhagens de animais, já que nesse estudo foram utilizados ratos Wistar enquanto que Li et al. (2011) utilizaram ratos Sprague Dawley.

O grupo 2, quando comparado com o grupo 1, não apresentou diferença estatística significativa para nenhum dos cinco parâmetros analisados, demonstrando assim, que o óleo de baru não interferiu significativamente nem no aumento nem no decréscimo de nenhum desses parâmetros.

Tem sido demonstrado que a combinação de MUFAs e PUFAs pode contribuir para a redução do CT e de colesterol LDL sem reduzir colesterol HDL, sugerindo uma importante ação cardioprotetora para estes compostos, já que poderiam atuar na prevenção de DCV (TOGASHI; SGARBIERI, 1995; HU, 2003; VERA et al., 2009).

No presente estudo foi observado que o óleo de baru administrado aos animais apresenta em sua composição química uma mistura de AG, com o predomínio de MUFAs e PUFAs, entre os quais se destacam os ácidos oleico e linoleico, respectivamente. Entretanto, o tratamento dos animais dislipidêmicos e normais com o óleo de baru não foi capaz de induzir alterações significativas no perfil lipídico sérico destes animais.

Sekhon-Loodu et al. (2014), demonstraram que o tratamento de ratos dislipidêmicos com óleo de peixe, rico em PUFAs, foi efetivo na alteração de parâmetros do perfil lipídico, levando a uma redução dos níveis séricos de TAG e colesterol não-HDL bem como ao aumento de colesterol HDL. Neste estudo os autores utilizaram um óleo com concentração de PUFAs igual a 75,7%. A concentração de PUFAs no óleo de baru, utilizado no presente estudo foi estimada em 28,19% (m/m), o que poderia justificar a ausência de efeito do óleo sobre o perfil lipídico.

Além disso, é importante considerar a presença dos SFA no óleo de baru, que constituem cerca de 19% (m/m) dos AG totais detectados nas amostras analisadas. Tem sido relatado que os SFA possuem efeito sobre os níveis de colesterol sérico e atuam em direções opostas aos poli-insaturados, podendo acarretar a elevação dos níveis séricos de CT e TAG (MENSINK et al., 2003; SBC, 2013).

Sendo assim, o efeito neutro do óleo de baru sobre o perfil lipídico poderia estar associado não somente à concentração relativamente mais baixa de PUFAs quando comparado a outros óleos, como também à diversidade de AG que o compõe, uma vez que diferenças sutis em suas estruturas podem induzir mudanças relevantes nas respostas metabólicas do organismo.

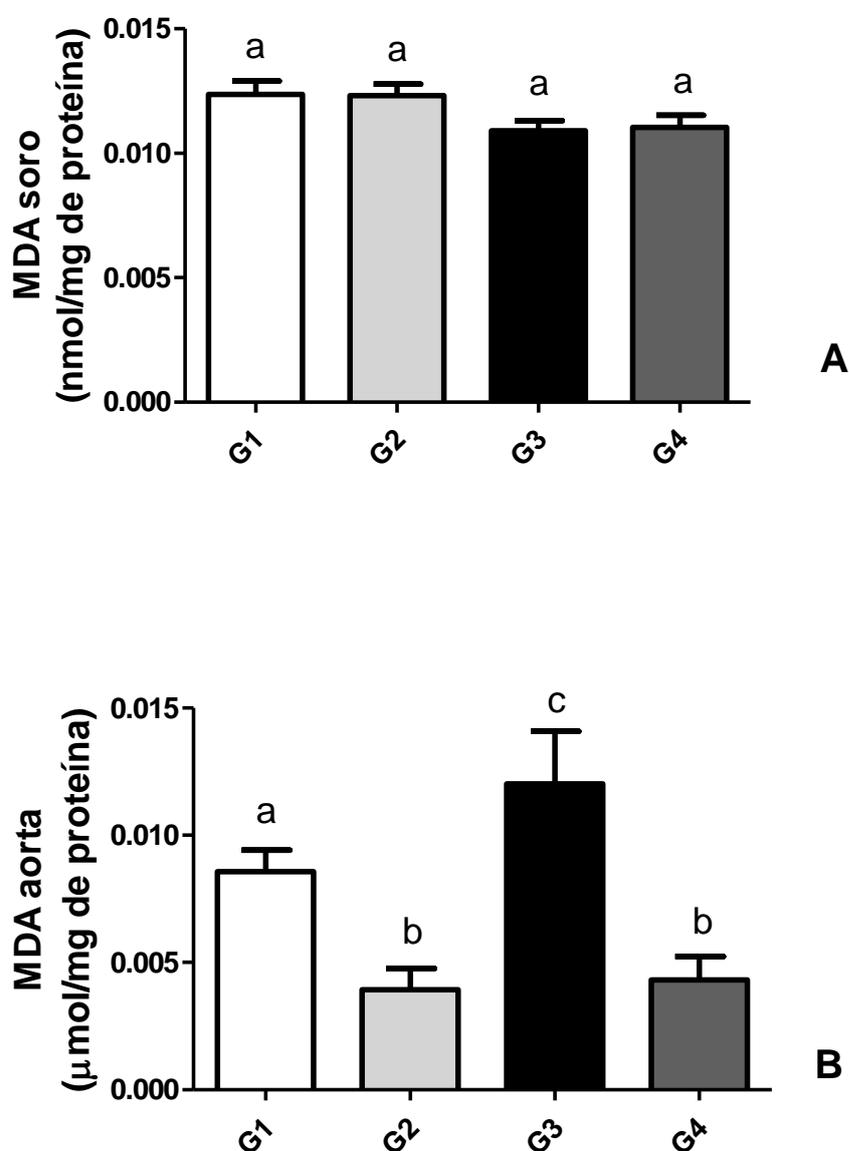
Por outro lado, considerando diversos dados da literatura que têm demonstrado efeitos positivos de alguns AG detectados no óleo de baru, tais como os ácidos linoleico e linolênico, na prevenção e controle de processos relacionados à lipotoxicidade (LANDS, 2014; MOTA et al., 2016), foi avaliado também o efeito do óleo de baru sobre outros parâmetros relacionados a tais processos, como a glicemia e a peroxidação lipídica.

A avaliação da glicemia se faz importante uma vez que a diabetes mellitus, distúrbio caracterizado por níveis aumentados de glicose no sangue, está associado à ocorrência de diversas outras patologias, como a DHGNA (FARRELL; LARTER, 2006), como também as DCV, sendo caracterizada como fator de alto risco para tais eventos (SBC, 2013).

No presente estudo não foi observada diferença na glicemia entre os diferentes grupos tratados (TABELA 8), sugerindo que a administração da emulsão rica em lipídios como o tratamento com o óleo de baru não influenciaram no metabolismo de carboidratos.

O efeito do tratamento com o óleo de baru sobre a peroxidação lipídica (PL) foi avaliado no soro (GRÁFICO 1A) e na aorta (GRÁFICO 1B) dos animais dislipidêmicos e normais, por meio da determinação da concentração de MDA, que constitui um dos principais produtos formados durante o processo de PL.

Gráfico 1 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre a peroxidação lipídica (PL) de ratos Wistar.



Legenda: (A) Concentrações de MDA no soro (B) Concentrações de MDA na aorta.
 Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico,
 Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor.

Conforme os valores médios observados no Gráfico 1A, não houve diferença significativa nos níveis de MDA no soro, quando os quatro grupos foram comparados entre si, sendo demonstrado, portanto, que o tratamento dos animais com a emulsão rica em lipídios assim como a administração do óleo de baru não foram capazes de alterar os níveis de MDA no soro dos animais. Por outro lado, foi observado um aumento nos níveis de MDA na aorta dos animais do grupo 3 em relação aos animais dos grupos 1, 2 e 4

(GRÁFICO 1B), indicando que o tratamento dos animais com a emulsão rica em lipídios foi capaz de aumentar a PL na aorta dos animais.

Sendo assim, nossos resultados demonstram que a resposta à dislipidemia foi diferente no soro e na aorta. Essa diferença pode ser atribuída à presença de diferentes sistemas antioxidantes ou mesmo diferenças na atividade enzimática e sequestradora de ERO no soro e na artéria aorta (RAJENDRAN et al., 2014). Outro importante fator que também pode contribuir para a diferente suscetibilidade à PL observada entre as amostras biológicas analisadas neste estudo seria a concentração e o perfil de lipídios presentes nos mesmos.

