



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**HECTOR GALDINO RODRIGUES**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÓLEO DE COCO (*Cocos nucifera* L.) EXTRA  
VIRGEM EM PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE OBESIDADE POR DIETA  
HIPERCALÓRICA E INDUÇÃO DE DISLIPIDEMIA POR POLOXAMER P-407 EM  
CAMUNDONGOS**

**FORTALEZA**

**2015**

**HECTOR GALDINO RODRIGUES**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÓLEO DE COCO (*Cocos nucifera L.*) EXTRA  
VIRGEM EM PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE OBESIDADE POR DIETA  
HIPERCALÓRICA E INDUÇÃO DE DISLIPIDEMIA POR POLOXAMER P-407 EM  
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

**FORTALEZA**

**2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- R611a      Rodrigues, Hector Galdino.  
Avaliação dos efeitos do óleo de coco (*cocos nucifera l.*) extra virgem em protocolos de indução de obesidade por dieta hipercalórica e indução de dislipidemia por poloxamer P-407 em camundongos / Hector Galdino Rodrigues. – 2015.  
101 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Departamento de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2015.  
Área de Concentração: Biologia para a Saúde.  
Orientação: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.
1. Dislipidemias. 2. Obesidade. 3. Antioxidantes. 4. Cocos. I. Título.

**HECTOR GALDINO RODRIGUES**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÓLEO DE COCO (*Cocos nucifera L.*) EXTRA  
VIRGEM EM PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE OBESIDADE POR DIETA  
HIPERCALÓRICA E INDUÇÃO DE DISLIPIDEMIA POR POLOXAMER P-407 EM  
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Aprovada em: 21/09/2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Daniel Freire de Sousa

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

A Deus,

A família, aos amigos, a todos que por aqui passaram e sua marca deixaram.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, pela vida a mim dada e pelas oportunidades ofertadas e, principalmente, pelas pessoas colocadas em meu caminho, que me serviram de inspiração e força para seguir em frente e sempre trabalhar duro para conseguir os melhores resultados possíveis.

Aos meus pais, Leônidas Rodrigues de Oliveira e Maria Cleuma Galdino Rodrigues, por me trazerem a esse mundo e me criarem com amor e carinho, me ensinarem a seguir minhas decisões baseado na justiça e na moral, me mostrarem a importância dos estudos na vida, e, talvez por isso, eu tenha hoje a leitura como *hobby* e o estudo como base para qualquer realização. Em resumo, obrigado por formarem meu caráter, sem vocês não sou o que seria hoje.

À meu irmão, Remo Galdino Rodrigues, pelo companheirismo, amizade e a ajuda nos momentos de necessidade quando o computador não queria cooperar comigo. Pra você, que está iniciando sua carreira acadêmica em administração e mostra muito talento e vontade de aprender sobre o mercado financeiro, desde já te desejo muito sucesso.

À minha noiva, Anamaria Falcão Pereira, companheira de todas as horas, uma pessoa mais que especial na minha vida. Dizem que por trás de um grande homem existe uma grande mulher, e ter você ao meu lado só mostrou que isso é verdade. Obrigado pelos momentos de descontração, sorrisos que proporcionamos um ao outro, pelo crescimento que tivemos juntos, pois nós dois crescemos mais juntos que cresceríamos individualmente. Obrigado pela ajuda nos experimentos, esse trabalho tem muito de você nele. Te amo e essa conquista é uma de muitas que quero partilhar ao seu lado.

À minha família, tios, tias, primos, primas, sobrinhos, que sabem da nossa peleja e torcem pelo nosso sucesso.

Deixo aqui agradecimento eterno ao meu avô Armando Moreira de Oliveira e minha avó Luzia Rodrigues de Oliveira. Os dois nos deixaram há menos de um ano, com menos de um mês de diferença. Que Deus os tenha, e agradeço imensamente pela convivência que tivemos que, embora não fosse muita, foi o bastante para saber de onde veio o senso de justiça, estudo

e trabalho que me foi passado pelo meu pai. Acredito sinceramente que o segredo da vida é passar adiante bons ensinamentos e valores aos nossos filhos e netos, e penso que nisso vocês alcançaram sucesso. Essa conquista eu dedico a vocês, onde quer que estejam.

À família Bioquímica, onipresente em minha formação científica desde que entrei no Laboratório de Bioquímica Clínica. Jamile, Daniel, Thamires, Tiago, Aline, Vivi, Mariana Dantas, Mariana Maciel, Richard, Nayane, Karol, Elson, Juliana, Renata Sousa, Renata Monteiro, Diego, Renato, João Paulo, Giovanna, Kamilla, Priscilla, Elias, Rebeca, Lidianne. Tentei colocar aqui todos que já passaram por nosso laboratório, e quero dizer que esse trabalho tem um pouco de cada um de vocês nele, seja pela orientação técnico-científica, pela ajuda nos experimentos de sacrifício e coleta, na manufatura da ração (processo mais que cansativo!), pelas ideias dadas durante a graduação e pós-graduação. A convivência com vocês, meus amigos, me fez crescer como pessoa e pesquisador, e por isso sou-lhes muito grato. Minha etapa como integrante do Laboratório vai se encerrando, mas termino meus trabalhos sabendo que nosso vínculo nessa família é muito mais duradouro.

À "mãe" dessa família e minha orientadora, Professora Maria Goretti Rodrigues de Queiroz, agradeço pela orientação que vem me dando desde que estou na graduação, confiança no meu trabalho e a boa margem de liberdade que me deu para criar essa dissertação. Entendo que a senhora tem muitas atribuições como diretora da FFOE, mesmo assim está presente sempre que precisamos. Sempre lhe serei grato por fazer parte de minha formação desde minha graduação até hoje.

Ao Professor Said Gonçalves da Cruz Fonseca, a quem considero praticamente um co-orientador, por sua atenção e aplicação em um dos principais pontos desse trabalho, que foi a manufatura da ração hipercalórica e a incorporação do óleo de coco extra virgem. Sem suas ideias e orientações, sem o maquinário e suas instruções de como usá-los, sem sua paciência para ajudar nas tantas vezes em que necessitei, esse projeto não teria tido o desenrolar que teve. Muito obrigado por tudo e lhe desejo o melhor sempre.

Às professoras Renata de Sousa Alves e Romélia Pinheiro Gonçalves, pela presença na banca de qualificação e pelas ricas orientações acerca do conteúdo do trabalho e de como deixá-lo ainda melhor. Asseguro-lhes de que seus conselhos foram seguidos e engrandeceram a qualidade do presente estudo.

À Profa. Cléa Florenço de Sousa, por me deixar usar seu laboratório para fazer parte importante do meu projeto de pesquisa, e, em especial, ao Klistenes, hoje aluno de mestrado, e a Mariana Lima Feitosa, doutoranda, pelo enorme esforço e paciência na execução das análises antioxidantes do meu trabalho.

Aos amigos. Aos "caras", Thiago, Raphael, Jarbas, Anderson, Diogo, Pedro Henrique, Gregory, José Barbosa, Elson, pelas nossas conversas às vezes sobre concurso, outras sobre dinheiro (rsrs), pelas conversas de bar, pelos momentos de desespero compartilhados desde a graduação, pela ajuda com meu mestrado quando precisava de uma opinião, dentre tantos outros momentos que passamos. Aos amigos de bar, Renato, Rafael, Adriano, pelos momentos de descontração tomando uma gelada. Aos amigos racheiros, Lucas, Kildere, Prof. Roberto, Gdaillon, Eduardo, dentre tantos outros que me tiram a sexta à tarde para jogar um futebol de alto desempenho. Às amigas, Jessica, Luciana, Camilla, Yara, Luana, Maísa, pela amizade e em alguns momentos pela ajuda com os experimentos. Agradeço a vocês e a tantos outros cujos nomes não coloquei aqui pelo companheirismo e tudo mais.

À Universidade federal do Ceará, pela oportunidade concedida de me formar pessoa e profissional sob a tutela de seus professores e funcionários.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pelo incentivo a pesquisa e financiamento de meu projeto.

Ao programa de Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade de me pós graduar e me tornar um profissional melhor para contribuir com meus conhecimentos para a sociedade.

"Temos de fazer o melhor que podemos. Essa é a nossa sagrada responsabilidade humana."

Albert Einstein.

## RESUMO

As dislipidemias e a obesidade são distúrbios cuja prevalência vem aumentando no Brasil e no mundo, e são extremamente importantes do ponto de vista da saúde pública, pois ambas desempenham um importante papel no cenário das doenças cardiovasculares. Por terem cunho inflamatório, trazem danos oxidativos aos tecidos e órgãos, comprometendo seu funcionamento. O óleo de coco extra virgem (OCEV), extraído do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), o coco, é uma gordura saturada rica em ácidos graxos de cadeia média e compostos polifenólicos, os quais evidenciaram atividades antimicrobiana, antitrombótica e antioxidante. O objetivo do presente estudo é averiguar os efeitos do óleo de coco extra virgem sobre o perfil bioquímico lipídico e antioxidante no tratamento da obesidade e dislipidemia em camundongos, assim como no estresse oxidativo deles decorrentes. A dislipidemia foi induzida por injeção intraperitoneal de solução de poloxamer P-407 em camundongos machos, que foram tratados com fenofibrato ou óleo de coco a 3, 6 ou 12mL/Kg (P+OC3, P+OC6 e P+OC12, respectivamente) 2 e 26 horas após a indução, com coleta 24 e 48 horas pós-indução e dosagem de glicose, triacilgliceróis e colesterol total. A obesidade foi induzida por ração hipercalórica durante 15 semanas, com tratamento simultâneo com sibutramina ou óleo de coco extra virgem a 5%, 7,5% ou 10% (DH+OC5, DH+OC7,5 e DH+OC10, respectivamente) em peso incorporado à ração hipercalórica, com dosagens de glicose, triacilgliceróis, colesterol total, HDL e não-HDL, ALT e AST. Ao fim dos protocolos, o fígado foi removido para dosagem dos parâmetros antioxidantes catalase e TBARS. No protocolo de dislipidemia os níveis de triacilgliceróis foram reduzidos em todos os grupos tratados com OCEV (redução entre 68,31% e 114,8% em relação a P). Catalase (aumento de 203%) e TBARS (redução de 70,90%) tiveram resultados benéficos em P+OC12 em relação a P. Na obesidade, a glicemia e colesterol total diminuíram em DH+OC5 (31,77% e 32,28%, respectivamente). Os níveis de HDL aumentaram em todos os grupos que consumiram OCEV, assim como a atividade plasmática de alanina aminotransferase (ALT) (31,60% e 38,89%, respectivamente); a concentração plasmática de triacilgliceróis reduziu-se em DH+OC7,5 (48,55%) em relação a DH, assim como a atividade de aspartato aminotransferase (AST) aumentou em DH+OC10 (44,52%). Catalase aumentou em DH+OC5 (145,61%), e TBARS reduziu em DH+OC10 (74,15%). Conclui-se que o OCEV possui efeitos benéficos sobre parâmetros bioquímicos do perfil lipídico e oxidativo de camundongos dislipidêmicos e obesos.

**Palavras-chave:** Dislipidemia, Obesidade, Antioxidantes, Coco.

## ABSTRACT

Dyslipidemia and obesity are disorders whose prevalence is increasing in Brazil and worldwide, and are extremely important in Public Health, as both play important role on cardiovascular diseases development. Due to its inflammatory nature, occurs oxidative damage to tissues and organs, compromising its functionality. Extra virgin coconut oil (OCEV), extracted from the fruit of the coconut palm (*Cocos nucifera* L.), coconut, is a saturated fat rich in medium chain fatty acids and polyphenolic compounds, which showed antimicrobial, antithrombotic and antioxidant activity. The aim of this study is to investigate the effects of extra virgin coconut oil on lipid and antioxidant profile in the treatment of obesity and dyslipidemia in mice as well as in their oxidative stress arising. Dyslipidemia was induced by intraperitoneal injection of poloxamer solution P-407 in male mice that were treated with fenofibrate or coconut oil to 3, 6 or 12 mL / kg (P+OC3, P+OC6 e P+OC12, respectively) 2 and 26 hours after induction, with collection 24 and 48 hours post-induction and dosage of glucose, triglycerides and total cholesterol. Obesity was induced by hypercaloric diet for 15 weeks with simultaneous treatment with sibutramine or extra virgin coconut oil 5%, 7.5% or 10% (DH+OC5, DH+OC7,5 and DH+OC10, respectively) by weight incorporated in hypercaloric diet, with determination of glucose, triglycerides, total cholesterol, non-HDL and HDL, ALT and AST. At the end of the protocols, the liver was removed for determination of antioxidant catalase and TBARS parameters. In dyslipidemia protocol triglycerides levels were reduced in all groups treated with OCEV (reduction from 68.31% to 114.8% relative to P). Catalase (up 203%) and TBARS (down 70.90%) had beneficial results in P + OC12 relative to P. In obesity, blood glucose and total cholesterol decreased by DH + OC5 (31.77% and 32 28%, respectively). HDL levels increased in all groups who consumed OCEV, as well as the plasma activity of alanine aminotransferase (ALT) (31.60% and 38.89%, respectively); the serum triglycerides decreased by DH + OC7,5 (48.55%) compared to HD, as well as the aspartate aminotransferase activity (AST) increased by DH + OC10 (44.52%). Catalase increased by DH + OC5 (145.61%), and TBARS decreased by DH + OC10 (74.15%). It concludes that the OCEV has beneficial effects on oxidative and lipid profile of dyslipidemic and obese mice.

**Keywords:** Dyslipidemia, Obesity, Antioxidant, Extra Virgin Coconut Oil.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Estrutura geral das lipoproteínas.....	27
Figura 2	– Cascata de reações que levam a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que causam danos e perda de função de biomolécula.....	32
Figura 3	– Estrutura do coco.....	34
Figura 4	– Composição percentual de cadeias de ácidos graxos presentes no óleo de coco extra virgem.....	36
Figura 5	– Composição percentual de triacilgliceróis do óleo de coco extra virgem.....	37
Figura 6	– Representação esquemática do delineamento experimental de dislipidemia induzida experimentalmente por poloxamer P-407.....	44
Figura 7	– Ração hipercalórica após mistura e extrusão.....	45
Figura 8	– Óleo de coco incorporado a ração hipercalórica nas concentrações em massa, antes da extrusão.....	46
Figura 9	– Representação esquemática do delineamento experimental de indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	47
Figura 10	– Dois camundongos, do grupo em dieta hipercalórica (acima), e outro do grupo em dieta normocalórica (abaixo). Foto dos animais feita na 15 <sup>o</sup> semana do protocolo.....	67

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.....	50
Gráfico 2	– Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.....	51
Gráfico 3	– Níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dL) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.....	52
Gráfico 4	– Níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dL) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.....	53
Gráfico 5	– Níveis plasmáticos de triacilgliceróis (mg/dL) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.....	54
Gráfico 6	– Níveis plasmáticos de triacilgliceróis (mg/dL) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.....	55
Gráfico 7	– Atividade plasmática de alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.....	56
Gráfico 8	– Atividade plasmática de alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.....	57
Gráfico 9	– Atividade plasmática de aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.....	58
Gráfico 10	– Atividade plasmática de aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.....	59
Gráfico 11	– Níveis de TBARS hepáticos ( $\mu\text{g MDA/g}$ de fígado) dos camundongos após 48h da indução de dislipidemia.....	60
Gráfico 12	– Níveis de catalase hepáticos ( $\text{umol/min.ug}$ proteína) dos camundongos após 48h da indução de dislipidemia.....	62
Gráfico 13	– Massa corpórea média inicial dos camundongos (em gramas) submetidos ao protocolo de indução de obesidade.....	65
Gráfico 14	– Massa corpórea média final dos camundongos (em gramas) submetidos ao protocolo de indução de obesidade.....	65
Gráfico 15	– Massa de tecido adiposo dos camundongos (em gramas) submetidos ao protocolo de indução de obesidade.....	66
Gráfico 16	– Média do consumo semanal de ração (em gramas) dos camundongos	

	submetidos a protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	68
Gráfico 17	– Média do consumo semanal de água (em mililitros) dos camundongos submetidos a protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	68
Gráfico 18	– Glicemia (em mg/dl) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	69
Gráfico 19	– Níveis de colesterol total (em mg/dl) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	71
Gráfico 20	– Níveis de HDL (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	72
Gráfico 21	– Níveis de colesterol não-HDL (em mg/dl) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	74
Gráfico 22	– Níveis de triacilgliceróis (em mg/dl) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	75
Gráfico 23	– Atividade de alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	77
Gráfico 24	– Atividade de aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	78
Gráfico 25	– Níveis de TBARS hepáticos ( $\mu\text{g}$ MDA/g de fígado) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	80
Gráfico 26	– Atividade de catalase hepática ( $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$ proteína) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	81

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Classificação fenotípica das dislipidemias.....	28
Tabela 2	– Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.....	51
Tabela 3	– Níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dL) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.....	53
Tabela 4	– Níveis plasmáticos de triacilgliceróis (mg/dL) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.....	55
Tabela 5	– Atividade plasmática de ALT (U/L) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.....	57
Tabela 6	– Atividade plasmática de AST (U/L) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.....	59
Tabela 7	– Níveis de TBARS hepáticos ( $\mu\text{g}$ MDA/g de fígado) dos camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia.....	61
Tabela 8	– Níveis de catalase hepáticos (umol/min.ug proteína) dos camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia.....	62
Tabela 9	– Variação de peso, média de consumo semanal de água e ração e massa adiposa dos camundongos submetidos a protocolo de obesidade induzida por dieta hipercalórica.....	64
Tabela 10	– Glicemia (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	70
Tabela 11	– Níveis de colesterol total (em mg/dl) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	71
Tabela 12	– Níveis de HDL-c (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	73
Tabela 13	– Níveis de colesterol não-HDL (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	74
Tabela 14	– Níveis de triacilgliceróis (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	76
Tabela 15	– Atividade de alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	77
Tabela 16	– Atividade de aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos	

	submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	79
Tabela 17	– Níveis de TBARS hepáticos ( $\mu\text{g}$ MDA/g de fígado) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	80
Tabela 18	– Atividade de catalase hepática ( $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$ proteína) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.....	82

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

μL - Microlitro

ACAT - Acilcolesteril-aciltransferase

AGCL - Ácidos graxos de cadeia longa

AGCM - Ácidos graxos de cadeia média

ALT - Alanina aminotransferase

Apo(s) - Apolipoproteína(s)

AST - Aspartato aminotransferase

CAT - Catalase

CEPA - Comissão de Ética em Pesquisa Animal

CN - Controle negativo

P - Controle positivo

CT - Colesterol total

DAC - Doença Arterial Coronariana

DCC - Doença Coronariana Cardíaca

DCNT - Doenças Crônicas Não-Transmissíveis

DCV - Doenças Cardiovasculares

DH - Dieta Hipercalórica

DH+OC10 - Óleo de coco a 10% em peso

DH+OC5 - Óleo de coco a 5% em peso

DH+OC7,5 - Óleo de coco a 7,5% em peso

DM2 - Diabetes *mellitus* tipo 2

DN - Dieta Normocalórica

DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

EDTA - Ácido Etilenodiamino tetracético

EPM - Erro Padrão da Média

FDA - *Food and Drug Administration*

GPx - Glutathione Peroxidase

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

HDL - *High-Density Lipoprotein*, Lipoproteína de Alta Densidade

HMG-CoA redutase - Hidroximetilglutaril Coenzima A Redutase

i.p. - Intraperitoneal

IL-6 - Interleucina 6

Kcal - Quilocaloria

kDa - Quilodáton

LDL - *Low-density Lipoprotein*, Lipoproteína de Baixa Densidade

LDL-R - Receptor de LDL

LPL - Lipase lipoprotéica

MP-1 - *monocyte chemoattractant protein-1*, Proteína Quimioatrativa de Monócitos

MDA - Malonildialdeído

mg/dL - Miligramas por decilitro

mM - Milimolar

MUFA - *Monounsaturated Fatty Acids*, Ácidos Graxos Monossaturados

OCEV - Óleo de Coco extra Virgem

OMS - Organização Mundial de Saúde

P+FEN - Fenofibrato a 200mg/Kg

P+OC12 - Óleo de coco 12mL/Kg

P+OC3 - Óleo de coco 3ml/Kg

P+OC6 - Óleo de coco 6mL/Kg

PCR - Proteína C Reativa

pH - Potencial Hidrogeniônico

PPAR- $\alpha$  - *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*, Proliferadores de Peroxissoma do tipo alfa

PUFA - *Poliunsaturated Fatty Acids*, Ácidos Graxos Poliinsaturados

RBD - *Refining, Bleaching, Deodorizing*, Refinamento, Branqueamento, Deodorização.

RNS - *Reactive Nitrogen Species*, Espécies Reativas de Nitrogênio

ROS - *Reactive Oxygen Species*, Espécies Reativas de Oxigênio

RPM - Rotações por Minuto

DH+SIB - Sibutramina a 50 mg/L

SM - Síndrome Metabólica

SOD - Superóxido Dismutase

TBARS - *Tiobarbituric Acid Reactive Species*, Espécies Reativas do Ácido Tiobarbitúrico

TCM - Triacilgliceróis de Cadeia Média

TG - Triacilgliceróis

TNF- $\alpha$  - *Tumoral Necrosis Factor Alpha*, Fator de Necrose Tumoral Alfa

U/L - Unidades por litro

VLDL - *Very Low Density Lipoprotein*, Proteína de Muito Baixa Densidade

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	23
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	24
2.1	<b>Obesidade</b> .....	24
2.2	<b>Dislipidemia</b> .....	26
2.3	<b>Estresse oxidativo</b> .....	31
2.4	<b>Coco (<i>Cocos nucifera L.</i>)</b> .....	33
2.4.1	<b>Óleo de coco extra virgem</b> .....	34
2.4.1.1	<i>Ácidos graxos saturados e insaturados</i> .....	35
2.4.1.2	<i>Porção insaponificável do óleo de coco extra virgem</i> .....	38
2.4.2	<b>Estudos e aplicação do óleo de coco virgem</b> .....	38
3	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	40
4	<b>OBJETIVOS</b> .....	41
4.1	<b>Objetivo geral</b> .....	41
4.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	41
5	<b>METODOLOGIA</b> .....	43
5.1	<b>Obtenção do óleo de coco</b> .....	43
5.2	<b>Animais</b> .....	43
5.3	<b>Protocolos experimentais</b> .....	43
5.3.1	<i>Avaliação do efeito do OCEV no modelo de dislipidemia induzida por poloxamer P-407</i> .....	43
5.3.2	<i>Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica</i> .....	45
5.3.2.1	<i>Confecção da ração para o protocolo de indução de obesidade</i> .....	45
5.3.2.1.1	<i>Ração hipercalórica</i> .....	45
5.3.2.1.2	<i>Ração hipercalórica com OCEV</i> .....	45
5.3.2.2	<i>Delineamento experimental de indução de obesidade por dieta hipercalórica</i> .....	46
5.4	<b>Análise dos parâmetros antioxidantes</b> .....	48
5.4.1	<i>Preparação dos homogenatos hepáticos</i> .....	48
5.4.2	<i>Dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i> .....	48
5.4.3	<i>Determinação da concentração proteica no tecido hepático</i> .....	48
5.4.4	<i>Determinação da atividade enzimática de catalase</i> .....	48
5.5	<b>Análise estatística</b> .....	49

<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>50</b>
<b>6.1</b>	<b>Avaliação bioquímica da atividade hipolipidêmica do OCEV em protocolo de dislipidemia induzida por poloxamer P-407 em camundongos.....</b>	<b>50</b>
<b>6.1.1</b>	<i>Análise dos níveis plasmáticos de glicose após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>50</i>
<b>6.1.2</b>	<i>Análise dos níveis plasmáticos de colesterol total após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>52</i>
<b>6.1.3</b>	<i>Análise dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>54</i>
<b>6.1.4</b>	<i>Análise da atividade plasmática de ALT após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>56</i>
<b>6.1.5</b>	<i>Análise da atividade plasmática de AST após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>58</i>
<b>6.2</b>	<b>Avaliação da atividade antioxidante do OCEV em protocolo de dislipidemia induzida por poloxamer p-407 em camundongos.....</b>	<b>60</b>
<b>6.2.1</b>	<i>Análise da peroxidação lipídica no protocolo de indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>60</i>
<b>6.2.2</b>	<i>Análise atividade de catalase hepática no protocolo de indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.....</i>	<i>61</i>
<b>6.3</b>	<b>Avaliação dos efeitos do OCEV sobre a massa corporal, tecido adiposo, consumo de água e ração em camundongos submetidos a dieta hipercalórica durante 15 semanas com tratamento simultâneo.....</b>	<b>63</b>
<b>6.4</b>	<b>Avaliação dos efeitos do OCEV sobre o perfil bioquímico em camundongos submetidos a dieta hipercalórica durante 15 semanas com tratamento simultâneo.....</b>	<b>69</b>
<b>6.4.1</b>	<i>Análise da concentração plasmática de glicose nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou</i>	

	<i>sibutramina</i> .....	69
6.4.2	<i>Análise da concentração plasmática de colesterol total nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	70
6.4.3	<i>Análise da concentração plasmática de colesterol HDL nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	72
6.4.4	<i>Análise da concentração plasmática de colesterol não-HDL nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	73
6.4.5	<i>Análise da concentração plasmática de triacilgliceróis nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com sibutramina ou OCEV</i> .....	75
6.4.6	<i>Análise da atividade plasmática de alanina aminotransferase (ALT) nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	76
6.4.7	<i>Análise da atividade plasmática de aspartato aminotransferase (AST) nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	78
6.5	<b>Avaliação da atividade antioxidante do OCEV em camundongos submetidos a dieta hipercalórica durante 15 semanas com tratamento simultâneo</b> .....	79
6.5.1	<i>Análise da peroxidação lipídica nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	79
6.5.2	<i>Análise da atividade de catalase nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina</i> .....	81
7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	83
8	<b>CONCLUSÃO</b> .....	93
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	95

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) se caracterizam como doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) que são, na atualidade, relevante problema de saúde pública, de grande custo social, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento (BARBOSA, 2013).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo. Em 2008 se registraram 17,3 milhões de mortes por DCVs, e estimativas para 2030 colocam em 23,3 milhões o número de óbitos pela mesma causa (OMS, 2013).

