

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO
ÓLEO FIXO DE *EUTERPE OLERACEA* MART.**

Hugo Alexandre Silva Favacho

BELÉM – PA
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO
ÓLEO FIXO DE *EUTERPE OLERACEA* MART.**

Autor: Hugo Alexandre Silva Favacho

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Pegentino José Cunha de Sousa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de Concentração: Fármacos e medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá**

Favacho, Hugo Alexandre Silva

Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo de *Euterpe oleracea* Mart. / Hugo Alexandre Silva Favacho; orientador José Carlos Tavares Carvalho; co-orientador Pegentino José Cunha de Sousa. Macapá, 2009.

67 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. *Euterpe oleracea* Mart. – Características Fitoquímicas. 2. Antinociceptivo. 3. Anti-inflamatório. 4. Óleo fixo dos frutos. I. Carvalho, José Carlos Tavares, orient. II. Sousa, Pegentino José Cunha de, co-orient. III. Título.

CDD. 22.ed. 615.32

FOLHA DE APROVAÇÃO

Hugo Alexandre Silva Favacho

Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo de *Euterpe oleracea* Mart.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Fármacos e medicamentos

Aprovado em:

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assintatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assintatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assintatura: _____

DEDICATÓRIA

Em especial aos meus queridos pais, Augusto e Socorro Favacho, pelo carinho, confiança e sabedoria, pela dedicação de parte de suas vidas às minhas realizações, e ainda, pelo valioso apoio em todos os momentos e incentivos em todas as escolhas que eu fiz.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que tornou possível vencer os obstáculos e concretizar esse sonho.

A meus pais, Augusto e Socorro Favacho, pela amizade, segurança, compreensão e incentivo que sempre me confortaram, pelo exemplo de dignidade e caráter e por ter imprimido em mim o desejo de crescer.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho, pela orientação, apoio, estímulo e confiança a mim depositada, e pela amizade.

A Priscila Borges, por iluminar minha vida com seu amor e companheirismo, sendo meu porto seguro nas adversidades e minha alegria em todos os momentos, sempre com carinho, apoio, compreensão e paciência nos momentos de ausência.

Aos meus irmãos Higo, Hungra e Hanna, pelo apoio e pelos momentos de alegria.

Pelo suporte nos estudos, muitos livros, artigos e paciência, agradeço aos colegas e amigos Anderson, Luciana, Bruno e Maxwell.

Ao Prof. Dr. Pergentino Cunha, pelas orientações e sugestões que foram de grande valia para a realização deste trabalho.

Ao extraordinário grupo de pesquisa Laboratório de Fármacos, em especial aos meus amigos e colegas: Benedito, Carol, Clarissa, Raiza, Aline, Kellen e Prof. Messias, pelos diversos momentos de solidariedade, com total apoio a este projeto, onde tanto me auxiliaram nos experimentos.

Aos funcionários da Universidade Federal do Amapá e da Universidade Federal do Pará pela atenção que me dispensaram.

Ao IEPA, em especial ao Dr. Benedito, Ediluce, Francineide, Vitória, Sônia, Albenise, Teca, Cléia, Maurício e José Newton pelo amplo incentivo e apoio, sempre em busca de melhor qualificar profissionalmente os servidores desta Instituição de Pesquisa.

"Um povo sem conhecimento, saliência de seu passado histórico, origem e cultura, é
como uma árvore sem raízes."

Bob Marley

RESUMO

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO FIXO DE *EUTERPE OLERACEA* MART.

Euterpe oleracea Mart. é uma típica palmeira da Amazônia, que cresce espontaneamente nos estados do Pará e Amapá, apreciada por sua atrativa beleza e valor nutricional. O fruto de *Euterpe oleracea*, comumente conhecido como açaí, tem demonstrado exibir significativa capacidade anti-oxidante *in vitro*, o que pode ter benefícios à saúde. Estudos químicos revelaram a presença de ácidos graxos, antocianinas e esteróides. O objetivo deste trabalho foi caracterizar fitoquimicamente o óleo fixo dos frutos desta espécie (OEO) e avaliar em modelos inflamatórios e hiperalgésicos *in vivo*, o possível envolvimento dos compostos nas respostas inflamatória e analgésica. Para tanto, os modelos experimentais usados foram: teste de contorção induzida por ácido acético, edema de pata de rato, teste do granuloma em ratos, permeabilidade vascular em ratos, migração leucocitária em ratos e eritema de orelha induzida por óleo de cróton em camundongos. Doses orais de 500, 1000 e 1500 mg/kg de OEO inibiu o número de contorções em 33,67%, 45,88% e 55,58, respectivamente. O OEO produziu efeito dose-dependente, e a dose média efetiva encontrada foi de 1226,8mg/kg. Com a administração oral da dose de 1226,8 mg/kg, o OEO inibiu o processo inflamatório em 29,18% quando comparado ao grupo controle. A administração diária de OEO por 6 dias inibiu a formação do tecido granulomatoso em 36,66%. No eritema de orelha por óleo de cróton, o OEO provocou efeito inibitório significativo em 37,9%. No teste de permeabilidade vascular, o OEO inibiu a permeabilidade vascular em 54,5%. Na peritonite induzida por carragenina, o OEO reduziu o número de neutrófilos quando comparado ao grupo controle (inibição de 80,14%). A partir dos resultados obtidos, sugere-se que o OEO apresenta atividade anti-inflamatória, sobre os processos inflamatórios agudo e crônico, e atividade antinociceptiva, provavelmente de origem periférica.

Palavras chaves: antinociceptivo; anti-inflamatório; *Euterpe oleracea* Mart. e óleo fixo dos frutos.

ABSTRACT

Phytochemical analysis and evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of oil fixed of *Euterpe oleracea*

Euterpe oleracea Mart. Is a typical palm tree from the Amazon, growing spontaneously in Pará and Amapá States, appreciated for its attractive beauty and for nutritional purposes. The fruit of *Euterpe oleracea*, commonly known as açai, has been demonstrated to exhibit significantly high antioxidant capacity in vitro, and, therefore, may have possible health benefits. Phytochemical studies have revealed the presence of fatty acids, anthocyanins and steroids. The aim of this work was study the fatty oil of this species (OEO) on inflammatory and hyperalgesic models in vivo, in order to detect the possible involvement of its compounds on the inflammatory and algesic responses. The following experimental models were used: writhing test in mouse, rat paw edema, granulomas testing rat, vascular permeability in rat, migration test in rats and ear erythema by croton oil in mice. The oral doses of 500, 1000 and 1500 mg/kg of OEO inhibited the number of writhes by 33,67%, 45,88% and 55,58%, respectively. The OEO produced dose-dependent effect, and the median effective dose (ED_{50}) was 1226,8mg/kg, the OEO inhibited the inflammatory process by 29,18% on the 4 hour of the assay (edema peak) when compared to the untreated control. The daily administration of OEO for 6 days inhibited the granulomatous tissue formation in 36,66%. In the ear erythema by croton oil, the OEO, provoked the significant inhibitory effect of 37.9%. In the vascular permeability test, the OEO inhibited the vascular permeability in 54.5%. Pretreatment (60min) of rats with OEO significantly decreased neutrophil migration on carrageenan-induced peritonitis (with inhibition of 80.14%). The results suggest that OEO shows anti-inflammatory activity in both acute and chronic inflammatory processes, and analgesic activity, probably of peripheral origin.

Keywords: Antinociceptive; anti-inflammatory; *Euterpe oleracea* Mart. e fruit-fixed oil

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Cromatograma obtido por cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massa Shimatzu, para caracterização e quantificação dos ácidos graxos do óleo fixo de <i>Euterpe oleracea</i>	48
Figura 2: Determinação da dose efetiva 50 no teste de contorções em camundongos por ácido acético.....	50
Figura 3: Efeito da administração (v.o.) do OEO (500, 1000 e 1500 mg/kg), Indometacina (10 mg/kg) e água destilada (0,5 mL) sobre as contorções em camundongos induzidas por injeção i.p. de ácido acético 1%.....	51
Figura 4: Efeito da administração por via oral de OEO (1226,8 mg/kg), Indometacina (10mg/kg) e água destilada (0,5mL) sobre o edema de pata de rato, induzido pela injeção intraplantar de carragenina (1000µg/pata).....	52
Figura 5: Efeito da administração (v.o) de OEO (1226,6 mg/kg), água destilada (0,5mL) e dexametasona (0,2mg/kg), durante seis dias sobre a formação do tecido granulomatoso.....	53
.	
Figura 6: Efeito da administração (v.o) do OEO (1226,8mg/kg) e dexametasona (0,5mg/kg) sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos.....	54
Figura 7: Efeito da administração (v.o.) do OEO (1226,8 mg/kg) e dexametasona (0,5 mg/kg), sobre a migração de neutrófilos para cavidade peritoneal de ratos, induzido por 3 mL de carragenina (100µg/mL).....	55

Figura 8: Efeito da administração (v.o.) de OEO (1226,8mg/kg, indometacina (10mg/kg) e água destilada, na permeabilidade vascular induzida por histamina..... 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Identificação dos picos do cromatograma tomando-se como base o tempo de retenção dos componentes.....

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5 – HETE	Ácido 5-hidroxi-eicosatetraenóico
5 – HT	Serotonina ou 5-hidroxitriptamina
AA	Ácido araquidônico
ANOVA	Teste estatístico paramétrico
B1	Receptores de bradicinina tipo 1
B2	Receptores de bradicinina tipo 2
BK	Bradicinina
C3a	Componente do complemento C3a
C5a	Componente do complemento C5a
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
COX	Ciclooxigenase
COX - 1	Ciclooxigenase tipo 1
COX - 2	Ciclooxigenase tipo 2
DHA	Ácido docosahexaenóico
eNOS	Óxido nítrico sintetase endotelial
EPA	Ácido eicosapentanoico
FLA ₂	Fosfolipase A ₂
GPCRs	Receptores acoplados a proteína G
HIS	Histamina
IgE	Imunoglobulina tipo E
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida
LOX	lipooxigenase
LT	Leucotrienos
LTB4	Leucotrienos B4
LXA	Lipoxinas
MAC	Complexo de ataque à membrana
nNOS	Óxido nítrico sintase neural
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PAF	Fator ativador de plaquetas
PARP	Polimerase poli ADP-ribose
PG	Prostaglandina
PGD ₂	Prostaglandina D ₂
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGHS	Prostaglandina H Sintase
PGI ₂	Prostaciclina 2
PGT	Transportadores de prostaglandinas
PMN	Receptores polimodais

SC	Sistema complemento
TNF - α	Fator de necrose tumoral tipo α
TX	Tromboxanos
ω -3	Ômega 3
ω -6	Ômega 6

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	18
2.1.1	ASPECTOS BOTÂNICOS.....	18
2.1.2	ASPECTOS SÓCIO-ECONÔMICOS.....	19
2.1.3	COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO AÇAÍ (<i>E. OLERACEA</i>).....	20
2.1.4	ÁCIDOS GRAXOS.....	21
2.1.4.1	Interferência de ácidos graxos sobre o processo inflamatório.....	22
2.1.5	USOS TERAPÊUTICOS DE <i>EUTERPE OLERACEA</i>	23
2.2	Processo inflamatório	24
2.2.1	MEDIADORES DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA.....	27
2.2.1.1	Cininas.....	28
2.2.1.1.1	<i>Bradicininas</i>	28
2.2.1.2	Mediadores derivados do complemento.....	29
2.2.1.3	Sistema de coagulação.....	30
2.2.1.4	Aminas vasoativas.....	30
2.2.1.4.1	<i>Histamina</i>	31
2.2.1.4.2	<i>Serotonina</i>	31
2.2.1.5	Citocinas.....	32
2.2.1.6	Metabólitos derivados do ácido araquidônico.....	32
2.2.1.6.1	<i>Via da ciclooxigenase</i>	33
2.2.1.6.2	<i>Via da lipooxigenase</i>	33
2.2.1.6.3	<i>Eicosanóides</i>	34
2.2.1.6.4	<i>Fator ativador de plaquetas</i>	36
2.2.1.7	Óxido nítrico.....	36
3	OBJETIVOS	38
3.1	Objetivo Geral	38
3.2	Objetivos específicos	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	Drogas, reagentes e soluções	39
4.2	Aparelhagem e Materiais Utilizados	40

4.3	Obtenção e análise do óleo fixo dos frutos de <i>Euterpe oleracea</i>	41
4.3.1	OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO DE <i>EUTERPE OLERACEA</i>	41
4.3.2	ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DO ÓLEO FIXO DE <i>EUTERPE OLERACEA</i>	41
4.4	Avaliação das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo dos frutos de <i>Euterpe oleracea</i>	42
4.4.1	ANIMAIS.....	42
4.4.2	VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DAS DROGAS.....	43
4.4.3	DETERMINAÇÃO DA DOSE EFETIVA 50 (DE ₅₀) DO OEO.....	43
4.4.4	TESTE DE CONTORÇÕES EM CAMUNDONGOS	43
4.4.5	MEDIDA DO EDEMA INTRAPLANTAR.....	44
4.4.6	DERMATITE INDUZIDA PELO ÓLEO DE CRÓTON.....	44
4.4.7	PERMEABILIDADE VASCULAR EM RATOS.....	45
4.4.8	REAÇÃO INFLAMATÓRIA AGUDA INDUZIDA POR CARRAGENINA EM CAVIDADE PERITONEAL DE RATOS.....	45
4.4.9	INDUÇÃO DO TECIDO GRANULOMATOSO.....	46
4.5	Análise estatística	47
5	RESULTADOS	48
5.1	Análise qualitativa e quantitativa do óleo fixo de <i>Euterpe oleracea</i>	48
5.2	Determinação da Dose Efetiva (DE₅₀)	50
5.3	Teste de contorções	50
5.4	Medida do edema intra-plantar	52
5.5	Dermatite iniduzida pelo óleo de Cróton	53
5.6	Permeabilidade vascular	53
5.7	Reação inflamatória aguda induzida por carragenina em cavidade peritoneal de ratos	54
5.8	Indução do tecido granulomatoso	55
6	DISCUSSÃO	57
7	CONCLUSÃO	66
	REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais se destacam como grandes fontes de novos recursos terapêuticos, isto se deve aos diversos compostos químicos, oriundos principalmente do metabolismo secundário vegetal, toxinas de animais e microorganismos. A possibilidade de explorar o mercado de medicamentos de origem natural é bastante atrativa para a indústria, pois este setor tem crescido muito, e representa cerca de 25% do faturamento bruto das indústrias. A indústria pode encontrar nas plantas medicinais novas estruturas químicas a serem descobertas e, diante disso, desenvolver fármacos que serão possíveis alternativas terapêuticas mais eficazes para o tratamento ou prevenção de patologias (CALIXTO, 2005).

A espécie vegetal *Euterpe oleracea* Mart, popularmente conhecida como açazeiro ou açaí, ocorre de forma espontânea na região amazônica, amplamente distribuída na floresta de várzea no estuário amazônico, estendendo-se até Venezuela e Guianas (ALMEIDA et al, 2004). O açaí, fruto da palmeira do açazeiro, apresenta grande potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, onde tem recebido muita atenção nos últimos anos, devido aos benefícios a saúde associado com a alta capacidade antioxidante e composição fitoquímica (LICHTENTHÄLER et al., 2005, RODRIGUES et al., 2006; SCHAUSS et al., 2006; PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

O açaí é rico em polifenóis bioativos, dentre eles, destacam-se as antocianinas, que possuem propriedades importantes como antioxidantes e sequestrantes de radicais livres. (DEL POZO-INSFRAN et al., 2004). Como os antioxidantes possuem propriedades antiflogística e atenuam a lesão tecidual (CONNER e GRISHAM, 1996; CUZZOCREA et al., 2001), é possível que os polifenóis presentes no óleo fixo do açaí possam agir na atenuação do processo inflamatório assim como na nocicepção.

Os ácidos graxos insaturados estão presentes também no açaí, com predominância do ácido oléico como composto majoritário, e do ácido palmítico como composto secundário (MANTOVANI et al., 2003; SCHAUSS et al., 2006).

Schauss et al. (2006) ao avaliar o açaí em forma de pó observou um efeito inibidor na enzima ciclooxigenase do tipo 1 e 2 no ensaio *in vitro*, desta forma, concluiu ser o açaí um promissor anti-inflamatório. Entretanto, não existem estudos que comprovem cientificamente o envolvimento do óleo do açaí nos mecanismos envolvidos na inflamação e dor.

Diante de tudo isso, a proposta do trabalho foi avaliar a caracterização fitoquímica e o possível efeito anti-inflamatório e antinociceptivo do óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea* Mart.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Euterpe oleracea* Mart.