No estudo de Bulur et al., (1995), o conteúdo de lipídios tais como colesterol e fosfolipídios em homogeneizados de aorta foi cerca de 2 a 10 vezes superior ao conteúdo observado no plasma, respectivamente. Assim, a maior disponibilidade de substratos para a PL na aorta poderia contribuir para sua maior suscetibilidade a este processo. Neste sentido, vale destacar que, no presente estudo, os valores médios de MDA em homogeneizados da aorta foram cerca mil vezes superiores aos observados no soro dos animais pertencentes aos diferentes grupos.

Em estudos como os desenvolvidos por Jorge et al., (1998) e Kamada et al., (2005), foram encontrados valores aumentados de MDA na aorta de coelhos em que foi induzida a dislipidemia a partir da dieta, sendo compatíveis com os valores apresentados pelo grupo 3 tratado no presente estudo, no qual foi realizada a indução da dislipidemia com a administração de emulsão rica em lipídios, acarretando em hipercolesterolemia.

Assim, estes resultados corroboram com dados da literatura científica que têm associado as dislipidemias à disfunção endotelial e ao aumento na produção de ERO. Além disso, alguns destes estudos apontam uma correlação positiva entre os valores de CT, TAG e os níveis de marcadores da peroxidação lipídica, como o MDA (MAHAPATRA et al., 1998; RIZZO et al., 2009).

Nesta situação, a descoberta de tratamentos que possam atenuar ou impedir o aumento da PL torna-se importante (LOUREIRO et al., 2002). No presente estudo, foi observado que os animais pertencentes aos grupos tratados com óleo de baru (grupos 2 e 4) apresentaram valores médios de MDA na aorta significativamente menores que os animais do grupo 1 (controle), sugerindo, portanto, que o tratamento com o óleo de baru foi capaz de prevenir o aumento da PL na artéria aorta.

Estudos demonstraram que óleos possuem atividade antioxidante quando estão presentes compostos como terpenos, tocoferóis e fitosteróis (NEWAZ; NAWAL, 1998;

YOSHIDA; NIKI, 2003; KAMADA et al., 2005; CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011), bem como de PUFA's (ANDRADE; CARMO, 2006).

Descritos anteriormente nas amêndoas de baru (TAKEMOTO et al., 2001; LEMOS, 2012; FRAGUAS et al., 2014), estes compostos foram descritos também por Marques et al., 2015, que realizaram a identificação de alguns deles no óleo de baru por CG-MS, demonstrando a presença de terpenos, como Limoneno e β -Cariofileno, Tocoferóis (α e β) e Fitoesteróis.

Os terpenos e tocoferóis são considerados antioxidantes, pois aumentam a capacidade sequestradora de radicais livres do organismo (NEWAZ; NAWAL, 1998; SCHWARTZ et al., 2008; YANG et al., 2010). A capacidade antioxidante dos fitoesteróis é atribuída à formação de radical alílico e por sua isomerização com outros radicais livres, tornando-os relativamente mais estáveis (YOSHIDA; NIKI, 2003; SCHWARTZ et al., 2008).

Assim, a presença destes compostos poderia justificar essa ação antioxidante encontrada no presente estudo, onde os valores de PL da aorta dos animais que receberam este tratamento se apresentaram reduzidos (grupos 2 e 4). Vale salientar que o perfil de AG obtido do óleo de baru utilizado no presente estudo demonstrou a presença de 79% de AG insaturados, sendo aproximadamente 29% composto pelo AG linoleico, cujas principais funções têm sido apontadas como benéficas e a de maior importância neste estudo é a manutenção da integridade celular endotelial (TOBOREK et al., 2002; CUPERSMID et al., 2012).

5.3.3 Avaliação da função renal

Apesar da polpa e semente de baru serem comestíveis, é importante ressaltar que estas possuem uma composição química bastante diversificada e que além dos AG, outros compostos também têm sido identificados no óleo obtido da semente, tais como taninos, flavonoides, ácidos fenólicos, entre outros (TOGASHI; SCARBIERI, 1994; SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004; LEMOS, 2012). Tendo em vista que alguns produtos derivados do metabolismo destes compostos são excretados na urina (THILAKARATHNA, RUPASINGHE, 2013) e que a nefrotoxicidade é um efeito indesejável para qualquer produto consumido por seres humanos, foram avaliados os efeitos do óleo de baru sobre os níveis séricos de marcadores da função renal.

Os parâmetros determinados para a avaliação da função renal nos diferentes grupos tratados foram ureia, ácido úrico e creatinina. Conforme apresentado na Tabela 9, pode-se inferir que o tratamento com o óleo de baru não foi capaz de alterar significativamente a função renal dos animais. Lima et al. (2014), corrobora os valores médios dos parâmetros analisados neste estudo, tendo observado valores que compreenderam as faixas de 26,0 a 58,0 mg/dL para a ureia, de 1,0 a 3,2 mg/dL para o ácido úrico e de 0,24 a 1,20 mg/dL para a creatinina.

Tabela 9 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre a função renal em ratos Wistar.

Grupos	Ureia (mg/dL)	Ácido Úrico (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
1	36,9 ± 4,4 ^a	1,26 ± 0,4 ^a	0,43 ± 0,05 ^a
2	36,1 ± 4,6 ^a	1,09 ± 0,3 ^a	0,41 ± 0,05 ^a
3	34,3 ± 3,0 ^a	1,17 ± 0,3 ^a	0,44 ± 0,06 ^a
4	33,3 ± 5,6 ^a	1,30 ± 0,2 ^a	0,44 ± 0,07 ^a

Legenda: Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Os resultados representam a média ± desvio padrão de determinações realizadas em duplicata. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (P<0,05). O número de animais (n) para cada teste realizado variou entre nove (9) e dez (10).

Fonte: Do autor.

Sendo assim, nossos resultados demonstraram que a função renal dos diferentes grupos de animais permaneceu inalterada após a administração do óleo, sugerindo que este não apresentou potencial nefrotóxico, quando administrado de acordo com o protocolo adotado neste estudo.

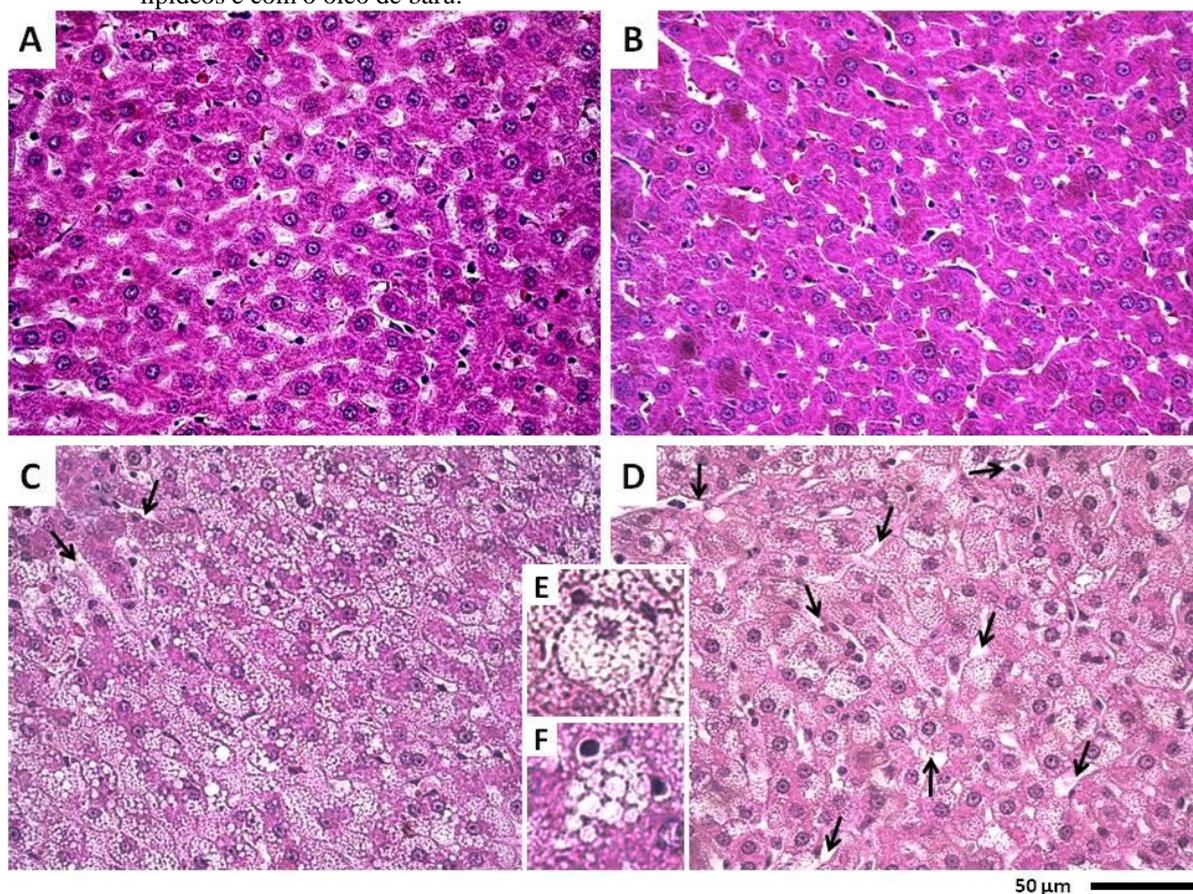
5.3.4 Avaliação da função hepática

A avaliação da função hepática foi realizada por meio da avaliação morfológica do fígado e pelas determinações da concentração de albumina e da atividade das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FAL) no soro.