Ressalta-se a correlação entre as dislipidemias e a obesidade, presente muitas vezes na síndrome metabólica (SM) com as DCVs, pois há causalidade entre a alteração do metabolismo lipídico e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, além de o excesso de tecido adiposo influir diretamente na geração de outros fatores de risco diretamente relacionados (OMS, 2013; OPIE, 2007). A síndrome metabólica corresponde a uma série de fatores de riscos metabólicos que estão relacionados com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus* do tipo 2. Muitos são os sinais clínicos que caracterizam SM, dentre elas: obesidade, hipertrigliceridemia, baixas concentrações plasmáticas de HDL (do inglês, *High-Density cholesterol*), hipertensão arterial, glicemia de jejum alterada ou tolerância diminuída a glicose, dentre outros critérios diagnósticos, a depender da instituição de saúde. A OMS classifica como critério diagnóstico para essa síndrome a resistência insulínica adicionada de dois ou mais sinais acima (ALBERTI; ZIMMET, 1998).

Nesse cenário, destacam-se dois distúrbios metabólicos: a dislipidemia e a obesidade. A primeira caracteriza-se por alterações nos níveis lipídicos sanguíneos, a segunda, pelo acúmulo de tecido gorduroso localizado ou generalizado, provocado por desequilíbrio nutricional, associado ou não a distúrbios genéticos ou endócrino-metabólicos. As duas figuram como importantes morbidades de alta prevalência tanto nos países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento e são responsáveis por milhares de hospitalizações, o que acarreta grandes gastos governamentais. Isso as tornam problemas de saúde pública. Além disso, os tratamentos farmacológicos existentes no mercado atualmente, para ambas as morbidades, possuem uma gama de efeitos colaterais que desestimulam a continuidade do tratamento.

Embora existam medicamentos e classes de medicamentos mais recentes, que agem em sítios moleculares mais específicos e, portanto, são dotados de menos efeitos adversos, estes são de preço elevado, onerando o usuário quando ele possui situação financeira para aquisição, ou os fundos governamentais, quando apela à Justiça para reivindicar seus direitos constitucionais.

Nesse cenário, o estudo da biodiversidade se ergue como importante ferramenta para descoberta e aplicação de biomoléculas na Medicina. Os produtos naturais, mais especificamente os metabólitos secundários, notabilizados pela diversidade de tipos estruturais complexos, são substâncias essenciais ao desenvolvimento, regulação, equilíbrio e defesa dos organismos que os contêm. São também de grande utilidade para a espécie humana como nutracêuticos, fármacos, alimentos, fragrâncias, cosméticos e agroquímicos (FUNARI et al., 2013).

Inserir-se nesse contexto o óleo de coco extra virgem, gordura saturada extraída do coco, constituído de ácidos graxos de cadeia média, cadeia longa e insaturados, assim como vitaminas e polifenóis. Estudos apontam atividade desse produto no metabolismo, de forma a melhorar o perfil lipídico e reduzir o estresse oxidativo associado a dislipidemia e obesidade, dentre outras aplicações. Dessa maneira, é importante seu estudo, para aplicação coadjuvante (como nutracêutico) ao tratamento dessas morbidades.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Obesidade**

A obesidade é o acúmulo de tecido gorduroso localizado ou generalizado, provocado por desequilíbrio nutricional, associado ou não a distúrbios genéticos ou endócrino-metabólicos. É uma doença crônica que vem sendo tratada como uma epidemia mundial responsável por aumento substancial da morbimortalidade, o que a torna um grave problema de Saúde Pública em crescimento (LIMA; DUARTE, 2013).

Um dos fatores que leva à obesidade é o desequilíbrio energético, que acarreta ao armazenamento do excesso de energia nos adipócitos, causando tanto hipertrofia quanto hiperplasia. Os processos de hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo estão associados com

anormalidades da função de adipócitos, retículo endoplasmático e, sobretudo, estresse mitocondrial. Consequências intracelulares e sistêmicas incluem a resistência à insulina dos adipócitos, a produção de adipocinas, ácidos graxos livres e mediadores inflamatórios e promoção de disfunção sistêmica que leva a manifestações clínicas e sequelas da obesidade (DE FERRANTI; MOZAFFARIAN, 2008).

Um fator relacionado diretamente com o desenvolvimento da obesidade é o controle da ingestão calórica, o qual possui controle central, sendo os hormônios leptina e grelina fundamentais nesse processo. A leptina é uma proteína de 16 kDa (quilodáltons) que é segregada principalmente pelo tecido adiposo. Seu principal efeito é anorexígeno, suprimindo o aporte calórico. A grelina é um hormônio secretado no estômago, mas pode ser encontrado em pequenas quantidades no cérebro; possui efeito orexígeno, aumentando a ingestão alimentar. Indivíduos obesos apresentam níveis circulantes elevados de leptina, em contraste com a grelina, que é encontrada em níveis baixos, sugerindo que a obesidade traz estado de elevada resistência a leptina (ZAROUNA; GRETA; PAPACHRISTOU, 2015).

A epidemia global da obesidade e doenças associadas tem um grande impacto na morbidade, mortalidade e qualidade de vida em humanos (AFIFI; ABBAS, 2011). Vários distúrbios metabólicos, como hiperinsulinemia, intolerância à glicose e dislipidemia são frequentemente associados com a obesidade, que aumenta o risco de várias doenças crônicas graves, como doença arterial coronariana (DAC), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), osteoartrite e certos tipos de câncer (HU et al., 2008; XIE et al., 2013)

A prevalência da obesidade vem aumentando nas últimas décadas em diversos países. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, o número de obesos no mundo vem aumentando. Em 2005, 1,6 bilhão de adultos estavam com sobrepeso e em torno de 400 milhões eram obesos. Projeções para 2015 apontam 2,3 bilhões de adultos com sobrepeso e 700 milhões obesos (GLANDT; RAZ, 2011). Tendência semelhante ocorre no Brasil, de modo que é possível observar uma nítida progressão geométrica na prevalência de obesos nas últimas décadas (LIMA; DUARTE, 2013).

Acompanhando a tendência mundial em termos de números crescentes de obesos na população, o último senso brasileiro que avaliou dados antropométricos (2008-2009) identificou que quase metade dos brasileiros acima de 20 anos estão com excesso de peso e cerca de 15% são considerados obesos. Essa pesquisa identificou ainda que o excesso de peso

e obesidade foram crescentes em todas as idades, classes de rendimentos e regiões (IBGE, 2010).

Estudos ratificam a importância da distribuição da gordura corporal na origem dos desarranjos metabólicos decorrentes da obesidade. A gordura abdominal, ou obesidade abdominal visceral, é o mais grave fator de risco para doenças cardiovasculares e para distúrbios na regulação glicose-insulina, sugerindo que esta é mais danosa do que a obesidade generalizada (SINAIKO, 2007)

Sendo a obesidade doença multifatorial, as consequências dessa morbidade podem afetar o organismo, inclusive, na sua aparência física, trazendo problemas relacionados até mesmo a condição estética do sujeito, que fica submetido ao estigma social causado pela obesidade. Segundo Puhl e Heuer (2008), problemas de excesso de peso se traduzem em desigualdades em ambientes de trabalho, em instituições de cuidado a saúde e de ensino, muitas vezes devido a estereótipos negativos generalizados que as pessoas têm a respeito de indivíduos com sobrepeso: de que são preguiçosos, desmotivados, sem autodisciplina, menos competentes e desleixados.

Para o tratamento dessa morbidade, as drogas prescritas para a perda de peso estão divididas em duas categorias: supressoras do apetite e inibidoras de enzimas como  $\alpha$ -amilase e lipase – com base nos seus mecanismos de ação. Todas essas drogas possuem efeitos colaterais, dentre eles destaca-se: diarreia, esteatorreia, dores abdominais e musculares, flatulência, insuficiência renal e hepática, arritmia cardíaca, estados depressivos severos, dentre outros, refletindo negativamente na qualidade de vida do paciente (GLANDT; RAZ, 2011).

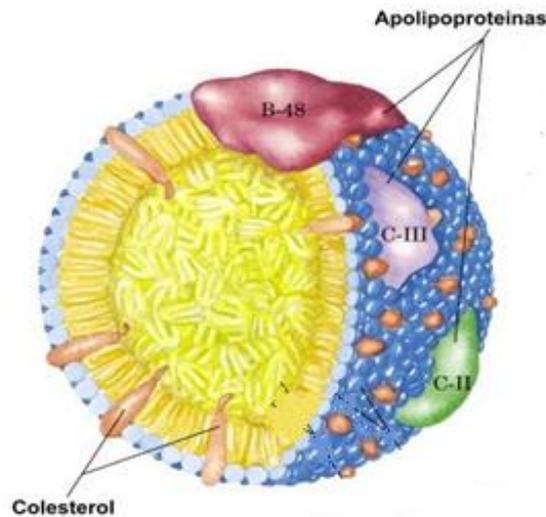
## **2.2 Dislipidemia**

Embora vistos como prejudiciais à saúde, o colesterol e os triacilgliceróis são importantes para a homeostase do organismo. O primeiro constitui fluidez à membrana celular, além de fazer parte da síntese de hormônios esteróides e sais biliares, e o segundo se caracteriza como principal molécula de estoque energético do corpo (SILVA; MURA, 2007).

Ambas são transportadas em estruturas chamadas lipoproteínas, as quais permitem seu transporte no meio aquoso plasmático. São compostas por lípidos e proteínas denominadas apolipoproteínas (apos). As apos têm diversas funções no metabolismo das lipoproteínas, como a formação intracelular das partículas lipoproteicas, caso das apos B100 e

B48, e a atuação como ligantes a receptores de membrana, como as apolipoproteínas B100 e E, ou cofatores enzimáticos, como as apolipoproteínas CII, CIII e AI (Figura 1) (SIASOS et al., 2011; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2013).

**Figura 1.** Estrutura geral das lipoproteínas.



**Fonte:** Nelson & Cox, 2006.

Existem quatro grandes classes de lipoproteínas separadas em dois grupos: as ricas em TG, maiores e menos densas, representadas pelos quilomícrons, de origem intestinal, e pelas lipoproteínas de densidade muito baixa ou *very low density lipoprotein* (VLDL), de origem hepática; e as ricas em colesterol, incluindo as de densidade baixa ou *low density lipoprotein* (LDL) e as de densidade alta ou *high density lipoprotein* (HDL). São moléculas heterogêneas em tamanho, formato, composição, função e na contribuição ao desenvolvimento das doenças vasculares (GOWDY; FESSLER, 2013).

Dessa maneira, as dislipidemias podem ser definidas como a presença de concentrações anormais de dessas lipoproteínas no sangue (SHARMA; MOFFATT, 2011). Dislipidemias comuns associadas ao estilo de vida incluem níveis elevados de colesterol total (CT), pequenas e densas partículas de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triacilgliceróis (TG); encontra-se, também, redução do nível de lipoproteína de alta densidade (HDL) (BALLANTYNE; JR.; JR., 2009).

Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013), classificam-se as dislipidemias, de acordo com a causa, em primárias e secundárias. As primárias, ou sem causa aparente, podem ser classificadas genotipicamente ou fenotipicamente por meio de análises

bioquímicas. Na classificação genotípica, as dislipidemias se dividem em monogênicas, causadas por mutações em um só gene, e poligênicas, causadas por associações de múltiplas mutações que isoladamente não seriam de grande repercussão. São importantes porque certas doenças, como algumas monogênicas, por exemplo, causam defeito no gene de receptor de LDL (LDL-R) ou no gene da apo B-100, e acabam por causar acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol, como a LDL no compartimento plasmático. A classificação fenotípica ou bioquímica considera os valores de CT, LDL, TG e HDL e compreende quatro tipos bem definidos, listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Classificação fenotípica das dislipidemias.

Classificação	Alteração laboratorial
<b>Hipercolesterolemia isolada</b>	Elevação isolada de LDL (>160 mg/dL)
<b>Hipertrigliceridemia isolada</b>	Elevação isolada de triacilgliceróis (>150 mg/dL)
<b>Hiperlipidemia mista</b>	Valores aumentados de LDL e TG (>160 mg/dL e > 150 mg/dL, respectivamente)
<b>HDL baixo</b>	Redução de HDL (<40 mg/dL em homens e <50 mg/dL em mulheres)

**Fonte:** Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013).

As dislipidemias secundárias ocorrem a partir de doenças pré-existentes, sendo as mais comuns o hipotireoidismo, diabetes *mellitus*, intolerância à glicose, síndrome nefrótica, obesidade, alcoolismo, e até mesmo ao uso de medicamentos, tais como diuréticos tiazídicos e bloqueadores beta-adrenérgicos não-seletivos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2013).

É verificado aumento do risco de desenvolvimento de dislipidemia secundária quando algumas desordens metabólicas se fazem presentes, como por exemplo o diabetes. Teramoto e colaboradores (2012) enfatizam que pacientes com diabetes tipo 2 também tendem a ter maiores níveis de triacilgliceróis (TG) circulantes e menores de lipoproteína de alta densidade (HDL) quando comparados a não diabéticos. Complementando essa hipótese, é relatado que a presença simultânea de hiperglicemia com baixos níveis de HDL ou com elevadas concentrações de TG aumenta o risco de eventos cardiovasculares até três vezes em

pacientes diabéticos do tipo 2 (LEHTO et al., 1997). Os trabalhos evidenciam, portanto, que a resistência insulínica tem associação significativa para o estabelecimento do quadro dislipidêmico.

O papel dos lipídeos como importante fator na patogênese de muitas doenças cardiovasculares e síndromes metabólicas está bem estabelecido: Magalhães e colaboradores (2004) afirmam que as dislipidemias desempenham um importante papel no cenário das doenças cardiovasculares, principalmente na aterosclerose, uma vez que participam ativamente da fisiopatologia do processo de formação do ateroma. Há relação entre os altos níveis séricos de colesterol e a aterosclerose e, sua redução diminuiria os danos dela decorrentes. O risco cardiovascular é também positivamente associado com os níveis de LDL e inversamente relacionado aos níveis de colesterol HDL (KAUR; SURI; ISSER, 2013).

Ressalta-se a importância da dislipidemia com outra morbidade, a aterosclerose. Esta é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibres. A formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular devido a diversos fatores de risco, dentre elas a elevação da concentração plasmática de lipoproteínas LDL, que sofrem oxidação, causando a exposição de diversos neoepítopos, que as tornam imunogênicas. O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (HANSSON, 2005).

Em conjunto com aquele processo, há quimiotaxia de macrófagos e outras células imunológicas decorrentes da inflamação local, com formação de células espumosas (do inglês *foamy cells*, macrófagos repletos de lipídeos), que são, em grande parte, responsáveis pela progressão da placa aterosclerótica mediante a secreção de citocinas, que amplificam a inflamação, em conjunto com o estresse oxidativo, e de enzimas proteolíticas, capazes de degradar colágeno e outros componentes teciduais locais (LI; HORKE; FÖRSTERMANN, 2014).

Assim como a aterosclerose, a Doença Coronariana Cardíaca (DCC) é associada à dislipidemia, pois concentrações elevadas de colesterol consistem em um dos fatores de risco para desenvolvimento de DCC, definida como um dano ao funcionamento regular do coração devido ao fluxo inadequado de sangue em relação às suas necessidades. É causada por

obstruções na circulação coronariana, as quais podem ocorrer por processo aterosclerótico (GHOSH et al., 2008)

A dieta é um dos muitos fatores de risco associados com aterogênese e doença cardiovascular. A dislipidemia é, muitas vezes, o resultado de dieta aterogênica (elevado em gorduras saturadas, pobre em frutas e legumes, etc), obesidade, estilo de vida sedentário, etc. Existe forte relação entre os lipídios provindos da dieta e doença cardiovascular, já bem evidenciada através de experimentos conduzidos em animais e numerosos estudos clínicos, observacionais e metabólicos em humanos (KAUR; SURI; ISSER, 2013).

Como já mencionado, as dislipidemias também figuram como fator de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica, e têm prevalência alta em várias regiões do país. Um estudo conduzido no Estado de São Paulo envolvendo 2720 adultos em oito cidades mostrou percentagem de 12,2% de pacientes com colesterol total e/ou LDL altos, colesterol HDL abaixo dos níveis de referência e/ou tratamento com algum medicamento para tratar níveis elevados de lipídeos no sangue (FERNANDES et al., 2011). Outro, conduzido em Salvador, Bahia, com crianças e adolescentes matriculados em escola pública, considerou dislipidêmicos os jovens com níveis plasmáticos maiores que 170 mg/dl de colesterol total ou 130 mg/dl de triacilgliceróis, assim encontrando percentagem de 25,5% de indivíduos afetados, mostrando que grande número de casos se dá ainda em idade juvenil (ALCÂNTARA NETO et al., 2012). Tais valores encontrados em ambos os estudos aproximam-se aos 16,5%, média das capitais brasileiras (GIGANTE; MOURA; SARDINHA, 2009) e indicam que, mesmo baseado em autorreferimento, procedimento que pode gerar subestimação do desfecho, as taxas encontradas são elevadas e ações de saúde públicas visando o combate desse desfecho fazem-se necessárias na população brasileira.

Devido à alta prevalência dessa morbidade, meios terapêuticos se fazem necessários para o seu tratamento, que se dá de duas formas: a modificação dos hábitos de vida, como a reeducação alimentar e prática de exercícios físicos (intervenção não farmacológica) e o tratamento via medicamentos que regulem os altos níveis de lipídios sanguíneos (intervenção farmacológica). A modificação do estilo de vida (ou seja, adesão a uma dieta saudável para o coração, o exercícios físicos regulares e a manutenção de um peso saudável) continua a ser um componente crítico de promoção da saúde e redução do risco de doença cardiovascular aterosclerótica, antes ou em conjunto com o uso de terapias medicamentosas redutoras de colesterol. Dieta saudável ou modificações no estilo de vida

foram recomendadas como terapêutica de base para os ensaios clínicos randomizados de terapia com drogas redutoras de colesterol plasmático (STONE et al., 2014).

Atualmente os prescritores contam com um bom número de medicamentos disponíveis no mercado voltados para o tratamento das dislipidemias. Dentre as classes de fármacos hipolipidêmicos se destacam as estatinas, as resinas, ezetimiba, niacina e fibratos. Embora tais classes de medicamentos se mostrem eficazes em tratar os casos em que os meios não farmacológicos não se façam o suficiente, ou mesmo como forma de complementá-las, estes apresentam uma série de efeitos colaterais que, embora não sejam muito frequentes, podem comprometer a adesão ao tratamento e diminuir a qualidade de vida do paciente, tais como miopatia, hepatotoxicidade, prisão de ventre, diarreia, gases, dor de estômago, dor de cabeça, náuseas, câibras, cansaço, fraqueza (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2013).

### **2.3 Estresse oxidativo**

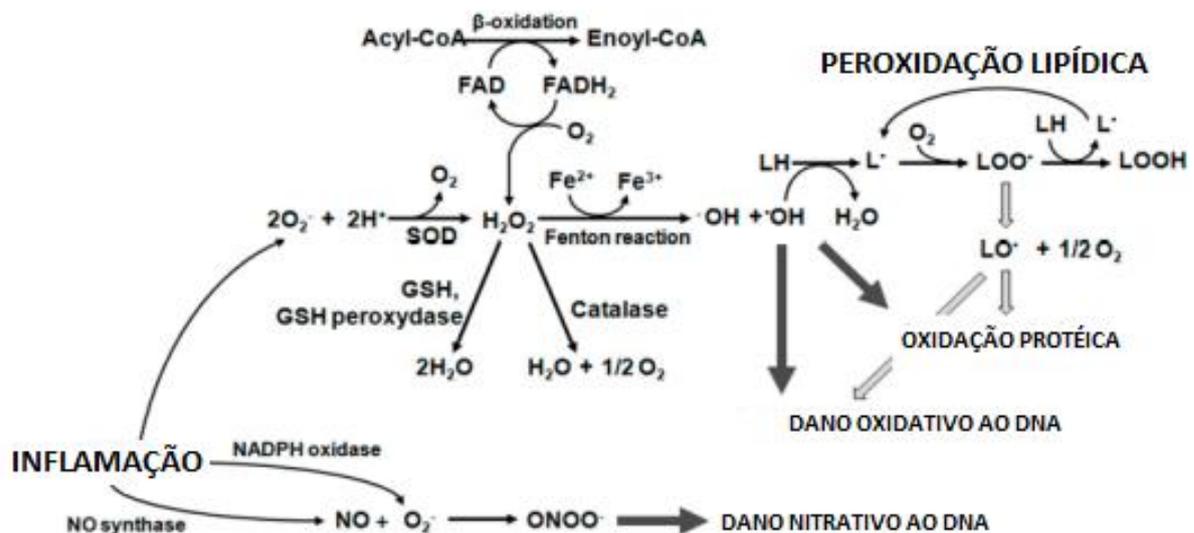
Devido ao cunho inflamatório que a obesidade e dislipidemia possuem, vários estudos sugerem que o estresse oxidativo figura como fator relacionado ao desenvolvimento de várias desordens, dentre elas destacam-se as doenças crônicas não transmissíveis, como aterosclerose, obesidade, diabetes, transtornos neurodegenerativos e câncer, doenças inflamatórias de baixo grau (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; YAMANO; MIYAKAWA; NAKADATE, 2014).

Durante o metabolismo celular há a geração de radicais livres. Esse processo fisiológico e contínuo ocorre na mitocôndria, membranas celulares e citoplasma, e os radicais são atuantes como mediadores na transferência de elétrons nas reações bioquímicas. Contudo, sua produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos celulares e teciduais (BARBOSA et al., 2010). O estresse oxidativo é decorrente do desequilíbrio da produção de radicais livres ou da sua remoção do organismo. Seu principal risco consiste na oxidação de biomoléculas, levando a perda de suas funções biológicas (BARBOSA et al., 2010; HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Há relação intrínseca entre inflamação e danos por espécies reativas de oxigênio (*ROS, reactive oxygen species*) e nitrogênio (*RNS, reactive nitrogen species*). A inflamação induz a produção de RNS e ROS e citocinas inflamatórias, havendo produção de superóxido ( $O_2^{\bullet}$ ) via eletro-redução do oxigênio por NADPH (*Nicotinamide Adenosine Dinucleotide*

*Phosphate*), com produção secundária de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidróxido ( $\bullet OH$ ), ácido hipocloroso, e outras formas ativas de nitrogênio como óxido nítrico (NO) e peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), que é fruto da reação do óxido nítrico com radical superóxido (Figura 2), o que resulta na disfunção de biomoléculas e interferências nas cascatas de sinalização celulares, causando essas doenças induzidas por estresse oxidativo (THANAN et al., 2014).

**Figura 2.** Cascata de reações que levam a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que causam danos e perda de função de biomoléculas.



Fonte: Thanan et al. (2014).

O sistema de defesa enzimático humano inclui as enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx). Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicaais. O sistema de defesa não-enzimático inclui, especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietética, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos. Esse último pode explicar parcialmente o porquê de o óleo de coco extra virgem ter mais efeitos benéficos que o óleo de coco comum como antioxidante, ou seja, devido ao processo de extração mais refinado, o extra virgem retém mais componentes biologicamente ativos como vitamina E e compostos polifenólicos (BARBOSA et al., 2010; NEVIN; RAJAMOHAN, 2006).

Um estado inflamatório de baixo grau crônica está associada à presença da síndrome metabólica, refletindo um aumento da produção de proteína C reativa de fase aguda (PCR), e citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), entre outros. PCR é o marcador mais bem reconhecido de inflamação sistêmica, porque aperfeiçoa a informação diagnóstica tradicional para o risco de DCVs e os resultados em pacientes com SM. A contribuição da IL-6 e TNF- $\alpha$  para processos aterogênicos não é tão bem compreendido quanto o papel do PCR. No entanto, vários estudos têm demonstrado que são associados com DCVs incidentes e mortalidade e melhoram a capacidade de previsão de risco para a mortalidade total, além dos fatores de risco tradicionais e PCR (MORRIS; VACCARINO, 2013).

Fatores de risco de doenças cardiovasculares e que são critérios para síndrome metabólica, como obesidade central, hiperglicemia e dislipidemia, predisõem o paciente a outros problemas mais que aqueles associados a apenas sua morbidade original. Devido ao cunho inflamatório que possuem, relacionam-se com o desenvolvimento de neurodegeneração e cânceres (THANAN et al., 2014). Pacientes diagnosticados com síndrome metabólica apresentam um *status* inflamatório ativo, e o impacto pró-aterogênico nesses indivíduos é desigual e crescente (SUR et al., 2014). Mushtaq e colaboradores (2014) destacam que a pré-existência de diabetes *mellitus* do tipo 2 aumenta o risco de progressão da doença de *Alzheimer*, e ambas são relacionadas com processo de inflamação crônica. Sang e colaboradores, 2014, afirmam que a HDL tem efeito anti-inflamatório, mas em pessoas com enfermidades crônicas caracterizadas por inflamação e estresse oxidativo, ela fica susceptível a modificações químicas que a fazem perder seu efeito benéfico, até fazendo-a ter efeito pró-aterogênico e pró-inflamatório.