2.1.1 ASPECTOS BOTÂNICOS DA ESPÉCIE DE *EUTERPE OLERACEA*

O açazeiro (*Euterpe oleracea*, Mart), pertencente à família Arecaceae, é uma palmeira que ocorre de forma espontânea na região Amazônica, onde se distribui pelas várzeas do estuário amazônico, ainda pelo Baixo Amazonas e pelo litoral do Amapá, Pará, Piauí, Guianas e Venezuela. O açazeiro destaca-se dentre as palmeiras que ornamentam a flora amazônica e serve de subsistência ao homem do campo. Hoje, esta palmeira sofre uma rápida deterioração devido à extensa devastação ocorrida por algumas décadas para a exploração do palmito (CALZAVARA, 1972).

Na região norte, a palmeira é conhecida como açai de Touceira, açai do Pará, açai do Estuário, açai do Baixo Amazonas, enquanto que no estado do Maranhão, a palmeira é conhecida como juçara (CALZAVARA, 1972).

O açazeiro cresce em touceiras formadas por brotações sucessivas a partir de uma unidade de dispersão. Um estipe pode chegar a uma altura de 4 a 30m. Acima do estipe, nascem as inflorescências. Cada uma delas dá um cacho de centenas de frutos. O número de cachos por pé varia até 8, sendo mais comum 3-4 (CALVAZARA, 1972).

Esta palmeira produz o fruto de nome açai, caracterizado pela forma esférica, com diâmetro de 1,0 a 1,5cm e cor violácea quase negra. A partir do terceiro ano, a palmeira frutifica, com produção máxima no quinto e no sexto ano, em duas safras ao ano: uma no inverno do mês de janeiro até junho e outra no verão de agosto até o mês de dezembro.

O excelente desenvolvimento do açazeiro ocorre em vários tipos de solo, sendo encontrado nas terras firmes e várzeas, com alto teor de matéria orgânica e umidade, onde o pH varia de 4,5 a 6,5.

2.1.2 ASPECTOS SÓCIO-ECONÔMICOS

O açazeiro apresenta grande interesse para a economia regional, especialmente pelo reputado valor alimentício atribuído ao palmito em conserva e ao vinho do seu fruto (GALOTTA e BOAVENTURA, 2005). Já existe uma grande aceitação dos produtos derivados do açazeiro nas outras regiões brasileiras assim como no mercado internacional.

Anualmente, no estado do Pará, a produção de palmitos e frutos mobiliza juntos, recursos em torno de 200 milhões de dólares, destes, 10% provenientes da exportação de palmitos para outros países, o que destaca os produtos derivados do extrativismo do açazeiro na economia do Estado do Pará (ROGEZ, 2000).

A partir dos frutos do açazeiro, após amolecimento com água quente e despulpamento manual e mecânico, obtêm-se o vinho do açai (CALZAVARA, 1972). Grande parte da população dos estados de Pará e Amapá tem como hábito alimentar diário esta bebida, um complemento alimentar rico em proteínas, fibras e em nutrientes, como: ferro, potássio, cálcio e vitaminas E e B1, fundamentais no metabolismo do ser humano (CALZAVARA, 1972; STRUDWICK e SOBEL, 1988; ROGEZ, 2000; SMITH, 1999; SCHAUSS et al., 2006). Um extrato escuro é retirado dos frutos do açazeiro que, quando misturados com água, resultam em um bebida energética altamente consumida no Brasil, além disso, com esta matéria-prima são produzidos cremes, sorvetes, licores, além de bebidas energéticas, o que está gerando renda para os pequenos produtores agrícolas, desencadeando uma atividade relevante na economia dos estados da região amazônica (MURRIETA et al., 1999; MUÑIS-MIRET et al., 1996). Recentemente, muita atenção tem sido dada à capacidade anti-oxidante deste fruto, o que tem grande importância na indústria de alimentos funcionais e ingredientes de alimentos (PLOTKIN e BALICK, 1984; LICHTENTHÄLER, et al., 2005; COÏSSON et al., 2005; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; BRONDIZIO et al., 2002; DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; GALLORI et al., 2004; LICHTENTHALER et al., 2005).

A grande vantagem econômica e social do açazeiro é o seu aproveitamento quase que completo, por exemplo, a população local ainda utiliza o estirpe para a

construção de casas e pontes, as folhagens para a cobertura de casas e paredes, e os cachos secos para improvisar vassouras e ornamentação.

2.1.3 COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA*)

Estudos anteriores revelaram que o açaí é rico em polifenóis bioativos, dentre eles destacam-se as antocianinas: cianidina glicosídica, cianidina-3-rutosídica, cianidinas-3-sambubiosídicas, feonidina-3-rutosídica, as proantocianidinas, como os polímeros e outros flavonóides, como orientina, isovitexina, escoparina e taxifolina deoxihexose. (SCHAUSS et al., 2006; COÏSSON et al., 2005; DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; GALLORI et al., 2004).

As antocianinas são glicosídeos das antocianidinas, fazem parte do grupo dos flavonóides, em que o núcleo básico é a estrutura do íon 4-hidroxiavilium, e são compostos de duas ou três partes: a aglicona (antocianidina); o carboidrato e, freqüentemente, um grupo acil (GUIMARÃES, 1987). As antocianinas são pigmentos naturais bastante conhecidos, pois determinam a cor de uma grande variedade de vegetais, sendo as responsáveis pela cor violácea à roxa do açaí (DEL POZO ISFRAN et al., 2004; MUÑIZ-MIRET et al., 1996).

O óleo fixo de *Euterpe oleracea* contém diversos compostos fenólicos, dentre os majoritários destacam-se o ácido vanílico. Vale ressaltar que esses compostos fenólicos apresentam propriedades anti-oxidantes, o que torna este óleo uma alternativa promissora para alimentos, suplementos, cosméticos e medicamentos (PACHECO-PALENCIA et al., 2008).

Segundo Rogez (2000), o óleo de açaí, da mesma forma que o óleo de oliva e abacate, é constituído de ácido graxos monoinsaturados (60%) e poliinsaturados (14%). No trabalho de Lubrano et al. (1994), verificou-se que o óleo extraído do açaí contém ácidos graxos de boa qualidade, com 60% de ácido oléico, 22% de ácido palmítico e 12% de ácido linoleico, dentre outros ácido graxos.

2.1.4 ÁCIDOS GRAXOS

Ácidos graxos são ácidos orgânicos com moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura. Quimicamente, um ácido graxo consiste em uma série de átomos de carbono, unidos uns aos outros por ligações simples (saturado) ou duplas (insaturado), com um grupo carboxil e uma cauda hidrocarbonada chamada de grupo metil. Os ácidos graxos apresentam diferentes tamanhos de cadeia de 3 a 24 átomos de carbono, eles são classificados de acordo com o número de insaturações e a posição da primeira ligação dupla. Existe, portanto, os ácidos graxos saturados, monoinsaturados (com uma dupla ligação) e poliinsaturados (com mais de uma dupla ligação). A diferença de tamanho, grau e posição da insaturação na molécula lhes confere propriedades físicas, químicas e nutricionais diferentes (MOREIRA et al., 2002).

Os ácidos graxos poliinsaturados são classificados em ácidos graxos ω -3 e ácidos graxos ω -6. Os ácidos graxos da família ω -3, em sua estrutura molecular, apresentam a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto carbono, a partir do último grupo metílico da molécula. Dentre eles citam-se o ácido α -linolênico, que contém 18 carbonos, com três ligações duplas (C18:3). Enquanto que os ácidos graxos da família ω -6 apresentam a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo carbono, a partir do último grupo metílico da molécula. O ácido linoléico pertence a esta família, que apresenta 18 carbonos, com duas duplas ligações (C18:2) (BELDA e POURCHET-CAMPOS, 1991).

Os ácidos graxos linoléico (ômega 6 ou n-6) e alfa-linolênico (ômega3 ou n-3) são essenciais para funções celulares normais, e agem como precursores da síntese de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa como os ácidos araquidônicos (AA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), que participam de numerosas funções celulares tal como a integridade e fluidez das membranas, atividade das enzimas de membrana e síntese de eicosanóides como as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos. Estes, por sua vez, possuem capacidade de modificar reações inflamatórias e imunológicas, alterando funções leucocitárias e acelerando o processo de granulação tecidual.

A disponibilidade de ácidos graxos polinsaturados linoléico (C 18:2) e alfa-linolênico (C18:3) para a espécie humana depende do fornecimento alimentar, sendo encontrados em óleos vegetais, peixes, óleos de peixes, margarinas, sementes, folhas e fitoplancton (BELDA e POURCHET-CAMPOS, 1991).

2.1.4.1 Interferência de ácidos graxos sobre o processo inflamatório

O efeito dos ácidos graxos no processo inflamatório tem sido estudado desde 1929, quando foram realizadas as primeiras observações de lesões de pele provocadas por uma deficiência nos níveis de ácidos graxos essenciais nos alimentos que eram preparados (MARQUES et al., 2004).

Vale ressaltar que dentre os diversos ácidos graxos presentes no plasma, são particularmente importantes, os ácidos graxos poliinsaturados. Estes podem modular interações célula-célula e a sinalização intracelular. Desta forma, a alteração de fosfolípídeos da membrana, quanto a composição de ácidos graxos, pode modular a sua fluidez, o que modifica a ligação de citocinas aos seus específicos receptores.

Os efeitos dos ácidos graxos em atenuar o processo inflamatório podem ocorrer de diversas maneiras: vasoconstrição, quimiotaxia, adesão, diapedese, ativação e morte celular, sendo que a maioria destes eventos ocorre sobre a via dos derivados do ácido araquidônico como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e lipoxinas (MAY e CALDER, 1993; ZIBOH et al., 2000; JOLLY et al., 1997; 1999; GRIMBLE e TAPPIA, 1998; O. SHEA et al., 2004; CALDER, 2003; POMPÉIA et al., 2000). Além disso, os ácidos graxos são precursores primários de mediadores lipídicos importantes durante o processo inflamatório, como ácido araquidônico (AA), prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) e leucotrienos (LT) (GRIMBLE e TAPPIA, 1998; O.SHEA et al., 2004; CALDER, 2003).

A ingestão de ácidos graxos ômega-3 pode ocasionar diminuição do processo inflamatório ao diminuir a produção de interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8) em neutrófilos e macrófagos, reduzindo também a produção de eicosanóides (PG, LT, TX) e aumento da resposta proliferativa linfocitária (POMPÉIA et al., 2000).

O ácido oleico exerce importante função na indução da expressão de genes em linfócitos B, envolvidos na defesa e reparo, fatores de transcrição, proteínas quinases relacionadas na sinalização celular e síntese de DNA (VERLENGIA et al., 2003).

Em estudo realizado por Cardoso et al. (2004), foi avaliada a influência da administração tópica dos ácidos α -linolênico (n-3), linoléico (n-6) e oleico (n-9) no processo de cicatrização de feridas em ratos. Os autores observaram que animais tratados topicamente com ácidos oleico e linoléico apresentaram redução significativa da área do ferimento a partir do quinto dia de tratamento e inibição da produção de óxido nítrico local, nas primeiras 48 horas pós-cirúrgica. Neste estudo foi sugerido um potencial terapêutico importante dos ácidos linoléico e oleico no processo de cicatrização.

2.1.6 USOS TERAPÊUTICOS DE *EUTERPE OLERACEA*

Esta planta é amplamente utilizada na medicina popular, nas suas diferentes partes, como exemplos, o óleo do fruto como agente anti-diarreico (PLOTKIN e BALICK, 1984), a raiz em associação com *Carica papaya*, *Citrus* sp. (lemon) e *Quassia amara* como anti-malarico (VIGNERON et al., 2005). Vale ressaltar que recentemente, tem se dada muita atenção pela capacidade anti-oxidante do açaí e a sua utilização como alimento funcional, dermocosméticos e até mesmo como nutracêutico (LICHTENTHÄLER et al., 2005; COÏSSON et al., 2005; AGRA et al., 2007). No entanto poucos estudos foram realizados para avaliar as atividades farmacológicas de *Euterpe oleracea*.

Os extratos de *Euterpe oleracea* Mart. foram capazes de inibir a produção de óxido nítrico e a expressão de iNOS a partir de células em cultura (MATHEUS et al., 2006). Este efeito parece ser decorrente de ação direta dos extratos na via de produção do NO, molécula que apresenta várias atividades fisiológicas, tais como vasodilatação, neurotransmissão, além de atividades tumorcidas e citotóxicas.

Em estudo realizado por Pacheco-Palencia et al. (2008), foi demonstrado que a composição química do óleo de açaí tem influência significativa na proliferação

celular, sugerindo propriedade anti-proliferativa dos polifenóis em culturas de células de câncer. Em outro estudo, realizado por Del Pozo-Insfran et al. (2006), foi elucidada a indução da atividade antiproliferativa e pro-apoptótica dos compostos polifenólicos do açaí contra células HL-60 causadores de leucemia.

Além desses estudos, foi demonstrado que *Euterpe oleracea* possui um efeito vasodilatador, e que este efeito é dependente na ativação de via NO-GMPC e também pode envolver a liberação do fator de hiperpolarização, o que sugere uma possibilidade do uso do açaí como planta medicinal no tratamento de doenças cardiovasculares (ROCHA et al., 2007).

2.2 Processo inflamatório

Nos últimos anos, um grande interesse tem sido demonstrado na tentativa de buscar respostas referentes a etiologia fisiopatológica e controle farmacológico do processo inflamatório. Este interesse, dentro da medicina experimental, deve-se a descoberta de que os danos teciduais que ocorrem em diversas doenças existentes resultam de uma resposta inflamatória.

A resposta inflamatória representa um dos mecanismos de defesa do nosso organismo. A palavra inflamação pode ser apropriadamente referida como uma cascata inflamatória, e que consiste de uma longa cadeia de reações e atividades celulares com o intuito de reparar o tecido, em que ocorre uma lesão ou destruição celular, ocorrendo atividades celulares, aumento dos de arteríolas e vênulas, assim como aumento da permeabilidade vascular e fluxo sanguíneo, como consequência, o acúmulo de líquidos (CARVALHO, 2004). Esta inflamação, geralmente aguda, é a resposta inicial ao agressor e pode tornar-se desconfortável para o paciente devido ao edema formado e a dor.

Além do combate ao agente agressor, de forma a evitar a sua disseminação a outras regiões do corpo, a resposta inflamatória tem a finalidade de eliminar produtos resultantes da destruição celular, assim, promovendo condições ideais para a reparação do tecido lesado. Todo esse processo de restituição da

normalidade tecidual é concluído pela reparação, fenômeno inseparável da inflamação (TEDGUI e MALLAT, 2001).

Supondo que não existisse o processo inflamatório, teríamos conseqüências graves: haveria um descontrole das infecções, não haveria cicatrização das feridas além de o processo destrutivo nos órgãos atacados seria permanente. As reações inflamatórias, por exemplo, são o pilar de doenças crônicas, tais como a artrite reumatóide, a aterosclerose e a fibrose pulmonar, assim como de reações de hipersensibilidade potencialmente fatais a picadas de insetos, drogas e toxinas

Existe uma série de fenômenos biológicos envolvidos no processo inflamatório, que se associam e se complementam, com isso, formam reações em cascata, envolvem a interação complexa entre as células inflamatórias, tais como macrófagos, neutrófilos e linfócitos (TEDGUI e MALLAT, 2001). Esses fenômenos podem ser desencadeados por vários fatores, chamados agentes flogogênicos. Dentre os tipos flogogênicos, destacam-se: a) agentes físicos, em que os fatores físicos, como o calor excessivo (queimaduras), o frio exagerado (congelamento), traumatismos, fraturas, incisões, raios ultravioleta e radiações ionizantes são as causas importantes da inflamação; b) agentes químicos, neste caso, a inflamação é determinada pela ação de substâncias químicas de natureza muito variadas, como substâncias cáusticas, ácidos, álcalis, óleo de cróton, terebentina, formaldeído, carragenina; c) agentes infecciosos, em que o fator desencadeante da inflamação é de origem biológica, como bactérias, fungos, vírus, protozoários, etc.. (CARVALHO, 2004)

A palavra inflamação, do grego *phlogosis* e do latim *flamma*, significa fogo, área em chamas, foi descrita pela primeira vez por Celsus, um escritor romano que viveu entre os anos 30 aC e 38 dC, onde observou os quatro sinais cardinais da inflamação: calor (aumento da temperatura local), rubor (hiperemia), tumor (edema) e dor, as quais Virchow acrescentou o quinto sinal clínico, a perda da função (*functio laesa*) (ROCHA e GARCIA, 2006). Em 1793, John Hunter, um cirurgião escocês, observou que a inflamação não é uma doença, e sim uma resposta inespecífica que tem um efeito salutar sobre seu hospedeiro (ROCHA e GARCIA, 2006)

A reação inflamatória foi caracterizada a partir de duas teorias postuladas: a teoria celular e a teoria humoral. A primeira preconizava que a resposta inicial partiria do sangue e dos fluidos tissulares, ricos em sistemas enzimáticos

complexos, responsáveis por diversos eventos relacionados à reação inflamatória, enquanto que a segunda, postulada por Metchnikoff, preconizava que as células brancas que apareciam durante a reação inflamatória eram as responsáveis pela proteção do organismo contra as infecções. No entanto, o fato de a inflamação ser produzida por diferentes agentes e manter as mesmas características, sugerem que os mensageiros químicos gerados no local da reação causam os sintomas (ROCHA e GARCIA, 2006)

A inflamação é uma resposta celular e humoral de intensidade variável com repercussões locais, loco-regionais ou sistêmicas, em que a cascata de eventos desencadeada após uma agressão ou estímulo tem como resultado o aumento do calibre vascular, aumento da permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos, como resultado de uma interação complexa entre diferentes tipos celulares residentes no tecido e vários mediadores pró-inflamatórios. (NICKLOFF e NESTLE, 2004; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004).