5.3.4.1 Avaliação morfológica

O efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre a morfologia de hepatócitos dos diferentes grupos está evidenciado na Figura 5.

Figura 5 - Fotomicrografias representativas do tecido do fígado de ratos Wistar tratados com emulsão rica em lipídeos e com o óleo de baru.



Legenda: A - Grupo controle (1), B - Grupo óleo de baru (2), C - Grupo dislipidêmico (3), D - Grupo dislipidêmico + óleo de baru (4) (x400 de ampliação), E - Célula em processo de degeneração hidrópica e F - Célula em processo de esteatose (H & E coloração).

Nota: As setas apontam capilares sinusóides (CS).

Fonte: Do autor.

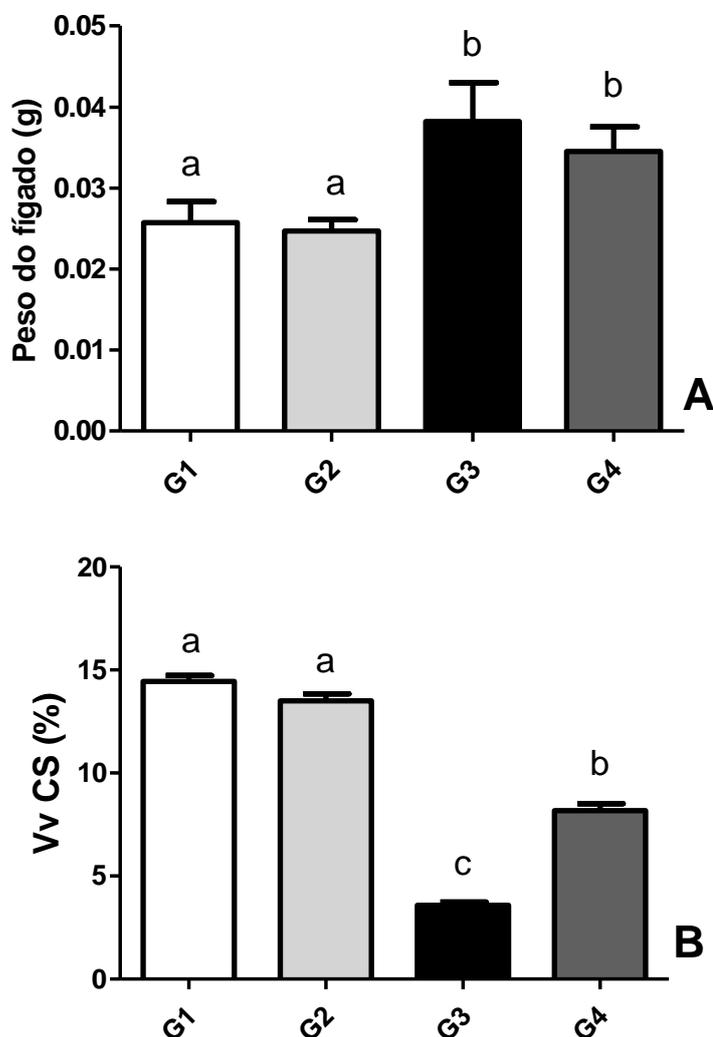
As alterações visualizadas na Figura 5 estão apresentadas na Figura 6 e nos Gráficos 2, 3, 4 e 5.

O Gráfico 2A demonstra que a administração da emulsão rica em lipídios ocasionou em ganho de peso relativo dos fígados dos animais dos grupos 3 (0,038 g de fígado/g de peso corporal) e 4 (0,034 g de fígado/g de peso corporal) em comparação aos animais dos grupos 1 (0,026 g de fígado/g de peso corporal) e 2 (0,025 g de fígado/g de peso corporal).

A hipertrofia celular pode ser apontada como causa de aumento do órgão, neste caso não existe o surgimento de novas células, mas sim o aumento do conteúdo citoplasmático, proteico e de organelas nas células preexistentes (ROBBINS et al., 2010).

Os valores médios obtidos de densidade de volume de capilares sinudóides (Vv [CS]), apresentados no Gráfico 2B, demonstram que a administração da emulsão rica em lipídios levou a uma diminuição do espaço ocupado pelos capilares sinusoides (CS), uma vez que os valores apresentados pelos grupos 3 (3,1 %) e 4 (6,1 %) são inferiores aos apresentados pelos grupos 1 (13,0 %) e 2 (13,3%). Porém, quando os valores médios obtidos pelos grupos 3 e 4 são comparados entre si, pode-se perceber uma redução desse valor para o grupo 3, demonstrando um efeito benéfico do óleo de baru. A diminuição do espaço ocupado pelos CS também pode ser gerada pela hipertrofia dos hepatócitos, uma vez que ao aumentarem de tamanho, estes irão ocupar espaços antes ocupados pelos CS e/ou células intersticiais (CI).

Gráfico 2 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre o peso e a morfologia do fígado de ratos Wistar.



Legenda: (A) Peso do fígado (g do órgão/g de peso corporal) (B) Densidade de volume de capilares sinusóides (Vv [CS]). Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

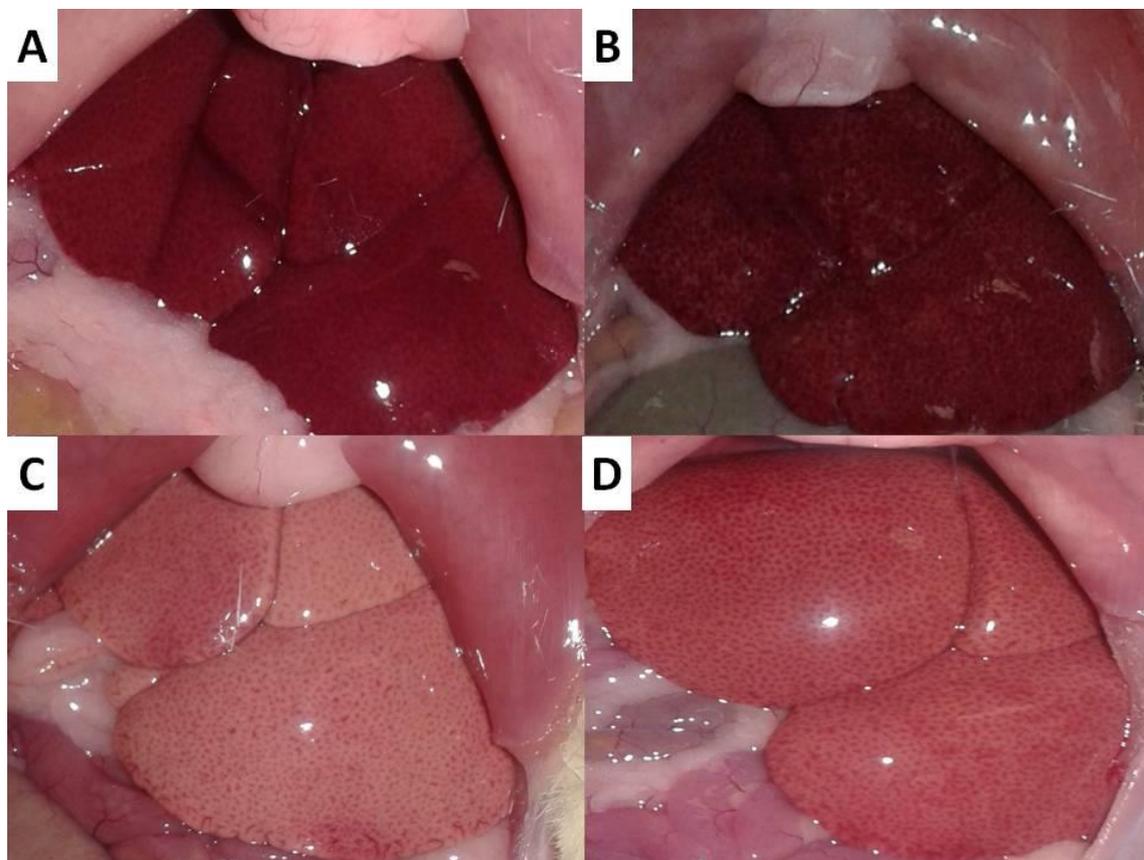
Fonte: Do autor.