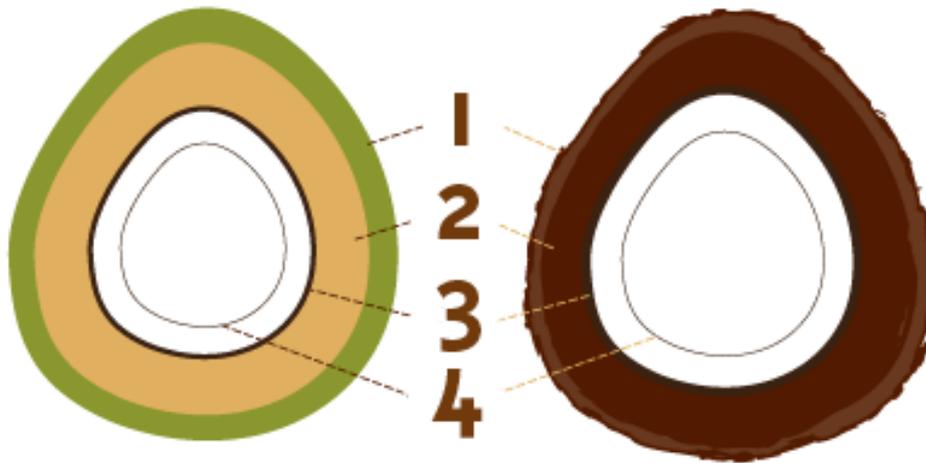
#### **2.4 Coco (*Cocos nucifera* L.)**

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) pertence à família Arecaceae, subfamília Cocoidaceae. É uma importante árvore frutífera, fornecendo alimento para milhões de pessoas, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais. Devido à diversidade de usos que se dá aos seus componentes e frutos, é frequentemente referida como “árvore da vida” em algumas culturas (CHAN; ELEVITCH, 2006)

Todo o coco (Figura 3) tem vários fins. A água de coco, que é o endosperma líquido, tem valor calórico (17,4 Kcal/100g), vitaminas do complexo B, vitamina H (biotina),

vitamina C (ácido ascórbico), ácido fólico, açúcares, aminoácidos livres, fitormônios, enzimas (fosfatase ácida, catalase, peroxidase, etc.) (YONG et al., 2009). O endosperma sólido, cerne do coco, também chamado de *kernel*, é utilizado na culinária para produzir doces, leite de coco e outros alimentos. O endosperma sólido seco (*dried kernel* ou *copra*) é usado principalmente na indústria para extração do óleo de coco (NMCE, 2007)

**Figura 3.** Estrutura do coco.



1: Exocarpo, ou casca; 2: mesocarpo; 3: endocarpo ou *kernel*; 4: endosperma (líquido). **Fonte:** [www.coker.edu](http://www.coker.edu)

#### 2.4.1 Óleo de coco extra virgem

O termo óleo de coco extra virgem (OCEV) refere-se ao óleo obtido do *kernel* maduro e fresco por meios mecânicos ou naturais, com ou sem uso de calor, mas sem processos químicos de refinamento (VILLARINO; DY; LIZADA, 2007). Esse método de produção ajuda a preservar o valor nutricional de várias substâncias biologicamente ativas, que normalmente são perdidas na manufatura do óleo de coco comum (BABU et al., 2014). Este tipo mais refinado de produto é conseguido por processamento úmido do óleo de coco, extraíndo o creme do leite de coco e conseqüentemente "quebrando" a emulsão e extraíndo o óleo extra virgem. Esse processo é mais desejável, pois não há o processo de refinamento, branqueamento e desodorização (do inglês, RBD, *refining*, *bleaching*, *deodorizing*), sendo essa última etapa conduzida a altas temperaturas; dessa forma, há a preservação de seus constituintes (MARINA; CHE MAN; AMIN, 2009)

Desde que foi introduzido no mercado, é frequente as alegações de que tal produto traz benefícios à saúde e ajuda a prevenir ou mitigar um amplo espectro de condições médicas, devido às suas propriedades funcionais. A mídia também tem destacado que pode ser eficaz no tratamento da obesidade e na normalização dos níveis de colesterol e triacilgliceróis, o que tem levado muitos consumidores a aderir a uma dieta com óleo de coco (CUNNINGHAM, 2011; MARINA; CHE MAN; AMIN, 2009)

Embora a comunidade científica já tenha acreditado que gorduras saturadas elevem os níveis de colesterol circulantes e aumentem os riscos cardiovasculares, trabalho de revisão de Santos e colaboradores (2013) ressalta que sua ingestão aumenta os níveis de colesterol HDL e não altera a relação CT/HDL, e que o ácido láurico possui maior potencial entre os ácidos graxos presentes no óleo de coco de aumentar os níveis circulantes dessa lipoproteína se comparado a outros ácidos de cadeia maior, o que justificaria, parcialmente, seu efeito benéfico sobre o perfil lipídico. Além disso, estudo de Lawrence (2013) ratifica que estudos não associam relação causal propriamente dita entre doença arterial coronariana e ácidos graxos saturados da dieta, e mesmo metanálises têm achado fraca associação entre os dois, e que o ácido láurico é relatado na literatura como benéfico a saúde, pois já foi demonstrado como redutor de risco de desenvolvimento de doença arterial coronariana.

Existe associação entre o risco cardiovascular e o tamanho das cadeias de ácidos graxos presentes no óleo de coco, que pode se explicar pelas diferentes vias de metabolização, de acordo com o comprimento da cadeia.

#### *2.4.1.1 Ácidos graxos saturados e insaturados*

No óleo de coco há ácidos graxos saturados, os quais podem ser classificados de acordo com o tamanho de sua cadeia, e os insaturados, de acordo com o número de insaturações.

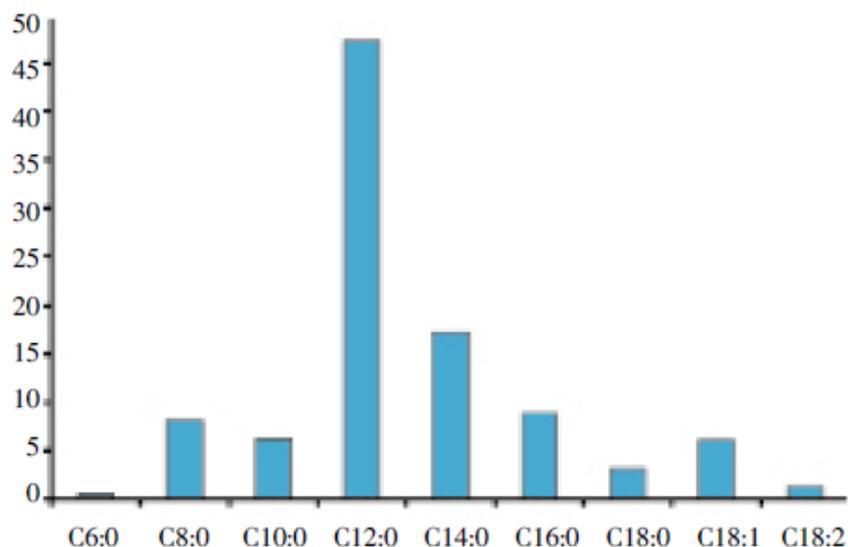
Os ácidos graxos de cadeia média caracterizam-se por terem entre 8 e 12 átomos de carbono em sua estrutura (SANTOS et al., 2013). Os triacilgliceróis compostos por ácidos graxos de cadeia média (TCM) têm grande interesse nutricional por serem prontamente degradados no intestino pela lipase pancreática e absorvidos no duodeno mais rapidamente que os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL). Por esse motivo, os TCMs são usados terapêuticamente desde 1950 no tratamento de má-absorção de gordura e epilepsia devido às

suas características únicas estruturais, absorptivas e metabólicas (FERREIRA; BARBOSA; CEDDIA, 2003; LIU et al., 2009; SANTOS et al., 2013; THOLSTRUP et al., 2004)

Os AGCM são uma fonte rápida de energia. Ao contrário dos AGCL, eles não são incorporados nas lipoproteínas (quilomícrons e VLDL) significativamente, sendo absorvidos diretamente na corrente sanguínea. A velocidade de absorção dos AGCM no intestino é semelhante à da glicose. Depois de passar pelos enterócitos, estes ácidos graxos chegam ao fluxo portal e são transportados para o fígado ligados a albumina, cuja ligação é mais fraca em relação à ligação com AGCL. Por outro lado, parte dos AGCM é diretamente solubilizado na fração aquosa do plasma (FERREIRA; BARBOSA; CEDDIA, 2003). O índice de oxidação de AGCM é muito maior e mais rápido, e a preferência por sua oxidação no organismo é mantida mesmo durante a obesidade. Além disso, os TCM tendem a aumentar ligeiramente os níveis de insulina, e promover lipogênese como resultado do incremento do saldo entre insulina/glucagon (COLLEONE et al., 2002).

O AGCM presente em maior quantidade no óleo de coco é o ácido láurico (C12:0), que corresponde a aproximadamente 50% em composição qualitativa entre todos os seus ácidos graxos (Figura 4), mais de 90% dos triacilgliceróis possuem o laurato em sua cadeia (Figura 5), além de 25% deles serem exclusivamente formados por ácido láurico (DEBMANDAL; MANDAL, 2011).

**Figura 4.** Composição percentual de cadeias de ácidos graxos presentes no óleo de coco extra virgem.



**Fonte:** DebMandal; Mandal, 2011.

**Figura 5.** Composição percentual de triacilgliceróis do óleo de coco extra virgem.

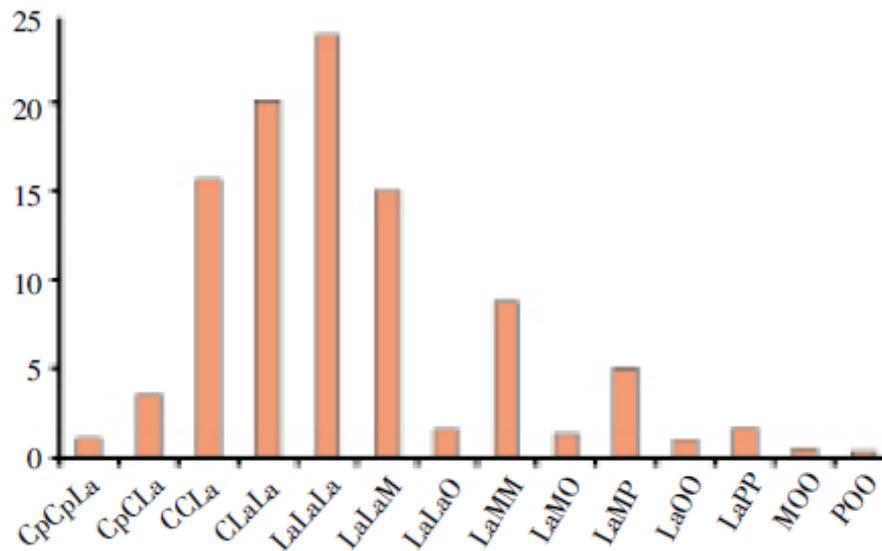


Gráfico representativo da composição qualitativa e quantitativa de ácidos graxos ligados a glicerol, formando triacilgliceróis. Legenda: Cp: ácido capríco; C: ácido cáprico; La: ácido láurico; M: ácido mirístico; P: ácido palmítico; O: ácido oléico. **Fonte:** DebMandal; Mandal, 2011.

Pelo fato de o ácido láurico ser rapidamente absorvido no intestino, de não necessitar da proteína transmembrana mitocondrial carnitina para atravessá-la e submeter-se diretamente à beta oxidação, torna-se razoável pensar que uma dieta com TCM desse ácido graxo pode diminuir o acúmulo de tecido adiposo em humanos, assim como os níveis de triacilgliceróis circulantes (LIU et al., 2009).

Os ácidos graxos de cadeia longa possuem 14 ou mais carbonos em sua estrutura. Seu metabolismo necessita da ação da lipase pancreática para a absorção. Logo após são transportados pela linfa para a circulação sistêmica na forma de quilomícrons, para depois atingir o fígado, onde passam por beta-oxidação, biossíntese de colesterol, ou são resintetizados como triacilgliceróis, ou são hidrolisados e liberam os ácidos graxos para os tecidos, onde são re-esterificados, formando novamente os triacilgliceróis, forma de armazenamento da gordura no organismo (LIAU et al., 2011).

Devido às características metabólicas oriundas do tamanho da cadeia dos AGCL, eles normalmente aumentam a concentração plasmática de colesterol, com destaque para C14:0. Diversos mecanismos são propostos para essa alteração, entre eles: redução dos receptores de LDL hepáticos; maior atividade da ACAT (acilcolesteril-aciltransferase), aumentando a esterificação do colesterol das lipoproteínas contendo apo B; aumento na

quantidade de colesterol esterificado transportado nas LDL, devido à conformação química retilínea dos ácidos graxos saturados (SANTOS et al., 2013).

Os ácidos graxos monoinsaturados (do inglês, *monounsaturated fatty acid*, MUFA) e poliinsaturados (do inglês, *polyunsaturated fatty acids*, PUFA) estão presentes no óleo de coco nas formas de C18:1 e C18:2 (ácido oléico e linoléico, respectivamente), constituindo menos de 10% da constituição do óleo de coco.

Estudos mostram que esses ácidos graxos parecem ter efeito benéfico sobre o perfil lipídico. Em uma metanálise de 14 estudos controlados entre 1983 e 1994, dietas ricas em óleos ricos em MUFA versus PUFA mostraram efeitos similares sobre o LDL e o HDL, enquanto os PUFA proporcionaram um discreto efeito redutor sobre os triacilgliceróis (SANTOS et al., 2013). O maior consumo de PUFAs também pode acarretar diminuição do LDL, aumento da razão HDL/LDL, diminuição da razão CT/HDL, redução de risco de DCV, segundo diretrizes da FDA e OMS, quando comparado a uma dieta apenas de ácidos graxos saturados (JAKOBSEN et al., 2009).

#### *2.4.1.2 Porção insaponificável do óleo de coco extra virgem*

Devido ao processo de extração mais brando do OCEV, vários compostos biologicamente ativos nele presentes são preservados da ação degradante do calor e dos compostos químicos usados para branquear o óleo (VILLARINO; DY; LIZADA, 2007).

Em particular, o óleo de coco virgem demonstrou ser rico em compostos fenólicos, os quais são responsáveis pela atividade antioxidante, anti-inflamatória e pela normalização lipídica por várias vias biológicas, além de intensificar efeitos antitrombóticos relacionados a inibição de coagulação plaquetária. Todos esses eventos acabam por reduzir e prevenir a progressão da aterosclerose (BABU et al., 2014).

#### *2.4.2 Estudos e aplicação do óleo de coco virgem*

Devido ao seu uso intenso e referência aos possíveis efeitos benéficos, o óleo de coco extra virgem vem despertando interesse científico. Estudo conduzido com ratos *Sprague-Dawley* com consumo diário de óleo de coco extra virgem durante 45 dias relatou melhora do perfil lipídico através da diminuição dos níveis de triacilgliceróis séricos, VLDL, LDL e aumento de HDL em ratos, além de prevenir a oxidação de LDL, atividade tributada a fração polifenólica contida no óleo (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004).

Nevin e Rajamohan, 2006, também estudaram a possível atividade antioxidante proveniente do óleo de coco extra virgem. Constataram aumento da atividade de catalase e superóxido desmutase, enzimas antioxidantes envolvidas com a defesa de danos causados por espécies reativas de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*).

Muller et al. (2003) observaram efeito favorável no sistema fibrinolítico em estudantes com dieta rica em ácidos graxos saturados; efeito antimicrobiano devido a potente atividade da laurina (HAMMER; CARSON, 2011); Zakaria e colaboradores, 2010, descreveram atividade antinociceptiva e antiinflamatória do óleo em camundongos e ratos, Agero e Verallo-Rowell, 2004, sugerem uso tópico do óleo por causa de sua atividade bactericida, principalmente sobre bactérias isoladas de infecções superficiais de pele.

Estudos foram conduzidos em humanos a fim de averiguar o potencial do óleo de coco no combate às dislipidemias e obesidade. Liao e colaboradores (2011) conduziram um estudo em humanos e concluíram que o uso do óleo de coco virgem, por ter alto teor de ácidos graxos de cadeia média (AGCM), parece ser benéfico para redução de gordura abdominal, em especial em homens, sem alteração significativa do perfil lipídico, mas vale ressaltar que este estudo foi realizado em apenas 20 indivíduos, não foi duplo cego e o acompanhamento foi feito por apenas quatro semanas.

Trabalho conduzido por um grupo de Alagoas (ASSUNÇÃO et al., 2009) estudou 40 mulheres entre 20 e 40 anos que foram randomizadas em dois grupos: um que recebeu óleo de coco e, outro, recebeu óleo de soja de forma duplo-cega por 12 semanas, além de orientação dietética, com nutricionista, dieta hipocalórica e orientação para prática de atividade física. Como resultado, a suplementação de óleo de coco não alterou o perfil lipídico e a perda de peso foi idêntica nos dois grupos, embora os pesquisadores tenham notado que houve redução da circunferência abdominal no grupo em que houve consumo do óleo de coco, além de ter sido notada tendência de aumento dos níveis circulantes de insulina.

Um estudo conduzido por Lipoeto et al., 2004, dividiu mais de 280 indivíduos em dois grupos: um que recebia maiores quantidades de carne, ovos, açúcar, chá, café e frutas se comparado ao outro grupo, o controle. Os dois mantinham ingestão semelhante de óleo de coco, a fim de avaliar sua relação com o aumento dos riscos de doenças cardiovasculares. O trabalho não encontrou tal relação, mas os autores consideraram uma série de fatores que podem dificultar seu estabelecimento nesse estudo: falta de acurácia dos métodos de investigação

nutricional, grande variação intraindividual da ingestão alimentar, variação genética, entre os sexos, entre outras razões.

### **3. JUSTIFICATIVA**

É bem descrito na literatura que as doenças cardiovasculares encontram-se entre as principais causas de morte no mundo. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose e conseqüente progressão das doenças cardiovasculares, tem-se a hipertensão, o diabetes, tabagismo, sedentarismo, dislipidemias, obesidade, dentre outros. No que diz respeito às duas últimas, essas podem ser controladas utilizando-se tratamentos não farmacológicos que incluem mudanças no estilo de vida e os farmacológicos que incluem os medicamentos como as estatinas, fibratos e inibidores do apetite.

Entretanto, os efeitos adversos oriundos do tratamento farmacológico, a longo prazo, realizado com os medicamentos acima descritos tem dificultado a adesão ao tratamento por parte dos pacientes. Associado a essa questão, tem-se também o elevado custo de tais medicamentos.

Assim, o estudo de uma substância proveniente de um produto natural como recurso terapêutico que pode complementar o tratamento desses fatores de risco envolvidos no desencadeamento de doenças cardiovasculares poderá contribuir para a melhoria da qualidade de vida, uma vez que se verifica uma boa aceitação de produtos de origem natural por parte da população, além de, muitas vezes, serem menos dispendiosos para o Sistema Único de Saúde.

Diante desse cenário, o estudo do óleo de coco como um produto nutracêutico que possa vir a complementar as opções terapêuticas contra essas duas morbidades é interessante e necessário, podendo ele contribuir para uma melhor qualidade de vida da população acometida por tais distúrbios.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo é averiguar o potencial terapêutico do óleo extra virgem de *Cocos nucifera L.* no tratamento da obesidade e dislipidemia em camundongos, assim como na minimização de estado de estresse oxidativo decorrente dessas morbidades.

### 4.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do óleo de coco sobre o perfil lipídico e glicêmico em protocolo de dislipidemia induzida por poloxamer P-407 em camundongos através da determinação do colesterol total, glicose e triacilgliceróis;
- Estudar a função hepática através da determinação da atividade das enzimas AST e ALT dos camundongos hiperlipidêmicos e dos tratados com óleo de coco extra virgem submetidos ao protocolo de dislipidemia aguda induzida por poloxamer P-407;
- Analisar a capacidade antioxidante do óleo de coco extra virgem através da determinação dos níveis de TBARS e catalase do fígado de camundongos com dislipidemia induzida por poloxamer P-407;
- Acompanhar, durante 15 semanas, o consumo de ração e água dos camundongos submetidos a indução de obesidade por ração hipercalórica e os tratados com óleo de coco, além de sua massa corporal;
- Analisar o efeito do óleo de coco extra virgem sobre o perfil lipídico, glicêmico e o desenvolvimento de obesidade induzida por dieta hipercalórica em camundongos;
- Analisar o efeito do óleo de coco extra virgem nas concentrações de 5%, 7,5% e 10% em peso de ração sobre o perfil hepático através da dosagem de AST e ALT no protocolo de obesidade induzida por dieta hipercalórica em camundongos;

- Analisar a capacidade antioxidante do óleo de coco extra virgem através da determinação dos níveis de TBARS e catalase do fígado de camundongos com obesidade induzida por ração hipercalórica.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 Obtenção do óleo de coco

O óleo de coco extra virgem foi comprado em lojas de produtos naturais. A fim de padronizar o produto a ser usado, o óleo adquirido foi da marca Copra<sup>®</sup>, da Copra Indústrias Alimentícias.

### 5.2 Animais

Para a execução dos protocolos experimentais de dislipidemias e obesidade utilizou-se camundongos *swiss* (25-35g), machos, oriundos do biotério central da Universidade Federal do Ceará. Esses animais permaneceram acondicionados em gaiolas apropriadas mantidos sob temperatura média de 22°C±3°C, em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, recebendo ração padrão (Nuvilab<sup>®</sup>) e água à vontade até o início dos experimentos.

É importante ressaltar que todos os protocolos experimentais adotados atenderam os preceitos éticos nacionais e internacionais referente à pesquisa com animais. O referido projeto foi submetido e aprovado com o número 96/14 à Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará.

### 5.3 Protocolos experimentais

#### 5.3.1 Avaliação do efeito do óleo de coco no modelo de dislipidemia induzida por poloxamer P-407.

Camundongos machos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos experimentais (n=10): controle negativo (CN), controle positivo (P), Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN) e óleo de coco nas doses de 3, 6 e 12 mililitros por quilograma de animal (P+OC3, P+OC6 e P+OC12, respectivamente).

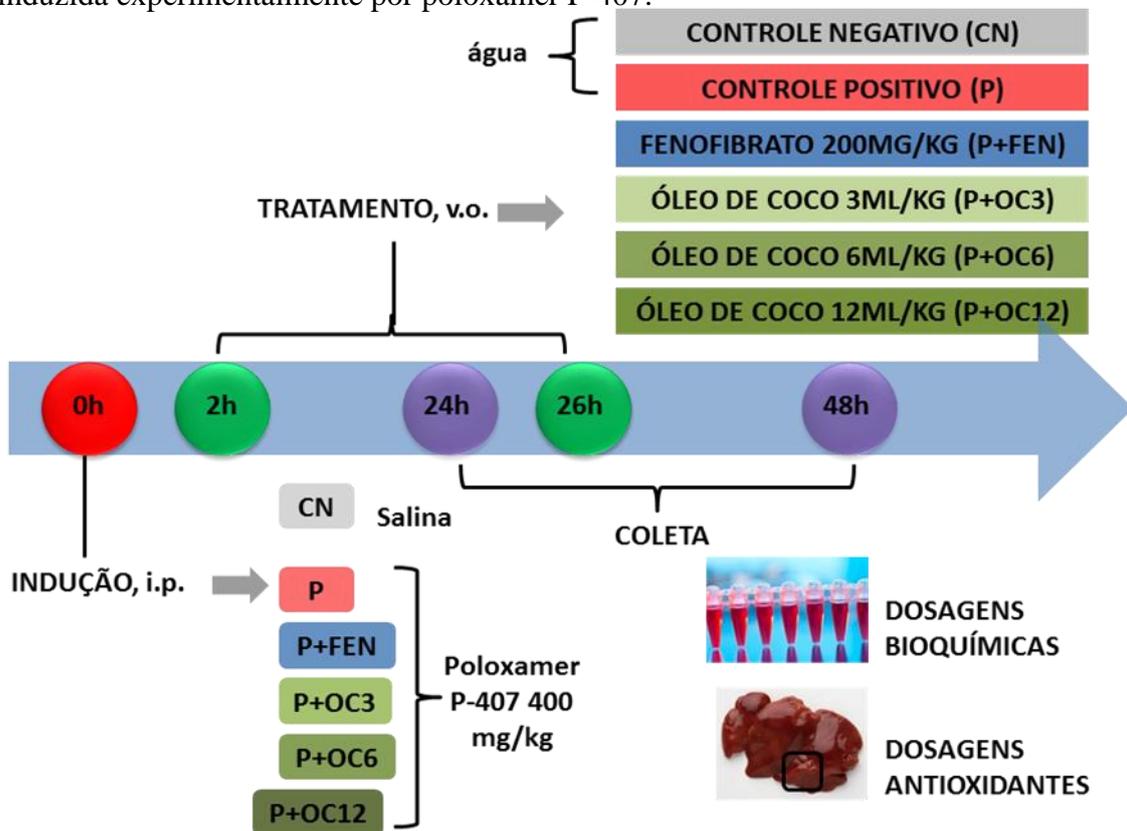
A hiperlipidemia foi induzida em todos os grupos mediante única injeção intraperitoneal (i.p.) de poloxamer P-407 na dose de 400 mg/kg (VAIDYA et al., 2009) em todos os grupos experimentais, exceto no grupo controle negativo. Os grupos receberam os seguintes tratamentos via gavagem: CN e P receberam água potável; P+FEN, fármaco referência na dose de 200 mg/Kg; P+OC3, P+OC6 e P+OC12 com as respectivas quantidades em mililitros por quilograma de animal. Todos foram tratados duas vezes, 2h e 26h após a administração de poloxamer P-407.