O tempo de duração e a intensidade do agente inflamatório determinam diferentes graus ou fases de transformação nos tecidos. Categoricamente, a resposta inflamatória é dividida em três distintas fases, sendo que cada fase é mediada aparentemente por diferentes mecanismos. Inicialmente, é evidenciada uma fase aguda, caracterizada por ser de duração variável e alterações vasculares (fluxo e calibre vascular, aumento da permeabilidade vascular), seguida de uma fase subaguda, em que nota-se, predominantemente, a infiltração leucocitária e de outras células fagocíticas (quimiotaxia, adesão, transmigração e fagocitose) e posteriormente, ocorre a fase crônica, onde a proliferação é fato de destaque, em que ocorre a regeneração tecidual e fibrose (SANTOS JUNIOR, 2003).

Primeiramente, os fenômenos vasculares predominam no foco da inflamação, onde ocorre um aumento da dilatação dos vasos e ainda, um aumento da permeabilidade capilar (CIRINO et al., 2003), gerados principalmente pelos seguintes mediadores: prostaglandinas, histamina, serotonina, leucotrienos, PAF-acéter, C5a, e substâncias liberadas localmente nas terminações nervosas (taquicininas e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina – CGRP) (HEDQVIST et al., 2000; LECCI et al., 2000). Este aumento da permeabilidade vascular culmina com a saída de exsudato, ou seja, um fluido rico em proteínas para o meio

extravascular resultando em acúmulo deste, no local da lesão, o que caracteriza o edema (PATTERSON e LUM, 2001; LEY, 2002).

Posteriormente, evidencia-se uma fase sub-aguda em que ocorre o fenômeno da quimiotaxia, caracterizada por migração e infiltração leucocitária e de células fagocíticas, no sítio da lesão. (ALI et al., 1997; FRANGOGIANNIS et al., 2002).

No local da lesão, ocorre o reconhecimento do agente agressor através de neutrófilos e macrófagos, após este reconhecimento, essas células englobam e o destroem (fagocitose) e liberam enzimas lisossomais a fim de destruir o agente agressor (RODRIGUES et al., 2002). Ainda no foco inflamatório, ocorre um importante evento: a ativação dos mastócitos e agregação plaquetária, que também resultam na liberação de mais mediadores quimiotáticos. Dentre os mediadores quimiotáticos citam-se: os prostanóides (PGI_2 , PGD_2 , PGE_2 e $\text{PGF}_{2\alpha}$), derivados da via da lipoxigenase (5 HETE, LTB_4), cininas, substâncias liberadas de neutrófilos ativados, entre outros (TAN et al., 1999).

Finalmente, após a fase sub-aguda, ocorre uma complexa série de eventos na tentativa de reconstituir o tecido danificado por meio da ativação de células mesenquimatosas (resposta primária), incluindo hiperplasia, hipertrofia, e produção de matriz extracelular. A injúria inflamatória (injúria secundária) é mantida e induz o processo de cicatrização (resposta secundária) que freqüentemente reconstitui o sítio lesado com tecidos fibroblásticos menos especializados (SUZUKI et al., 2003).

2.2.1 MEDIADORES DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Os sinais clínicos da inflamação citados acima são ocasionados pelo aumento da permeabilidade vascular, particularmente das pequenas vênulas, com extravasamento de fluído para a área lesionada. Este processo é desencadeado através de mediadores químicos, que podem ser de origem plasmática ou celular.

Os mediadores plasmáticos são constituídos de cininas e dos sistemas: complemento, coagulação e o fibrinolítico. Estes mediadores estão na forma precursora e necessitam ser ativados para promover os seus efeitos biológicos. Fazem parte dos mediadores celulares as aminas vasoativas (histamina,

serotonina), os metabólitos derivados do ácido araquidônico (eicosanóides), as enzimas lisossomais, as metaloproteinases, os radicais livres derivados do oxigênio e o fator ativador de plaquetas (PAF). Estes mediadores podem ser pré-formados ou sintetizados nas células ativadas, em resposta a um estímulo (BARNES et al., 1998).

2.2.1.1 Cininas

O sistema calicreína-cinina, um sistema interligado neste complexo mecanismo da inflamação, consiste de precursores cininogênicos, das enzimas calicreínas, dos peptídeos de cinina e dos receptores B₁ e B₂ acoplados a proteína G (GPCRs), que medeiam os efeitos biológicos (REGOLI e BARABE, 1980). Os componentes do sistema das cininas são estudados desde 1909, quando um agente hipotensivo foi encontrado presente na urina. A cascata da cinina é desencadeada na ativação em conjunto com a cascata da coagulação (fator Hageman ativado), portanto, ocorre uma ligação entre a cascata da cinina, cascata de coagulação e sistema complemento (BLAIS et al., 2000).

O principal representante do sistema das cininas é o peptídeo ativo denominado bradicinina.

2.2.1.1.1 *Bradicininas*

Em 1949, o peptídeo ativo bradicinina (BK) foi isolado de globulinas de protoplasma tratadas com tripsina ou protease de peçonhas de serpente (BLAIS et al., 2000). Desde esse período, as pesquisas científicas mostram que os peptídeos de cininas participam de vários fenômenos biológicos, dentre eles citam-se a dor, inflamação, vasodilatação, o aumento da permeabilidade vascular. (KAPLAN et al., 1998).

A BK é um importante mediador no processo inflamatório, visto que desempenha ações pró-inflamatórias. Ela é liberada após traumas e processos

inflamatórios, o que promove o relaxamento das arteríolas e constrição das vênulas, gerando um aumento da permeabilidade microvascular e conseqüentemente aumento do extravasamento plasmático para o foco inflamatório (KAPLAN et al., 1998; PESQUERO et al., 2000; COUTURE et al., 2001).

A maioria dos efeitos pró-inflamatórios da BK são mediados pela ativação do seu receptor B_2 (SALEH et al., 1998), embora existam estudos demonstrando que a ativação do receptor B_1 da BK também está envolvido no aumento da exsudação e da permeabilidade vascular como foi demonstrado por Vianna e Calixto (1998) e Hayashi et al. (2002), no modelo da pleurisia induzida pela BK, em camundongos e em ratos, respectivamente.

2.2.1.2 Mediadores derivados do complemento

Designa-se Sistema Complemento (SC) a um complexo protéico constituído por várias substâncias localizadas no plasma sangüíneo e nas membranas celulares. Desempenham um papel importante em diferentes tipos de reações imunoinflamatórias (ADELSBERG, 1987; NYSTROM, 1998)

O SC consiste em aproximadamente 35 proteínas, que incluem enzimas, cofatores, inibidores ou inativadores e outras proteínas integradas de membrana. Outros componentes são os receptores para os fatores do complemento. O complemento é ativado por três diferentes vias: clássica, alternativa e pela via das leptinas (FRANK e FRIES, 1991; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 1994). O SC funciona na imunidade inata e adaptativa para defesa contra agentes microbianos, culminando na lise de microorganismos pelo chamado complexo de ataque à membrana (MAC). Os componentes do complemento são enumerados de C1 a C9. Na inflamação aguda, os componentes com maior importância pertencem ao grupo das anafilatoxinas, o C3a, C4a e C5a; são pequenos fragmentos da clivagem dos componentes do grupo C por serinas proteases convertases durante a cascata de ativação.

Dentre os efeitos biológicos, destacam-se: quimiotaxia de neutrófilos, degranulação celular, contração da musculatura lisa e aumento da permeabilidade

vascular e destruição celular com subsequente morte do antígeno (FISHELSON, 1991 apud SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004, PANGBURN; RAWAL, 2002 apud SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004, COLE; MORGAN, 2003 apud SHERWOOD; TOLIVERKINSKY, 2004).

A via alternativa envolve um conjunto sérico denominado sistema da properdina (properdina P, fator B e fator D). Por fim, o sistema complemento ainda poderá ser ativado pela via das lectinas ligando-se a carboidratos presentes em bactérias e vírus.

2.2.1.3 Sistema de coagulação

O sistema de coagulação, que é constituído de uma série de proteínas, apresenta efeitos na indução da inflamação, além de ser importante para a formação da fibrina. Dentre as proteínas que o constituem, encontram-se a trombina e o fator tecidual VII, que desempenham funções pró-inflamatórias como a indução da produção de citocinas, dentre elas o fator de necrose tumoral tipo α (TNF- α) por células endoteliais e mononucleares (PAWLINSKI et al., 2003).

2.2.1.4 Aminas vasoativas

As aminas vasoativas são mediadores armazenados em grânulos celulares, com rápida ação, liberados imediatamente após a ação do estímulo agressor. Agem principalmente sobre os vasos sanguíneos, além disso, as aminas vasoativas também estão entre os mediadores responsáveis pela sensação de dor na inflamação, através de sua ação sobre os neurônios sensoriais (DRAY, 1995). As aminas vasoativas mais importantes são a histamina e a serotonina.

2.2.1.4.1 *Histamina*

A histamina (HIS) é uma molécula hidrofílica envolvendo um anel imidazólico e um grupamento amino conectado por dois grupamentos metileno. Atua em muitos processos fisiológicos celulares, mas também intervêm nas reações alérgicas e na inflamação. A liberação da HIS ocorre pelo processo de exocitose durante as reações inflamatórias ou alérgicas através da interação de fatores do sistema complemento (C3a e C5a) e de antígenos com anticorpos IgE fixados nos mastócitos. A HIS exerce seus efeitos biológicos ao se ligar, de forma agonista, aos receptores específicos denominados receptores histaminérgicos (classificados em H1, H2 e H3). Seus efeitos fisiológicos incluem: aumento da permeabilidade venular pós-capilar, contração do músculo liso, vasoconstrição pulmonar, aumento dos níveis de GMPc nas células, produção de prostaglandinas, aumento da secreção de ácido gástrico bem como de muco, ativação de células T supressoras (SCHARAMM e THORLACIUS, 2004; SILVA e CARVALHO, 2004; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004; SCHNEIDER et al., 2002).

2.2.1.4.2 *Serotonina*

A maioria da serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) do nosso organismo é produzida pelo trato gastrointestinal (GERSHON, 2004). Noventa por cento da 5-HT é produzida por células enterocromafins, encontrada no epitélio do trato gastrointestinal, e absorvida pelas plaquetas (RACKE e SCHWORER; YOUNG e FURNESS, 1995). A 5-HT possui ações semelhantes às da HIS, ou seja, vasoconstrição inicial, e juntamente com outros mediadores, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.

2.2.1.5 Citocinas

As citocinas são mediadores protéicos ou peptídeos que regulam a atividade celular, principalmente do sistema imune. Incluem as interleucinas (IL), linfocinas, interferons e fator de necrose tumoral (TNF). O efeito biológico depende da citocina e do tipo da célula envolvida, sendo que, de um modo geral, as citocinas apresentam influência na ativação, divisão, apoptose e quimiotaxia celular, as citocinas pró-inflamatórias participam de reações inflamatórias agudas, crônicas e reparo tecidual. Além disso, elas iniciam e controlam o processo de cicatrização, com estimulação da reepitalização, angiogênese e deposição de colágeno (TYSON et al., 2001).

As principais citocinas pró-inflamatórias são as interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8) e o TNF- α (GRELLNER, 2002). As citocinas são produzidas principalmente por macrófagos, neutrófilos, linfócitos T helper, queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais. No local da ferida, as IL estimulam a fagocitose dos neutrófilos e macrófagos, propiciam a proliferação de linfócitos T e aumentam a liberação de NO (GRELLNER, 2002). O TNF- α é considerado um potente mediador na patogênese da inflamação. Os efeitos biológicos do TNF- α ocorre após sua ligação a receptores específicos localizados na membrana celular. Os efeitos ocorrem sobre a fisiologia celular, onde ocorre a indução de mediadores inflamatórios como eicosanóides e óxido nítrico (LEWIS et al., 1991)

2.2.1.6 Metabólitos derivados do ácido araquidônico

Os metabólitos do ácido araquidônico (AA) são derivados de fosfolipídeos e ácidos graxos liberados das membranas plasmáticas após a agressão. São considerados hormônios locais de curto alcance, fazem parte de uma rede reguladora complexa, e podem tanto inibir quanto promover a inflamação. Esses metabólitos do AA são formados rapidamente, em segundos, onde exercem seus efeitos localmente, e se decompõe espontaneamente ou são destruídos por

enzimas. Ocorrem em todos os tecidos e são produzidos principalmente pela atividade de neutrófilos e macrófagos. Provavelmente responsáveis pela fase tardia e prolongada da permeabilidade vascular (FITZGERALD e PATRONO, 2001).

A cascata do ácido araquidônico é ativada durante a inflamação, isto leva a formação dos eicosanóides (FITZGERALD e PATRONO, 2001; SUBONGKOT et al., 2003). O evento inicia-se após a ação direta da enzima fosfolipase A₂ (FLA2) sobre os fosfolídeos da membrana plasmática celular (SUBBARAMAIAH e DANNEBERG, 2003) ou através da ação da sequência da fosfolipase C e da lipase do diacilglicerol, posteriormente ocorre oxidação enzimática por duas vias distintas: via da ciclooxigenase e da lipooxigenase (FITZGERALD e PATRONO, 2001).

2.2.1.6.1 *Via da ciclooxigenase*

A enzima ciclooxigenase (COX), também chamada de PG endoperóxido sintase, prostaglandina H sintase (PGHS) ou ácido graxo ciclooxigenase, é composta por duas enzimas distintas: a COX-1 e a COX-2, as quais originam as prostaglandinas, prostaciclina e os tromboxanos (TXs). A COX-1 é constitutiva na maioria dos tecidos corpóreos, participa das funções homeostáticas, enquanto que a COX-2 é manifestada tanto na forma constitutiva (onde é encontrada no cérebro e na medula espinhal, pelo qual está envolvida na neurotransmissão), quanto na forma induzida, em que é produzida com maior intensidade em estados patológicos. (BURIAN e GEISLINGER, 2005; PACHER et al., 2007; VANEGAS e SCHAIBLE, 2001; SMITH et al., 2000).

2.2.1.6.2 *Via da lipooxigenase*

As lipooxigenases (LOX) são enzimas solúveis localizadas no citosol e encontradas nos pulmões, plaquetas, mastócitos e leucócitos. Elas formam uma

família de enzimas citosólicas cujos produtos iniciais derivados do AA, são gerados por 3 enzimas que só estão presentes em alguns tipos de células, esses metabólitos são denominados ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos (HPETE).

Pela ação da enzimas 5-lipooxigenase (5-LOX) são originados os leucotrienos e através da 15-lipooxigenase (15-LOX) são originadas as lipoxinas (LXA). Os leucotrienos estimulam a liberação de citocinas nos macrófagos e linfócitos, causam broncoconstrição controlada, podem causar aderência, quimiotaxia e ativação de polimorfonucleares e monócitos (PARENTE e PERRETTI, 2003).

2.2.1.6.3 *Eicosanóides*

Os eicosanóides são mediadores lipídicos derivados do ácido araquidônico, eles possuem funções importantes no processo inflamatório (LEE et al. 2003). As prostaglandinas (PG), os leucotrienos (L) e os tromboxanos (TX) são exemplos de eicosanóides.