Na Figura 6 pode ser observado o efeito macroscópico da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com óleo de baru no fígado dos animais pertencentes aos diferentes grupos estudados.

As modificações apresentadas, como mudança na coloração do órgão bem como o aumento do mesmo, sugerem que houve o desenvolvimento de alterações significativas nesses hepatócitos, podendo ser apontados eventos como degeneração hidrópica (DH) e esteatose (E), que se caracterizam pelo acúmulo de água e pelo acúmulo de lipídios nos

hepatócitos, respectivamente, e que acarretam na hipertrofia dos mesmos (FARRELL; LARTER, 2006).

Figura 6 - Fotografias macroscópicas dos fígados de ratos Wistar tratados com emulsão rica em lipídeos e com o óleo de baru.



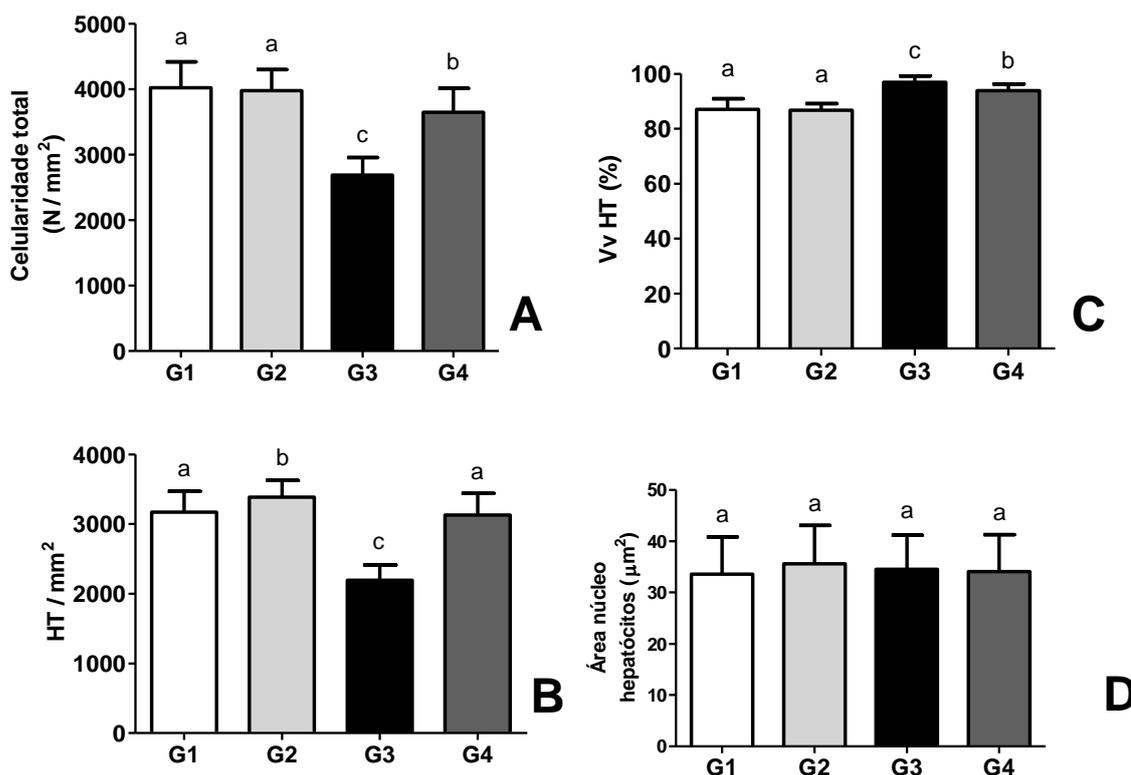
Legenda: A - Grupo controle (1), B - Grupo óleo de baru (2), C - Grupo dislipidêmicos (3) e D - Grupo dislipidêmico + óleo de baru (4).

Fonte: Do autor.

Os dados apresentados no Gráfico 3A demonstram que a administração da emulsão rica em lipídios ocasionou uma diminuição da celularidade total dos fígados dos animais tratados, pois quando os valores médios obtidos pelos grupos 3 (2.687 N/mm²) e 4 (3.646 N/mm²) foram comparados com os obtidos nos grupos 1 (4.026 N/mm²) e 2 (3.978 N/mm²), foi observada uma diminuição desses valores. A comparação dos valores médios obtidos pelos grupos 3 e 4, demonstra que houve uma diminuição desse valor no grupo 3, sugerindo um efeito benéfico do óleo de baru, que foi capaz de manter uma maior integridade dos hepatócitos que sofreram alterações devido o tratamento com a emulsão rica em lipídios (CUPERSMID et al., 2012).

Considerando que a diminuição da celularidade total pode acontecer com a diminuição do número de hepatócitos totais e/ou de células instersticiais, foi avaliado o número de hepatócitos totais (HT)/mm² nos diferentes grupos estudados (GRÁFICO 3B).

Gráfico 3 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre a morfologia do fígado de ratos Wistar.



Legenda: (A) Celularidade total (N/mm²) (B) Hepatócitos totais (HT)/mm² (C) Densidade de volume de hepatócitos totais (Vv [HT]) (D) Área dos núcleos dos hepatócitos (μm²). Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística (P<0,05).

Fonte: Do autor.

No Gráfico 3B pode ser observada uma diminuição de HT no grupo 3 (2.195 HT/mm²), em relação aos grupos 1 (3.172 HT/mm²) e 4 (3.130 HT/mm²), que apresentaram valores semelhantes entre si, enquanto, no grupo 2 (3.388 HT/mm²), houve um aumento no número de HT em relação ao grupo 1. O grupo 4 apresentou valores semelhantes ao apresentado pelo grupo 1.

Esses resultados demonstram que a administração da emulsão rica em lipídios acarretou em uma diminuição do número de HT enquanto que o tratamento dos animais dislipidêmicos com o óleo de baru previniu a diminuição do número de hepatócitos no grupo 4, provavelmente ocasionando o aumento dos mesmos. Este efeito também foi observado

nos animais do grupo 2. Porém esse ligeiro aumento apresentado pelo grupo 2 não apresenta efeitos prejudiciais, uma vez que o tratamento com o óleo de baru não levou a nenhuma outra alteração significativa nos hepatócitos desses animais.