Após 24h e 48h da administração de P-407, os animais foram anestesiados para realização de uma coleta de sangue pelo plexo orbital com jejum alimentar prévio de 8 horas. O sangue foi coletado em microtubos do tipo Eppendorf<sup>®</sup> contendo anticoagulante (heparina sódica 5.000UI/mL) diluído na proporção 1:10. O plasma obtido foi refrigerado a -20°C e utilizado para a determinação dos parâmetros bioquímicos.

Os parâmetros bioquímicos analisados nesse protocolo experimental foram glicose, colesterol total, triacilgliceróis, AST, ALT, sendo suas determinações realizadas através de kits bioquímicos comerciais da Labtest<sup>®</sup>. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático da Labtest<sup>®</sup>.

Após o sacrifício dos animais por deslocamento cervical, foram removidos fragmentos de fígado de aproximadamente 100 miligramas, os quais foram estocados em Eppendorfs<sup>®</sup> e guardados em freezer a -80°C para determinação posterior da peroxidação lipídica através da análise das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e quantificação da atividade da enzima antioxidante catalase (Figura 6).

**Figura 6.** Representação esquemática do delineamento experimental de dislipidemia induzida experimentalmente por poloxamer P-407.



### ***5.3.2 Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica***

#### ***5.3.2.1 Confeção da ração para o protocolo de indução de obesidade***

##### ***5.3.2.1.1 Ração hipercalórica***

A ração hipercalórica foi produzida a partir da padronização proposta por Estadella et al., 2004, que usa ração padrão, amendoim torrado sem casca, chocolate ao leite e biscoito maisena na proporção de 3:2:2:1. A ração convencional Nuvilab<sup>®</sup> e o biscoito foram triturados, pulverizados e misturados ao amendoim triturado e ao chocolate ao leite ralado. Toda a mistura foi homogeneizada em batedeira industrial e extrusada em equipamento apropriado no laboratório de Farmacotécnica da Faculdade de Farmácia sob orientação do Prof. Ms. Said Fonseca (Figura 7).

**Figura 7.** Ração hipercalórica após mistura e extrusão.



Composição percentual: ração padrão (37,5%), chocolate ao leite (25%), amendoim torrado sem casca (25%) e biscoito maisena (12,5%).

##### ***5.3.2.1.2 Ração hipercalórica com OCEV***

Incorporou-se à ração hipercalórica óleo de coco extra virgem nas proporções de 5%, 7,5% e 10% em peso em relação ao peso de ração produzida. Assim, para produção de pequenos lotes de 1 Kg de ração, adicionava-se, respectivamente, 50g, 75g e 100g de óleo à mistura. O óleo era adicionado primeiramente ao biscoito pulverizado para depois ser misturado aos outros componentes, a fim de homogeneizar sua distribuição. Concentrações

menores de óleo inviabilizavam a alimentação dos animais, pois a ração esfarelava, impedindo seu consumo (Figura 8).

**Figura 8.** Óleo de coco incorporado à ração hipercalórica nas concentrações em massa, antes da extrusão.



Da esquerda para a direita: mistura para a produção da ração com óleo de coco a 5%, 7,5% e 10%, respectivamente.

#### 5.3.2.2 Delineamento experimental de indução de obesidade por dieta hipercalórica

Após um período de duas semanas de aclimatização, com os animais tendo livre acesso a ração padrão Nuvilab<sup>®</sup>, camundongos *Swiss* machos (n=10), pesando entre 20-25 g, foram divididos em 6 grupos experimentais, dieta normocalórica (DN), dieta hipercalórica (DH), sibutramina (DH+SIB: fármaco referência a 50 mg/L), ração hipercalórica contendo óleo de coco a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) e a 10% (DH+OC10) em peso. O critério de distribuição dos animais foi de acordo a massa corpórea objetivando uniformidade inicial de peso entre os grupos.

Após a aclimatização, foram divididos nos grupos anteriormente descritos. Ração padrão (apenas para DN), dieta hipercalórica (apenas para DH e DH+SIB) e dieta hipercalórica com óleo de coco incorporada (para DH+OC5, DH+OC7,5 e DH+OC10) foi fornecida aos animais por 15 semanas. O tratamento se deu concomitantemente com o fornecimento da ração, a qual já possui óleo de coco em sua composição, com exceção do grupo DH+SIB, cuja droga foi dissolvida na água fornecida aos camundongos desse grupo na

concentração já citada. Os animais foram pesados semanalmente, assim como o consumo de água e ração dos animais, a fim de acompanhar e avaliar a indução de obesidade. Considera-se que o protocolo foi efetivo em efetivar o estado de obesidade quando há diferença positiva de pelo menos 20% no peso entre os animais na dieta convencional e da dieta hipercalórica (MELO, 2011).

Ao final da 15ª semana, os animais foram submetidos a jejum de 6-8h para coleta sanguínea, previamente anestesiados. O sangue foi coletado em microtubos do tipo Eppendorf® contendo anticoagulante (heparina sódica 5.000UI/mL) diluído na proporção 1:10. O plasma obtido foi refrigerado a -20°C e utilizado para a determinação dos parâmetros bioquímicos: glicose, colesterol total, HDL triacilgliceróis, AST e ALT através de kits bioquímicos comerciais da Labtest®. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático da Labtest®.

Em seguida, foram sacrificados por deslocamento cervical e procedeu-se a retirada por técnicas cirúrgicas adequadas do fígado, que foi congelado a -80°C para determinação posterior da peroxidação lipídica através da análise das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e quantificação da atividade enzimática de catalase (Figura 9). O tecido adiposo abdominal também foi removido e pesado após o sacrifício.

**Figura 9.** Representação esquemática do delineamento experimental de indução de obesidade por dieta hipercalórica.



## **5.4 Análise dos parâmetros antioxidantes**

### ***5.4.1 Preparação dos homogenatos hepáticos***

Preparou-se um homogenato de tecido hepático adicionando solução tampão de fosfato 150 mM a pH 7,2 em volume de dez vezes em relação a sua massa, ou seja, para cada 100 miligramas de tecido eram adicionados 1 mililitro de tampão. O tecido era submetido a rompimento mecânico em aparelho apropriado e centrifugado a 12000 rpm durante 12 minutos a 4°C, e o sobrenadante separado e estocado a -80°C por no máximo 7 dias, período no qual foram realizadas as dosagens de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a determinação da atividade enzimática de catalase.

### ***5.4.2 Dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)***

A metodologia foi extraída de Draper e Hadley, 1990, e adaptada para a leitura em placa de ELISA. 63 microlitros de homogenato foram misturados a 100 µL de ácido perclórico 35%. A mistura foi centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos a 4°C, e a 150 µL do sobrenadante adicionaram-se 50 µL de ácido tiobarbitúrico a 1,2% e a solução resultante foi colocada em banho maria por 30 minutos a 95°C. Após esse processo as amostras resultantes foram plaqueadas e lidas a 535nm a 37°C. Os resultados foram expressos em µmol/g de tecido.

### ***5.4.3 Determinação da concentração proteica no tecido hepático***

A dosagem de proteínas hepáticas foi feita segundo método de Bradford, 1976, adaptado para leitura em placa de ELISA. 40 µL de homogenato hepático foram misturados a 200 µL de solução de Bradford. Após 5 minutos a leitura foi efetuada em espectrofotômetro a 595nm.

### ***5.4.4 Determinação da atividade enzimática de catalase***

A dosagem de catalase foi feita segundo Maehly e Chance, 1954. 20 µL de homogenato foram adicionados a 980 µL de meio reacional contendo Tris HCl 1M, EDTA 5 mM pH 8,0 e água deionizada. A leitura é feita a 230nm após 1 e 6 minutos da adição da amostra ao meio. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína.

### **5.5 Análise estatística**

Os resultados foram apresentados na forma de média  $\pm$  erro padrão médio (E.P.M.). As diferenças estatísticas entre os grupos foram comparadas utilizando-se Análise de Variância (ANOVA) seguida do pós teste de Tukey, utilizando-se como critério de significância  $p < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software GraphPad Prism 5.0.

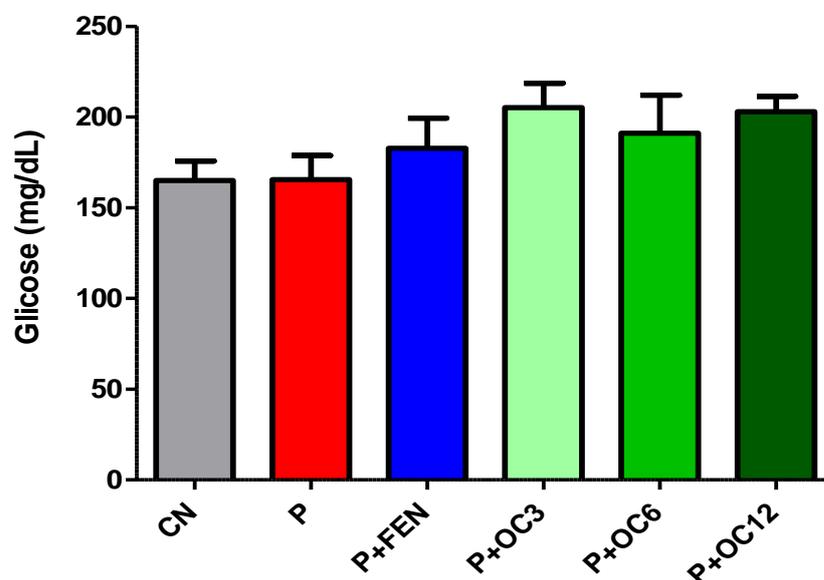
## 6. RESULTADOS

### 6.1 Avaliação bioquímica da atividade hipolipidêmica do óleo de coco em protocolo de dislipidemia induzida por poloxamer P-407 em camundongos

#### 6.1.1 Análise dos níveis plasmáticos de glicose após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com óleo de coco ou fenofibrato.

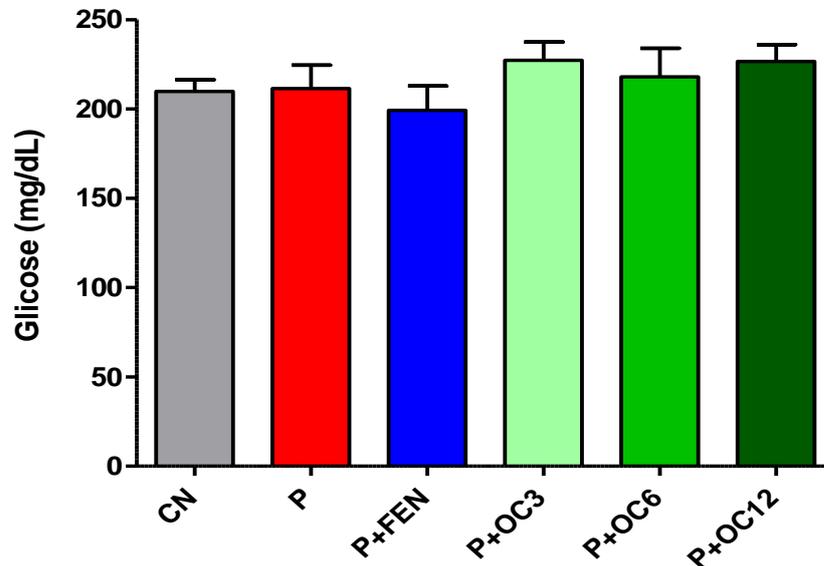
De acordo com os dados a seguir, o poloxamer não foi capaz de aumentar de forma estatisticamente significativa a glicemia dos camundongos, nem houve mudança nos níveis desse analito decorrentes do tratamento com óleo de coco ou fenofibrato, nas primeiras 24 horas (Gráfico 1) (em mg/dL: CN  $165 \pm 10,76$ ; P  $165,5 \pm 13,17$ ; P+FEN  $182,8 \pm 16,60$ ; P+OC3  $205,1 \pm 13,41$ ; P+OC6  $191,1 \pm 20,96$ ; P+OC12  $202,9 \pm 8,52$ ) ou 48 horas (Gráfico 2) (em mg/dL: CN  $209,8 \pm 6,56$ ; P  $211,4 \pm 13,15$ ; P+FEN  $199,2 \pm 13,6$ ; P+OC3  $227,2 \pm 10,25$ ; P+OC6  $217,9 \pm 15,96$ ; P+OC12  $226,6 \pm 9,48$ ) após a indução de dislipidemia (Tabela 2).

**Gráfico 1:** Concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM).

**Gráfico 2:** Concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

**Tabela 2.** Concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.

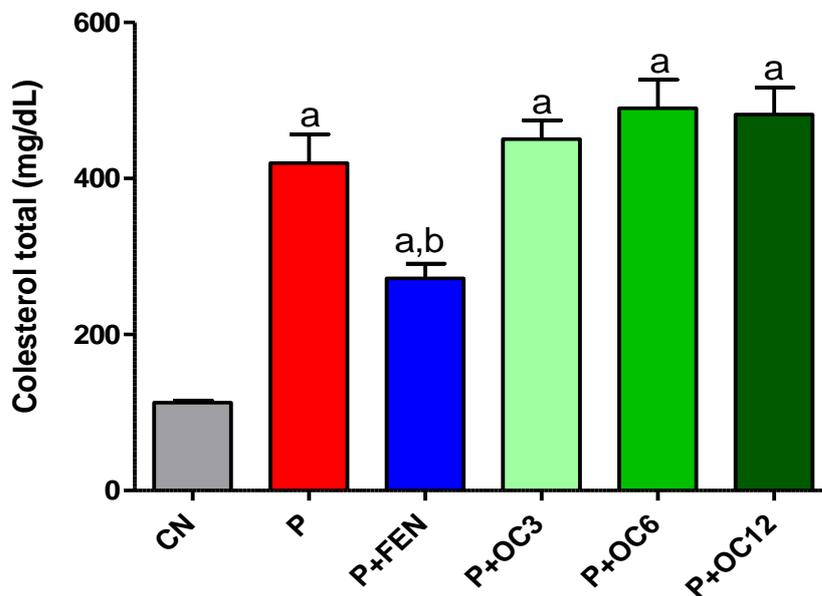
Grupos experimentais (n=10)	Glicose (mg/dL)	
	24h	48h
Controle negativo (CN)	165 $\pm$ 10,76	209,8 $\pm$ 6,56
Controle Positivo (P)	165,5 $\pm$ 13,17	211,4 $\pm$ 13,15
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	182,8 $\pm$ 16,60	199,2 $\pm$ 13,6
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	205,1 $\pm$ 13,41	227,2 $\pm$ 10,25
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	191,1 $\pm$ 20,96	217,9 $\pm$ 15,96
Óleo de Coco 12mL/Kg(P+OC12)	202,9 $\pm$ 8,52	226,6 $\pm$ 9,48

Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

**6.1.2 Análise dos níveis plasmáticos de colesterol total após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.**

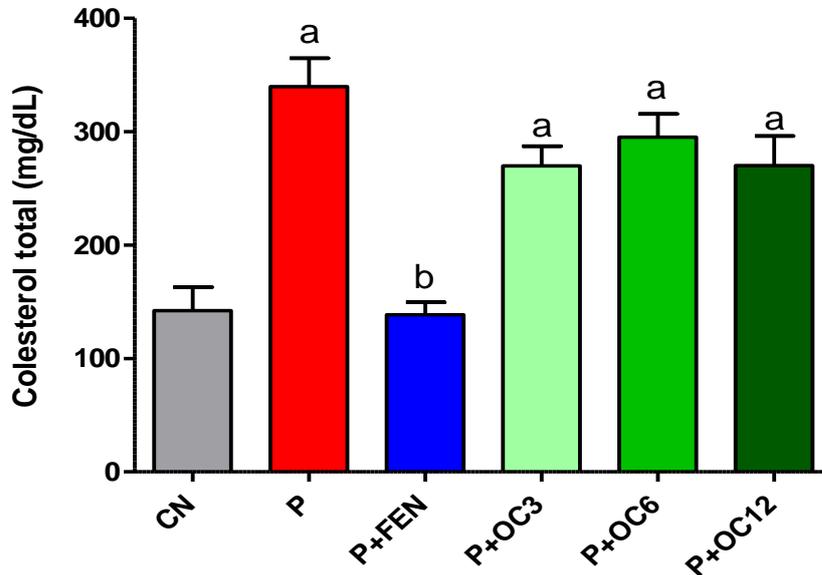
Os gráficos 3 e 4 mostram, respectivamente, os níveis plasmáticos de colesterol total nos camundongos 24 e 48 horas após a indução de dislipidemia por poloxamer P-407. Nota-se aumento significativo desse parâmetro quando comparado P a CN tanto em relação às 24h pós-indução (em mg/dL: P  $419,6 \pm 37,09$  vs. CN  $112,8 \pm 2,43$ , aumento de 271,98%) quanto às 48h (em mg/dL: P  $339,8 \pm 24,97$  vs. CN  $142,1 \pm 20,81$ , aumento de 139,13%), indicando eficácia no estabelecimento do quadro dislipidêmico. O fenofibrato foi capaz de reduzir, quando comparado ao P os níveis desse analito nos dois tempos analisados de forma significativa (24h: P+FEN  $272,1 \pm 18,48$  vs. P  $419,6 \pm 37,09$ ; 48h: P+FEN  $138,5 \pm 11,03$  vs. P  $339,8 \pm 24,97$ ), mas os grupos tratados com óleo de coco não demonstraram redução desse parâmetro (Tabela 3).

**Gráfico 3:** Concentração plasmática de colesterol total (mg/dL) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN e “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P.

**Gráfico 4:** Concentração plasmática de colesterol total (mg/dL) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN e “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P.

**Tabela 3.** Concentração plasmática de colesterol total (mg/dL) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.

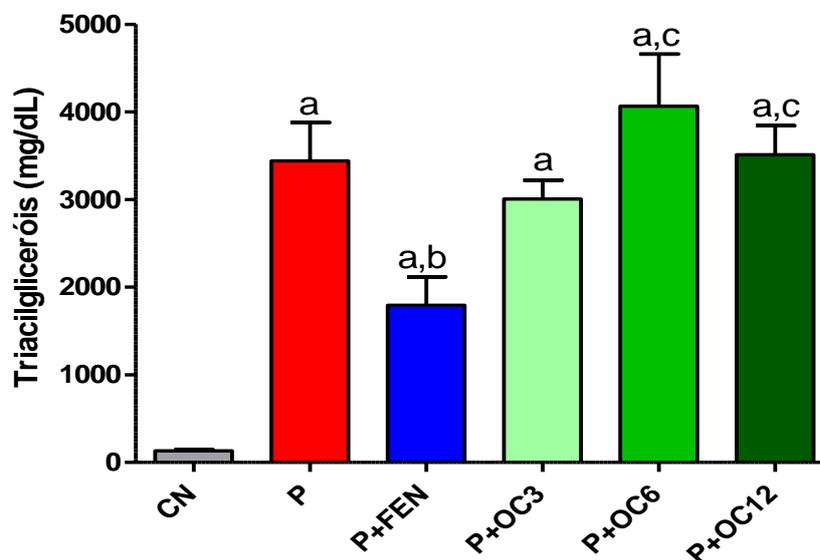
Grupos experimentais (n=10)	Colesterol total (mg/dL)	
	24h	48h
Controle negativo (CN)	112,8 $\pm$ 2,43	142,1 $\pm$ 20,81
Controle Positivo (P)	419,6 $\pm$ 37,1 <sup>a</sup>	339,8 $\pm$ 24,97 <sup>a</sup>
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	272,1 $\pm$ 18,48 <sup>a,b</sup>	138,5 $\pm$ 11,03 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	450,6 $\pm$ 24,11 <sup>a</sup>	269,9 $\pm$ 17,27 <sup>a</sup>
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	489,9 $\pm$ 36,63 <sup>a</sup>	295,2 $\pm$ 20,34 <sup>a</sup>
Óleo de Coco 12mL/Kg (P+OC12)	481,8 $\pm$ 34,59 <sup>a</sup>	270,0 $\pm$ 26,35 <sup>a</sup>

Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN e “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P.

**6.1.3 Análise dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.**

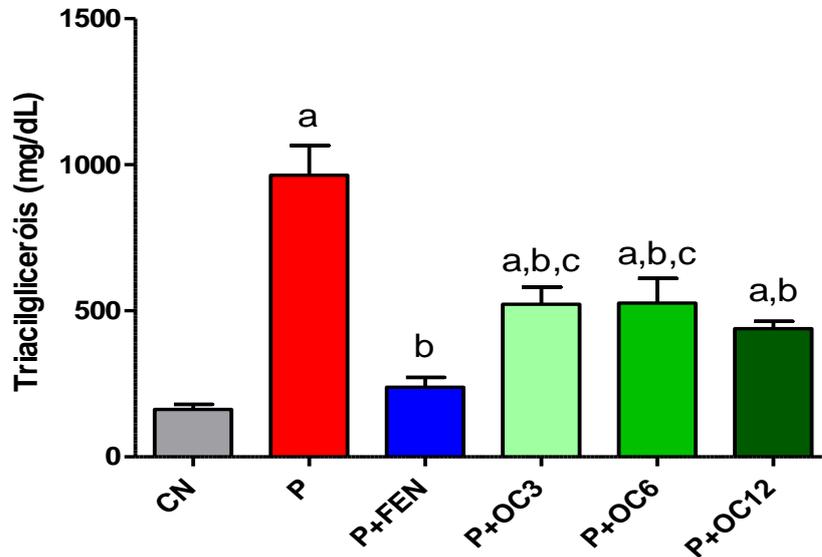
Analisando os níveis de triacilgliceróis, nota-se aumento estatisticamente significativo dos valores encontrados em P comparados a CN, em 24h (em mg/dL: P  $3115 \pm 508,7$  vs CN  $132,8 \pm 13,74$ , aumento de 2245,63%) e em 48h (em mg/dL: P  $964,4 \pm 101,3$  vs CN  $162,8 \pm 16,92$ , aumento de 852,02%) após indução, sinalizando efeito dislipidêmico causado pela administração de poloxamer P-407. Embora quaisquer doses de óleo de coco aqui trabalhadas tenham sido eficazes em diminuir os níveis de triacilgliceróis nas primeiras 24 horas, isso ocorreu nas 48 horas seguintes, de forma que houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparado P+FEN com P (em mg/dL:  $238,5 \pm 33,70$  vs  $964,4 \pm 101,3$ ) e os grupos tratados com óleo de coco com P, sendo P+OC12 o que atingiu maior redução (114,36%) entre os três (Gráficos 5 e Gráfico 6; Tabela 4).

**Gráfico 5:** Concentração plasmática de triacilgliceróis (mg/dL) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P e “c” representa  $p < 0,05$  em relação a P+FEN.

**Gráfico 6:** Concentração plasmática de triacilgliceróis (mg/dL) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P e “c” representa  $p < 0,05$  em relação a P+FEN.

**Tabela 4.** Concentração plasmática de triacilgliceróis (mg/dL) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia.

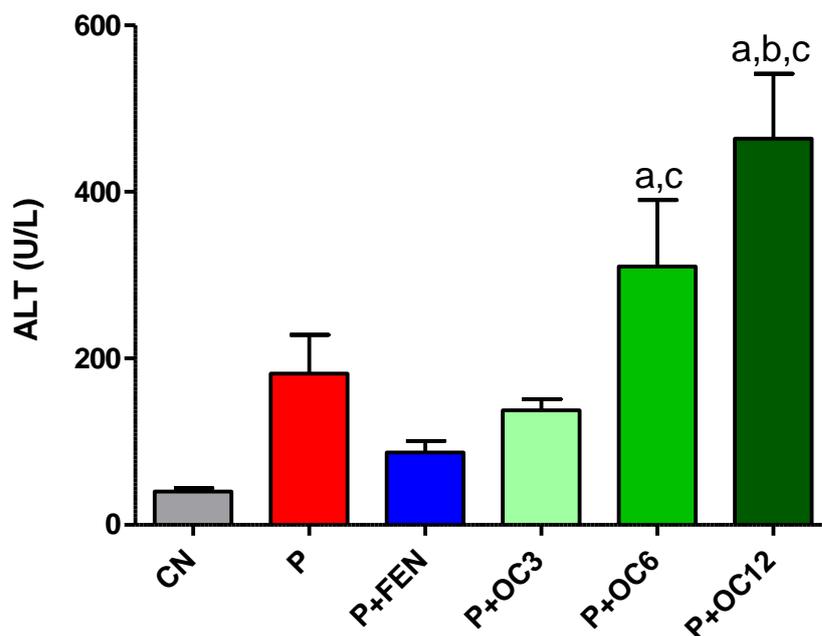
Grupos experimentais (n=10)	Triacilgliceróis (mg/dL)	
	24h	48h
Controle negativo (CN)	132,8 $\pm$ 13,74	162,8 $\pm$ 16,92
Controle Positivo (P)	3115 $\pm$ 508,7 <sup>a</sup>	964,4 $\pm$ 101,3 <sup>a</sup>
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	1620 $\pm$ 336,9	238,5 $\pm$ 33,70 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	3004 $\pm$ 215,4 <sup>a</sup>	522,1 $\pm$ 58,72 <sup>a,b,c</sup>
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	4063 $\pm$ 595,4 <sup>a,c</sup>	526,0 $\pm$ 84,83 <sup>a,b,c</sup>
Óleo de Coco 12mL/Kg (P+OC12)	3512 $\pm$ 332,8 <sup>a,c</sup>	438,6 $\pm$ 25,21 <sup>a,b</sup>

Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/kg (P+FEN), óleo de coco 3ml/kg, (P+OC3), óleo de coco 6ml/kg (P+OC6), óleo de coco 12ml/kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P e “c” representa  $p < 0,05$  em relação a P+FEN.