As PG possuem diversos efeitos biológicos, dentre eles destacam-se: quimiotaxia de leucócitos; vasodilatação; efeito pirógeno, diferenciação de queratinócitos; quimiotaxia sobre neutrófilos e macrófago. Outro efeito biológico é a influencia sobre a angiogênese e a reepitelização. As PG estimulam a migração e proliferação de fibroblastos na fase de fibroplasia. A interação entre PG, TX e macrófagos é responsável pela proliferação endotelial. Da mesma forma que as PG, os leucotrienos encontrados no exsudato inflamatório, podem causar agregação e adesão leucocitária ao endotélio vascular, além de terem uma poderosa ação quimiotáxica e o poder de aumentar a permeabilidade vascular (LEE et al. 2003).

As ciclooxigenases formam as PGG₂, e esta em PGH₂. A formação subsequente das PG finais, a partir da PGH₂, depende da presença de sintases específicas que produzem os prostanóides funcionalmente importantes PGD₂, PGE₂, PGF₂, PGI₂ (prostaciclina) e TXA₂ (BURIAN e GEISLINGER, 2005; PACHER et al., 2007; VANEGAS e SCHAIBLE, 2001).

Estas PG podem sair da célula por transporte facilitado pelos transportadores de prostaglandinas (PGT) e outros carreadores, exercendo suas ações autócrinas

ou parácrinas em uma família de receptores próprios, localizados nas membranas celulares. São eles: EP1, EP2, EP3 e EP4 (EP1 – 4), para a ligação da PGE₂; DP1 – 2, para a PGD₂; receptor FP, para a PGF₂; IP para a PGI₂; e TPa e TPh, para o TXA₂ (BURIAN e GEISSLINGER, 2005).

As PG possuem efeitos distintos sobre a inflamação. A PGE₂ e a PGI₂ são vasodilatadoras, especialmente nas arteríolas, meta-arteríolas pré-capilares e vênulas. Elas causam aumento da permeabilidade vascular em sinergia com outros mediadores, como HIS e BK (CARVALHO, 2004), além disso, as PG agem sobre nociceptores polimodais (PMN), que são neurônios sensoriais periféricos que respondem aos estímulos nócicos. Dentre os PMN cita-se as fibras C não mielinizadas, que respondem a estímulos térmicos, mecânicos e químicos (SAYAR e MELLI, 1999).

A PGE₂, o produto mais importante da COX, exibe uma ampla variedade de ações biológicas em diversos tecidos através da sua ligação a receptores específicos na membrana plasmática. Esta PG, geralmente é considerada um mediador pró-inflamatório chave; altos níveis de PGE₂ foram encontrados em exudatos inflamatórios, e a injeção de PGE₂ diretamente em um tecido mostrou induzir sinais clássicos de inflamação (CLAUDINO et al., 2006; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004).

Os LT, em especial o LTB₄, também ativam as respostas dos neutrófilos, como agregação e adesão ao endotélio venular, geração de espécies reativas de oxigênio e liberação de enzimas, além da potente atividade quimiotática (NATHAN, 2002; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004). O LTB₄ também diminui os limiares nociceptivos, causando hiperalgesia térmica e mecânica na inflamação neurogênica, pela produção de 8R,15S-diHETE em leucócitos PMN (DRAY, 1995).

As ações pró-inflamatórias de inúmeras PG e LT são contidas/reguladas, por uma classe de moléculas chamadas lipoxinas (LX). As LX são uma classe de eicosanóides oxidados que se ligam a receptores celulares e bloqueiam o influxo de neutrófilos (NATHAN, 2002). Estas moléculas são geradas pela ação combinada de leucócitos, principalmente neutrófilos, e plaquetas (DYKE e SERHAN, 2003; GILROY et al., 2004).

2.2.1.6.4 Fator ativador de plaquetas

Fator ativador de plaquetas (PAF) é um mediador biologicamente ativo derivado de lipídeos, sendo um importante agregante plaquetário. É produzido e liberado por maioria das células inflamatórias e plaquetas estimuladas por trombina. Quando aplicado localmente provoca eritema e edema, devido a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, sendo que em doses maiores pode provocar hiperalgesia (NATHAN, 2002; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004). O PAF possui ações em várias células-alvo e não somente em plaquetas. Também é capaz de estimular a quimiotaxia pra neutrófilos e monócitos, a degranulação e a produção de espécies reativas de oxigênio (COUSSENS e WERB, 2002). O PAF pode ser importante ao mediar o processo de adesão, por exemplo, quando derivado de células endoteliais pode estar localizado em sua superfície, onde tem acesso aos receptores de PAF nos PMN em rolamento. Pode ativar a fosfolipase A₂ para a produção de eicosanóides a partir de fosfolipídeos. (WAGNER e ROTH, 2000).

2.2.1.7 Óxido nítrico

Óxido nítrico (NO) é outro importante mediador da resposta inflamatória. É um gás solúvel produzido pelas células endoteliais, macrófagos e alguns neurônios cerebrais. O NO é sintetizado a partir da L-arginina pela ação da NO sintase (NOS). Foram identificadas três isoformas da NOS: a NOS endotelial (eNOS), neural (nNOS) e NOS induzida (iNOS). A eNOS e nNOS são produzidas de forma constitutiva e suas expressões aumentam com o fluxo de cálcio enquanto iNOS é produzida através de leucócitos ativados após a exposição a citocinas pró-inflamatórias ou a produtos microbianos. (DRAY, 1995; SHERWOOD e TOLIVERKINSKY, 2004). Alguns estudos, indicam que o aumento na produção de NO, devido a indução da expressão de iNOS por citocinas inflamatórias, é instrumento da patofisiologia da inflamação (PACHER et al., 2007).

O NO tem propriedades pró-inflamatórias, age como vasodilatador, além de aumentar a permeabilidade vascular e estimular a produção de prostaglandinas pró-inflamatórias. Quando ocorre a produção de NO em excesso, causa lesão tecidual por peroxidação lipídica. (GUZIK et al., 2003). O NO também apresenta atividades anti-inflamatórias, isso se dá através da inibição da agregação plaquetária e adesão de neutrófilos e plaquetas.

Mediadores pró-inflamatórios ativam células inflamatórias e enzimas, dentre elas, a iNOS. Esta enzima produz grandes quantidades de NO e de enzimas NADPH oxidase e a xantina oxidase, produtoras de espécies reativas de oxigênio como o ânion superóxido. A produção de NO e ânion superóxido possibilita a geração de peroxinitrito (ONOO⁻), o que ocasiona a lesão de moléculas alvos como proteínas, mitocôndrias e ácido desoxiribonucleico (DYKE e SERHAN, 2003; PACHER et al., 2007). A lesão do DNA pode iniciar a apoptose, gatilho para ativação da polimerase poli ADP-ribose (PARP), o que pode ocasionar a indução de necrose celular pela depleção de ATP. O ONOO⁻ e PARP contribuem para a intensificação das vias de transdução do sinal inflamatório, o que gera um ciclo de autoamplificação da lesão celular inflamatória (PACHER et al., 2007).

Tanto o NO quanto seus derivados são agentes microbicidas, de forma que o NO também demonstra ser um importante mediador na defesa do hospedeiro contra infecções (GUZIK et al., 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a possível atividade anti-inflamatória e antinociceptiva e realizar a caracterização fitoquímica do óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea* Mart.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar qualitativamente e quantitativamente a composição fitoquímica do óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea*;
- Avaliar a atividade antinociceptiva em camundongos através do modelo de contorções abdominais induzidos por ácido acético.
- Analisar o efeito anti-inflamatório do óleo fixo de *Euterpe oleracea* no modelo de edema de pata induzido pela carragenina em ratos;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória em modelo de eritema de orelha induzida por óleo de cróton em camundongos;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do óleo fixo de *Euterpe oleracea* no modelo de permeabilidade vascular em ratos;
- Analisar o efeito anti-inflamatório do óleo fixo de *Euterpe oleracea* no modelo de migração leucocitária em ratos;
- Avaliar o efeito anti-inflamatório do óleo fixo de *Euterpe oleracea in vivo* na formação do tecido granulomatoso em ratos;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Drogas, reagentes e soluções

- Salina tamponada com fosfato (PBS)

Cloreto de Sódio P.A	8.0g
Cloreto de Potássio P.A.	0.2g
Fosfato de sódio dibásico P.A	1.15g
Fosfato de sódio monobásico P.A	0.2g
Água destilada q.s.p	1.0l
pH 7.4	

- Solução de Turk

Ácido acético glacial P.A	20.0mL
Azul de metileno	0.5mL
Água destilada	1.0L
Corante pancreômico de Rosenfeld	
Gienza-azul-eosina-azul de metileno	97.0mg
May-Grunwald-eosina-azul de metileno	53.0mg
Metanol P.A	1.0L

- Ácido acético Glacial PA (Vetec)

- Óleo de cróton (Sigma – C 6719)

- Carragenina (Iota - carrageenan - Fluka - Biochemika) - solubilizada em solução salina 0.9% e vigorosamente agitada no momento do uso.

- Indometacina (MSD) - solubilizada em tampão Tris 0.1N pH = 8. A partir desta solução foram obtidas as concentrações desejadas.

- Solução salina 0.9% (Farmax);

- Azul de Evans (Cromoline Química) – solubilizado em solução salina 0.9%;

- Dexametasona (Acetato de Dexametasona) (Laboratório Globo);

- Tiopental sódico (Thiopentax - Cristália) - diluído em solução salina 0.9;

- Histamina (dihidrocloridrato) (Sigma) - solubilizada em solução salina 0.9%.

4.2 Aparelhagem e Materiais Utilizados

Balança

Eletrônica Bioprecisa mod. – FA2104N

Paquímetro

Ugo Basile mod. - 7140.

Centrífuga

Quimis mod. – Q.222.T.

Espectrofotômetro de Ultravioleta

Digital Micronal mod. - B34211.

Estufa

LS Logem Scientific mod. - ECB2.

Autoclave

Sieger mod. - Sieger 21.

Contador diferencial de células

Phoenix mod. - EC-2088

Destilador

Quimis mod. – Q.341.22.

Espectrofotômetro de massa

Shimatzu mod. - QP 5000

Microscópio óptico
Bioval mod. - L2000A
Paquímetro digital 6"
Zaas Precision

Algodão
(Hidrófilo branco (Johnson & Johnson))

4.3 Obtenção e análise do óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea*

4.3.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO DE *EUTERPE OLERACEA*

O óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea* foi gentilmente cedido pela empresa Açai do Amapá Agro-Industrial LTDA – SAMBAZON. O modo de extração trata-se de um método padronizado pela empresa, o qual não foi disponibilizado.

4.3.2 ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DO ÓLEO FIXO DE *EUTERPE OLERACEA*

A composição do OEO foi determinada através do método de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) com um analisador de massa quadripolo Shimatzu, modelo QP 5000. Condições programadas no aparelho: coluna capilar DB-1 (dimetil-polisiloxane) com 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno; gás de arraste: Hélio (1 mL/min); programa: 120°C /2 min e, depois, aquece 8°C/min até 290°C, e permanece por 10min; temperatura do injetor: 250°C; temperatura do detector 280°C, temperatura do forno: 120°C modo de injeção: 0,1 µL (solução 10%), split 1:20, 500 ng/na coluna. Os espectros de massas foram produzidos por impacto eletrônico (70 eV). Os espectros de massas dos

constituintes foram comparados com os padrões existentes na biblioteca Wiley do computador no aparelho. Em seguida, foram realizadas comparações visuais com espectros de massa de substâncias encontrados na literatura. Os tempos de retenção dos picos maiores, mais facilmente identificados pelo espectro de massa, foram comparados com os tempos de retenção destas substâncias registrados em catálogos, observando-se a diferença que se manteve aproximadamente constante para as demais substâncias identificadas.

4.4 Avaliação das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea*

4.4.1 ANIMAIS

Nos diversos experimentos foram utilizados ratos Wistar albinos machos, pesando entre 180 - 200g, e camundongos Swiss albinos machos (20-25g), provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da UNICAMP – Campinas – São Paulo, estes foram mantidos em jejum por 12 horas (antes dos experimentos), com livre acesso à água em caixas com capacidade para cinco ratos e dez camundongos, colocadas em sala climatizada (27°C), com períodos de claro e escuro de 12 horas cada, controlado automaticamente.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amapá, com o registro CEP – UNIFAP – 4A /2008 – CD 3720.

4.4.2 VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DAS DROGAS

Dependendo do experimento, as substâncias foram administradas, por via oral, em diferentes intervalos de tempo após a indução do estímulo inflamatório. Assim, o OEO, nas diferentes concentrações, foi administrado 30 minutos antes da injeção do estímulo inflamatório. Já no teste de granuloma, o OEO foi administrado 2h após a implantação dos "pelletes", permanecendo o tratamento com uma dose diária durante seis dias. Nos testes de avaliação do efeito analgésico, o OEO foi administrado trinta minutos antes da aplicação do estímulo algênico.

4.4.3 DETERMINAÇÃO DA DOSE EFETIVA 50 (DE₅₀) DO OEO

A DE₅₀ foi determinada, tendo como base o teste de contorção. Grupos de camundongos (n = 10) foram tratados, por via oral, com o OEO trinta minutos antes da aplicação do estímulo. Foram administradas várias doses (500, 1000 e 1500 mg/kg) e a DE₅₀ foi determinada, utilizando-se o teste de regressão linear no software Bioestat 5.0 (2007).

4.4.4 TESTE DE CONTORÇÕES EM CAMUNDONGOS

Previamente, diferentes grupos de animais (camundongos, n = 10) foram tratados por via oral, com a dose efetiva do OEO (1226,8 mg/kg), ou com a solução de água destilada (0,05 mL). Após decorrer trinta minutos os animais foram submetidos ao teste de contorções, baseado no método preconizado por Koster et al. (1959). As contorções foram induzidas através da administração intraperitoneal de ácido acético 1% v/v (0,25 mL/animal). As respostas, caracterizadas pela contração da região abdominal e extensão das patas traseiras, foram observadas e

os resultados expressos em Média \pm EPM do número de contorções no intervalo de 20 minutos.

4.4.5 MEDIDA DO EDEMA INTRAPLANTAR

Neste ensaio, diferentes grupos de animais (ratos, n = 5) foram tratados por via oral com OEO 1226 mg/kg (DE₅₀), indometacina 10 mg/kg, água destilada (0,5 mL) (CARVALHO, 1993). Foram injetadas, na região plantar posterior direita de ratos, 1.000 μ g por pata de carragenina (0,1 mL), e na pata posterior esquerda igual volume de solução salina a 0,9%. Para a determinação do diâmetro das patas, foi utilizado o paquímetro digital, em intervalos de 1 hora após a aplicação do estímulo.

4.4.6 DERMATITE INDUZIDA PELO ÓLEO DE CROTON

O método utilizado foi o descrito por Tubaro et al. (1985), no qual a inflamação cutânea foi induzida pela aplicação de 0,1mL (1 mg/orelha) de uma solução de óleo de croton em acetona na superfície da orelha direita dos camundongos, pesando 20 a 25g. Na orelha esquerda, foi aplicado o mesmo volume de acetona. Trinta minutos antes da aplicação deste estímulo, realizou-se o tratamento por via oral, sendo que um grupo (n = 10) foi tratado com OEO (1226 mg/orelha), outro com dexametasona (n = 10) (0,5 mg/kg), e o grupo controle (n = 10) somente com água destilada (0,05mL). A resposta anti-inflamatória foi avaliada após 6 h da aplicação do estímulo, quando os camundongos foram sacrificados e uma amostra de 8 mm de diâmetro da orelha retirada e estabelecida a diferença do peso entre a amostra da orelha controle (esquerda) e a orelha estimulada (direita), os resultados obtidos foram expressos em peso (mg).

4.4.7 PERMEABILIDADE VASCULAR EM RATOS

O método utilizado foi descrito por Mustard et al. (1965) e Lykbe et al. (1969), consistindo na determinação espectrofotométrica da quantidade de corante extravasado para o espaço intersticial por ação de um mediador.

Foram utilizados ratos wistar machos. inicialmente, diferentes grupos de animais (n = 5) foram tratados por via oral com OEO (1226,8 mg/kg), indometacina (10 mg/kg), e água destilada (0,5mL) (CARVALHO, 1993). Após trinta minutos do tratamento, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (40 mg/kg), e a região dorsal depilada. Após este procedimento, estes receberam injeção endovenosa de 0,5 mL de azul de Evans (25 mg/kg) e 10 minutos depois, foi injetada por via intradérmica, o mediador histamina (50 µg/animal), solubilizada em solução salina. Cada animal recebeu 5 injeções com volume de 0,1 mL, variando os locais de aplicação. Trinta minutos após a última injeção, os animais foram sacrificados em câmara de dióxido de carbono, as suas peles foram retiradas e as áreas próximas aos locais das injeções removidas com auxílio de um furador de rolhas de 8mm de diâmetro. Em seguida separadamente, foram fragmentadas e colocadas em tubos de ensaio, contendo 3 mL de formamida e mantidas na estufa a 37°C por 24 horas. Este material foi filtrado e centrifugado (2500 rpm), durante 10 minutos.