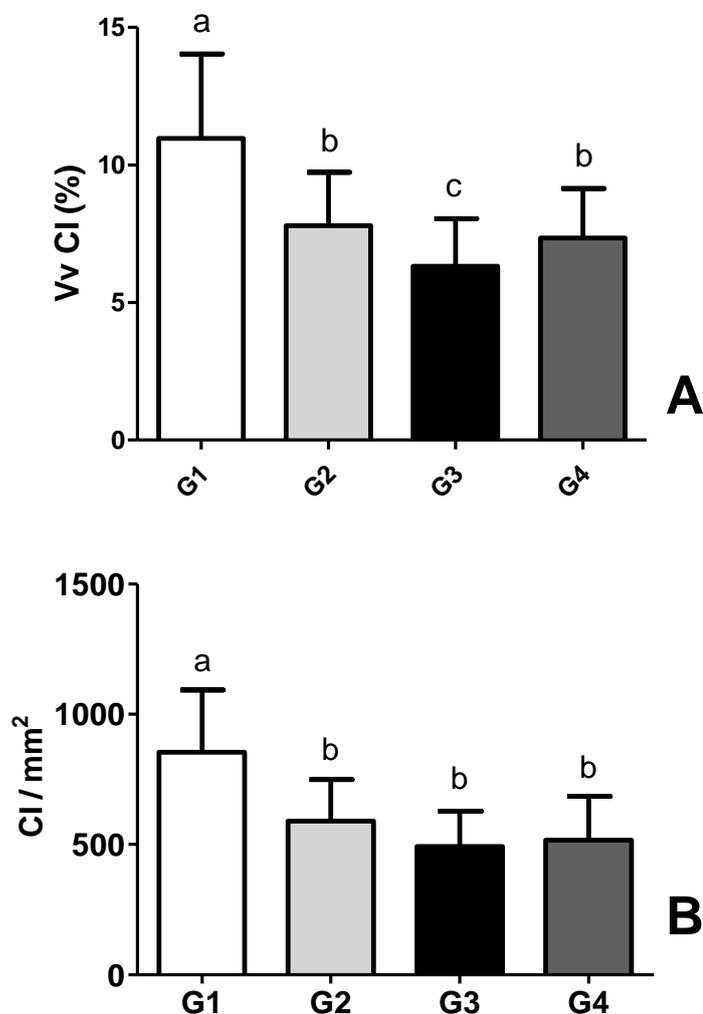
O Gráfico 3C demonstra os valores médios da densidade de volume de HT (V_v [HT]). Quando os diferentes grupos são comparados entre si, pode-se perceber um aumento no espaço ocupado pelos hepatócitos nos grupos 3 (96,9%) e 4 (93,9%) em relação aos grupos 1 (87,0%) e 2 (86,7%), demonstrando que os hepatócitos dos grupos dislipidêmicos apresentaram maior área citoplasmática. Assim, estes resultados confirmam que a administração da emulsão rica em lipídios levou a hipertrofia celular.

Ainda no Gráfico 3C, pode ser observado que os animais do grupo 4 apresentaram valores médios da densidade de volume significativamente menores que os animais do grupo 3, sugerindo um efeito benéfico do óleo de baru quanto ao desenvolvimento das alterações celulares.

Os valores médios obtidos das áreas dos núcleos dos hepatócitos (μm^2) estão apresentados no Gráfico 3D. Não houve diferença significativa quando comparados os diferentes grupos entre si, sugerindo que as alterações celulares desenvolvidas não acarretaram em demandas excessivas de metabolismo nuclear, que poderiam levar a hipotrofia, hipertrofia ou até mesmo divisão nuclear.

Os valores médios de densidade de volume de células intersticiais (V_v [CI]) estão representados no Gráfico 4A. Foi observada uma diminuição de V_v [CI] no fígado dos animais dos grupos 2 (7,9%), 3 (6,3%) e 4 (7,5%) quando comparados ao grupo 1 (11,0%), demonstrando que a administração da emulsão rica em lipídios diminuiu o espaço ocupado pelas células intersticiais. Os valores médios de V_v [CI] observados no fígado dos animais do grupo 3 foram significativamente menores em relação aos valores observados no grupo 4, demonstrando que o tratamento com o óleo de baru teve um efeito benéfico quando utilizado concomitante a administração da emulsão rica em lipídios, sugerindo proteção a essas células.

Gráfico 4 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre as células intersticiais do fígado de ratos Wistar.



Legenda: (A) Densidade de volume de células intersticiais (Vv [CI]) (B) Células intersticiais (CI)/mm². Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística (P<0,05).

Fonte: Do autor.

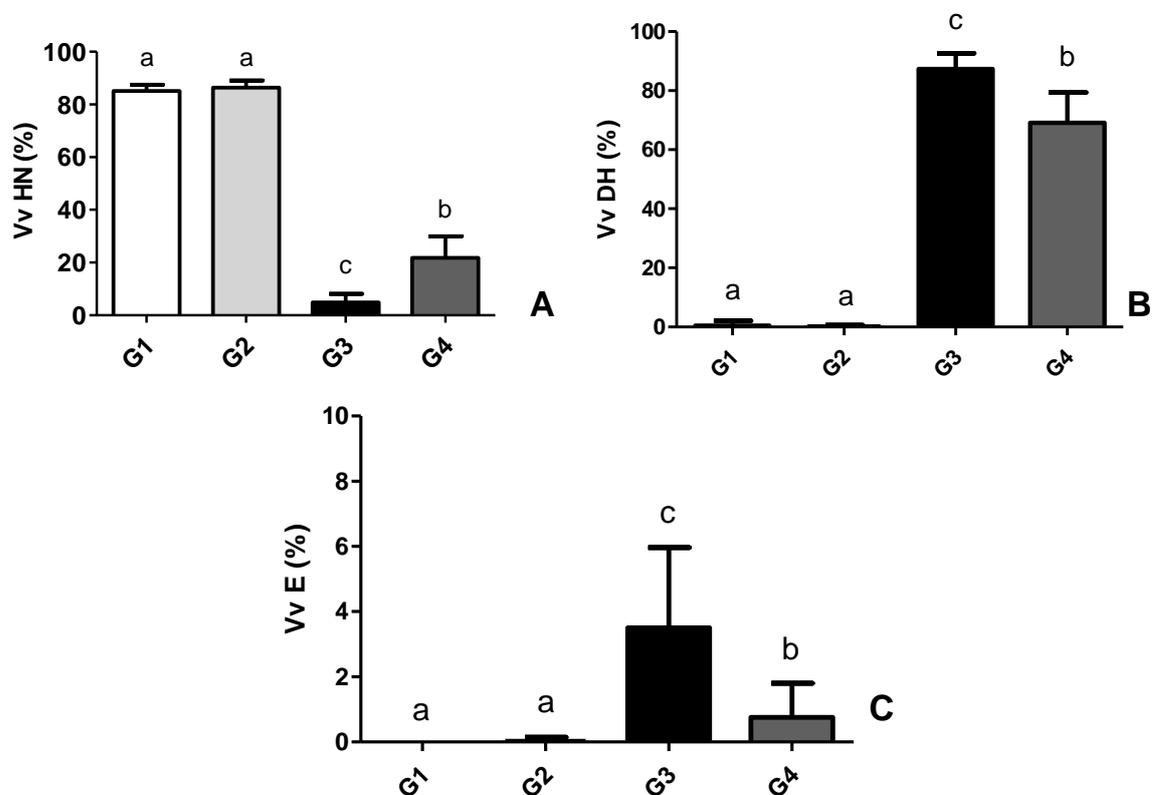
No Gráfico 4B estão apresentados os valores médios obtidos de CI/mm², e quando comparados os diferentes grupos entre si, pode-se perceber uma diminuição no número de células intersticiais nos grupos 2 (590/mm²), 3 (492/mm²) e 4 (517/mm²) em relação ao grupo 1 (854/mm²), sugerindo que o tratamento com a emulsão rica em lipídios e o tratamento com o óleo de baru acarretaram na diminuição do número de células intersticiais dos animais tratados.

A diminuição das células intersticiais no fígado dos animais tratados com a emulsão rica em lipídios pode ser justificada principalmente pela diminuição dos capilares sinusoides (Gráfico 2B), o que acarreta em menor aporte sanguíneo e consequente destruição das mesmas, que podem ser células de Kupfer (macrófagos) ou células de Ito, responsáveis pela defesa do espaço sinusoidal e regulação do lúmen sinusoidal, respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Os resultados observados nos animais do grupo 2, aumento de HT/mm² e menores Vv [CI] e CI/mm², podem ser atribuídos a um possível efeito lipotóxico do tratamento com o óleo de baru, uma vez que este é fonte rica em lipídios. Assim, o tratamento isolado dos animais com o óleo de baru pode ter interferido na função das células de Kupfer e de Ito, ocasionando em diminuição das mesmas, e pode ter sobrecarregado a função dos hepatócitos, ocasionando ao aumento de lipídios. Contudo, vale ressaltar que essas alterações obtidas nos animais do grupo 2 não foram significativamente prejudiciais, afinal não foi identificado nenhuma alteração nesses hepatócitos, como hipertrofia, degeneração hidrópica e esteatose, como também não houve a diminuição dos capilares sinusoides.

A quantificação das alterações celulares induzidas pela administração da emulsão rica em lipídios, apresentadas no Gráfico 7, demonstram que os grupos 3 (4,8%) e 4 (21,8%) apresentaram valores diminuídos de hepatócitos normais quando comparados aos grupos 1 (85,1%) e 2 (86,4%). Os grupos 3 (87,3% e 4,3%) e 4 (69,1% e 0,8%) apresentaram valores aumentados de degeneração hidrópica e esteatose quando comparados aos grupos 1 (0,5% e 0%) e 2 (0,1% e 0%). O grupo 3 apresentou valores menores de hepatócitos normais e maiores de degeneração hidrópica e esteatose, quando comparado ao grupo 4, demonstrando o efeito protetor do tratamento com o óleo de baru.