**6.1.4 Análise da atividade plasmática de ALT após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.**

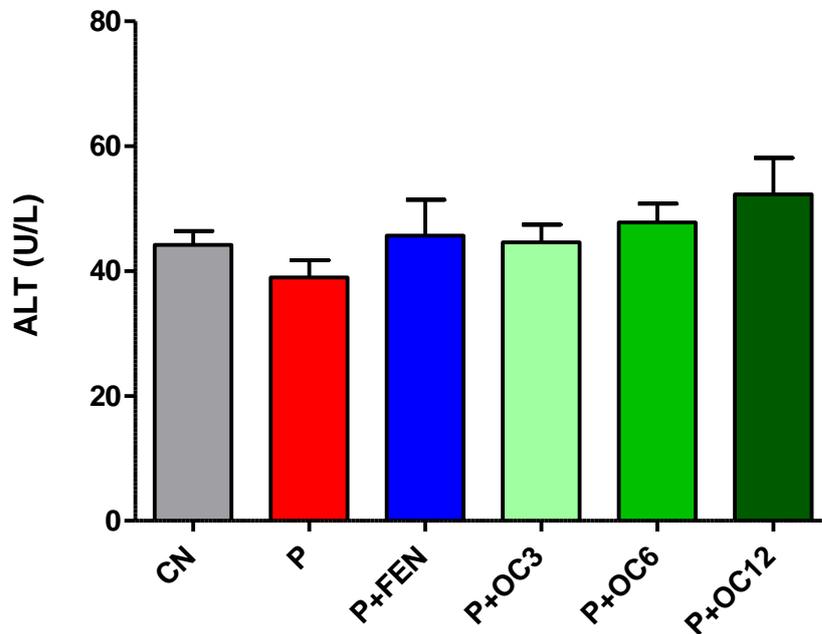
A atividade plasmática de ALT aumentou nas primeiras 24 horas apenas em P+OC6 em relação a CN e P+FEN, e P+OC12 em relação a CN, P e P+FEN, respectivamente (em U/L: CN  $40,20 \pm 4,052$ ; P  $181,7 \pm 46,68$ ; P+FEN  $86,80 \pm 13,88$ ) (Gráfico 7). Após 48 horas da indução, a atividade enzimática não demonstrou diferença estatística significativa entre os grupos experimentais (Gráfico 8). Os dados estão descritos na Tabela 5.

**Gráfico 7:** Atividade plasmática da alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P e “c” representa  $p < 0,05$  em relação a P+FEN.

**Gráfico 8:** Atividade plasmática da alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM).

**Tabela 5.** Atividade plasmática da ALT (U/L) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia

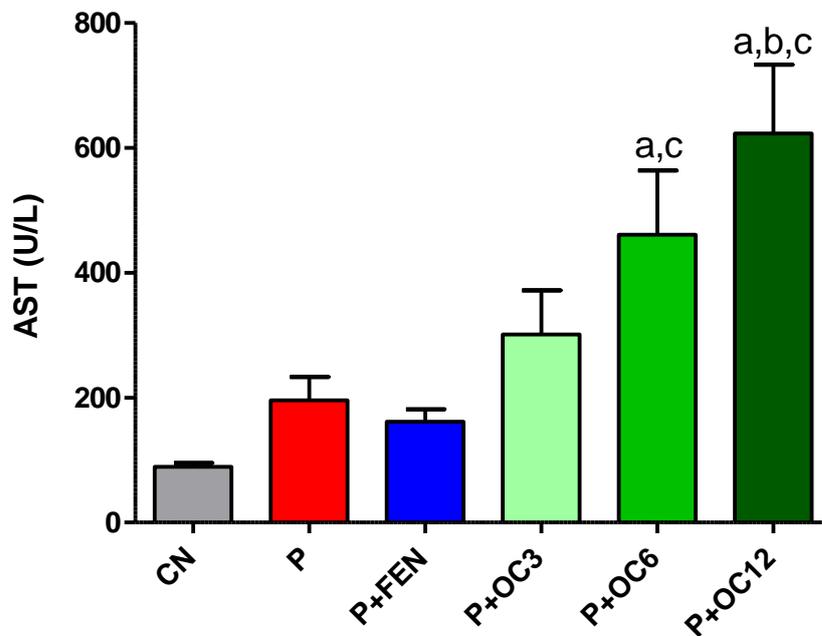
Grupos experimentais (n=10)	ALT (U/L)	
	24h	48h
Controle negativo (CN)	40,20 ± 4,052	44,22 ± 2,191
Controle Positivo (P)	181,7 ± 46,68	39,00 ± 2,723
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	86,80 ± 13,88	45,70 ± 5,733
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	137,6 ± 13,38	44,60 ± 2,802
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	310,3 ± 79,81 <sup>a,c</sup>	47,78 ± 3,027
Óleo de Coco 12mL/Kg(P+OC12)	464,1 ± 77,75 <sup>a,b,c</sup>	52,30 ± 5,835

Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa p<0,05 em relação a CN, “b” representa p<0,05 em relação a P e “c” representa p<0,05 em relação a P+FEN.

**6.1.5 Análise da atividade plasmática de AST após 24h e 48h da indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.**

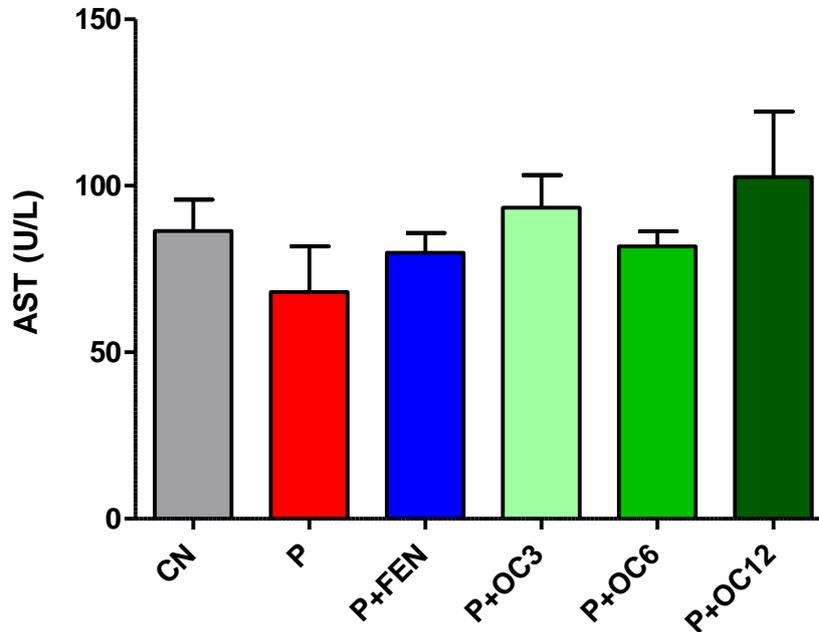
A atividade plasmática de AST aumentou de maneira similar a ALT: nas primeiras 24 horas, apenas em P+OC6 em relação a CN e P+FEN, e P+OC12 em relação a CN, P e P+FEN, respectivamente (em U/L: CN  $89,11 \pm 6,402$ ; P  $195,6 \pm 37,51$ ; P+FEN  $161,3 \pm 20,18$ ) (Gráfico 9). Após 48 horas da indução, não encontrou-se diferença estatística significativa entre os grupos experimentais (Gráfico 10). Os dados estão descritos na Tabela 6.

**Gráfico 9:** Atividade plasmática da aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos 24h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM). onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P e “c” representa  $p < 0,05$  em relação a P+FEN.

**Gráfico 10:** Atividade plasmática da aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos 48h após a indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM).

**Tabela 6.** Atividade plasmática da AST (U/L) dos camundongos 24h e 48h após a indução de dislipidemia

Grupos experimentais (n=10)	AST (U/L)	
	24h	48h
Controle negativo (CN)	89,11 ± 6,402	86,40 ± 9,462
Controle Positivo (P)	195,6 ± 37,51	68,13 ± 13,70
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	161,3 ± 20,18	79,90 ± 5,952
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	301,4 ± 70,39	93,40 ± 9,768
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	461,0 ± 102,6 <sup>a,c</sup>	81,80 ± 4,531
Óleo de Coco 12mL/Kg(P+OC12)	623,0 ± 110,3 <sup>a,b,c</sup>	102,6 ± 19,75

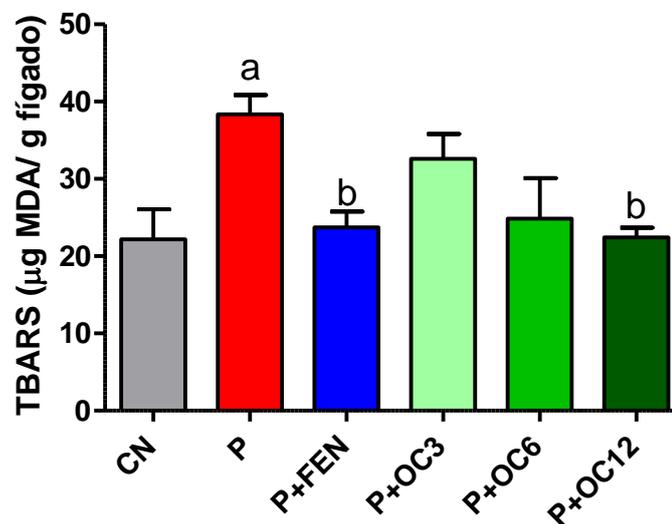
Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa p<0,05 em relação a CN, “b” representa p<0,05 em relação a P e “c” representa p<0,05 em relação a P+FEN.

## 6.2 Avaliação da atividade antioxidante do OCEV protocolo de dislipidemia induzida por poloxamer P-407 em camundongos

### 6.2.1 Análise da peroxidação lipídica no protocolo de indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.

O nível de peroxidação lipídica no tecido hepático dos animais foi feito por método indireto através da formação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS). A administração de poloxamer P-407 ocasionou aumento estatisticamente significativo dos níveis de TBARS entre os animais do controle negativo em relação aos do controle positivo (em  $\mu\text{G MDA/g}$  de fígado: CN  $22,19 \pm 3,874$ ; P  $38,35 \pm 2,526$ , aumento de 72,82%), e houve redução significativa de sua concentração (70,90%) em relação a P nos grupos tratados com fenofibrato e óleo de coco a 12 mL/Kg (em  $\mu\text{G MDA/g}$  de fígado: P+FEN  $23,74 \pm 2,035$ ; P+OC12  $22,44 \pm 1,242$ ) (Gráfico 11; Tabela 7).

**Gráfico 11:** Concentração hepática de TBARS ( $\mu\text{g MDA/g}$  de fígado) dos camundongos após 48h da indução de dislipidemia



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). onde onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a CN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a P.

**Tabela 7.** Concentração hepática de TBARS ( $\mu\text{g MDA/g}$  de fígado) dos camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia

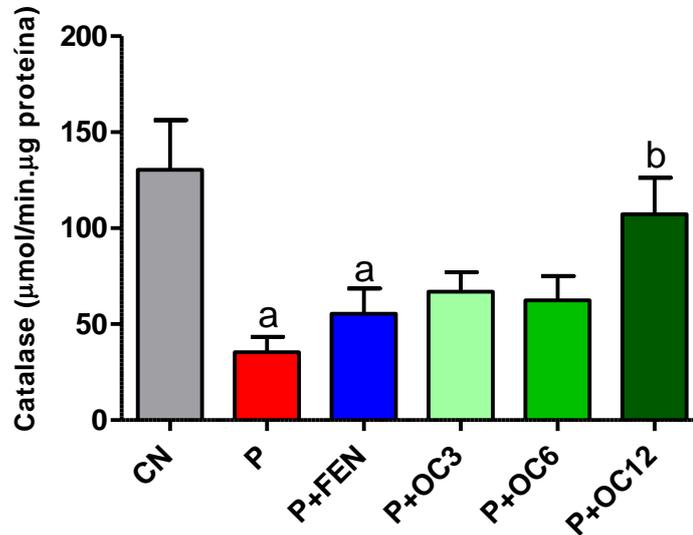
Grupos experimentais (n=10)	TBARS ( $\mu\text{g MDA/g}$ de fígado)
	<b>48h</b>
Controle negativo (CN)	22,19 $\pm$ 3,874
Controle Positivo (P)	38,35 $\pm$ 2,526 <sup>a</sup>
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	23,74 $\pm$ 2,035 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	32,62 $\pm$ 3,177
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	24,84 $\pm$ 5,268
Óleo de Coco 12mL/Kg(P+OC12)	22,44 $\pm$ 1,242 <sup>b</sup>

Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a CN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a P.

### ***6.2.2 Análise atividade de catalase hepática no protocolo de indução de dislipidemia por poloxamer P-407 nos camundongos e tratamento com OCEV ou fenofibrato.***

A atividade de catalase hepática reduziu-se significativamente no grupo controle positivo (72,85%) e fenofibrato em relação ao controle negativo (em  $\mu\text{mol/min.ug}$  proteína: CN 130,4  $\pm$  25,91; P 35,41  $\pm$  7,934; P+FEN 55,50  $\pm$  13,09), decorrentes da administração de poloxamer P-407. Contudo, a atividade dessa enzima aumentou significativamente no grupo P+OC12 quando comparado a P (P+OC12 107,3  $\pm$  18,97, aumento de 202,02%) (Gráfico 12; Tabela 8).

**Gráfico 12:** Atividade hepática de catalase (umol/min.ug proteína) dos camundongos após 48h da indução de dislipidemia.



Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde onde “a” representa p<0,05 em relação a CN, “b” representa p<0,05 em relação a P.

**Tabela 8.** Atividade hepática de catalase (umol/min.ug proteína) dos camundongos 48 horas após a indução de dislipidemia

Grupos experimentais (n=10)	Catalase (umol/min.ug proteína)
	48h
Controle negativo (CN)	130,4 ± 25,91
Controle Positivo (P)	35,41 ± 7,934 <sup>a</sup>
Fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN)	55,50 ± 13,09 <sup>a</sup>
Óleo de Coco 3mL/Kg (P+OC3)	66,90 ± 10,16
Óleo de Coco 6mL/Kg (P+OC6)	62,43 ± 12,71
Óleo de Coco 12mL/Kg(P+OC12)	107,3 ± 18,97 <sup>b</sup>

Indução de dislipidemia por poloxamer P-407 (exceto CN) e tratamento dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (P), fenofibrato 200 mg/Kg (P+FEN), óleo de coco 3mL/Kg, (P+OC3), óleo de coco 6mL/Kg (P+OC6), óleo de coco 12mL/Kg (P+OC12). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa p<0,05 em relação a CN, “b” representa p<0,05 em relação a P.

***6.3 Avaliação dos efeitos do OCEV sobre a massa corporal, tecido adiposo, consumo de água e ração em camundongos submetidos a dieta hipercalórica durante 15 semanas com tratamento simultâneo.***

Durante o protocolo, os animais que consumiram a ração hipercalórica padronizada por Estadella (2004) ou essa ração com óleo de coco incorporada, ou seja, todos os grupos experimentais com exceção do controle negativo, aumentaram suas massas corporais significativamente em relação ao grupo em dieta normocalórica, exceto DH+OC10. O protocolo se mostrou eficaz em estabelecer obesidade, pois encontrou-se 20,44% de diferença entre a média dos pesos dos grupos DN e DH (Gráficos 13 e 14; Figura 10).

Ao fim do protocolo, os animais foram sacrificados e órgãos e tecidos foram removidos, entre eles o tecido adiposo, que foi pesado em número de 6 por grupo experimental (n=6). Os dados indicam que houve aumento estatisticamente significativo da massa de tecido adiposo entre os grupos controle negativo e controle positivo (em gramas: DN  $0,7268 \pm 0,1391$ ; DH  $3,105 \pm 0,3577$ ). Nenhum dos grupos experimentais tratados, com exceção da sibutramina, foi capaz de reduzir a massa adiposa de forma significativa (DH+SIB  $1,733 \pm 0,1501$ ) (Gráfico 15).

O consumo de água e ração foi mensurado semanalmente durante o decorrer do protocolo. Os resultados mostraram que o consumo de ração hipercalórica foi estatisticamente maior em todos os grupos experimentais, exceto em DH+OC10, cujo consumo se mostrou estatisticamente menor em relação a DH, DH+OC5 e DH+OC7,5, embora o peso dos camundongos desse grupo não tenham se mostrado igualmente menores estatisticamente (Gráfico 16). O consumo de água foi estatisticamente menor nos dois grupos experimentais que consumiram maiores concentrações de óleo de coco (DH+OC7,5 e DH+OC10), com destaque para DH+OC10, cujo consumo foi 23,51% menor comparado a CN, que teve maior consumo em relação aos outros (Gráfico 17). Os dados estão resumidos na Tabela 9.

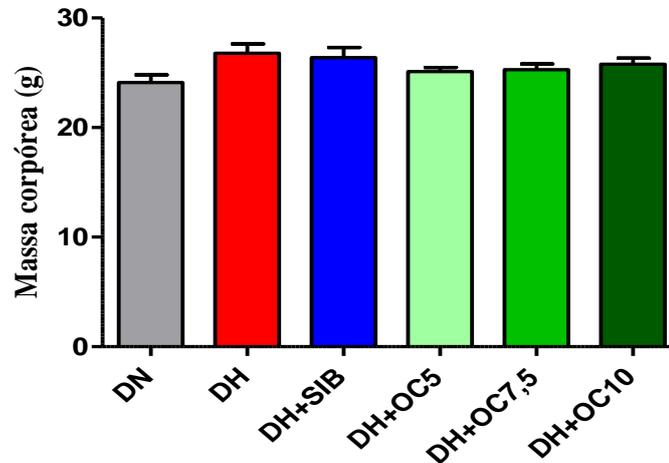
**Tabela 9.** Variação de peso, média de consumo semanal de água e ração e massa adiposa dos camundongos submetidos a protocolo de obesidade induzida por dieta hipercalórica.

GRUPOS EXPERIMENTAIS

VARIÁVEIS	DN	DH	DH+SIB	DH+OC5	DH +OC7,5	DH+OC10
PESO INICIAL (g)	24,1 ± 2,234	26,8 ± 2,616	26,4 ± 2,914	25,1 ± 1,197	25,3 ± 1,636	25,8 ± 1,687
PESO FINAL (g)	41,0 ± 0,5976	49,50 ± 0,7792 <sup>a</sup>	43,0 ± 1,254 <sup>b</sup>	47,3 ± 1,713 <sup>a</sup>	48,20 ± 1,625 <sup>a</sup>	46,5 ± 1,565
DIFERENÇA DE PESO EM RELAÇÃO A CP (%)	20,73%	-	15,11%	4,65%	2,69%	6,45%
TECIDO ADIPOSEO (g)	0,7268 ± 0,1391	3,105 ± 0,3577 <sup>a</sup>	1,733 ± 0,1501 <sup>b</sup>	1,933 ± 0,4032	2,464 ± 0,3099 <sup>a</sup>	2,919 ± 0,4039 <sup>a</sup>
CONSUMO ÁGUA (mL/semana)	385,3 ± 11,42	389,3 ± 16,23	353,3 ± 15,88	370,0 ± 8,783	328,7 ± 11,71 <sup>a,b</sup>	294,7 ± 10,04 <sup>a,b,c,d</sup>
CONSUMO RAÇÃO (g/semana)	285,3 ± 17,24	479,2 ± 21,44 <sup>a</sup>	399,5 ± 14,83 <sup>a,b</sup>	439,9 ± 23,23 <sup>a</sup>	422,9 ± 17,62 <sup>a</sup>	339,2 ± 18,21 <sup>b,d,e</sup>

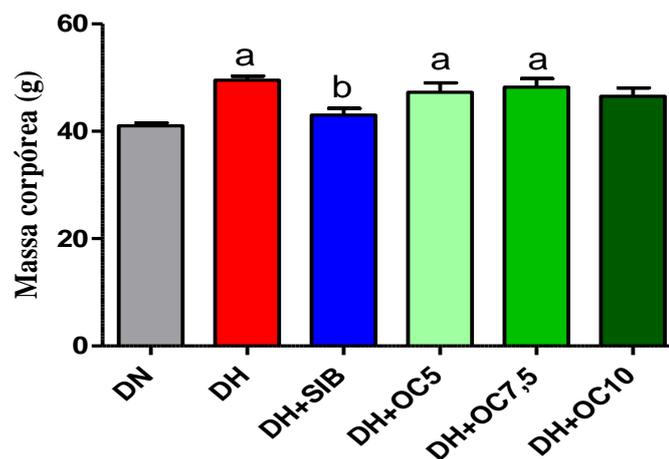
Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde "a" representa p<0,05 em relação a DN, "b" representa p<0,05 em relação a DH, "c" representa p<0,05 em relação a DH+SIB, "d" representa p<0,05 em relação a DH+OC5 e "e" representa p<0,05 em relação a DH+OC7,5.

**Gráfico 13.** Massa corpórea média inicial dos camundongos (em gramas) submetidos ao protocolo de indução de obesidade.



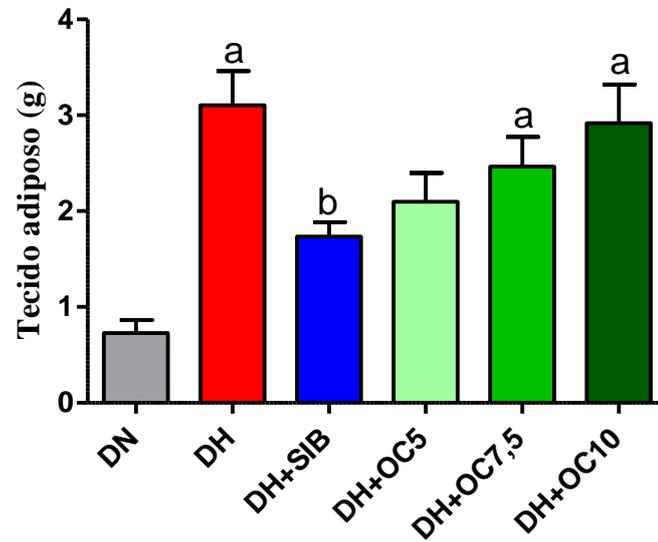
Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

**Gráfico 14.** Massa corpórea média final dos camundongos (em gramas) submetidos ao protocolo de indução de obesidade.



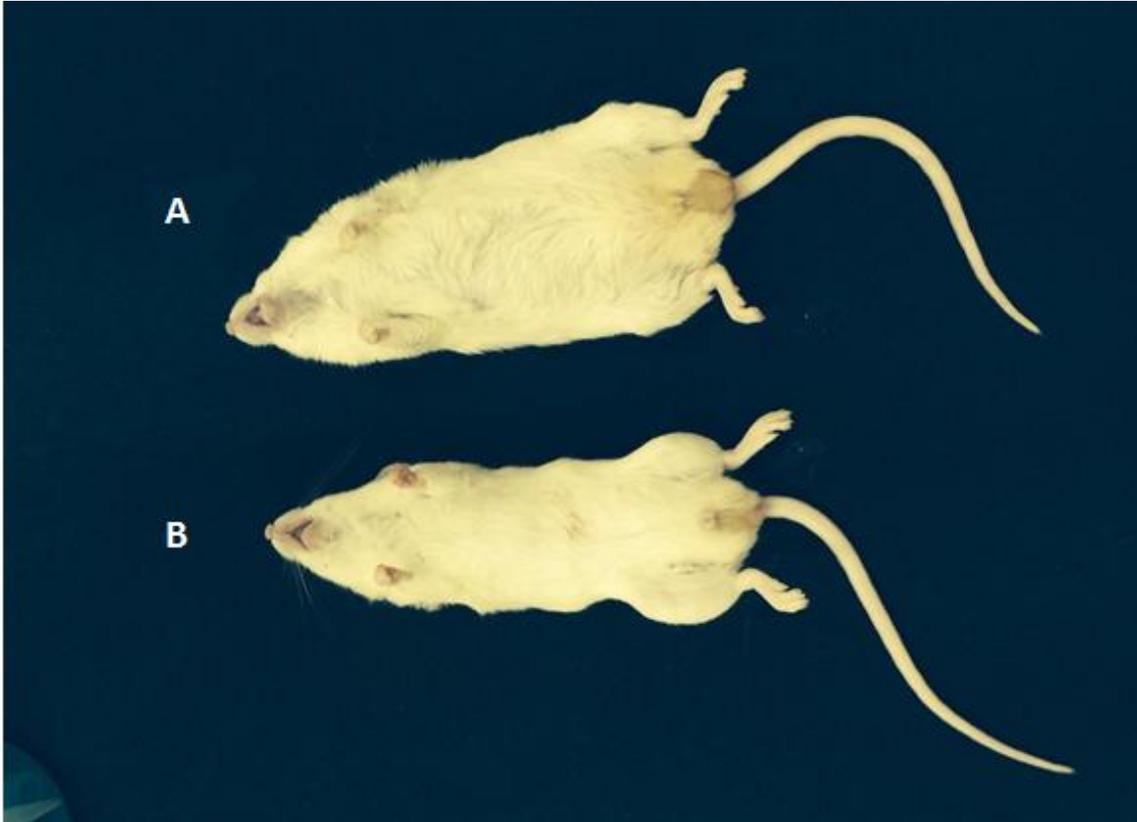
Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, e "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

**Gráfico 15.** Massa de tecido adiposo dos camundongos (em gramas) submetidos ao protocolo de indução de obesidade.

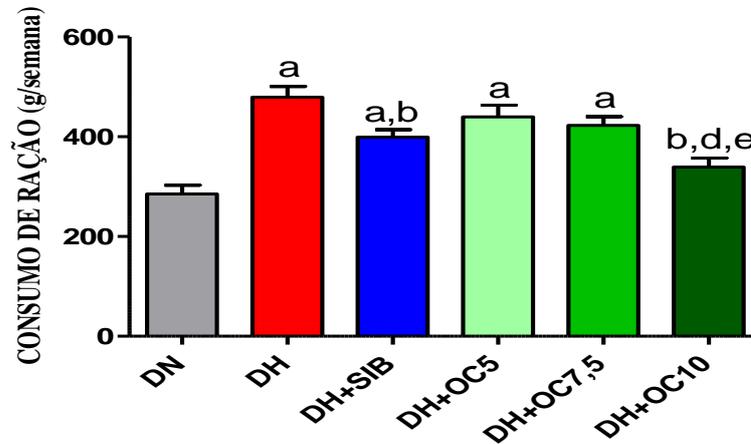


Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=6) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, e "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

**Figura 10.** Fotografia representativa de dois camundongos, do grupo em dieta hipercalórica (A), e outro do grupo em dieta normocalórica (B). Foto dos animais feita na 15<sup>o</sup> semana do protocolo.