A quantidade de azul de Evans foi determinada espectrofotometricamente, utilizando comprimento de onda de 620 nm. As concentrações do corante foram obtidas a partir da densidade óptica, multiplicada por um fator calculado através da curva padrão.

4.4.8 REAÇÃO INFLAMATÓRIA AGUDA INDUZIDA POR CARRAGENINA EM CAVIDADE PERITONEAL DE RATOS

Trinta minutos antes da injeção do agente flogístico, os animais foram tratados com o OEO (1226,8 mg/kg/v.o, n = 5), um grupo (controle positivo) com

dexametasona 0,5 mg/kg v.o. (n = 5) (CARVALHO, 1993), e outro grupo de animais recebeu (v.o) uma dose no volume de 0,5 mL de água. Uma solução de 3 mL de carragenina (100 µg/mL) em salina estéril foi injetada na cavidade peritoneal dos ratos. A migração celular foi analisada, 4 horas após a injeção do estímulo. Para tanto, os animais foram sacrificados por eutanásia em câmara de dióxido de carbono e posteriormente injetados 10 mL de PBS heparinizado (1 mL/1000 mL de PBS) na cavidade peritoneal e foram realizadas as contagens totais e a diferencial das células aí contidas. Os resultados obtidos na contagem diferencial foram expressos como número de neutrófilos por mL do lavado peritoneal. Para realização da contagem total, 20 µL do lavado peritoneal foram diluídos em 0,4 mL da solução de Turk. A contagem foi realizada, em câmara de Neubauer. Parte do lavado peritoneal foi centrifugada a 1000 rpm por 10 minutos; o sobrenadante suspenso em 0,4 mL de uma solução de albumina a 3% em PBS p/v. O esfregaço celular foi feito em lâmina própria (SOUZA e FERREIRA, 1985). As células foram coradas pelo corante pancrômico de Rosenfeld e contadas em microscópio óptico, usando-se objetiva de imersão em óleo. Foram contadas 100 células em cada lâmina, diferenciando-as em: neutrófilos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos. O número de células diferenciadas foi calculado pelo percentual encontrado em relação ao número total de células.

4.4.9 INDUÇÃO DO TECIDO GRANULOMATOSO

Em condições assépticas e sob anestesia com tiopental sódico (45mg/kg/i.p.), foi efetuada incisão longitudinal ventral em cada animal e implantados, através de divulsão do tecido subcutâneo, quatro cilindros de algodão hidrófilo branco (Johnson & Johnson[®]) de 5 mm de comprimento, pesando 40 mg cada, em quatro pontos equidistantes da incisão. Os cilindros de algodão foram previamente esterilizados por autoclavagem em lotes de quatro unidades, pesando 160 mg e, imediatamente antes do implante, foram tratados com 0,4 mL de solução aquosa de ampicilina injetável 5% (Ariston) segundo o método de Meier et al. (1950) e Niemegeers et al. (1975). Foram administrados por via oral, diariamente, 0,5 mL/kg de água destilada (grupo controle, n = 5), 0.2 mg/kg de dexametasona (n = 5)

(GERMANO et al., 1995), e 1226,8 mg/kg do OEO, começando o tratamento 2 horas depois da implantação dos “pellets” até o sexto dia. No sétimo dia, os animais foram sacrificados em câmara de dióxido de carbono, os granulomas foram removidos por dissecação, e submetidos a secagem por 24 horas em temperatura de 60°C. A seguir seus pesos foram determinados em balança analítica (Explorer Ohaus – Marte), o peso do granuloma foi calculado pela diferença entre os pesos secos inicial e final.

4.5 Análise estatística

Para análise estatística dos resultados obtidos, na comparação das médias obtidas nos diversos experimentos, foi utilizado o teste “t” de Student-Newman-Keuls e a análise de variância (ANOVA), através do software SigmaPlot 10.0[®]. Resultados com níveis de significância para $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos. Foi ainda empregado o teste de regressão linear, através do software Biostat 5.0[®] (2007).

5 RESULTADOS

5.1 Análise qualitativa e quantitativa do óleo fixo de *Euterpe oleracea*

O perfil cromatográfico do óleo fixo de *Euterpe oleracea*, através da cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massa, identificou a presença de ácido palmítico (C16:0), ácido palmítoleico (C16:1) e ácido oleico (C18:1). Sendo que a análise proporcional da distribuição dos ácidos graxos no óleo mostrou os seguintes teores: ácido palmítico (21.263%), ácido palmítoleico (2.941%) e ácido oleico (75.796%) (Figura 1; Tabela 1).

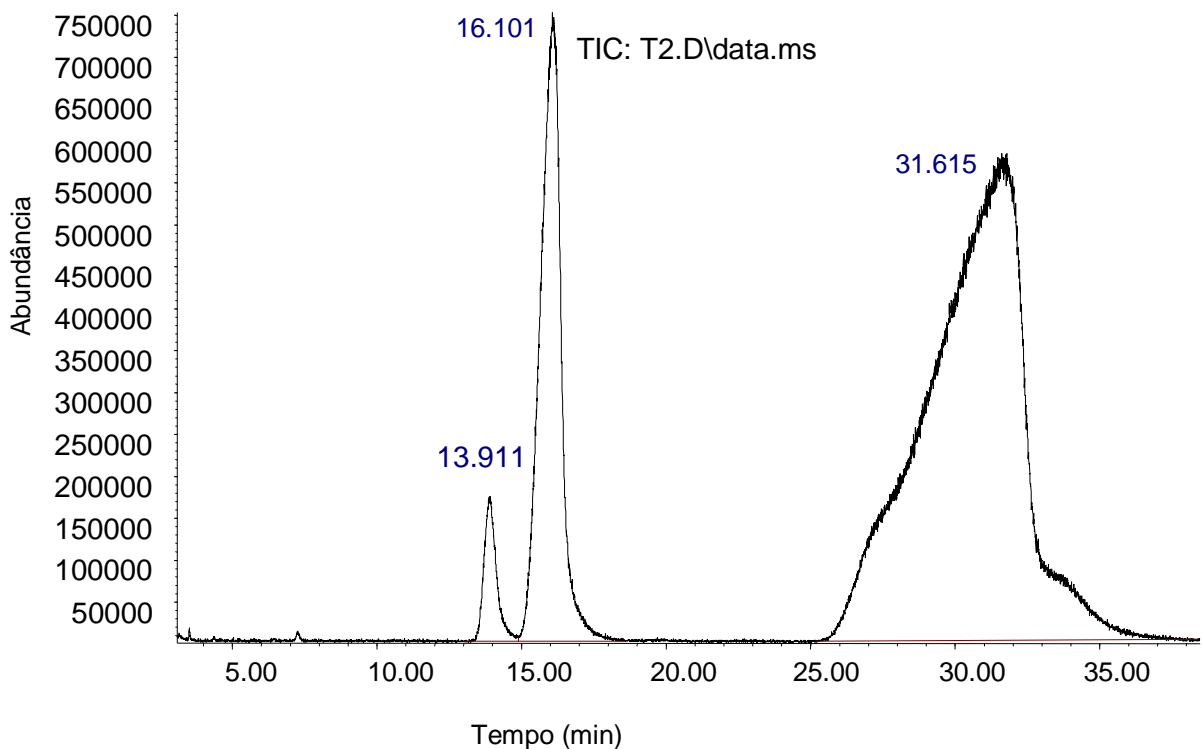


Figura 1. Cromatograma obtido por cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massa Shimadzu, modelo QP 5000 para caracterização e quantificação dos ácidos graxos do óleo fixo de *Euterpe oleracea*.

Tabela 1 - Identificação dos picos do cromatograma tomando-se como base o tempo de retenção dos componentes.

Pico Nº	Tempo	Área	Conc.	Nome
01	13.908	1371815	2.941%	Ácido palmitoleico
02	16.103	34959	21.263%	Ácido palmítico
03	31.614	47918	75.796%	Ácido oleico

Os dados representam a composição dos ácidos graxos do óleo fixo de *Euterpe oleracea*, a quantificação foi feita pela área dos picos e os resultados expressos em área percentual, destacando-se a predominância do ácido oléico. Em menor proporção, os ácidos palmítico e palmitoleico.

5.2 Determinação da Dose Efetiva (DE₅₀)

O tratamento com as doses crescentes do OEO (500, 1000 e 1500 mg/kg) por via oral no teste de contorções abdominais induzida por ácido acético a 1% produziu efeito dose-dependente cujo coeficiente de correlação de Pearson foi de $r = 0,9956$ ($y = 0,0219x + 23.1333$), e a DE₅₀ encontrada foi de 1226,8mg/kg (Figura 2).

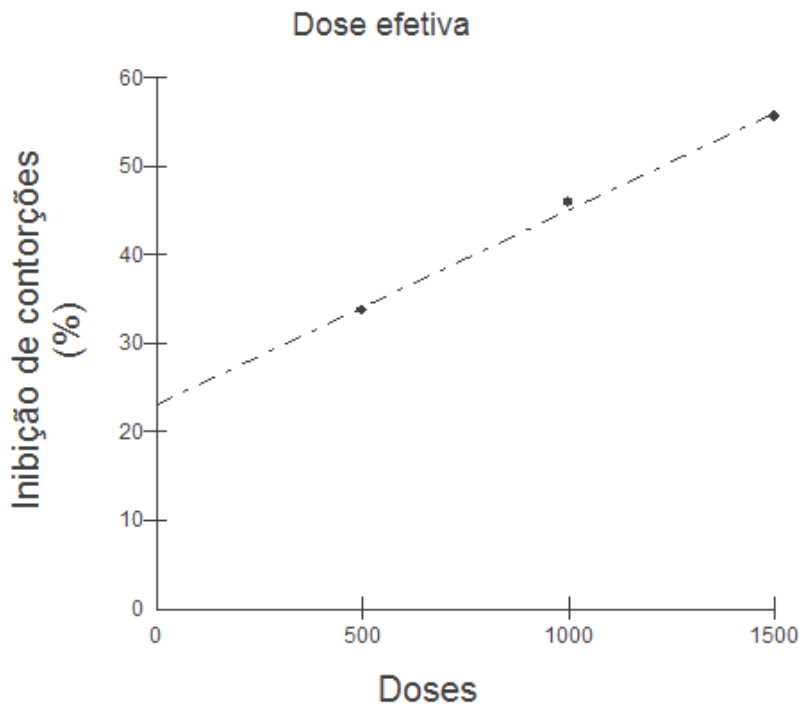


Figura 2. Determinação da dose efetiva 50 no teste de contorções em camundongos por ácido acético. Cada ponto representa a média da porcentagem de inibição do número de contorções ($n = 10/\text{grupo}$).

5.3 Teste de contorções

A administração intraperitoneal de ácido acético produziu efeito hiperálgico, expressado pelas contorções do dorso e extensão das patas traseiras dos animais, as quais foram registradas no período de vinte minutos. A administração por via oral do OEO, nas doses de 500, 1000 e 1500mg/kg produziu redução dose-dependente

do número de contorções em 33,67% ($P < 0.01$), 45,88% e 55,58% ($P < 0.001$), respectivamente, de forma significativa, quando comparado com o controle negativo (água destilada). Já o grupo tratado com indometacina, anti-inflamatório não esteroide, produziu efeito inibitório significativo em 85,29% ($P < 0.001$) como mostrado na figura 3.

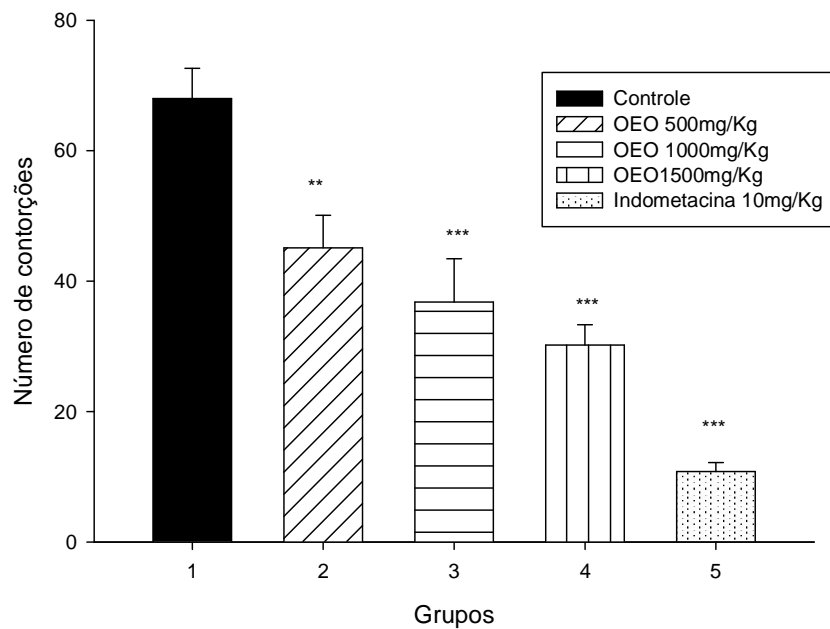


Figura 3. Efeito da administração (v.o.) do OEO (500, 1000 e 1500 mg/kg), Indometacina (10 mg/kg) e água destilada (0,5 mL) sobre as contorções em camundongos induzidas por injeção i.p. de ácido acético 1%. Os dados são expressos como média \pm EPM de 10 animais. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (teste de múltiplas comparações de Student-Newman-Keuls)

5.4 Medida do edema intra-plantar

A injeção de carragenina na pata dos animais produziu edema visível e mensurável, cujo pico máximo foi observado 4 horas após a injeção do agente inflamatório. O grupo tratado com OEO na dose de 1226,8 mg/kg por via oral inibiu a formação do edema nas seis horas do experimento, sendo que, no pico máximo do edema a inibição foi de 29,84% ($P < 0,01$), em comparação com o controle negativo (água destilada), essa inibição foi estatisticamente significativa. Além disso, foi possível mostrar que a indometacina 10mg/kg por via oral reduziu o edema induzido pela carragenina, inibindo em 42,44% na quarta hora do edema. (figura 4)

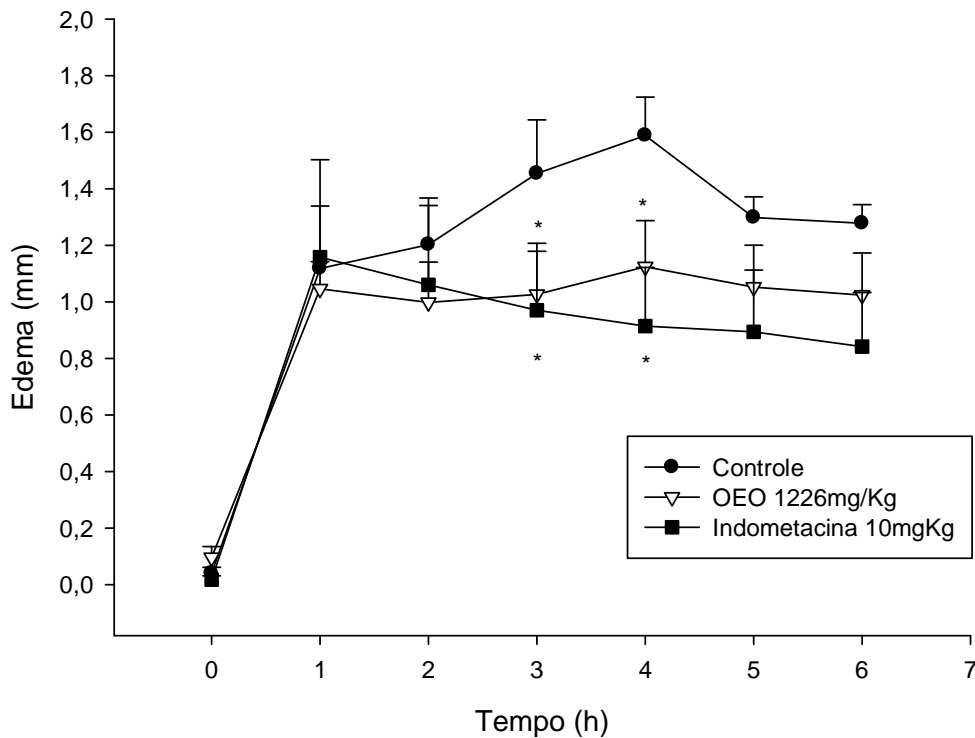


Figura 4. Efeito da administração por via oral de OEO (1226,8 mg/kg), Indometacina (10mg/kg) e água destilada (0,5mL) sobre o edema de pata de rato, induzido pela injeção intraplantar de carragenina (1000 μ g/pata). Os dados são expressos como média \pm EPM de 5 animais, * $p < 0,01$, teste de múltiplas comparações de Student-Newman-Keuls.