Gráfico 5 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre áreas alteradas nos hepatócitos de ratos Wistar.



Legenda: (A) Densidade de volume de Hepatócitos normais (Vv [HN]) (B) Densidade de volume de Degeneração hidrópica (Vv [DH]) (C) Densidade de volume de Esteatose (Vv [E]). Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor.

5.3.4.2 Perfil proteico e enzimático

Considerando as alterações morfológicas observadas pela administração da emulsão rica em lipídios e que muitos compostos bioativos, nutricionais e antinutricionais presentes na semente de baru, relatados em outros estudos (TOGASHI; SCARBIERI, 1994; SANO; RIBEIRO; BRITO, 2004; LEMOS, 2012), podem ser metabolizados pelo fígado, foram avaliadas as atividades das enzimas AST, ALT e FAL bem como os níveis de albumina no soro dos animais pertencentes aos diferentes grupos (TABELA 10).

Tabela 10 - Efeito da administração da emulsão rica em lipídios e do tratamento com o óleo de baru sobre a função hepática em ratos Wistar.

Parâmetros avaliados	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
AST (U/L)	119,7 ± 20,1 ^a	120,5 ± 13,1 ^a	116,2 ± 13,7 ^a	112,1 ± 31,9 ^a
ALT (U/L)	36,2 ± 9,5 ^a	35,6 ± 5,3 ^a	37,6 ± 6,1 ^a	37,1 ± 7,7 ^a
Albumina (g/dL)	3,04 ± 0,1 ^a	2,96 ± 0,1 ^a	3,09 ± 0,1 ^a	2,98 ± 0,2 ^a
FAL (U/L)	77,1 ± 17,2 ^a	80,8 ± 14,0 ^a	95,1 ± 15,6 ^a	83,3 ± 10,6 ^a

Legenda: AST: Aspartato amino transferase, ALT: Alanina amino transferase, FAL: Fosfatase alcalina. Grupo 1 - Controle, Grupo 2 - Óleo de baru, Grupo 3 - Dislipidêmico, Grupo 4 - Dislipidêmico + Óleo de baru.

Nota: Os resultados representam a média ± desvio padrão de determinações realizadas em duplicata. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (P<0,05). O número de animais (n) para cada teste realizado variou entre nove (9) e dez (10).

Fonte: Do autor

É conhecido que a atividade sérica da ALT e da AST aumenta em resposta ao dano celular hepático, sendo estas enzimas consideradas como marcadores de lise celular enquanto que a FAL é utilizada como indicadora de colestase. No fígado, a ALT está localizada exclusivamente no citosol, enquanto que a AST está distribuída no citosol e nas mitocôndrias. Assim, a ocorrência de dano celular hepático leva ao aumento da atividade sérica destas enzimas e o aumento da atividade de ALT geralmente é detectado primeiro que o aumento da AST. À medida que os danos vão se agravando a atividade sérica da AST também aumenta gradativamente. Nesta situação, um aumento na atividade de FAL também pode ser observado em decorrência do comprometimento do fluxo biliar (BURTIS; BRUNS, 2016).

Nenhuma diferença significativa foi observada nas atividades de AST, ALT e FAL entre os diferentes grupos quando comparados entre si, sugerindo, portanto, ausência de lise celular induzida pelo tratamento com o óleo de baru durante o período de 15 semanas.

O nível sérico de albumina é um bom indicador da capacidade de síntese hepática, já que esta é sintetizada exclusivamente no fígado. Os resultados apresentados na Tabela 10 demonstraram que não houve diferença significativa entre os níveis de albumina sérica entre os diferentes grupos analisados, sugerindo que o tratamento com o óleo de baru, de acordo com o protocolo adotado neste estudo, não causou prejuízos na capacidade de síntese hepática dos animais.

Lesões teciduais que ocorrem na DHGNA em estágios mais graves, como esteatohepatite, fibrose hepática e cirrose, são mais agressivas e podem ter como resolução

os processos de necrose e apoptose dos hepatócitos, gerando o consequente aumento das aminotransferases (ARAÚJO JR et al., 2005).

As alterações induzidas pela administração da emulsão rica em lipídios bem como o tratamento com o óleo de baru não ocasionaram dano agressivo ou morte celular, mantendo normais os valores das aminotransferases. Estudos como o de Almeida (2014) e Freitas et al. (2016) também apresentaram valores normais para as enzimas AST e ALT na presença de esteatose induzida por dieta hiperlipídica, sendo compatíveis com os valores apresentados no presente estudo.

Sendo assim, a partir da análise dos dados, pode-se sugerir que houve o início do desenvolvimento de DHGNA nos animais dos grupos em que foi administrada a emulsão rica em lipídios (3 e 4), sendo observado o aumento de degeneração hidrópica e esteatose nos hepatócitos desses grupos, sem alteração da atividade das enzimas AST, ALT e FAL assim como dos níveis de albumina no soro.

Estes resultados sugerem que óleo de baru apresenta um potencial hepatoprotetor em animais dislipidêmicos. Este benefício pode ser atribuído a um possível efeito do óleo sobre o metabolismo lipídico hepático, uma vez que estudos demonstram que AG insaturados, bem como compostos antioxidantes, podem interferir positivamente nas vias metabólicas que levam à lipotoxicidade hepática (HANKE et al., 2013; PRINCE et al., 2014; SONG et al., 2016).

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que o tratamento com o óleo de baru apresentou um efeito hepatoprotetor, sendo capaz de atenuar as alterações induzidas pela dieta rica em lipídios, bem como apresentou um efeito antioxidante, sendo capaz de diminuir os níveis de MDA na aorta dos animais.

O tratamento com o óleo de baru não apresentou efeitos nefrotóxicos e não induziu alterações no ganho de peso dos animais, no consumo diário de ração e água como também não induziu alterações no perfil lipídico.

Assim, os resultados apresentados no presente estudo podem contribuir para reforçar o uso do baru como um alimento funcional, de maneira racional, sendo, portanto, de grande relevância para a segurança da saúde humana.

REFERÊNCIAS

- AGEITEC - Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **Prensagem em pequena escala.** Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcudlguwx.html>. Acesso em: 10 fev. 2016.
- AJJAN, R. A.; ARIËNS, R. A. S. Cardiovascular disease and heritability of the prothrombotic state. **Blood Reviews**, v. 23, n. 2, p. 67–78, 2009.
- ALMEIDA, B.B. **Efeitos metabólicos da combinação de triglicerídeos de cadeia média e óleo de peixe na esteatose hepática e estresse oxidativo induzidos pela dieta hiperlipídica termolizada em ratos.** 2014. 142f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- ALONSO, V. B.; CERVANTES, C. E. Valor de la dislipemia en el conjunto de los factores de riesgo cardiovascular. **Revista Española de Cardiología Suplementos**, v. 11, n. 2, p. 29-35, 2011.
- ALVES, F. M. B. et al. Fatores de risco cardiovascular em pacientes com doença aterosclerótica não coronariana em hospital no Sul do Brasil. **Rev Bras Clin Med**, v. 7, p. 3-10, 2009.
- ANDRADE, P. M. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **MN- metabolic**, v. 8, n. 3, p. 32-5, 2006.
- ANDRADE, J. P. De et al. National Physician Qualification Program in Cardiovascular Disease Prevention and Integral Care. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 100, n. 3, p. 203–11, 2013.
- ARAÚJO JR. et al. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 93-9, 2005.
- ARGUELLO, G. et al. Recent insights on the role of cholesterol in non-alcoholic fatty liver disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1852, p. 1765-78, 2015.
- BARROS, M. A. G. Flora medicinal do Distrito Federal. **Brasil Florestal**, Brasília, v. 12, n. 50, p. 35-45, 1982.
- BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-56, 2009.
- BOZZA, A. F. O. Aproveitamento dos frutos do cerrado. **Anais Simpósio Ambientalista Brasileiro No Cerrado**. Goiânia, 2004.
- BRASIL, Ministério Da Saúde. **Doenças cardiovasculares causam quase 30% das mortes no País**, 2011. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2011/09/doencas-cardiovasculares-causam-quase-30-das-mortes-no-pais>>. Acesso em: 28 jan. 2016.