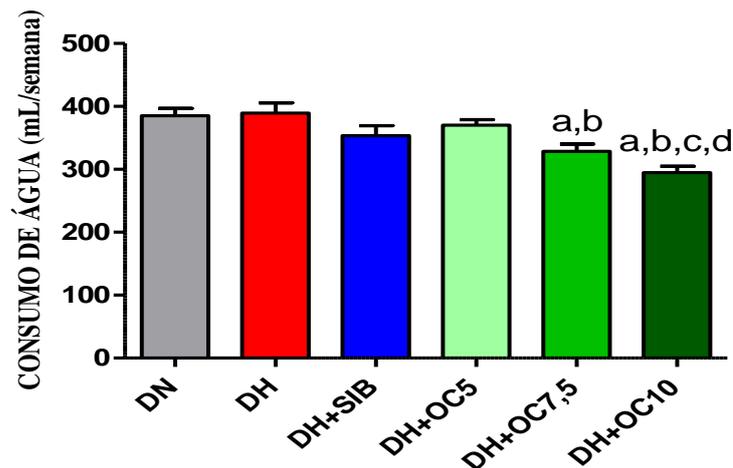


**Gráfico 16.** Média do consumo semanal de ração (em gramas) dos camundongos submetidos a protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5 e "e" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC7,5.

**Gráfico 17.** Média do consumo semanal de água (em mililitros) dos camundongos submetidos a protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica.



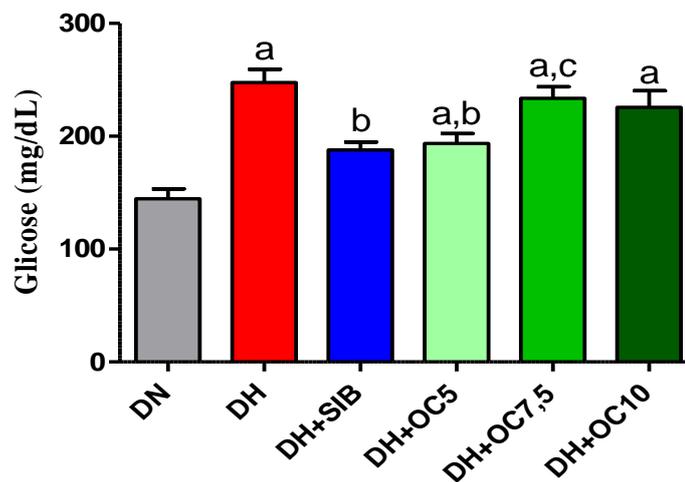
Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5.

#### 6.4 Avaliação dos efeitos do óleo de coco sobre o perfil bioquímico em camundongos submetidos a dieta hipercalórica durante 15 semanas com tratamento simultâneo.

##### 6.4.1 Análise da concentração plasmática de glicose nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.

Os resultados mostram que a instalação do estado de obesidade causou *status* hiperglicêmico nos animais em dieta hipercalórica quando comparados aos animais em dieta normocalórica (em mg/dL: DN  $144,6 \pm 8,745$ ; DH  $247,6 \pm 11,84$ , aumento de 71,23%). A sibutramina foi capaz de reduzir de forma significativa os níveis glicêmicos dos animais tratados em relação a DH, assim como os animais tratados com óleo de coco a 5% (27,90%) incorporado a ração hipercalórica (em mg/dL: DH+SIB  $187,9 \pm 6,898$ ; DH+OC5  $193,6 \pm 8,854$ ) (Gráfico 18; Tabela 10).

**Gráfico 18.** Glicemia (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10).. Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB.

**Tabela 10.** Glicemia (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

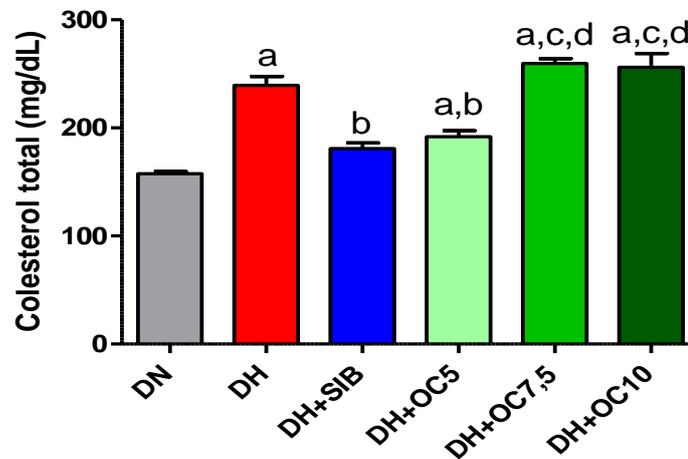
Grupos experimentais (n=10)	Glicose (mg/dL)
	15 <sup>o</sup> semana
Dieta Normocalórica (DN)	144,6 ± 8,745
Dieta Hipercalórica (DP)	247,6 ± 11,84 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	187,9 ± 6,898 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	193,6 ± 8,854 <sup>a,b</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	233,6 ± 10,22 <sup>a,c</sup>
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	225,6 ± 14,84 <sup>a</sup>

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a DN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a DH, “c” representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB.

#### ***6.4.2 Análise da concentração plasmática de colesterol total nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.***

Após a 15<sup>o</sup> semana do protocolo, os animais do DH tornaram-se hipercolesterolêmicos devido a ausência de tratamento e a ingestão de ração hipercalórica, em comparação aos camundongos do DN (em mg/dL: DN 157,6 ± 2,044; DH 239,3 ± 8,415, aumento de 51,84%). O tratamento com sibutramina, assim como a ingestão da ração com óleo de coco incorporado na concentração em peso de 5% (em 24,70%), foram capazes de reverter o aumento dos níveis de colesterol total de forma estatisticamente significativa em relação a P (em mg/dL: DH+SIB 180,9 ± 5,187; DH+OC5 191,9 ± 5,397) (Gráfico 19; Tabela 11).

**Gráfico 19.** Concentração plasmática colesterol total (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5.

**Tabela 11.** Concentração plasmática de colesterol total (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

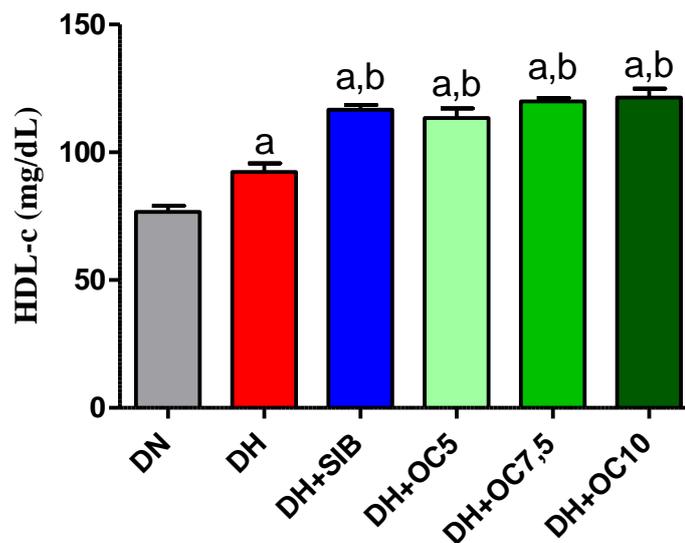
Grupos experimentais (n=10)	Colesterol total (mg/dL)
	15 <sup>o</sup> semana
Dieta Normocalórica (DN)	157,6 $\pm$ 2,044
Dieta Hipercalórica (DH)	239,3 $\pm$ 8,415 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	180,9 $\pm$ 5,187 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	191,9 $\pm$ 5,397 <sup>a,b</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	259,5 $\pm$ 4,614 <sup>a,c,d</sup>
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	256,0 $\pm$ 12,91 <sup>a,c,d</sup>

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a CN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a P, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5.

**6.4.3 Análise da concentração plasmática de colesterol HDL nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.**

A concentração plasmática de colesterol HDL aumentou em todos os grupos experimentais de maneira estatisticamente significativa em relação aos animais em dieta normocalórica (em mg/dL: DN  $76,63 \pm 2,412$ ; P  $92,25 \pm 3,395$ ; DH+SIB  $116,6 \pm 1,899$ ; DH+OC5  $113,4 \pm 3,817$ ; DH+OC7,5  $119,9 \pm 1,432$ ; DH+OC10  $121,4 \pm 3,615$ ). Os camundongos tratados com sibutramina e com óleo de coco nas três concentrações abordadas nesse estudo foram capazes de aumentar, significativamente, os níveis desse analito quando comparado a DH (gráfico 20; Tabela 12).

**Gráfico 20.** Concentração plasmática de HDL (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a DN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

**Tabela 12.** Concentração plasmática de HDL (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

Grupos experimentais (n=10)	HDL (mg/dL)
	<b>15<sup>o</sup> semana</b>
Dieta Normocalórica (DN)	76,63 ± 2,412
Dieta Hipercalórica (DP)	92,25 ± 3,395 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	116,6 ± 1,899 <sup>a,b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	113,4 ± 3,817 <sup>a,b</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	119,9 ± 1,432 <sup>a,b</sup>
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	121,4 ± 3,615 <sup>a,b</sup>

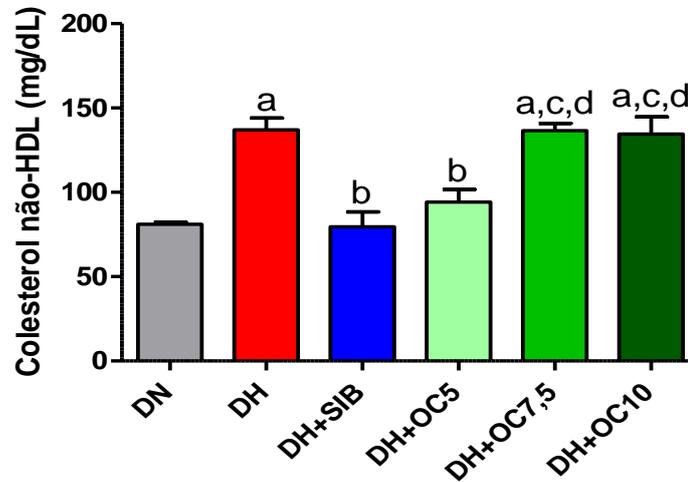
Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa p<0,05 em relação a DN, “b” representa p<0,05 em relação a DH.

#### ***6.4.4 Análise da concentração plasmática de colesterol não-HDL nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.***

O colesterol não-HDL foi calculado a partir da subtração do valor da concentração de colesterol total da concentração de HDL dos animais de cada grupo experimental, como representado pela fórmula matemática: [CT] - [HDL] (onde [CT] indica concentração plasmática de colesterol total e [HDL] representa concentração plasmática de HDL).

Os níveis de colesterol não-HDL mostraram-se elevados no grupo alimentado com ração hipercalórica em comparação com aquele que consumiu dieta normocalórica (em mg/dL: DN 81,0 ± 1,180; DH 137,1 ± 7,037, aumento de 69,26%). O tratamento com sibutramina, assim como com óleo de coco a 5% incorporado à ração hipercalórica, foi capaz de reduzir (em 45,64%) os níveis de colesterol não-HDL significativamente em relação a DH (em mg/dL: DH+SIB 79,63 ± 8,805; DH+OC5 94,25 ± 7,468) (Gráfico 21; Tabela 13).

**Gráfico 21.** Concentração plasmática de colesterol não-HDL (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5.

**Tabela 13.** Concentração plasmática de colesterol não-HDL (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

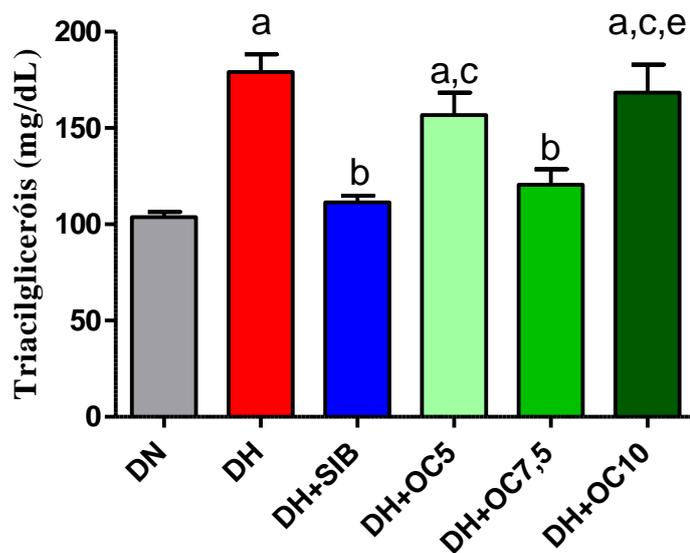
Grupos experimentais (n=10)	Colesterol não-HDL (mg/dL)
	15 <sup>o</sup> semana
Dieta Normocalórica (DN)	81,0 $\pm$ 1,180
Dieta Hipercalórica (DP)	137,1 $\pm$ 7,037 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	79,63 $\pm$ 8,805 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	94,25 $\pm$ 7,468 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	136,6 $\pm$ 4,247 <sup>a,c,d</sup>
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	134,5 $\pm$ 10,26 <sup>a,c,d</sup>

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a CN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a P, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5.

**6.4.5 Análise da concentração plasmática de triacilgliceróis nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.**

A concentração plasmática média de triacilgliceróis aumentou em 72,45% nos animais de DH em relação aos do DN, indicando estado hipertrigliceridêmico causado pela indução de obesidade (em mg/dL: DN  $103,8 \pm 2,664$ ; DH  $179,0 \pm 9,192$ ). Entretanto, assim como o tratamento com sibutramina, os camundongos que consumiram ração com óleo de coco à concentração de 7,5% obtiveram significativa redução estatística (48,55%) dos seus níveis em comparação a DH (em mg/dL: DH+SIB  $111,4 \pm 3,474$ ; DH+OC7,5  $120,5 \pm 8,14$ ) (Gráfico 22; Tabela 14).

**Gráfico 22.** Concentração plasmática de triacilgliceróis (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5, "e" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC7,5.

**Tabela 14.** Concentração plasmática de triacilgliceróis (em mg/dL) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

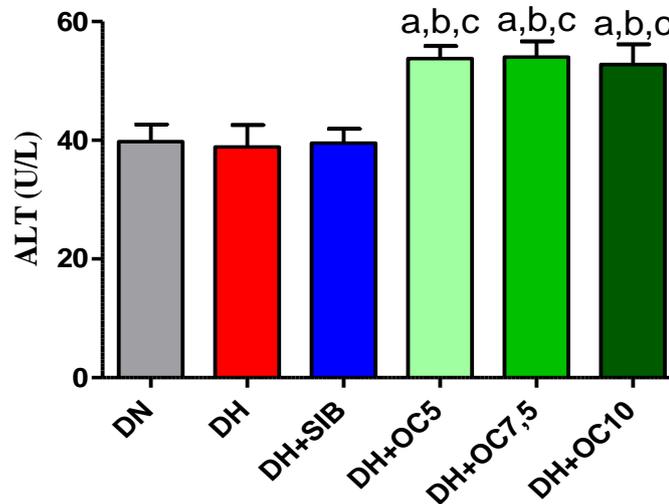
Grupos experimentais (n=10)	Triacilgliceróis (mg/dL)
	15 <sup>o</sup> semana
Dieta Normocalórica (DN)	103,8 ± 2,664
Dieta Hipercalórica (DH)	179,0 ± 9,192 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	111,4 ± 3,474 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	156,8 ± 11,75 <sup>a,c</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	120,5 ± 8,139 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	168,4 ± 14,58 <sup>a,c,e</sup>

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa p<0,05 em relação a DN, “b” representa p<0,05 em relação a DH, “c” representa p<0,05 em relação a DH+SIB, “d” representa p<0,05 em relação a DH+OC5, “e” representa p<0,05 em relação a DH+OC7,5.

#### ***6.4.6 Análise da atividade plasmática de alanina aminotransferase (ALT) nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.***

Os resultados mostraram que os animais em dieta normocalórica, dieta hipercalórica e DH+SIB não tiveram diferenças estatisticamente significantes quando comparados entre si; contudo, todos os grupos experimentais submetidos a tratamento com óleo de coco, em qualquer das concentrações estudadas nesse protocolo, tiveram aumentadas significativamente a atividade dessa enzima (em U/L: DN 39,75 ± 2,908; DH 38,88 ± 3,696; DH+SIB 39,50 ± 2,428; DH+OC5 53,75 ± 2,119; DH+OC7,5 54,00 ± 2,659; DH+OC10 52,75 ± 3,411) (Gráfico 23; Tabela 15).

**Gráfico 23.** Atividade da alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB.

**Tabela 15.** Atividade da alanina aminotransferase (ALT, em U/L) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

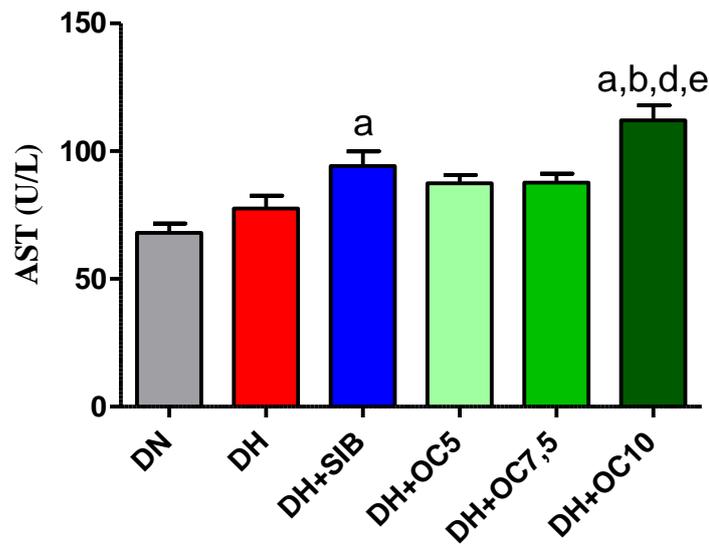
Grupos experimentais (n=10)	ALT (U/L)
	15 <sup>o</sup> semana
Dieta Normocalórica (DN)	39,75 ± 2,908
Dieta hipercalórica (DH)	38,88 ± 3,696
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	39,50 ± 2,428
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	53,75 ± 2,119 <sup>a,b,c</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	54,00 ± 2,659 <sup>a,b,c</sup>
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	52,75 ± 3,411 <sup>a,b,c</sup>

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "c" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+SIB.

**6.4.7 Análise da atividade plasmática de aspartato aminotransferase (AST) nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.**

Os resultados mostram que essa enzima teve elevação estatisticamente significativa de sua atividade plasmática em apenas dois grupos experimentais: no DH+SIB, em relação DN (21,46%), e em DH+OC10 em relação a DN, DH, DH+OC5 e DH+OC7,5 (em U/L: CN  $68,0 \pm 3,669$ ; DH  $77,5 \pm 5,067$ ; DH+SIB  $94,13 \pm 5,823$ ; DH+OC5  $87,38 \pm 3,289$ ; DH+OC7,5  $87,63 \pm 3,525$ ; DH+OC10  $112,0 \pm 5,889$ ) (Gráfico 24; Tabela 16).

**Gráfico 24.** Atividade da aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos submetidos à indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde "a" representa  $p < 0,05$  em relação a DN, "b" representa  $p < 0,05$  em relação a DH, "d" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC5, "e" representa  $p < 0,05$  em relação a DH+OC7,5.

**Tabela 16.** Atividade da aspartato aminotransferase (AST, em U/L) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

	AST (U/L)
Grupos experimentais (n=10)	<b>15<sup>o</sup> semana</b>
Dieta Normocalórica (DN)	68,0 ± 3,669
Dieta Hipercalórica (DP)	77,5 ± 5,067
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	94,13 ± 5,823 <sup>a</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	87,38 ± 3,289
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	87,63 ± 3,525
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	112,0 ± 5,889 <sup>a,b,d,e</sup>

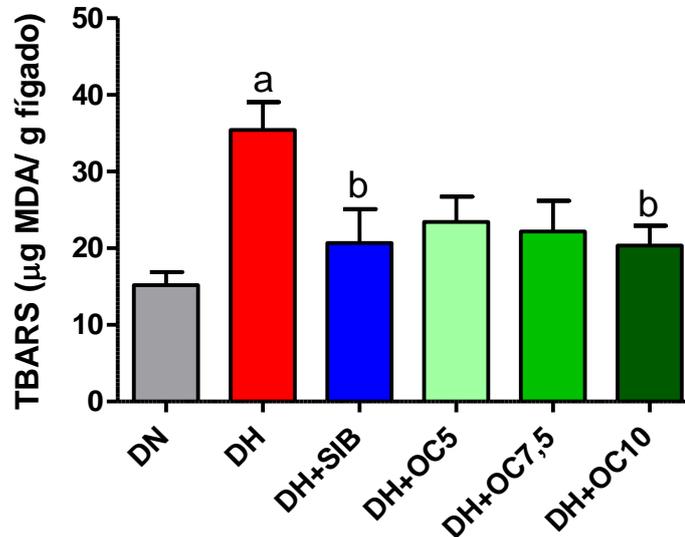
Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM), onde “a” representa p<0,05 em relação a DN, “b” representa p<0,05 em relação a DH, “d” representa p<0,05 em relação a DH+OC5, “e” representa p<0,05 em relação a DH+OC7,5.

## 6.5 Avaliação da atividade antioxidante do óleo de coco em camundongos submetidos a dieta hipercalórica durante 15 semanas com tratamento simultâneo.

### 6.5.1 Análise da peroxidação lipídica nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.

O nível de peroxidação lipídica no tecido hepático dos animais foi feito por método indireto através da formação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os resultados evidenciam que há aumento de peroxidação lipídica em DH, quando comparado a DN (em µg MDA/g fígado: CN 15,20 ± 1,706; P 35,44 ± 3,640, aumento de 133,16%). Os únicos grupos experimentais que foram capazes de reduzir os níveis de peroxidação lipídica de forma significativa em relação a DH foram DH+SIB (71,46%) e DH+OC10 (74,15%) (em µg MDA/g fígado: DH+SIB 20,67 ± 4,426; DH+OC10 20,35 ± 2,598) (Gráfico 25; Tabela 17).

**Gráfico 25.** Concentração hepática de TBARS ( $\mu\text{g MDA/g}$  de fígado) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a DN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

**Tabela 17.** Concentração hepática de TBARS ( $\mu\text{g MDA/g}$  de fígado) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

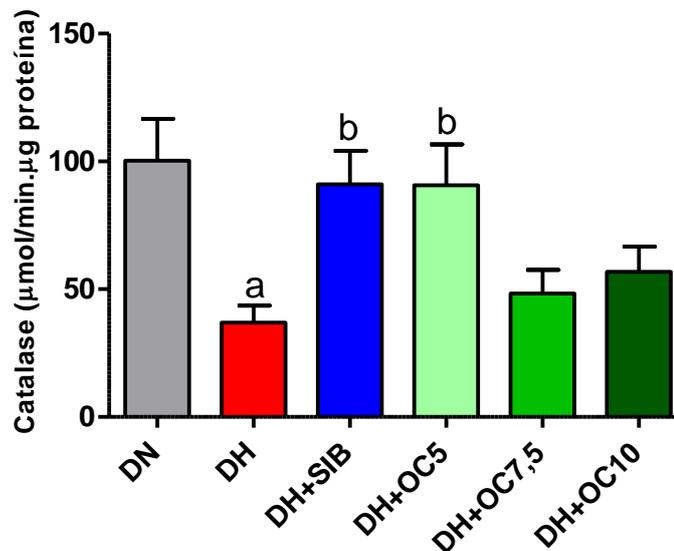
Grupos experimentais (n=10)	TBARS ( $\mu\text{g MDA/g}$ de fígado)
	15 <sup>o</sup> semana
Dieta Normocalórica (DN)	15,20 $\pm$ 1,706
Dieta Hipercalórica (DH)	35,44 $\pm$ 3,640 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	20,67 $\pm$ 4,426 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	23,45 $\pm$ 3,291
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	22,19 $\pm$ 3,997
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	20,35 $\pm$ 2,598 <sup>b</sup>

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a DN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

### 6.5.2 Análise da atividade de catalase nos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratados com OCEV ou sibutramina.