5.5 Dermatite induzida pelo óleo de Cróton

A aplicação de óleo de cróton (1mg/orelha) produziu edema intenso por 6 horas. A figura 6 mostra que o OEO na dose de 1226,8mg/kg provocou efeito inibitório significativo ($p < 0,01$) quando comparado ao grupo controle, inibindo o processo edematogênico em 37,9%, enquanto que a dexametasona, um anti-inflamatório esteroideal (10mg/kg) reduziu em 68,8% ($p < 0,001$). (Figura 5)

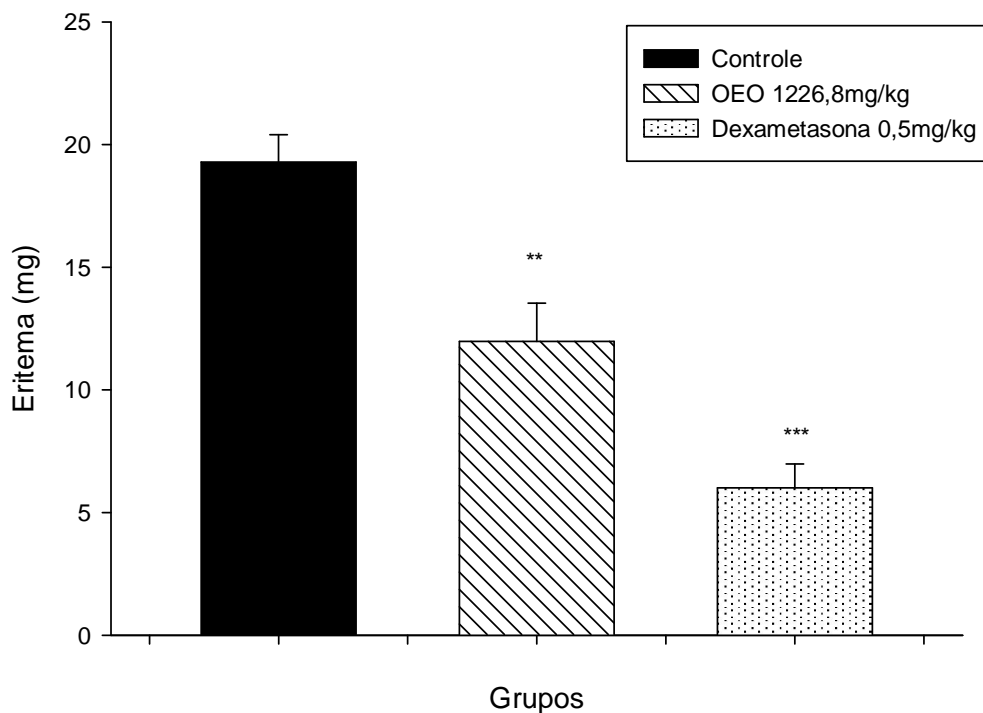


Figura 5. Efeito da administração (v.o) do OEO (1226,8mg/kg) e dexametasona (0,5mg/kg) sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos. Cada coluna representa a média \pm EPM de 10 animais. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, teste de múltipla comparação Student-Newman-Keuls.

5.6 Permeabilidade vascular

Após a aplicação da histamina nos grupos controle, tratados somente com água destilada, foi possível observar o aumento da permeabilidade vascular, mensurada pelo extravasamento do corante azul de Evans. O tratamento por via oral de grupo de ratos com OEO, 1 hora antes da aplicação do mediador inflamatório, foi

capaz de antagonizar a resposta à Histamina em 54,5%. Esta resposta biológica foi significativa em relação aos grupos controle (Figura 6).

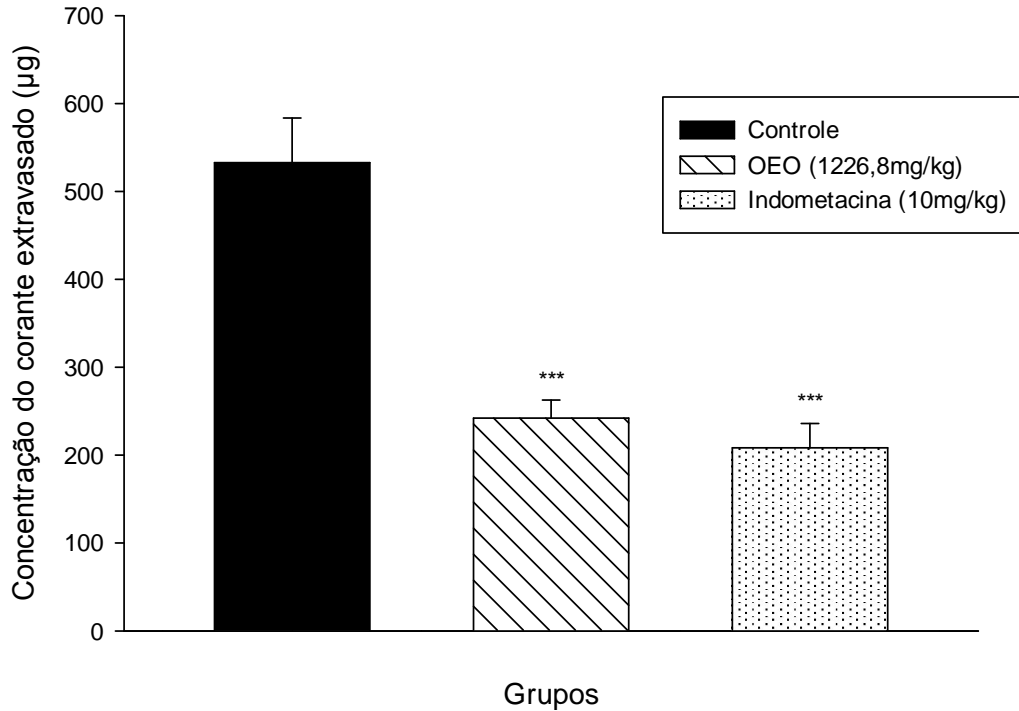


Figura 6. Efeito da administração (v.o.) de OEO (1226,8mg/kg, indometacina (10mg/kg) e água destilada, na permeabilidade vascular induzida por histamina. As barras representam a média \pm EPM de 5 animais. * $p < 0,001$, , Teste de múltipla comparação Student-Newman-Keuls.

5.7 Reação inflamatória aguda induzida por carragenina em cavidade peritoneal de ratos

Neste modelo de migração leucocitária induzido por carragenina, foi possível observar uma resposta inflamatória aguda na cavidade peritoneal de ratos, em que a concentração de neutrófilos foi de $3886,58 \times 10^6$ células/mL após 4 horas. O OEO (1226,8mg/kg) inibiu de forma significativa a migração leucocitária em 80,14%, efeito semelhante à dexametasona, que inibiu em 93,17%, quando comparado ao grupo controle, tratado com água destilada, demonstrando assim inibição do processo de migração (Figura 7).

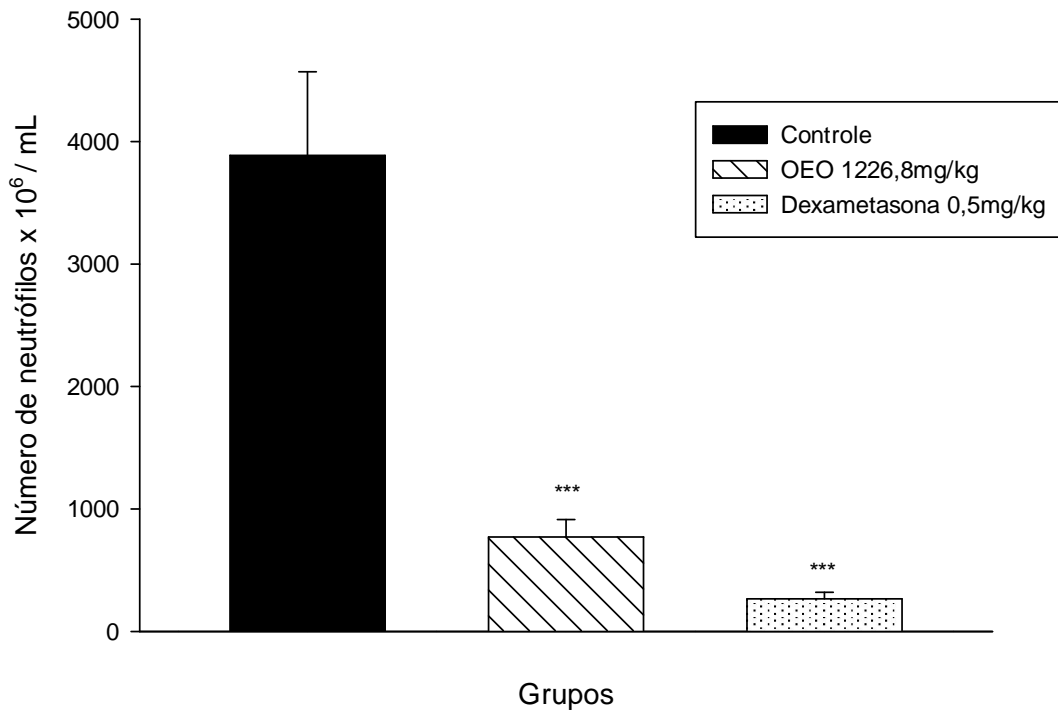


Figura 7. Efeito da administração (v.o.) do OEO (1226,8 mg/kg) e dexametasona (0,5 mg/kg), sobre a migração de neutrófilos para cavidade peritoneal de ratos, induzido por 3 mL de carragenina (100µg/mL). As barras representam a média \pm EPM do número de neutrófilos. (n = 8 / grupo). *** p < 0,001, Teste de múltipla comparação Student-Newman-Keuls.

5.8 Indução do tecido granulomatoso

A implantação dos pélets na região subcutânea dos animais produziu tecido granulomatoso, observado em todos os grupos ao final do sétimo dia, sendo que, no grupo controle (água destilada), esta formação foi mais expressiva. A administração diária de 1226,8mg/kg por via oral de OEO, durante 6 dias, inibiu de forma significativa, a formação do tecido granulomatoso em 36,66%, quando comparado ao grupo controle (água destilada). A dexametasona, um potente anti-inflamatório esteroidal, inibiu a formação do edema em 78,7% (figura 8).

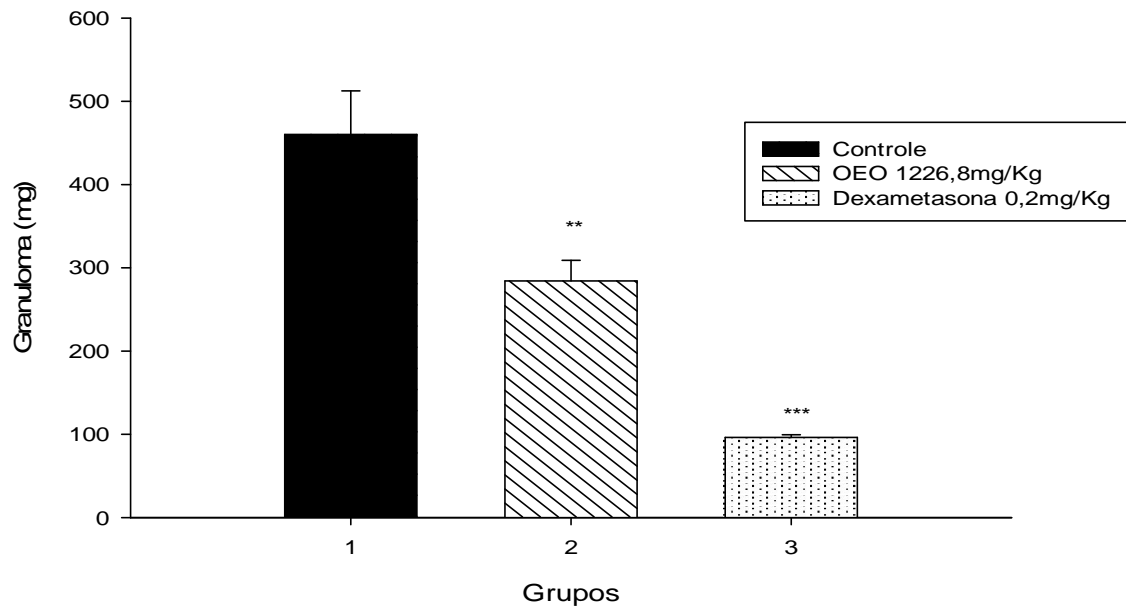


Figura 8. Efeito da administração (v.o) de OEO (1226,6 mg/kg), água destilada (0,5mL) e dexametasona (0,2mg/kg), durante seis dias sobre a formação do tecido granulomatoso. As barras representam a média \pm EPM de 5 animais, ** $P < 0.01$ *** $P < 0,001$, teste de múltiplas comparações Student-Newman-Keuls.

6 DISCUSSÃO

O óleo fixo de *Euterpe oleracea* é uma complexa mistura de importantes ácidos graxos em sua composição. Em estudo realizado por Lubrano et al. (1994), detectou-se os seguintes componentes na composição do óleo de *Euterpe oleracea*, como mostrado na figura 1 e tabela 1: Ácido oleico (60%), ácido palmítico (22%), ácido linoleico (12%) e ácido palmitoleico (6%). Da mesma forma, em estudo realizado por Rogez (2000), foi identificado o ácido oléico (60%), ácido palmítico (22%), ácido palmitoleico (2%), ácido linoléico (12%), ácido esteárico (2%) e ácido araquídico (2,5%). Os resultados desses estudos corroboram com os encontrados neste trabalho, haja vista que, através da análise do óleo fixo dos frutos de *Euterpe oleracea* foi possível identificar o ácido oleico (75,79%), ácido palmítico (21,26%) e ácido palmitoleico (12,94%), no entanto, os picos não estão puros, pois têm muitas substâncias similares co-eluídas.

A classe de ácidos graxos presentes no óleo fixo de *Euterpe oleracea* exercem funções fisiológicas importantes para o nosso organismo, e devido suas estruturas químicas características, esses compostos tem sido alvos de interesse para laboratórios farmacêuticos e alimentícios. Em pacientes com alterações das respostas metabólicas, o equilíbrio entre os lipídeos da dieta tem como propósito controlar a resposta inflamatória quando exacerbada, por meio da relação entre os tipos de ácidos graxos insaturados ingeridos. Os ácidos graxos exercem funções importantes na modulação da sinalização ao cálcio (SOLDATI et al., 2002), proteína quinase C (MAY e CALDER, 1993), ativação de fosfolipase C, produção de inositol-1,4,5- trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG). Além do mais, os ácidos graxos são precursores primários de importantes mediadores lipídicos durante o processo inflamatório, como ácido araquidônico, prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (GRIMBLE e TAPPIA, 1998; O.SHEA et al., 2004; CALDER, 2003).

Desta forma, os lipídeos de 18 átomos de carbonos que pertencem a essas famílias – ácido α -linolênico (18:3 ω -3), ácido linoléico (18:2 ω -6) e ácido oléico (18:1 ω -9) - usam as mesmas enzimas, dessaturases (Δ 6 e Δ 5) e uma elongase, para sintetizar seus derivados com 20 átomos de carbonos: ácido eicosapentaenóico (EPA) (20:5 ω -3), ácido araquidônico (AA) (20:4 ω -6) e ácido eicosatrienóico (ETA)

(20:3 ω -9) (CABRÉ e GASSUL, 1996; PEREIRA et al., 2003; BEHROUZIAN e BUIST, 2003).

Artigos de revisão descrevem vários estudos indicando que as atividades anti-inflamatórias de ácidos graxos são associados com reduções nos níveis de IL-1 α , TNF- α , IL-6, e IL-1 β (JAMES et al., 2000; BLOK et al., 1996). A composição de ácidos graxos do OEO é comparável com outros óleos que têm atividades anti-inflamatórias, como por exemplo, o óleo de oliva e óleo de peixe, ricos em ácidos graxos, quando testados em modelos de inflamação de orelha induzido por óleo de cróton, assim como o ácido palmítico presente na fração hexânica, com efeito anti-nociceptivo. (JAMES et al., 2000; BLOK et al., 1996; GRIMBLE, 1998; LINOS et al., 1999).