BULUR, H. et al. High cholesterol diet supplemented with sunflower seed oil but not olive oil stimulates lipid peroxidation in plasma, liver, and aorta of rats. **J. Nutr. Biochem.**, v. 6, p. 547-50, 1995.

BURTIS, C. A.; BRUNS, D. E. **Tietz fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular**. 1ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2016.

CABALLERO-GEORGE, C. Cardiovascular Protection by Natural Products. **Planta med.**, v. 81, p. 623, 2015.

CALDER, P. C. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 645-62, 2012.

CARMO, M. C. N. S.; CORREIA, M. I. T. D. A importância dos ácidos graxos ômega 3 no câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n. 05, p. 279-87, 2009.

CARVALHO, G. D. et al. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. **Revista Ceres**, v. 56, n. 1, p. 51-7, 2009.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Rev. Nutr.**, v. 24, n.1, p. 173-87, 2011.

CHUI, K. T. et al. Cardiovascular diseases identification using electrocardiogram health identifier based on multiple criteria decision making. **Expert Systems with Applications**, v. 42, n. 13, p. 5684–95, 2015.

CORRÊA-CAMACHO, C. R.; DIAS-MELICIO, L. A.; SOARES, A. M. V. C. Aterosclerose, uma resposta inflamatória. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 41-8, 2007.

CUPERSMID, L. et al. Linhaça: composição química e efeitos biológicos. **e-Scientia**, v. 5, n. 2, p. 33-40, 2012.

D'SOUZA, K.; NZIRORERA, C.; KIENESBERGER P. C. Lipid metabolism and signaling in cardiac lipotoxicity. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbali.2016.02.016>>. Acesso em: 05 jul. 2016.

DÂMASO, A. R. et al. Tratamento multidisciplinar reduz o tecido adiposo visceral, leptina, grelina e a prevalência de esteatose hepática não alcoólica (NAFLD) em adolescentes obesos. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 12, n. 5, p. 263-7, 2006.

DATTA, B. N.; COLE, D. S.; SHORTLAND, G. J. Hyperlipidaemia. **Paediatrics and Child Health**, v. 21, n. 2, p. 94-8, 2011.

DAWBERT, T. R. The Framingham Study. The epidemiology of atherosclerotic disease. **Harvard University Press**, 1980.

DEGIROLAMO, C.; SHELNESS, G. S.; RUDELL, L. L. LDL cholesteryl oleate as a predictor for atherosclerosis: evidence from human and animal studies on dietary fat. **Journal of Lipid Research**, v. 50, p. S434–9, 2009.

DOS SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Quim. Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-10, 2007.

ERBEL, R.; BUDOFF, M. Improvement of cardiovascular risk prediction using coronary imaging: subclinical atherosclerosis: the memory of lifetime risk factor exposure. **European Heart Journal**, v. 33, n. 10, p. 1201–13, 2012.

ERRICO, T. L. et al. Mecanismos básicos: estructura, función, y metabolismo de las lipoproteínas plasm. **Clin. Invest. Arterioscl.**, v. 25, n. 2, p. 98-103, 2013.

FARRELL, G. C.; LARTER, C. Z. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. **Hepatology**, v. 43, n. 2, s. 1, p. S99-S112, 2006.

FERREIRA, M. B. Plantas portadoras de substâncias medicamentosas, de uso popular, nos cerrados de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 61, p. 19-23, 1980.

FERREIRA, E. S. et al. Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 203-8, 2006.

FIRESTONE, D. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society. **AOCS**, 6th ed, Ce 1h-05, 2014.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Composição em ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras animais. **Anais da E. S. A.**, v. 31, p. 485-90, 1974.

FRAGUAS, R. M. et al. Chemical composition of processed baru (*Dipteryx alata* Vog.) almonds: Lyophilization and roasting. **Afr. J. Agric. Res.**, v. 23, n. 2, p. 269-79, 2014.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Rev. Nutr.**, v. 23, n. 2, p. 269-79, 2010.

FREITAS, R. B. et al. *Euterpe edulis* extract but not oil enhances antioxidant defenses and protects against nonalcoholic fatty liver disease induced by a high-fat diet in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

GO, A. S. et al. The heart disease and stroke statistics — 2013 update A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 127, p. e6-e245, 2013.

GÓMEZ, M. et al. Relationship of lipid oxidation with subclinical atherosclerosis and 10-year coronary events in general population. **Atherosclerosis**, v. 232, p. 134 -40, 2014.

GRIFFITHS, H. R.; LUNEC, J. The effects of oxygen free radicals on the carbohydrate moiety of IgG. **Febs Letters**, v. 245, n. 1-2, p. 95-9, 1989.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 3rd ed, Oxford University Press: New York, 1999.

HANKE, D. et al. A diet in α -linolenic acid and monounsaturated fatty acids attenuates hepatic steatosis and alters hepatic phospholipid fatty acid profile in diet-induced obese rats. **PLEFA**, v. 89, p. 391-401, 2013.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Pract.**, London, v. 22, n. 8, p. 494-5, 1973.

HOLVOET, P. et al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 21, n. 5, p. 844-88, 2001.

HORWITZ, W. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. 2005. Current Through Revision 3, 2010 Gaithersburg, Maryland, **AOAC**, Chapter 41 Met. 996.06, p. 20, 2010.

HU, F. B. Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n. 3, p. 544-51, 2003.

IHEDIOHA, J. I.; NOEL-UNEKE, A.; IHEDIOHA, T. E. Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes. **Comp. Clin. Pathol.**, v. 22, p. 93-9, 2013.

JONES, L. H.; ABDALLA, D. S. P.; FREITAS, J. C. Effects of indole-3-acetic on croton oil -and arachidonic acid-induced mouse ear edema. **Inflammation Research**, v. 44, p. 372-5, 1995.

JORGE, P. A. R. et al. Efeito da brinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 70, n 2, p. 87-91, 1998.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008.

KAMADA, C. et al. Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit. **Free Radical Research**, v. 39, n. 2, p. 185-94, 2005.

KATSIKI, N; MIKHAILIDIS, D. P.; MANTZOROS, C. S. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. **Metabolism**, v. 65, p. 1109-23, 2016.

KHERA, A. V. et al. Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Function, and Atherosclerosis. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 2, p.127-35, 2011.

KIM, J. et al. Role of lipotoxicity in endothelial dysfunction. **Heart Failure Clin.**, v. 8, p. 589-607, 2012.

- KLOP, B.; ELTE, J. W. F.; CABEZAS, M. C. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. **Nutrients**, v. 5, p. 1218-40, 2013.
- KOEK, G. H.; LIEDORP, P. R.; BAST, A. The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. **Clin. Chim. Acta**, v. 412, p. 1297-305, 2011.
- LANDS, B. Historical perspectives on the impact of n-3 and n-6 nutrients on health. **Progress in Lipid Research**, v. 55, n. 1, p. 17–29, 2014.
- LEANÇA, C. C. et al. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 54, n. 9, p. 777-84, 2010.
- LEMONS, M. R. B. **Caracterização e estabilidade dos compostos bioativos em amêndoas de baru (*Dipteryx alata* Vog.), submetidas a processo de torrefação.** 2012. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, UnB, Brasília, 2012.
- LI, J. et al. Effects of total glucosides from paeony (*Paeonia lactiflora* Pall) roots on experimental atherosclerosis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 469–75, 2011.
- LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, G. K. Inflammation in Atherosclerosis. From Pathophysiology to Practice. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 54, n. 23, p. 2129–38, 2009.
- LIMA, C. M. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de taros (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**. v.10, n. 3, p. 1-9, 2014.
- LOUREIRO, A. P. M. et al. Formação de adutos exocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagêneses e carcinogênese. **Quim. Nova**, v. 25, n. 5, p. 777-93, 2002.
- MACHADO, M. V.; DIEHL, A. M. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. **Gastroenterology**, v. 150, p. 1769-77, 2016.
- MAHAPATRA, S. et al., Study on body mass index, lipid profile and lipid peroxidation status in coronary artery disease. **J. Indian Med. Assoc.**, v. 96, p. 39-40, 1998.
- MANSUR, A. P.; FAVARATO, D. Mortalidade por Doenças Cardiovasculares no Brasil e na Região Metropolitana de São Paulo: Atualização 2011. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 99, n. 2, p. 755-61, 2012.
- MARQUES, F. G. et al. Identification of terpenes and phytosterols in *Dipteryx alata* (baru) oil seeds obtained through pressing. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, p. 522-25, 2015.
- MARSMAN, H A. et al. Omega-3 fatty acids reduce hepatic steatosis and consequently attenuate ischemia-reperfusion injury following partial hepatectomy in rats. **Liver, Pancreas, and Biliary Tract**, v. 43, p. 984-90, 2011.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos polinsaturados omega-3 e omega-6: Importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr.**, v. 19, n. 6, p. 761-70, 2006.