Os resultados evidenciam que a obesidade induzida por dieta hipercalórica diminuiu a atividade dessa enzima no tecido hepático dos camundongos de forma estatisticamente significativa quando comparados àqueles alimentados por dieta normocalórica (em  $\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mg}$  proteína: DN  $100,3 \pm 16,46$ ; DH  $36,94 \pm 6,647$ , redução de 171,52%). Os animais tratados com sibutramina tiveram restauração (246,53%) da atividade enzimática de catalase, assim como o grupo tratado com óleo de coco a 5% (145,61%) (em  $\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mg}$  proteína: DH+SIB  $91,07 \pm 13,10$ ; DH+OC5  $90,73 \pm 15,93$ ) (Gráfico 26; Tabela 18).

**Gráfico 26.** Atividade de catalase hepática ( $\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mg}$  proteína) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.



Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a DN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

**Tabela 18.** Atividade de catalase hepática ( $\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mg}$  proteína) dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica.

Grupos experimentais (n=10)	Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{min}.\text{mg}$ proteína)
	<b>15<sup>o</sup> semana</b>
Dieta Normocalórica (DN)	100,3 $\pm$ 16,46
Dieta Hipercalórica (DH)	36,94 $\pm$ 6,647 <sup>a</sup>
Sibutramina 50 mg/L (DH+SIB)	91,07 $\pm$ 13,10 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 5% (DH+OC5)	90,73 $\pm$ 15,93 <sup>b</sup>
Óleo de Coco 7,5% (DH+OC7,5)	48,26 $\pm$ 9,319
Óleo de Coco 10% (DH+OC10)	56,84 $\pm$ 9,787

Protocolo de indução de obesidade por dieta hipercalórica e tratamento por 15 semanas com água potável em dieta normocalórica (DN) e dieta hipercalórica (DH) ou por sibutramina a 50 mg/L na água (DH+SIB) ou por óleo de coco incorporado à ração hipercalórica a 5% (DH+OC5), 7,5% (DH+OC7,5) ou a 10% (DH+OC10). Os resultados dos grupos experimentais (n=10) foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), onde “a” representa  $p < 0,05$  em relação a DN, “b” representa  $p < 0,05$  em relação a DH.

## 7. DISCUSSÃO

O protocolo de dislipidemia foi iniciado pela indução com poloxamer P-407, que é um surfactante não-iônico hidrofílico capaz de causar aumento nas lipoproteínas do soro devido ao seu efeito direto no metabolismo lipídico, e por isso é extensamente utilizado em protocolos experimentais de dislipidemia (CHAUDHARY; BROCKS, 2013). Seu mecanismo de ação para tal efeito ocorre sobre uma série de enzimas relacionadas ao perfil lipídico.

O poloxamer atua inibindo a lipase endotelial, hepática e lipase lipoprotéica (LPL), e, por alteração na atividade dessa última, causa aumento dos níveis de triacilgliceróis (WASAN et al., 2003).

O mesmo agente atua estimulando indiretamente a enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMGCoA redutase), resultando em aumento dos níveis circulantes de colesterol total (LEE et al., 2012).

Johnston e Zhou, 2007, afirmam haver, ainda, uma inibição da enzima 7- $\alpha$  hidroxilase, o que prejudica a eliminação do colesterol na bile, principalmente em doses repetidas de poloxamer, o que contribui para o estabelecimento de *status* hipercolesterolêmico.

Dessa forma, evidencia-se a ação hiperlipidêmica do poloxamer P-407, já referenciada em outros trabalhos (KOROLENKO et al., 2013; LEE et al., 2012; VAIDYA et al., 2009; ZANWAR et al., 2014).

O modelo de dislipidemia por poloxamer P-407 tem uma série de vantagens quando comparado a outros modelos vigentes. A primeira é que ele não requer a adição de ácido cólico na dieta. Outra vantagem é que não se necessita de animais *knock out* para genes, por exemplo, apolipoproteína E (apoE) e proteína quimioatrativa de monócitos (MP-1, *monocyte chemoattractant protein-1*), o qual se mostra como uma drástica mudança na fisiologia normal de vertebrados. Além disso, mostra-se como um método preciso de hiperlipidemia dose dependente e permite a avaliação da potência de drogas antihiperlipidêmicas de várias classes (estatinas, fibratos, e ácido nicotínico) (JOHNSTON et al., 2002).

Não há relatos na literatura da utilização do óleo de coco como agente redutor de hiperlipidemia induzida por poloxamer P-407 em camundongos. Trabalhos que usam esse

surfactante como agente indutor de dislipidemia normalmente testam efeitos de extratos vegetais, drogas experimentais, dentre outros (PISAREVA et al., 2014; VAIDYA et al., 2009). Trabalhos que verificaram o efeito do óleo de coco o fizeram em dislipidemia induzida ou dieta alimentar, seja por dietas ricas em colesterol e ácido cólico (OTUNOLA et al., 2010), ou em óleos vegetais tais como de amendoim e soja, ricos em ácidos graxos de cadeia longa (AUGUSTI et al., 2001).

A fim de trazer nova informação à literatura científica, foi verificada a ação do óleo de coco na dislipidemia por poloxamer P-407 e tratamento com óleo de coco via gavagem.

No presente trabalho, não houve alteração na glicemia de nenhum grupo experimental. Os níveis de colesterol e triacilgliceróis aumentaram significativamente nos animais que receberam poloxamer e nenhum tratamento, conforme esperado pelos achados na literatura científica. Os animais tratados com fenofibrato tiveram os níveis desses analitos reduzidos após 48h da administração do agente hiperlipemiante. Todos os grupos tratados com OCEV obtiveram redução nos níveis plasmáticos de triacilgliceróis 48h após a indução. AST e ALT tiveram aumento de suas atividades plasmáticas em P+OC12 nas primeiras 24 horas, embora tenham se normalizado nas 24 horas posteriores.

Wang e colaboradores, 2015, em estudo com frangos de corte, observaram que a substituição do óleo de soja na ração por óleo de coco, em quantidades crescentes de 25% na sua composição, durante 42 dias, diminuiu linearmente os níveis plasmáticos de colesterol total e LDL, assim como o quociente LDL/HDL, que tem correlação com índice aterogênico. No referido trabalho, a concentração de triacilgliceróis aumentou proporcionalmente à adição de óleo de coco à ração.

Outro grupo de pesquisa trabalhou com codornas japonesas, fornecendo-lhes ou ração comercial normal ou cinco tipos de ração hiperlipídica, com cinco tipos de gorduras em proporção de 22% peso por peso, dentre eles o óleo de coco. Após doze semanas, a ração com óleo de coco foi capaz de manter os níveis de triacilgliceróis abaixo daqueles encontrados na dieta normocalórica, embora não tenha tido nenhum efeito sobre os níveis de colesterol das aves (DONALDSON et al., 2015).

Observou-se redução dos triacilgliceróis séricos em todos os grupos tratados com OCEV após 48 horas da indução de dislipidemia. Nevin e Rajamohan, 2004, observaram que

dieta suplementada com óleo de coco virgem a 8% em peso na ração de ratos *Wistar* por 45 dias foi capaz de reduzir os triacilgliceróis séricos, assim como os níveis de colesterol total e LDL quando comparado a mesma dieta acrescida de óleo de coco convencional ou óleo de amendoim. A mesma equipe, em trabalho de 2008, mostrou efeitos do óleo de coco virgem em ratos com dieta suplementada por colesterol, demonstrando que, após 45 dias, o grupo que consumia ração contendo óleo de coco virgem a 10% em peso, mesmo com adição de colesterol a 1% na mesma ração, tiveram redução dos níveis de colesterol total e triacilgliceróis plasmáticos em comparação com os animais que consumiam óleo de coco convencional ou óleo de girassol (NEVIN; RAJAMOHAN, 2008).

Através dos estudos consultados na literatura verificou-se que tanto o óleo de coco comum quanto o virgem possuem efeitos benéficos sobre o perfil lipídico, já que ambos são ricos em ácidos graxos de cadeia média, que reduzem o acúmulo de gordura e os níveis de colesterol sérico e tecidual; contudo, o rico conteúdo insaponificável presente no óleo de coco virgem (polifenóis, fitoesteróis, vitaminas antioxidantes, D e E, principalmente) pode estar influenciando na taxa de síntese e oxidação de ácidos graxos no fígado, além de diminuir a atividade da HMG-CoA redutase, resultando em níveis mais baixos de colesterol total (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004, 2008). Como no presente trabalho não houve redução dos níveis de colesterol no protocolo de dislipidemia por poloxamer P-407, pode-se conjecturar que o OCEV, em administração aguda, e nas doses estudadas, não foi capaz de reduzir a atividade da HMG-CoA redutase no decorrer das 48 horas analisadas.

Outros estudos relatam a relação existente entre o consumo de óleo de coco virgem e regulação, via ácidos graxos, de receptores ativado por proliferadores de peroxissoma do tipo alfa (do inglês, PPAR- $\alpha$ , *peroxisome proliferator-activated receptor*). Estes são receptores nucleares cujos genes alvo participam em aspectos do metabolismo lipídico como a captação de ácidos graxos pelas membranas, assim como sua oxidação, principalmente na mitocôndria (KERSTEN; DESVERGNE; WAHLI, 2000). Trabalhos mostram que ratos suplementados com óleo de coco virgem apresentaram melhora dos níveis de triacilgliceróis, e o mecanismo de ação proposto para tal resultado é o aumento da beta-oxidação desses ácidos graxos por consequência de *up-regulation* de PPAR- $\alpha$  e seus genes alvo (ARUNIMA; RAJAMOHAN, 2012, 2014). Especula-se que esse seja um dos possíveis mecanismos pelo qual há redução dos níveis de triacilgliceróis no presente protocolo.

As aminotranferases são enzimas indicadoras de função hepática; a ALT, localizada no citosol dos hepatócitos, é marcador mais sensível de dano hepatocelular, ao passo que a AST, por ser encontrada majoritariamente no interior da mitocôndria (80%), sugere dano crônico e mais grave (LI et al., 2011; MABEKU et al., 2007)

Quanto ao aumento da atividade das transaminases hepáticas no protocolo de dislipidemia, em que se observou aumento da atividade de AST e ALT em P+OC12 em relação a P, trabalho (AUGUSTI et al., 2001) mostra que a adição de *kernel* de coco a ração aumentou a atividade plasmática de AST e ALT de ratos com essa alimentação durante um mês. No caso do protocolo agudo abordado nesse trabalho, suspeita-se que a inibição de enzimas-chaves no metabolismo lipídico nas primeiras 24 horas, principalmente a lipase lipoprotéica (JOHNSTON, 2010) somada a sobrecarga lipídica oriunda do tratamento com OCEV a 12 ml/Kg duas horas após a indução, podem ter sobrecarregado o tecido hepático e causado aumento das transaminases hepáticas, fato que provavelmente não ocorreu nas 24 horas seguintes devido a curta meia vida do poloxamer, em adição a maior re-expressão ou reversão da atividade (JOHNSTON, 2004) da LPL e de outras relacionadas ao metabolismo lipídico devido ao maior período de tempo transcorrido da injeção de P-407.

O perfil oxidativo dos camundongos dislipidêmicos teve piora, expressa por aumento dos níveis de TBARS e diminuição da atividade de catalase. O primeiro parâmetro se refere ao resultado da interação dos radicais livres com componentes lipídicos da membrana celular, levando a formação de dialdeídos, dentre eles o malonildialdeído (MDA), altamente reativos e tóxicos ao ponto de vista celular (JOHNSTON; ZHOU, 2007), o qual é dosado pela sua reação com ácido tiobarbitúrico. O segundo faz parte do sistema de defesa enzimático do organismo, agindo com o propósito de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o qual pode vir a gerar  $\bullet OH$ , altamente nocivo às células (BARBOSA et al., 2010).

Observou-se que houve uma redução significativa dos níveis de TBARS hepáticos no grupo experimental que foi tratado com a maior dose de OCEV (P+OC12). Nevin e Rajamohan, em trabalhos de 2004 e 2006, mostraram efeito redutor dos níveis de MDA, assim como efeito preventivo de oxidação de LDL em ratos alimentados com ração suplementada com óleo de coco virgem a 8% na ração por 45 dias. Mesmo com dieta hipercolesterolêmica (2% em peso), os níveis de TBARS reduziram-se de forma significativa

com *kernel* de coco a 40% em peso se comparado a dietas com amendoim, seja adicionada de colesterol ou não (AUGUSTI et al., 2001).

A atividade da catalase hepática mostrou-se restaurada na maior dose de óleo de coco, uma vez que sua atividade elevou-se em P+OC12 em comparação a P, embora o fenofibrato a 200 mg/Kg, após 48h da indução de dislipidemia e dois tratamentos anteriores ao sacrifício, não tenha se mostrado eficaz em causar o mesmo efeito. Embora seu mecanismo de ação de redução de triacilgliceróis seja pelo aumento de oxidação lipídica pelos peroxissomos hepáticos, e ocorra aumento da atividade de catalase nesse processo (KARAHANIAN et al., 2014), estudos recentes mostram que o tratamento mais prolongado com esse fármaco, de 14 dias a mais de 3 meses (KARAHANIAN et al., 2014; OLUKMAN et al., 2010; ZHOU; ZHOU, 2011) é realmente capaz de alterar a atividade enzimática de catalase. Pode-se inferir que a duração do tratamento nesse trabalho não foi suficientemente longo para causar tal eficácia, embora não tenha impedido sua ação hipolipidêmica no presente protocolo.

O óleo de coco virgem e sua porção insaponificável possuem poder de modular a atividade enzimática de catalase. Nair e colaboradores, 2015, mostraram que o tratamento por óleo de coco virgem durante 6 dias aumenta atividade de catalase hepática e renal em protocolo de indução de edema de pata por formalina, indicando que ele mantém o *status* redox normal nos camundongos e limitou substancialmente alterações por peroxidação lipídica. Estudo demonstra redução de TBARS e aumento de catalase em camundongos submetidos a protocolo de indução de artrite e tratados com porção polifenólica oriunda do óleo de coco virgem por 21 dias (VYSAKH et al., 2014). Arunima e Rajamohan, 2013, mostraram aumento dessa enzima em ratos pela adição de 8% em óleo de coco virgem na dieta, e consumo por 45 dias.

O potencial antioxidativo do OCEV parece estar relacionado com a porção insaponificável nele existente, rica em polifenóis, tais como os ácidos siríngico, caféico, para-coumárico e ferúlico, extensamente listada na literatura por seu potencial antioxidante (ARUNIMA; RAJAMOHAN, 2013).

Tanto a redução de TBARS quanto a restauração da atividade de catalase nesse trabalho parecem estar relacionadas diretamente com a presença desses constituintes, os quais prendem as espécies reativas de oxigênio no meio aquoso, como o plasma e fluido intersticial,

impedindo a oxidação do LDL e estabelecimento de sobrecarga oxidativa (TEBIB et al., 1994).

Outro protocolo abordado nesse estudo foi o da obesidade induzida. Embora a etiologia da obesidade seja complexa, diversos fatores foram envolvidos em seu desenvolvimento, especialmente a ingestão hipercalórica. Neste contexto, existem diversos modelos experimentais de obesidade, contudo, aquela induzida por dieta é o modelo experimental mais relevante em relação a essa morbidade (NASCIMENTO et al., 2011), e por esse motivo foi abordada neste trabalho.

A ração proposta por Estadella, 2004, é pelo menos 25% mais calórica e possui cerca de 35% mais teor lipídico que a ração convencional, o que ocasionou aumento na massa corporal e adiposa dos camundongos, além de hiperglicemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia quando comparamos aos animais de dieta normocalórica. Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Caleiro, 2012, no qual ratos machos e fêmeas receberam mesma dieta por 12 semanas consecutivas. Mali e colaboradores, 2013, confirmaram as mesmas alterações no peso e perfil bioquímico.

O peso dos animais foi analisado ao fim do experimento. Houve diferença de 20,73% de massa corporal entre DH e DN, indicando estabelecimento de obesidade (MELO, 2011). A sibutramina reduziu o peso significativamente em relação a DH. Nenhuma das doses de OCEV utilizadas nesse protocolo foi capaz de reduzir o peso dos animais. Outros estudos também não observaram redução do peso com suplementação de óleo de coco quando comparado a dieta enriquecida com óleo de amendoim (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004, 2006). Caleiro, 2012 também não observou redução do peso dos animais tratados com óleo de coco extra virgem.

O consumo de ração e água foi monitorado semanalmente durante a execução do protocolo. Foi constatado aumento significativo do consumo em DH e redução em DH+SIB, este último decorrente dos efeitos anorexígenos decorrentes do tratamento com sibutramina. Os resultados são similares aos encontrados na tese de Melo, 2011, que trabalhou com a mesma ração. Apenas DH+OC10 teve consumo reduzido em relação aos grupos que consumiram OCEV. É possível que o alto valor calórico, assim como o excesso lipídico dessa ração acabe por saciar os animais com menores quantidades ingeridas, o que se traduz em menor consumo semanal.

A ingestão de água também foi similar (MELO, 2011), embora DH+OC7,5 e DH+OC10 tenham mostrado consumo reduzido. É possível que seu consumo diminua de maneira diretamente proporcional a quantidade de óleo na dieta, devido, provavelmente, ao mesmo mecanismo de aumento de saciedade descrito para o consumo de ração.

A gordura abdominal dos animais foi removida e pesada em cada grupo experimental. Foi observado aumento gradual da massa adiposa animal diretamente proporcional ao acréscimo de óleo de coco na ração, sendo estatisticamente significativo em DH+OC7,5 e DH+OC10 em relação a DN. Os resultados corroboram com os encontrados por Caleiro, 2012, que ressalta que, mesmo benéfico ao perfil lipídico, o OCEV causa deposição de gordura abdominal, fator preditivo de doenças do coração. Embora esses resultados se contraponham àqueles encontrados por Liao e colaboradores, 2011, que notaram redução de gordura abdominal em humanos suplementados com óleo de coco virgem, ressalta-se que a suplementação foi curta em comparação ao protocolo abordado (apenas 30 dias).

Os resultados bioquímicos mostraram redução de glicemia em DH+OC5. Estudos (HAN et al., 2003; WEIN et al., 2009) sugerem que a suplementação de triacilgliceróis de cadeia média (TCM) aumenta a tolerância a glicose e sensibilidade de resposta a insulina, resultando em menores níveis de glicose circulantes e controle dos níveis pós-prandiais de triacilgliceróis.

Estudo de Perret, Guiffroy e Mottaz, 1983, propõem que ácidos graxos de cadeia média perfazem um importante papel na regulação de secreção de insulina em coelhos jovens, baseado na composição de seu leite e em respostas insulínicas melhores quando há adição de óleo de coco.

Mills; Ross; Van Amburgh, 2010, observaram redução dos níveis glicêmicos de bezerros suplementados com dieta rica em triacilgliceróis de ácido caprótico (C8:0) após desafio de insulina, que consiste na injeção de uma pequena dose desse hormônio a fim de observar seu efeito na glicose plasmática, ou seja, é uma forma de avaliar a resistência insulínica.

Sendo o óleo de coco composto por triacilgliceróis de ácidos graxos de cadeia média, os achados do presente estudo corroboram com os trabalhos referenciados.

O óleo de coco extra virgem teve efeito benéfico sobre o perfil lipídico dos camundongos em diferentes doses. Os níveis de triacilgliceróis reduziram-se

significativamente no grupo que ingeriu a ração contendo óleo de coco a 7,5% em peso, assim como os de colesterol total e colesterol não-HDL diminuíram em DH+OC5. Todos os grupos que consumiram o óleo tiveram aumento de HDL em relação a DH.

Caleiro, 2012, em trabalho com obesidade induzida por ração hipercalórica e tratamento a 1 ml/kg com OCEV por gavagem, observou redução dos triacilgliceróis plasmáticos e aumento dos níveis de HDL tanto em ratos machos quanto fêmeas em protocolo de obesidade por ração hipercalórica durante 12 semanas, os quais foram explicados pela presença de ácido oléico (C18:0), que, mesmo em baixas quantidades, promove redução dos triacilgliceróis e aumento dos níveis de HDL.

Estudos em humanos demonstraram que a suplementação com TCM reduziu, quando comparados a dietas com TCL, triacilgliceróis, LDL e gordura abdominal (KASAI et al., 2003; LIU et al., 2009). Nevin e Rajamohan, 2004, usando dose de 8% de óleo de coco incorporada a ração normocalórica, encontraram redução do colesterol total, triacilgliceróis, LDL e aumento de HDL em ratos submetidos a 45 dias dessa dieta. Tal concentração usada na ração é bastante semelhante a do presente trabalho, embora a composição final, valor calórico das dietas e tempo de consumo dos animais sejam diferentes entre si, o que sugere que o óleo de coco tenha efeito semelhante na concentração de triacilgliceróis plasmáticos nessa dose trabalhada para ambos os casos, de alteração na taxa de catabolismo lipídica, com influência do conteúdo insaponificável do óleo de coco virgem sobre a taxa de síntese e oxidação de ácidos graxos no fígado (NEVIN; RAJAMOHAN, 2004).

A atuação conjunta dos ácidos graxos de cadeia média e conteúdo insaponificável do OCEV sobre os receptores PPAR- $\alpha$  é possível de ter ocorrido nesse estudo. Pesquisa com avaliação de enzimas envolvidas na lipogênese de ratos com dieta adicionada de 8% de vários óleos vegetais, demonstrou que aquela com o óleo de coco virgem foi capaz de modular os níveis lipídicos e metabolismo de ácidos graxos pela regulação transcricional de enzimas peroxissomais e mitocondriais envolvidas em sua síntese e oxidação (ARUNIMA; RAJAMOHAN, 2014).

As concentrações reduzidas de colesterol por suplementação da dieta com OCEV a 5% podem ser explicadas pela presença do conteúdo insaponificável presente no óleo. Um de seus constituintes são os fitoesteróis, os quais bloqueiam competitivamente a absorção de colesterol a nível intestinal e aumentam a excreção fecal de ácidos biliares, melhorando o perfil lipídico e reduzindo o risco aterosclerótico (SKLAN; BUDOWSKI; HURWITZ, 1974),

além de aumentarem o transporte reverso de colesterol (TEBIB; BESANÇON; ROUANET, 1994). Tal mecanismo pode explicar, parcialmente, por que não houve redução dos níveis de colesterol no protocolo de dislipidemia, visto que essa condição foi alcançada por indução química e não por alimentação, ou seja, sem absorção de colesterol por via intestinal.

Os níveis de colesterol HDL aumentaram em todos os grupos tratados com óleo de coco extra virgem, e isso é devido a natureza química do óleo de coco, rico em gorduras saturadas, principalmente de cadeia média. Sabe-se que o consumo de ácidos graxos saturados aumentam HDL e não alteram a relação CT/HDL (SANTOS et al., 2013), sendo o ácido láurico um dos maiores responsáveis pelo seu aumento (MICHA; MOZAFFARIAN, 2010). O aumento de HDL é benéfico ao perfil lipídico, visto que inibe a oxidação de LDL, adesão de monócitos (subjacente ao processo aterosclerótico) inibição de disfunção endotelial e apoptose (FEIG; SHAMIR; FISHER, 2008).

Um resultado importante a se analisar é o colesterol não-HDL total, que está relacionado a quantidade circulante de lipoproteínas com potencial aterogênico, particularmente LDL, na ausência de hipertrigliceridemia (SPOSITO et al., 2007). Alguns trabalhos com animais (NEVIN; RAJAMOCHAN, 2009; SENEVIRATNE; KOTUWEGEDARA; EKANAYAKE, 2011) relataram resultados similares em ratos, quanto a redução de colesterol LDL e aumento nas concentrações de HDL, embora em diferentes doses do óleo de coco, o que se deve, provavelmente, às diferenças protocolares dos experimentos, que seguiram diferentes períodos de tempo de consumo, diferentes composições e valores calóricos da alimentação dos animais.

Foi observado aumento da atividade plasmática de ALT em todos os grupos experimentais que consumiram OCEV adicionado à ração hipercalórica, assim como de AST no grupo DH+OC10. É sabido que a ração hipercalórica, por si só, contém grande quantidade de amendoim torrado, que contém grande quantidade de óleo rico em ácidos graxos de cadeia longa, e chocolate ao leite, alimento bastante calórico. A adição de óleo de coco a essa dieta acaba por torná-la mais lipídica. Somado a isso temos o fato de os animais ficarem por período crônico de 15 semanas submetidos à alimentação unicamente dessa ração. Dessa forma, suspeita-se que o longo período de consumo associado a grande quantidade de lipídios em sua composição pode ter sobrecarregado os hepatócitos, levando ao aumento dessas enzimas no plasma.

A sibutramina aumentou a atividade de AST no grupo por ela tratado. Esse resultado corrobora com aqueles encontrados por Rao et al., 2011, em que o tratamento com essa droga por 15 semanas foi capaz de aumentar os níveis desse parâmetro bioquímico, e sugere mecanismo de hepatotoxicidade por conta do seu uso continuado e prolongado como agente anorexígeno.