O óleo de oliva é caracterizado por ser constituído de ácidos graxos monoinsaturados, bem como pelo seu elevado teor em agentes antioxidantes. Este óleo apresenta numerosas funções biológicas que são benéficas para o estado de saúde. Uma dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados fornece uma adequada fluidez às membranas biológicas, os constituintes presentes neste óleo são capazes de sequestrar os radicais livres e proporcionar uma proteção adequada contra a peroxidação. Além disso, este óleo diminui os níveis plasmáticos de colesterol LDL e aumenta os níveis de colesterol HDL, diminuindo assim o risco de problemas cardíacos. Neste contexto, foi sugerido que o aumento do consumo de ácidos graxos monoinsaturados em lugar de ácidos graxos poliinsaturados torna lipoproteínas circulantes menos sensível à peroxidação e, assim, diminui o desenvolvimento da arteriosclerose. Várias investigações têm sugerido que o óleo de oliva pode ser benéfico em doenças inflamatórias e auto-imunes, como artrite reumatóide, através da modificação da produção de citocinas inflamatórias (BOGANI et al., 2007., LA LASTRA et al., 2001., VAZQUEZ et al., 2004)

O ácido oléico, um dos constituintes do óleo fixo de *Euterpe oleracea* é um ácido graxo de cadeia longa possuindo 18 carbonos na sua estrutura. Por possuir uma dupla ligação entre os carbonos ele é chamado de ácido graxo insaturado. O ácido oléico é uma classe de compostos orgânicos chamados de lipídeos, os quais são vitais na construção da membrana celular, estando presente na epiderme, o qual protege e faz parte da barreira da pele evitando a sua desidratação, por perda de água transepidermica (LEE et al., 1986). O ácido oleico é um ácido graxo

essencial (ômega 9), o qual participa do nosso metabolismo, desempenhando um papel fundamental na síntese dos hormônios. A ingestão de mono e ácidos graxos poliinsaturados tem sido associada a reduzido risco de doenças cardiovasculares, incluindo hipertensão e aterosclerose (BASU et al., 2006). O ácido oléico é capaz de inibir a ativação da célula endotelial e reduzir a expressão de moléculas inflamatórias (CARLUCCIO et al., 1999). O ácido oléico apresenta efeitos pró-inflamatórios induzindo a produção de NO em macrófagos e aumento da expressão da endotelina-1 via ativação NF- κ B de células endoteliais (LIMA et al., 2006; PARK et al., 2003). Além disso, o ácido oleico suprime a liberação de mediadores pró-NO e PGE₂, bem como a expressão de iNOS e COX-2 em micróglia estimuladas por LPS. Este efeito anti-inflamatório do ácido oléico está associado com o bloqueio de espécies reativas do oxigênio (ROS) (OH et al., 2009). A importância, portanto, do ácido oléico presente no óleo fixo de açaí, deve-se a sua função dentro do processo inflamatório (CARDOSO et al., 2004; PEREIRA et al., 2008, OH et al., 2009)

O desenvolvimento de métodos para a medida de dor e seu alívio, em animais de laboratório, tem sido incrementado nos últimos anos. O princípio da maioria desses métodos se baseia na indução da dor através de um estímulo, supostamente doloroso, previamente escolhido, que determina uma resposta mensurável de preferência quantitativa, com valores diretamente proporcionais à intensidade do estímulo que, com a introdução de um procedimento ou substância, é diminuída (analgésico) ou aumentada (hiperalgésico). Os principais métodos são obtidos através de estímulo mecânico (compressão da pata) ou químico (teste de formalina e de contorções).

Quando são injetadas substâncias irritantes intraperitonealmente, em camundongos, é manifestada uma síndrome caracterizada por contorções intermitentes do abdome, torções do tronco e extensão das patas traseiras. Ocorre lesão tecidual e liberação de mediadores da inflamação, incluindo a bradicinina, serotonina, histamina e prostaglandinas, responsáveis pela indução do estímulo nociceptivo que pode ser bloqueados por anestésicos locais e substâncias analgésicas (LOUX et al., 1978; WHITE, 1964; LEI GUO, 2008). Além disso, acredita-se que a nocicepção induzida pelo ácido acético, depende da liberação de citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-8, a partir de macrófagos e basófilos residentes na

cavidade abdominal e, em conjunto com outros mediadores podem induzir a nocicepção característica observada nesse modelo (IKEDA et al, 2001).

No ensaio de contorções, o tratamento com OEO produziu efeito antiálgico, a partir da dose de 500 mg/kg até a dose de 1500 mg/kg, este efeito inibitório foi significativo e dose-dependente. A indometacina, um anti-inflamatório do tipo não esteroideal, inibiu a nocicepção em 85,29% (Figura 3).

Muitos dos métodos usados para testar fármacos anti-inflamatórios são baseados na habilidade de tais agentes inibirem o edema induzido pela injeção de agentes inflamatórios como a carragenina.

Diversos estudos indicam que a inibição da síntese das prostaglandinas é o principal mecanismo das ações terapêuticas dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE). A resposta edematogênica é um dos sinais da resposta inflamatória decorrente do aumento da permeabilidade vascular, que ocorre na microcirculação, devido à ação dos mediadores liberados.

A carragenina é um polissacarídeo extraído de algas, que induz resposta inflamatória local mensurável. É o modelo de edema de pata mais utilizado para avaliação do efeito anti-inflamatório de drogas.

Apresenta duas fases inflamatórias e uma terceira não característica. Na primeira hora, logo após a injeção da carragenina, há aumento da permeabilidade vascular mediada por HIS e 5-HT. Na segunda hora, o aumento da permeabilidade é ocasionado por cininas. Na terceira hora, o aumento da permeabilidade vascular ocorre devido à ação das prostaglandinas (MELLO, 2002).

A administração de carragenina nas patas de rato induziu edema de forma gradual, mensurável a partir da primeira hora após sua indução, sendo o pico máximo do edema obtido na quarta hora.

O tratamento com OEO na dose de 1226,8m/kg por via oral, inibiu o edema significativamente, no pico máximo no edema, sugerindo interferir sobre os mecanismos desencadeados pela carragenina. Da mesma forma, a indometacina, usada como controle positivo,também inibiu o processo edematogênico, como mostrado na figura 4.

A aplicação tópica do óleo de cróton induz uma resposta inflamatória cutânea, caracterizada por intensa vasodilatação e formação de eritema, seguido do aumento da espessura da orelha em conseqüência do extravasamento celular que

atinge o pico máximo na sexta hora. Tubaro et al. (1985), demonstrou que na cinética do processo inflamatório induzido pelo óleo de croton, o pico máximo de edema ocorre intensa infiltração celular, sendo que as principais células que participam neste processo são neutrófilos e macrófagos. Quanto às drogas anti-inflamatórias que atuam nestes processos, os anti-inflamatórios esteroidais inibem todas as fases, sendo, portanto, mais ativas que as não esteroidais, enquanto que começam a atuar após a 6^a hora.

Ésteres de forbol presentes no óleo de cróton, como o TPA, ativam a PKC, aumentam a permeabilidade vascular, induzem a síntese de metabólitos do AA e induzem a expressão da COX-2, IL-1 β , TNF- α e da molécula de adesão ICAM-1 (CHI et al, 2003; DE YOUNG et al., 1989)

Desta forma, a hipótese que o edema na orelha de camundongo induzido pelo óleo de croton deve-se aos mediadores dos produtos da cicloxigenase, gerado pelo metabolismo do ácido araquidônico (INOUE et al, 1989), pode-se sugerir que o OEO deve interferir neste processo, impedindo, assim, a geração destes mediadores, já que inibiu significativamente a formação do tecido granulomatoso, assim como a droga anti-inflamatória esteroideal dexametasona (Figura 5).

O processo inflamatório é controlado pela atuação de um grupo de mediadores químicos, dentre eles cita-se a amina vasoativa histamina. Este mediador está envolvido no início da inflamação, onde medeia o aumento de permeabilidade vascular. A ação da histamina inicia quando ela se liga aos receptores histamínicos H1 presente na célula endotelial, o que conseqüentemente provoca contração das células endoteliais, produzindo assim um aumento dos espaços entre as células, o que facilita o extravasamento das substâncias para o espaço intersticial.

No teste da permeabilidade realizado, o tratamento com o OEO antagonizou o a ação da histamina, inibindo o processo em 54,6% (Figura 6), o que demonstra a eficácia deste óleo fixo sobre o processo inflamatório agudo.

Vale ressaltar que a inflamação aguda é caracterizada por dilatação dos vasos, exudação de plasma e migração celular para o local da lesão (SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004), desta forma, seguindo o aumento na permeabilidade vascular, há o infiltrado celular, principalmente de neutrófilos, que contribuem para a o processo inflamatório através da produção, dentre outros mediadores, de radicais

livres derivados do oxigênio, como o ânion superóxido e radicais hidroxilas (POSADAS et al., 2004). Existem fatores que mantêm o aumento da permeabilidade vascular, sendo que a duração da resposta inflamatória provocada pela carragenina após o período de 3 a 4 horas seja ocasionada pela migração de leucócitos para o tecido, liberação de enzimas proteolíticas por estas células e geração de PG no local. Tais fatores, além de manter o aumento da permeabilidade vascular, podem causar danos ao tecido conjuntivo, com a liberação ou formação de mediadores adicionais (CRUNKHORN e MEACOCK, 1971). Assim, outro fator importante para avaliação da resposta inflamatória é a migração de células inflamatórias, como os neutrófilos, para o local da lesão

Durante o processo da peritonite ocorre uma exarcebação no transporte de solutos entre o plasma e a membrana porosa, além da produção paralela de migração celular. Essas alterações devem-se pela vasodilatação dos capilares na membrana peritoneal e pela abertura dos poros nos microvasos, causados por mediadores celulares e inflamatórios, como neutrófilos e prostaglandina E2, respectivamente (PAULINO et al, 2008). A inibição da migração dos leucócitos para cavidade peritoneal pode estar relacionada às seguintes hipóteses: a inibição da produção de substâncias quimiotáticas e/ou a inibição da expressão de moléculas de adesão.

Os leucócitos requerem de substâncias quimiotáticas, que facilitem sua migração para o local onde está ocorrendo à injúria, inflamação, para posteriormente desencadearem seus efeitos na tentativa de destruir o agente agressor (SHERWOOD e TOLIVERKINSKY, 2004). Dentre essas substâncias encontram-se: o LTB4 (PATCHA et al., 2004; SALLUSTO e MACKAY, 2004; ZHELEV et al., 2004), o PAF (ZHELEV et al., 2004), a proteína do sistema complemento C5a (SALLUSTO e MACKAY, 2004; ZHELEV et al., 2004), todas atraentes de neutrófilos. Em relação ao LTB4, pode-se mencionar que, é um produto derivado do metabolismo do ácido araquidônico, via a ativação da lipooxigenase (5-LOX) (PARENTE e PERRETTI, 2003), o qual apresenta um importante papel na quimiotaxia de neutrófilos, dentre outros efeitos, para o foco da inflamação.

No teste de migração celular (peritonite) demonstrou-se que o grupo de animais tratado com o OEO, ocorreu a diminuição do número de leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos) na cavidade peritoneal quando comparado ao grupo

controle negativo, da mesma forma, a dexametasona inibiu migração de leucócitos polimorfonucleares, como apresentado na figura 7. Os polimorfonucleares são as principais células a migrarem para a cavidade peritoneal, nesta fase inicial da resposta inflamatória, neste modelo experimental (SALEH e MEDEIROS, 1999).

A inflamação aguda é uma resposta rápida frente a diversos agentes ou estímulos que envolvem o recrutamento e ativação de neutrófilos. No entanto, quando o estímulo não é eliminado o processo inflamatório persiste, tornando-se crônico. As inflamações crônicas podem originar-se da inflamação aguda devido à permanência do agente agressor, que não foi vencido e continua multiplicando e atuando, porém menos intensamente (VANE, 2002).

A migração de leucócitos para o local da inflamação é um ponto importante do processo inflamatório. A participação direta de prostaglandinas na quimiotaxia é improvável de ocorrer. No entanto, sabe-se que um dos produtos do ácido araquidônico, o leucotrieno B₄, induz a ativação de leucócitos e quimiotaxia, e que, a lipoxigenase, enzima que promove a geração de leucotrienos, é sensível às drogas anti-inflamatórias, do tipo esteroidais, como a dexametasona.

A principal característica da transição do processo inflamatório agudo para crônico é a mudança na composição do infiltrado leucocitário, onde os neutrófilos são substituídos por células mononucleares fagocíticas e linfócitos T (POBER e SESSA, 2007). A redução da migração de macrófagos, neutrófilos e linfócitos para o sítio de inflamação por um determinado composto é importante na reversão do processo inflamatório crônico. Ainda que os PMN não sejam os principais tipos celulares envolvidos na resposta inflamatória crônica, a redução do número dos PMN no tecido promovido pelo tratamento com o OEO pode contribuir na resolução da resposta inflamatória, considerando que os neutrófilos liberam radicais livres, mediadores inflamatórios e enzimas proteolíticas (ARNHOLD, 2003; BRADLEY et al., 1982).

A inibição da migração dos leucócitos para cavidade peritoneal pode se dar por duas hipóteses: a inibição da produção de substâncias quimiotáticas e/ou a inibição da expressão de moléculas de adesão, haja vista que os leucócitos requerem substâncias quimiotáticas que facilitem sua migração para o local onde esta ocorrendo à injúria, inflamação, para então desencadearem seus efeitos na

tentativa de destruir o agente agressor, dentre essas substâncias quimiotáticas, cita-se o LTB₄ (SHERWOOD e TOLIVERKINSKY, 2004).

Os granulomas são nódulos de tecido de granulação, compostos por fibroblastos, capilares e macrófagos modificados. Ainda, pode ser encontrada necrose central. Na formação do granuloma, inicialmente, ocorre proliferação de macrófagos, que podem vir a sofrer fusão originando células multinucleadas, ocupando a porção central do granuloma. Na periferia, encontram-se linfócitos T, responsáveis pela hipersensibilidade tardia. Vasos sanguíneos e fibroblastos proliferam na periferia do granuloma para nutri-lo e dar suporte à estrutura (TROWBRIDGE, 2002).

Existem três fases após a implantação dos pélets. A primeira fase, denominada fase transudativa, compreende as primeiras três horas após a implantação; a segunda, denominada de fase exsudativa, ocorre entre três e setenta e duas horas; e a terceira, denominada de fase proliferativa, se dá de setenta e duas horas até o sexto dia. (SWINGLE e SHIDEMAN, 1972).

Diante de todas as descrições acima expostas, o ensaio do granuloma representa um modelo inflamatório crônico, em que o processo de desenvolvimento pode ser inibido por drogas anti-inflamatórias específicas, tais como as esteroidais. No teste do granuloma, com o tratamento diário por via oral de 1226,8mg/kg, foram observados resultados inibitórios altamente significativos ($p < 0,01$) quando comparado com o grupo controle, não havendo diferença significativa com o grupo tratado com a dexametasona, demonstrando assim, que o OEO atua de forma semelhante aos anti-inflamatórios esteroidais.

Estas três fases estão relacionadas com os fenômenos ocorridos durante o processo inflamatório. Os fenômenos básicos são comuns a qualquer tipo de inflamação, independentes do agente inflamatório. São divididas em cinco etapas, admitindo ocorrem silmutâneamente. A fase transudativa corresponde à fase irritativa e à vascular. A fase exsudativa caracteriza-se por exsudato celular plasmático. Apresenta, ainda, uma quarta fase, degenerativa-necrótica e uma quinta, correspondente à proliferativa (produtiva-reparativa). A inflamação crônica aparece quando o agente inflamatório não foi vencido, caracterizando-se pela presença de elementos proliferados na área inflamada, tais como linfócitos, plasmócitos, mastócitos, monócitos e histiócitos. Além deles, proliferam no local inflamado

fibroblastos, capilares sanguíneos e outros tecidos de reparo (SANTOS JÚNIOR, 2003).

Os agente anti-inflamatórios provocam a modificação da reação inflamatória, em geral, ao inibir a araquidonato ciclooxygenase (COX) e, portanto inibindo a produção de tromboxanos e prostaglandinas.