MARTINEZ, T. L. R.; LOPES, A.C. **Dislipidemias**. Da Teoria à Prática. São Paulo: Atheneu, 2004.

MCINTOSH, H. D. Risk factors for cardiovascular disease and death: a clinical perspective. **J. Am. Coll. Cardiol.**, n. 14, p. 24-30, 1989.

MELO, M. G. D. et al. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4, p. 1-6, 2012.

MENDIS, S.; PUSKA, P.; NORRVING, B. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. **World Health Organization**. 2011.

MENSINK, R. P. et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. **Amer. Jour. Clin. Nutr.**, v. 77, n. 5, p. 1146-55, 2003.

MICHALANY, J. **Técnica Histológica em Anatomia Patológica**. 3ª ed. São Paulo: Editora Michalany, 1998.

MOORE, K. J.; TABAS, I. Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. **Cell**, v. 145, n. 3, p. 341-55, 2011.

MOREIRA, A. V. B. **Efeito antioxidante dos compostos fenólicos de especiarias sobre os ácidos graxos das séries w3 e w6**. 2003. 153 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2003.

MOTA, M. et al. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. **Metabolism**, v. 65, n. 8, p. 1049-61, 2016.

MOZAFFARIAN, D. et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics-2014 update: a report from the American Heart association. **Circulation**, v. 129, n. 3, p. 399-410, 2014.

MUSSO, G.; GAMBINO, R.; CASSADER, M. Cholesterol metabolism and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. **Progress in Lipid Research**, v. 52, p. 175-91, 2013.

NEWAZ, M. A.; NAWAL, N. N. A. Effect of α -tocopherol on lipid peroxidation and total antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Hypertension**, v. 11, n. 12, p. 1480-85, 1998.

NISHI, K. et al. Oxidized LDL in carotid plaques and plasma associates with plaque instability. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 10, p. 1649-54, 2002.

- PAGIDIPATI, N. J.; GAZIANI T. A. Estimating deaths from cardiovascular disease: a review of global methodologies of mortality measurement. **Circulation**, v. 127, p. 749-56, 2013.
- PALMEFORS, H. et al. The effect of physical activity or exercise on key biomarkers in atherosclerosis - A systematic review. **Atherosclerosis**, v. 235, n. 1, p. 150-61, 2014.
- PINHO, L. et al. Enriquecimento de sorvete com amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vogel) e aceitabilidade por consumidores. **Revista Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 17, n. 1, 2015.
- PRINCE, E. et al. ω -3 fatty acids prevent hepatic steatosis, independent of PPAR- α activity, in a murine model of parenteral nutrition-associated liver disease. **J Parenter Enteral Nutr**, v. 38, n. 5, p. 608-16, 2014.
- PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. 1ª ed. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1992.
- PUSKA, P. Possibilities of a preventive approach to coronary heart disease starting in childhood. **Acta Paediat. Scan.**, v. 318, p. 33-229, 1986.
- RAJENDRAN, P. et al. Antioxidants and human diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 436, p. 332-47, 2014.
- RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2013.
- RIZZO, M. et al. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. **Translational Research**, v. 153, n. 5, p. 217-23, 2009.
- ROBBINS, S. L. et al. **Robbins e Cotran: Patologia - Bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- RODRIGUES, J. F. **Azeites de olive da região da Serra da Mantiqueira: estudo químico e sensorial para caracterização da qualidade**. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2015.
- ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature**, v. 362, p. 801-9, 1993.
- SANO, M. S.; RIBEIRO, F. J.; BRITO, A. M. Baru: biologia e uso. **Embrapa**, 2004.
- _____. Baru In: Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. **Embrapa**, 1ª ed, p. 76-98, 2006.
- SANTOS, M.C. S. **Comparação da ação hipocolesterolêmica da linhaça em diferentes metodologias aplicadas em ratos: uma revisão literária**. 2010. 34 f. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas) - Faculdades Integradas, FAFIBE, Bebedouro, 2010.

SANTOS, R. D. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 100, n. 1, s. 3, 2013.

SANTOS FILHO, R. D.; MARTINEZ, T. L. R. Fatores de risco para doença cardiovascular: velhos e novos fatores de risco, velhos problemas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46, n. 3, p. 212-4, 2002.

SBC. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77, s. 3, p 1-48, 2001.

_____. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, s. 1, 2007.

_____. V Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 101, n. 4, s. 1, 2013.

SCHRAUWEN, P. et al. Mitochondrial dysfunction and lipotoxicity. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1801, p. 266-71, 2010.

SCHWARTZ, H. et al. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 2, p. 152-61, 2008.

SEKHON-LOODU, S. et al. Apple flavonols and n-3 polyunsaturated fatty acid-rich fish oil lowers blood C-reactive protein in rats with hypercholesterolemia and acute inflammation. **Nutrition Research**, v. 34, n. 6, p. 535-43, 2014.

SIGALA, F. et al. Oxidized LDL in human carotid plaques is related to symptomatic carotid disease and lesion instability. **Journal of Vascular Surgery**, v. 52, n. 3, p. 704-13, 2010.

SIQUEIRA, E. M. A. et al. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. **Food Research International**. v. 45, p. 427-33, 2012.

SOEHNLEIN, O. Multiple Roles for Neutrophils in Atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 110, p. 875-88, 2012.

SONG, H. et al. Mulberry ethanol extract attenuates hepatic steatosis and insulin resistance in high-fat diet-fed mice. **Nutrition Research**, v. 36, p. 710-8, 2016.

TAKAHASHI, Y; SOEJIMA, Y.; FUKUSATO, T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. **World J. Gastroenterol.**, v. 18, n. 19, p. 2300-8, 2012.

TAKAHASHI, Y; FUKUSATO, T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. **World J. Gastroenterol.**, v. 20, n. 42, p. 15539-48, 2014.

TAKEMOTO, E. et al. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p. 113-7, 2001.

THILAKARATHNA, S.; RUPASINGHE, H. Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. **Nutrients**, v. 5, n. 9, p. 3367–87, 2013.

TOBOREK, M. et al. Unsaturated fatty acids selectively induce an inflammatory environment in human endothelial cell. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 75, p. 119-25, 2002.

TOGASHI, M.; SCARBIERI, V. C. Caracterização química parcial do fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 85-95, 1994.

_____. Avaliação nutricional da proteína e do óleo de sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 66-9, 1995.

TOMINAGATA, K. et al. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity: an epidemiological ultrasonographic survey. **Dig. Dis. Sci.**, v. 40, p. 2002-9, 1995.

TRIGUERO, M. L. M. et al. Alteraciones del metabolismo de las lipoproteínas. **Medicine**, v. 11, n. 19, p. 1125-9, 2012.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED, S. Composição química da polpa e da semente do fruto do cumbaru (*Dipteryx alata* Vog.) - caracterização do óleo da semente. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 115-25, 1990.

VERA, R. et al. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no cerrado do estado de Goiás, Brasil. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 31, n. 1, p. 112-8, 2009.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S. Chemical composition of selected edible nut seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 4705-14, 2006.

VIOLA, P. Azeite de olive e a saúde. **Consejo Oleícola Internacional**: Madrid, v. 1, p. 7-11, 1997.

WALENBERGH, S. M. A. et al. Non-alcoholic steatohepatitis: The role of oxidized low-density lipoproteins. **Journal of Hepatology**, v. 58, p. 801-10, 2013.

WITZTUM, J. L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. **The Lancet**, v. 344, n. 8925, p. 793-5, 1994.

YANG, S. et al. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. **Natural Product Research**, v. 24, n. 2, p. 140-51, 2010.

YOSHIDA, Y; NIKI, E. Antioxidant effects of phytosterol and its components. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, v. 49, p. 277-80, 2003.

ZHENG, Y.; GARDNER, S. E.; CLARKE, M. C. H. Cell Death, Damage-Associated Molecular Patterns, and Sterile Inflammation in Cardiovascular Disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 31, p. 2781-6, 2011.

ZIBOH, V. A.; MILLER, C. C.; CHO, Y. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of anti-inflammatory and antiproliferative metabolites. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 7, p. 361S-6S, 2000.