Os níveis de TBARS foram reduzidos em DH+OC10, assim como a atividade hepática de catalase foi restabelecida em DH+OC5. A atividade antioxidante do óleo de coco virgem já foi reportada em vários artigos (ALVES et al., 2015; KAMISAH et al., 2015; YEAP et al., 2015), inclusive em trabalhos que incorporaram óleo na dieta de animais (ALVES et al., 2015; AUGUSTI et al., 2001; NEVIN; RAJAMOHAN, 2004, 2006, 2009). Esses trabalhos creditam tal atividade, principalmente, aos constituintes insaponificáveis presentes no óleo de coco virgem, que poderiam estar melhorando o perfil oxidativo dos grupos experimentais.

Embora haja diferença entre as doses e os efeitos benéficos nos grupos experimentais (catalase teve melhora em DH+OC5 e TBARS, em DH+OC10), especula-se que a maior redução de TBARS em DH+OC10, deveu-se ao consumo reduzido de ração em relação aos outros grupos que consumiam óleo de coco (29,48% menor em relação a DH+OC5 e 24,67% menor em relação a DH+OC7,5), mas com maior concentração de OCEV, o que acarretou maior aporte de óleo de coco por grama de alimento e, por conseguinte, maior ação antioxidante.

## 8. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, foi observado que o óleo de coco extra virgem trouxe benefícios ao perfil lipídico de camundongos dislipidêmicos por poloxamer P-407 por reduzir significativamente os níveis de triacilgliceróis circulantes em todas as três doses estudadas, embora não tenha havido redução na glicemia nem no colesterol total dos animais.

A função hepática dos animais submetidos a protocolo de dislipidemia mostrou-se regular ao final do experimento, sendo medida através das atividades plasmáticas de AST e ALT. Acredita-se que o aumento repentino nas primeiras 24 horas dos níveis enzimáticos se deve ao aporte de grande quantidade de óleo em conjunto com a inibição de várias enzimas do metabolismo lipídico resultante da aplicação do poloxamer P-407.

A reversão de estado induzido de estresse oxidativo por dislipidemia, medido através da dosagem de TBARS e atividade de catalase, ocorreu com tratamento com OCEV em sua maior dose nesse protocolo, 12 mililitros por quilograma.

O consumo de ração e água dos camundongos submetidos à indução de obesidade por ração hipercalórica foi semelhante estatisticamente, com exceção daqueles tratados por sibutramina, droga redutora do apetite, e dos que consumiram maior quantidade de óleo de coco extra virgem por quantidade de ração, DH+OC10. É proposto que o excesso calórico e lipídico decorrente do acréscimo de OCEV a 10% em peso da ração hipercalórica seja responsável pelo aumento da saciedade e redução do consumo de água potável dos animais.

O OCEV teve efeitos benéficos sobre o perfil lipídico dos camundongos submetidos a indução de obesidade por dieta hipercalórica, embora em doses diferentes para vários analitos bioquímicos estudados. A glicemia e os níveis de colesterol total reduziram-se em DH+OC5, ao passo que os triacilgliceróis totais, em DH+OC7,5. Todos os grupos tratados com óleo de coco observaram aumento dos níveis de HDL estatisticamente significativo, embora apenas DH+OC5 tivesse melhor perfil colesterolêmico, ou seja, menor quantidade de colesterol não-HDL em relação aos outros grupos experimentais desse experimento.

A análise do perfil hepático dos animais submetidos a protocolo de indução de obesidade foi avaliada por atividade de AST e ALT plasmáticos. Os grupos tratados com OCEV tiveram seus níveis de ALT aumentados, assim como DH+OC10 também teve acréscimo de AST. Embora seus níveis tenham aumentado significativamente em relação aos

animais em dieta normocalórica, os valores atingidos foram menos que o dobro se comparado ao desses animais, o que sugere baixa toxicidade. Contudo, parece que o uso continuado do óleo de coco associado à dieta hipercalórica pode causar problemas ao metabolismo do fígado a longo prazo.

A atividade antioxidante do OCEV em protocolo de indução de obesidade foi observada em camundongos tratados, contudo em doses diferentes, o que sugere que o tempo de protocolo e a quantidade consumida de óleo de coco parecem ser cruciais no efeito final sobre o parâmetro de estresse oxidativo analisado.

Dessa forma, o óleo de coco extra virgem parece possuir efeitos benéficos sobre o perfil lipídico e oxidativo de camundongos dislipidêmicos e obesos, e pode contribuir para o tratamento dessas morbidades.

## REFERÊNCIAS

- AFIFI, M. M.; ABBAS, A. M. Monosodium glutamate versus diet induced obesity in pregnant rats and their offspring. **Acta physiologica Hungarica**, v. 98, n. 2, p. 177–188, 2011.
- AGERO, A. L.; VERALLO-ROWELL, V. M. A randomized double-blind controlled trial comparing extra virgin coconut oil with mineral oil as a moisturizer for mild to moderate xerosis. **Dermatitis**, v. 15, n. 3, p. 109–116, 2004.
- ALBERTI, K. G.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association**, v. 15, n. 7, p. 539–553, 1998.
- ALCÂNTARA NETO, O. D. DE et al. Fatores associados à dislipidemia em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, n. 2, p. 335–345, jun. 2012.
- ALVES, N. F. B. et al. Coconut oil supplementation and physical exercise improves baroreflex sensitivity and oxidative stress in hypertensive rats. **Applied physiology, nutrition, and metabolism. Physiologie appliquée, nutrition et métabolisme**, v. 40, n. 4, p. 393–400, abr. 2015.
- ARUNIMA, S.; RAJAMOCHAN, T. Virgin coconut oil improves hepatic lipid metabolism in rats--compared with copra oil, olive oil and sunflower oil. **Indian journal of experimental biology**, v. 50, n. 11, p. 802–9, nov. 2012.
- ARUNIMA, S.; RAJAMOCHAN, T. Effect of virgin coconut oil enriched diet on the antioxidant status and paraoxonase 1 activity in ameliorating the oxidative stress in rats - a comparative study. **Food & function**, v. 4, n. 9, p. 1402–9, set. 2013.
- ARUNIMA, S.; RAJAMOCHAN, T. Influence of virgin coconut oil-enriched diet on the transcriptional regulation of fatty acid synthesis and oxidation in rats - a comparative study. **The British journal of nutrition**, v. 111, n. 10, p. 1782–90, 28 maio 2014.
- ASSUNÇÃO, M. L. et al. Effects of dietary coconut oil on the biochemical and anthropometric profiles of women presenting abdominal obesity. **Lipids**, v. 44, n. 7, p. 593–601, 2009.
- AUGUSTI, K. T. et al. Beneficial effects of garlic (*Allium sativum* Linn) on rats fed with diets containing cholesterol and either of the oil seeds, coconuts or groundnuts. **Indian journal of experimental biology**, v. 39, n. 7, p. 660–7, jul. 2001.
- BABU, A. S. et al. Virgin coconut oil and its potential cardioprotective effects. **Postgraduate medicine**, v. 126, n. 7, p. 76–83, nov. 2014.
- BALLANTYNE, C. M.; JR., J. H. O.; JR., A. M. G. **Dyslipidemia & Atherosclerosis Essentials 2009**. [s.l: s.n.].

BARBOSA, D. C. L. **Indicadores antropométricos de risco cardiovascular em adultos.** [s.l.] Universidade de Brasília, 19 jul. 2013.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo : conceito , implicações e fatores modulatórios  
Oxidative stress : concept , implications. v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, p. 248–54, 7 maio 1976.

CALEIRO, E. M. **Efeito da suplementação de óleo de coco extra virgem sobre parâmetros clínicos e laboratoriais de ratos com obesidade induzida por dieta de cafeteria.** [s.l.] Universidade do Oeste Paulista, 2012.

CHAN, E.; ELEVITCH, C. R. **Species profiles for pacific island agroforestry.** Disponível em: <<http://www.agroforestry.org/images/pdfs/Cocos-coconut.pdf>>. Acesso em: 1 out. 2014.

CHAUDHARY, H. R.; BROCKS, D. R. The single dose poloxamer 407 model of hyperlipidemia; systemic effects on lipids assessed using pharmacokinetic methods, and its effects on adipokines. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société canadienne des sciences pharmaceutiques**, v. 16, n. 1, p. 65–73, jan. 2013.

COLLEONE, V. V. . et al. **Aplicações clínicas dos ácidos graxos de cadeia média.** São Paulo: [s.n.].

CUNNINGHAM, E. Is there science to support claims for coconut oil? **Journal of the American Dietetic Association**, v. 111, n. 5, p. 786, maio 2011.

DE FERRANTI, S.; MOZAFFARIAN, D. The perfect storm: Obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. **Clinical Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 945–955, 2008.

DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (Cocos nucifera L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 241–247, 2011.

DONALDSON, J. et al. The effect of different high-fat diets on erythrocyte osmotic fragility, growth performance and serum lipid concentrations in male, Japanese quail ( Coturnix coturnix japonica ). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 2, p. 281–289, 22 abr. 2015.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 421–31, jan. 1990.

ESTADELLA, D. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 20, n. 2, p. 218–24, fev. 2004.

FEIG, J. E.; SHAMIR, R.; FISHER, E. A. Atheroprotective effects of HDL: beyond reverse cholesterol transport. **Current drug targets**, v. 9, n. 3, p. 196–203, mar. 2008.

FERNANDES, R. A. et al. Prevalência de dislipidemia em indivíduos fisicamente ativos durante a infância, adolescência e idade adulta. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 97, n. 4, p. 317–323, out. 2011.

FERREIRA, A. M. D.; BARBOSA, P. E. B.; CEDDIA, R. B. The influence of medium-chain triglycerides supplementation in ultra-endurance exercise performance. **Rev Bras Med Esporte**, v. 9, n. 6, p. 420–425, 2003.

FUNARI, C. S. et al. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: Estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1605–1609, 2013.

GHOSH, D. K. et al. A simpler approach to understand coronary heart disease, fat facts and its correlation with consumption of coconut oil. **Indian Coconut Journal**, p. 15–19, 2008.

GIGANTE, D. P.; MOURA, E. C. DE; SARDINHA, L. M. V. Prevalência de excesso de peso e obesidade e fatores associados, Brasil, 2006. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, p. 83–89, nov. 2009.

GLANDT, M.; RAZ, I. **Present and future: Pharmacologic treatment of obesity** *Journal of Obesity* Hindawi Publishing Corporation, , 2011.

GOWDY, K. M.; FESSLER, M. B. Emerging roles for cholesterol and lipoproteins in lung disease. **Pulmonary pharmacology & therapeutics**, v. 26, n. 4, p. 430–7, ago. 2013.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of Mitochondrial Oxidative Damage As A Therapeutic Strategy in Diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. SUPPL. 1, p. 110–118, 2004.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British journal of pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–255, 2004.

HAMMER, K. A. .; CARSON, C. F. **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2011.

HAN, J. et al. Medium-chain oil reduces fat mass and down-regulates expression of adipogenic genes in rats. **Obesity research**, v. 11, n. 6, p. 734–44, jun. 2003.

HANSSON, G. K. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease — NEJM. **N Engl J Med**, v. 352, n. 16, p. 1685–95, 2005.

HU, J.-N. et al. Anti-obesity effects of escins extracted from the seeds of *Aesculus turbinata* BLUME (Hippocastanaceae). **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 56, n. 1, p. 12–16, 2008.

JAKOBSEN, M. U. et al. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. **The American journal of clinical nutrition**, v. 89, n. 5, p. 1425–1432, 2009.

- JOHNSTON, T. P. et al. Sex does not seem to influence the formation of aortic lesions in the P-407-induced mouse model of hyperlipidemia and atherosclerosis. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 39, n. 3, p. 404–411, 2002.
- JOHNSTON, T. P. The P-407-induced murine model of dose-controlled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 43, n. 4, p. 595–606, abr. 2004.
- JOHNSTON, T. P. Poloxamer 407 as a general lipase inhibitor: its implications in lipid metabolism and atheroma formation in C57BL/6 mice. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 62, n. 12, p. 1807–12, dez. 2010.
- JOHNSTON, T. P.; ZHOU, X. Oxidation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Following Administration of Poloxamer 407 to Mice Results From an Indirect Effect. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 49, n. 4, p. 246–252, abr. 2007.
- KAMISAH, Y. et al. Cardioprotective effect of virgin coconut oil in heated palm oil diet-induced hypertensive rats. **Pharmaceutical biology**, v. 53, n. 9, p. 1243–9, set. 2015.
- KARAHANIAN, E. et al. Fenofibrate--a lipid-lowering drug--reduces voluntary alcohol drinking in rats. **Alcohol (Fayetteville, N.Y.)**, v. 48, n. 7, p. 665–70, nov. 2014.
- KASAI, M. et al. Effect of dietary medium- and long-chain triacylglycerols (MLCT) on accumulation of body fat in healthy humans. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 12, n. 2, p. 151–60, jan. 2003.
- KAUR, T.; SURI, S.; ISSER, H. S. Effect of canola oil on serum lipid levels of dyslipidemic patients. **J. Preventive Cardiology**, v. 2, n. 3, p. 306–317, 2013.
- KERSTEN, S.; DESVERGNE, B.; WAHLI, W. Roles of PPARs in health and disease. **Nature**, v. 405, n. 6785, p. 421–4, 25 maio 2000.
- KOROLENKO, T. A. et al. Effect of poloxamer 407 administration on the serum lipids profile, anxiety level and protease activity in the heart and liver of mice. **Interdisciplinary toxicology**, v. 6, n. 1, p. 18–25, mar. 2013.
- LAWRENCE, G. D. Dietary fats and health: dietary recommendations in the context of scientific evidence. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 4, n. 3, p. 294–302, 2013.
- LEE, Y. S. et al. Effects of poloxamer 407-induced hyperlipidemia on the pharmacokinetics of carbamazepine and its 10,11-epoxide metabolite in rats: Impact of decreased expression of both CYP3A1/2 and microsomal epoxide hydrolase. **European Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 6, p. 431–440, jun. 2012.
- LEHTO, S. et al. Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-aged patients with NIDDM. **Diabetes**, v. 46, n. 8, p. 1354–1359, 1997.
- LI, H.; HORKE, S.; FÖRSTERMANN, U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 237, n. 1, p. 208–219, 2014.

LI, X. et al. Acute and subacute toxicological evaluation of scutellarin in rodents. **Regulatory toxicology and pharmacology : RTP**, v. 60, n. 1, p. 106–11, jun. 2011.

LIAU, K. M. et al. An Open-Label Pilot Study to Assess the Efficacy and Safety of Virgin Coconut Oil in Reducing Visceral Adiposity. **ISRN Pharmacology**, v. 2011, p. 1–7, 2011.

LIMA, P.; DUARTE, S. Prevalência de obesidade em idosos e sua relação com hipertensão e diabetes. **InterScientia**, v. 1, n. 3, p. 80–92, 2013.

LIPOETO, N. I. et al. Dietary intake and the risk of coronary heart disease among the coconut-consuming Minangkabau in West Sumatra, Indonesia. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 13, n. 4, p. 377–384, 2004.

LIU, Y. et al. A good response to oil with medium-and long-chain fatty acids in body fat and blood lipid profiles of male hypertriglyceridemic subjects. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 18, n. 3, p. 351–358, 2009.

MABEKU, L. B. K. et al. Toxicological evaluation of ethyl acetate extract of *Cylicodiscus gabunensis* stem bark (Mimosaceae). **Journal of ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 598–606, 22 maio 2007.

MAEHLY, A. C.; CHANCE, B. The assay of catalases and peroxidases. **Methods of biochemical analysis**, v. 1, p. 357–424, jan. 1954.

MAGALHÃES, M. E. C. Novas perspectivas no tratamento das dislipidemias. **Rev. SOCERJ**, v. 17, n. 2, p. 105–111, 2004.

MALI, P. Y. et al. Anti-obesity activity of chloroform-methanol extract of *Premna integrifolia* in mice fed with cafeteria diet. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 5, n. 3, p. 229–36, jul. 2013.

MARINA, A. M.; CHE MAN, Y. B.; AMIN, I. Virgin coconut oil: emerging functional food oil. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 10, p. 481–487, 2009.

MELO, C. L. DE. **Estudo do potencial terapeutico dos triterpenos pentacíclicos no tratamento da obesidade**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2011.

MICHA, R.; MOZAFFARIAN, D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. **Lipids**, v. 45, n. 10, p. 893–905, out. 2010.

MILLS, J. K.; ROSS, D. A.; VAN AMBURGH, M. E. The effects of feeding medium-chain triglycerides on the growth, insulin responsiveness, and body composition of Holstein calves from birth to 85 kg of body weight. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 9, p. 4262–73, set. 2010.

MORRIS, A. A.; VACCARINO, V. Evidence Linking Mental Health with Obesity and Metabolic Syndrome: The Role of Inflammation. **Current Nutrition Reports**, v. 2, n. 4, p. 181–188, 27 set. 2013.

- MÜLLER, H. et al. A diet rich in coconut oil reduces diurnal postprandial variations in circulating tissue plasminogen activator antigen and fasting lipoprotein (a) compared with a diet rich in unsaturated fat in women. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 11, p. 3422–7, nov. 2003.
- MUSHTAQ, G. et al. Alzheimer's disease and type 2 diabetes via chronic inflammatory mechanisms. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 4–13, 2014.
- NAIR, S. S. et al. Virgin coconut oil supplementation ameliorates cyclophosphamide-induced systemic toxicity in mice. **Human & experimental toxicology**, 24 mar. 2015.
- NASCIMENTO, T. B. et al. Vascular alterations in high-fat diet-obese rats: role of endothelial L-arginine/NO pathway. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 97, n. 1, p. 40–5, jul. 2011.
- NEVIN, K. G.; RAJAMOCHAN, T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 9, p. 830–835, 2004.
- NEVIN, K. G.; RAJAMOCHAN, T. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. **Food Chemistry**, v. 99, n. 2, p. 260–266, 2006.
- NEVIN, K. G.; RAJAMOCHAN, T. Influence of virgin coconut oil on blood coagulation factors, lipid levels and LDL oxidation in cholesterol fed Sprague–Dawley rats. **e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 3, n. 1, p. e1–e8, fev. 2008.
- NEVIN, K. G.; RAJAMOCHAN, T. Wet and dry extraction of coconut oil: impact on lipid metabolic and antioxidant status in cholesterol coadministered rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 87, n. 8, p. 610–616, ago. 2009.
- NMCE. Report on Copra. **National Multi Commodity Exchange of India Limited**, p. 1–14, 2007.
- OLUKMAN, M. et al. Fenofibrate treatment enhances antioxidant status and attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Experimental diabetes research**, v. 2010, p. 82–92, jan. 2010.
- OMS. OMS | **Enfermedades cardiovasculares**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>>.
- OPIE, L. H. Metabolic syndrome. **Circulation**, v. 115, n. 3, p. 32–5, 23 jan. 2007.
- OTUNOLA, G. A. et al. Effects of diet-induced hypercholesterolemia on the lipid profile and some enzyme activities in female Wistar rats. **African Journal of Biochemistry Research Academic Journals**, 2010.
- PERRET, J. P.; GUIFFRAY, N.; MOTTAZ, P. Stimulation of insulin secretion by medium-chain fatty acids in the diet of young rabbits. **Annals of nutrition & metabolism**, v. 27, n. 2, p. 153–61, jan. 1983.

- PISAREVA, E. E. et al. Role of changes in serum chitotriosidase activity in mice under conditions of hyperlipidemia and lipid-lowering effect of carboxymethylated (1-3)- $\beta$ -D-glycan. **Bulletin of experimental biology and medicine**, v. 157, n. 5, p. 555–9, set. 2014.
- PUHL, R. M.; HEUER, C. A. The stigma of obesity: a review and update. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 17, n. 5, p. 941–964, 2009.
- RAO, V. S. et al. Ursolic acid, a pentacyclic triterpene from *Sambucus australis*, prevents abdominal adiposity in mice fed a high-fat diet. **Journal of medicinal food**, v. 14, n. 11, p. 1375–82, nov. 2011.
- SANG, H. et al. Walk-Run Training Improves the anti-inflammation Properties of High-Density Lipoprotein in the Patients with Metabolic Syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, p. 1–9, 16 dez. 2014.
- SANTOS, R. D. et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 1, p. 1–40, 2013.
- SENEVIRATNE, K. N.; KOTUWEGEDARA, R. T.; EKANAYAKE, S. Serum cholesterol and triglyceride levels of rats fed with consumer selected coconut oil blends. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 4, p. 1303–1308, 2011.
- SHARMA, R.; MOFFATT, R. J. DIET AND NUTRITION THERAPY IN DYSLIPIDEMIA. In: **Diet and nutrition therapy in dyslipidemia management**. [s.l.: s.n.]. p. 978–953.
- SIASOS, G. et al. Inflammatory markers in hyperlipidemia: from experimental models to clinical practice. **Current pharmaceutical design**, v. 17, n. 37, p. 4132–46, dez. 2011.
- SILVA, S. M. C. S. DA; MURA, J. D. P. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.
- SINAIKO, A. Obesity, insulin resistance and the metabolic syndrome. **Jornal de pediatria**, v. 83, n. 1, p. 3–4, 2007.
- SKLAN, D.; BUDOWSKI, P.; HURWITZ, S. Effect of soy sterols on intestinal absorption and secretion of cholesterol and bile acids in the chick. **The Journal of nutrition**, v. 104, n. 8, p. 1086–90, ago. 1974.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. V Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 101, n. 4, 2013.
- SPOSITO, A. C. et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 2–19, abr. 2007.
- STONE, N. J. et al. Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk in Adults: Synopsis of the 2013 ACC/AHA Cholesterol Guideline. **Annals of internal medicine**, v. 160, n. 5, p. 339–343–343, 2014.

SUR, G. et al. The Relevance of Inflammatory Markers in Metabolic Syndrome. **Maedica - A Journal of clinical Medicine**, v. 9, n. 1, p. 15–18, 2014.

TEBIB, K. et al. Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. **Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 403–406, jan. 1994.

TEBIB, K.; BESANÇON, P.; ROUANET, J. M. Dietary grape seed tannins affect lipoproteins, lipoprotein lipases and tissue lipids in rats fed hypercholesterolemic diets. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. 12, p. 2451–7, dez. 1994.

TERAMOTO, T. et al. Effects of bezafibrate on lipid and glucose metabolism in dyslipidemic patients with diabetes: the J-BENEFIT study. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, n. 1, p. 29, 2012.

THANAN, R. et al. Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 1, p. 193–217, jan. 2014.

THOLSTRUP, T. et al. Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 4, p. 564–569, 2004.

VAIDYA, H. et al. Antihyperlipidaemic activity of swertiamarin, a secoiridoid glycoside in poloxamer-407-induced hyperlipidaemic rats. **Journal of natural medicines**, v. 63, n. 4, p. 437–42, out. 2009.

VILLARINO, B. J.; DY, L. M.; LIZADA, M. C. C. Descriptive sensory evaluation of virgin coconut oil and refined, bleached and deodorized coconut oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 193–199, 2007.

VYSACKH, A. et al. Polyphenolics isolated from virgin coconut oil inhibits adjuvant induced arthritis in rats through antioxidant and anti-inflammatory action. **International immunopharmacology**, v. 20, n. 1, p. 124–30, maio 2014.

WANG, J. et al. Effects of Dietary Coconut Oil as a Medium-chain Fatty Acid Source on Performance, Carcass Composition and Serum Lipids in Male Broilers. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 28, n. 2, p. 223–30, fev. 2015.

WASAN, K. M. et al. Poloxamer 407-mediated alterations in the activities of enzymes regulating lipid metabolism in rats. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société canadienne des sciences pharmaceutiques**, v. 6, n. 2, p. 189–97, jan. 2003.

WEIN, S. et al. Medium-chain fatty acids ameliorate insulin resistance caused by high-fat diets in rats. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 25, n. 2, p. 185–94, fev. 2009.

XIE, X. et al. Influence of the core circadian gene Clock on obesity and leptin resistance in mice. **Brain Research**, v. 1491, p. 147–155, 2013.

YAMANO, Y.; MIYAKAWA, S.; NAKADATE, T. Association of arteriosclerosis index and oxidative stress markers in school children. **Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society**, 1 dez. 2014.

YEAP, S. K. et al. Antistress and antioxidant effects of virgin coconut oil in vivo. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 9, n. 1, p. 39–42, jan. 2015.

YONG, J. W. H. et al. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 14, n. 12, p. 5144–5164, 2009.

ZAKARIA, Z. A et al. In vivo antinociceptive and anti-inflammatory activities of dried and fermented processed virgin coconut oil. **Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre**, v. 20, n. 3, p. 231–6, jan. 2010.

ZANWAR, A. A. et al. Isolation, characterization and antihyperlipidemic activity of secoisolariciresinol diglucoside in poloxamer-407-induced experimental hyperlipidemia. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 9, p. 1094–1103, set. 2014.

ZAROUNA, S.; GRETA, W.; PAPACHRISTOU, A. I. Mood disorders: A potential link between ghrelin and leptin on human body? **World Journal of Experimental Medicine**, v. 5, n. 2, p. 103–110, 2015.

ZHOU, J.-Y.; ZHOU, S.-W. Protective effect of berberine on antioxidant enzymes and positive transcription elongation factor b expression in diabetic rat liver. **Fitoterapia**, v. 82, n. 2, p. 184–9, mar. 2011.