7 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos, aqui demonstrados e discutidos, referentes a composição química do OEO juntamente com o embasamento dos mecanismos já descritos na literatura, pode-se sugerir o possível envolvimento dos componentes do óleo fixo de *Euterpe oleracea* sobre o processo inflamatório através da inibição de mediadores derivados da ácido araquidônico, sendo que pode-se sugerir a hipótese de que o óleo fixo de *Euterpe oleracea* age tanto em processo inflamatório agudo, quanto em processo inflamatório crônico. Portanto, o óleo fixo de *Euterpe oleracea* possui atividade anti-inflamatória e anti-álgica, no entanto, faz-se necessário ainda, maior exploração dos mecanismos desencadeados pelos princípios ativos envolvidos nestas atividades.

REFERÊNCIAS

ADELSBERG, B. A. Conceptual view of the complement system. **Pediatric Annals**, v. 16, p. 477-482, 1987.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev Bras Farmacogn**, v. 17(1), 2007.

ALI, H.; HARIBABU, B.; RICHARDSON, R. M.; SNYDERMAN, R. C. Mechanisms of inflammation and leukocyte activation. **Med Clin North Am**, v. 81, p. 1-28, 1997.

ALMEIDA, S. S.; AMARAL, D. D.; SILVA, A. S. L. Análise florística e estrutura de florestas de várzea no estuário amazônico. **Acta amazônica**, v. 34 (4), p. 513-524, 2004.

ARNHOLD, J. Properties, Functions, and Secretion of Human Myeloperoxidase. **Biochemistry (Moscow)**. v. 69 (1), p. 8-15, 2004

BARNES, P. J.; CHUNG, K. F.; PAGE, C. P. Inflammatory mediators of asthma: an update. **Pharmacol Rev**, v. 50, p. 515-596, 1998.

BASU, A.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Dietary factors that promote or retard inflammation, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v. 26, p. 995–1001, 2006.

BEHROUZIAN, B.; BUIST, P. H. Mechanism of fatty acid desaturation: a bioorganic perspective. **Prost Leukot Essent Fatty Ac**. v. 68(2), 107-112, 2003.

BELDA, M. C. R.; POURCHET-CAMPOS, M. A. Ácidos Graxos Essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Cien Tecnol Alimentos**, v. 11(1), p. 3-4, 1991.

BLAIS, C. J. R.; MARCEAU, F.; ROULEAU, J. L.; ADAM, A. The kallikrein-kininogen-kinin system: lessons from the quantification of endogenous kinins. **Peptides**, v. 21, p. 1903-1940, 2000.

BLOK, W.L.; KATAN, M.B.; VAN DER MEER, J.W.M. Modulation of Inflammation and Cytokine Production by Dietary (n-3) Fatty Acids, **J Nutr**, v.126, p.1515–1533, 1996.

BOGANI, P.; GALLI, C.; VILLA, M.; VISIOLI, F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. **Atherosclerosis**, v. 190(1), p. 181-186, 2007.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **The journal of investigative dermatology**. v. 78, p. 206-209, 1982

BRONDIZIO, E.; SAFAR, C.; SIQUEIRA, A. The urban market açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) and rural land use change: Ethnographic insights into the role of price and land tenure constraining agricultural choices in the Amazon estuary. **Urban ecosyst**, v. 6 p. 67-97, 2002.

BURIAN, M.; GEISLINGER, G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 107 (2), p. 139-154, 2005.

CABRE, E.; GASSUL, M. A. Polyunsaturated fatty acid deficiency in liver diseases: pathophysiological and clinical significance. **Nutrition**, v. 12, p. 542-548, 1996.

CALDER, P. C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36 (4), p. 433-446, 2003.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CALVAZARA, B. B. G. As possibilidades do açazeiro no estuário amazônico. **Boletim Faculdades Ciências Agrárias**, Belém, n. 5, p. 165-230, 1972.

CARDOSO, C. R.; SOUZA, M. A.; FERRO, E. A.; FAVORETO, S. J. R.; PENA, J. D. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty Acids on the healing of cutaneous wounds. **Wound Repair Regen.**, v. 12 (2), p. 235-243, 2004.

CARLUCCIO, M. A.; MASSARO, M.; BONFRATE, C.; SICULELLA, L.; MAFFIA, M.; NICOLARDI, G.; DISTANTE, A.; STORELLI, C.; DECATERINA, R. Oleic acid inhibits endothelial activation: a direct vascular antiatherogenic mechanism of a nutritional component in the mediterranean diet, **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v. 19, p. 220-228, 1999.

CARVALHO, J. C. T. ***Caesalpinia ferrea* (Pau-ferro)**: Avaliação da atividade anti-inflamatória e analgésica. Dissertação de Mestrado. FCF/USP/RP, 1993.

_____. **Fitoterápicos anti-inflamatórios**: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto, SP, Tecmedd, 2004.

CHI, Y. S.; LIM, H.; PARK, H.; KIM, H. P. Effects of wogonin, plant flavone from *Scutellaria radix*, on skin inflammation: in vivo regulation of inflammation-associated gene expression. **Biochemical Pharmacology**, v. 66, p. 1271-1278, 2003.

CIRINO, C.; FIORUCCI, S.; SESSA, W. C. Endothelial nitric oxide synthase: the cinderella of inflammation? **Trends in Pharmacol Sci.**, v. 24, p. 91-95, 2003.

CLAUDINO, R. F.; KASSUYA, C. A. L.; FERREIRA, J.; CALIXTO, J. B. Pharmacological and molecular characterization of the mechanisms involved in prostaglandin E2 – induced mouse paw edema. **The journal of pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 318, p. 611-618, 2006.

COÏSSON, J.D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M.; ARLORIO, M. *Euterpe oleracea* juice as functional pigment for yogurt. **Food res Int.** v. 38, p. 847-853, 2005.

CONNER, E. M.; GRISHAM, M. B. Inflammation, free radicals and antioxidants. **Nutrition**, v. 12, p. 274-277, 1996.

COSTA, M; BROOKES, S. J.; STEELE, P. A.; GIBBINS, I.; BURCHER, E., KANDIAH, C. J. Neurochemical classification of myenteric neurons in the guinea-pig ileum. **Neuroscience**, v. 75, p. 949-967, 1996.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and Cancer. **Nature** – insight review articles, v. 420, p. 19-26, 2002.

COUTURE, R.; HARRISON, M.; VIANNA, R. M.; CLOUTIER, F. Kinin receptors in pain and inflammation. **Eur J Pharmacol**, v. 429, p. 161-176, 2001.

CRUNKHORN, P.; MEACOCK, C. R. Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenin. **British Journal of Pharmacology**, v. 42, p. 392–402, 1971.

CUZZOCREA, S.; RILEY, D. P.; CAPUTI, A. P.; SALVEMINI. Antioxidant Therapy: A New Pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury. **Pharmacological Review**, v. 53 (1), p. 135-159, 2001.

DE YOUNG, L.M., KHEIFETS, J.B., BALLARON, S.J., YOUNG, J.M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents and Actions**, v. 26, p.335-341, 1989.

DEL POZO-ISFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of Açáí (*Euterpe oleracea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1539-1545, 2004.

DRAY, A. Inflammatory mediators of pain. **British Journal of Anaesthesia**, v. 75, p. 125-131, 1995.

DYKE, T. E. V.; SHERHAN, C. N. Resolution of inflammation: A New Paradigm for the Pathogenesis of Periodontal Diseases. **Journal of Dental Research**, v. 82 (2), p. 82-90, 2003

FERREIRA, S. H. A new method for measuring variations of rats paw volumes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 31, p. 648, 1979.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The COXIBS, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **New Engl J Med**, v. 345, p. 433-442, 2001.

FRANGOGIANNIS, N. G.; SMITH, C. W.; ENTMAN, M. L. The inflammatory response in myocardial infarction. **Cardiovasc Res**, v. 53, p. 31-47, 2002.

FRANK, M. M.; FRIES, L. F. The role of complement in inflammation and phagocytosis. **Immunol Today**, v. 12, p. 322-326, 1991.

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

GALOTTA, A.; BOAVENTURA, M. Chemical constituents from roots and leaf stalks of açai (*Euterpe precatoria* Mart., Arecaceae). **Quim. Nova**, v. 28, p. 610-613, 2005.

GERMANO, D. H. P.; SERTIÉ, J. A.; BACCHI, E. M. Pharmacological assay of *Petiveria alliacea*. II: Oral anti-inflammatory activity and gastrotoxicity of a hydroalcoholic root extract. **Fitoterapia**, v. 66, p. 195-202, 1995.

GERSHON, M. D. Review article: serotonin receptors and transporters – roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. **Aliment Pharmacol Ther.** v. 20, p.3-14, 2004.

GILROY, D. W. The endogenous control of acute inflammation – from onset to Resolution. **Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies / Inflammatory and musculoskeletal diseases.** v. 1(3), p. 313-319, 2004.

GREENWALD, J. Herbal healing. **Time**, v. 23, p. 58-59, 1998.

GRELLNER, W. Time-dependent imunohistochemical detection of pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, TNF) in human skin wounds. **Forens Sci. Int.**, v. 130, n. 2-3, p. 90-96, 2002.

GRIMBLE, R. F.; TAPPIA, P. S. Modulation of pro-inflammatory cytokine biology by unsaturated fatty acids. **Z Ernährungswiss**, v. 37 (1), p. 57-65, 1998.

GUIMARÃES, I. S. S. Corantes naturais vermelhos e amarelos. In: RESUMOS DO I SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS PARA ALIMENTOS. Campinas. **Resumos.** Campinas, Itai, p. 21-25, 1987.

GUZIK, T. J.; KORBUT, R.; ADAMEK-GUZIK, T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. **Journal of Physiology and Pharmacology.** v. 54 (4), p. 469-487, 2003.

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev Bras Farm.**, v. 88(2), 2007.

HAYASHI, I.; AMANO, H.; ISHIHARA, K.; KUMAGAI, Y.; YOSHIMURA, H.; MAJIMA, M. C. The role of kinin B1 in the plasma extravasation of carrageenin-induced pleurisy. **Life Sci**, v. 70, p. 937-949, 2002.

HEDQVIST, P.; GAUTAN, N.; LINBOM, L. Interactions between leukotrienes and other inflammatory mediators/modulators in the microvasculature. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 161, p. 117-119, 2000.

IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI, S. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. **Life Sciences**, v. 69, p. 2911-2919, 2001.

INOUE, H.; MORI, T.; SHIBATA, S.; KOSHIARA, Y. Modulation by glycyrrhetic acid derivatives of TPA-induced mouse ear oedema. **Br. J. Pharmacol.**, v. 96, p. 204-210, 1989.

JACOB, J. J. C.; RAMABADRAN, K. Enhancement of a nociceptive reaction by opiate antagonist in mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 64, p. 91-98, 1978.

JACOB, J. J. C.; TREMBLAY, E. C.; COLOMBEL, M. C. Facilitation the reaction nociceptives by naloxone in mices and rats. **Psychopharmacology**, v. 37, p. 213-223, 1974.

JAMES, M.J.; GIBSON, R.A.; CLELAND, L.G. Dietary Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Mediator Production, **Am J Clin Nutr**, v. 71, p. 343–348, 2000.

JOLLY, C. A.; JIANG, Y. H.; CHAPKIN, R. S.; MCMURRAY, D. N. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion, and the formation of diacylglycerol and ceramide. **J Nutr**, v. 127 (1), p. 37-43, 1997.

KAPLAN, A. P.; JOSEPH, K.; SHIBAYAMA, Y.; NAKAZAWA, Y.; GHEBREHIWET, B.; REDDIGARI, S.; SIVERBERG, M. Bradykinin formation. Plasma and tissue pathways and cellular interactions. **Clin Rev Allergy Immunol**, v. 16, p. 403-429, 1998.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Federation Proceedings**, v. 18, p. 412, 1999.

LA LASTRA, C.; BARRANCO, M. D.; MOTILVA, V.; HERRERIAS, J. M. Mediterranean diet and health biological importance of olive oil. **Current pharmaceutical design**, v. 7(10), p. 933-950, 2001.

LECCI, A.; GIULIANI, S.; TRAMONTANA, M.; CARINI, F.; MAGGI, C. A.; Peripheral actions of thachykininis. **Neuropeptides**, v. 34, p. 303-313, 2000.

LEE, A. G.; EAST, J. M.; FROUD, R. J. Are essential fatty acids essential for membrane function? **Prog Lipid Res.** v. 25, p. 41–46, 1986.

LEE, J. L.; MUKHTAR, H.; BICKERS, D. R.; KOPELOVICH, L.; ATHAR, M. Cyclooxygenase in the skin pharmacological and toxicological implications. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 192, p. 294-306, 2003.

LEI GUO, CAIYING YE, WENYING CHEN, HUA YE, RU ZHENG, JUAN LI, HUIFEN YANG, XIAOLI YU, DECHANG ZHANG. Anti-inflammatory and analgesic potency of carboxyamidotriazole, a tumoristatic agent. **American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 2008.

LEWIS, M.; TARTAGLIA, A.; LEE, A.; BENNETT, G. L.; RICE, G. C.; WONG, G. H.; CHEN, E. Y.; GOEDEL, D. V. Cloning and expression of cDNAs for two distinct murine tumor necrosis factor receptors demonstrate one receptor is species specific. **Proc Natl Acad Sci**, v. 88, n. 7, p. 2830-2834, 1991.

LEY, K. Integration of inflammatory signals by rooling neutrophils. **Immunol Rev**, v. 186, p. 8-18, 2002.

LICHTENTHÄLER, R.; BELANDRINO, R.; MAIA, J.; PAPAGIANNPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) fruits. **International Journal of Food Sciences Nutrition**, v. 56, p. 53-64, 2005.

LIMA, T. M.; SA, L. L.; SCAVONE, C.; CURI, R. Fatty acid control of nitric oxide production by macrophages, **FEBS Lett.** v. 580, p. 3287–3295, 2006.

LINOS, A.; KAKLAMANI, V. G.; KAKLAMANI, E, Dietary factors in relation to rheumatoid arthritis: a role for olive oil and cooked vegetables. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 1077-1082, 1999.

LOUX, J. J.; SMITH, S.; SALEM, H. Comparative analgesic testing of various compounds in mice using writhing techniques. **Arzneimittel-Forsch**, v. 28, p. 1644-1647, 1978.

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

LYKBE, A. M. J.; CUMMINGS, R. Inflammation in healing. 1. Time – course and meditation of exsudation in wound healinh in the rat. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 50, p. 309-318, 1969.

MANTOVANI, I. S. B.; FERNANDES, S. B.; FERNANDES, S. B. O.; MENEZES, F. S. Constituintes apolares do fruto do açai (*Euterpe oleracea* M. – Arecaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 41-42, 2003.

MARQUES, S. R.; PEIXOTO, C. A.; MESSIAS, J. B.; ALBUQUEQUER, A. R.; SILVA JÚNIOR V. A.; The effects of topical application of sunflower-seed oil on openwound healing in lambs. **Acta Cirur Bras**, b. 19(3), p. 196-209, 2004.

MATHEUS, M. E.; FERNANDES, S. B. O.; SILVEIRA,C.S.; RODRIGUES, V. P.; MENEZES, F. S.; FERNANDES, P. D. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. On nitric oxide production and iNOS expression. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 291-296, 2006.

MATHEUS, M. E.; MANTOVANI, I. S. B.; SANTOS, G. B. FERNANDES, S. B. O.; MENEZES, F. S.; FERNANDES, P. D. Ação dos extratos do açai (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre a produção de óxido nítrico em células RAW 264. 7. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 03-05, 2003.

MAY, C. L.; CALDER, P. C. Unsaturated fatty acids inhibit lymphocyte protein kinase C activity. **Biochem Soc Trans**, v. 21(4), p. 377S, 1993.

MEIER, R.; SCHULER, W.; DESAULLES, P. L-Usnic Acid: tumor inhibitor isolated from Lichens. **Experimentia**, v. 6, p. 469-471, 1950.

MELLO, C. B. Inibição de edema de pata de camundongos induzida por carragenina. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL, Águas de Lindóia. **Resumos**, SBFTE, 2002.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutrire: Rev Soc Bras Aliment Nutrição**, v. 24, p. 105-123, 2002.

MUÑIZ-MIRET, N.; VAMOS, R.; HIRAOKA, M.; MONTAGNINI, F.; MEDELSON, R. O. The economic value of managing the açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in the flood plains of the Amazon estuary, Para, Brazil. **Forest Ecol Manage**, v. 87, p. 163-173, 1996.

MURRIETA, R. S. S.; DUFOUR, D. L.; SIQUEIRA, A. D. Food consumption and subsistence in three caboclo populations on Marajoa Island, Amazônia, Brazil. **Human Ecol.**, v. 27, p. 455-475, 1999.

MUSTARD, J. F.; MOVAT, J. Z.; MACMORINE, D. R. L.; SENYI, A. Release of permeability factors from blood platelet. **Proceedings of the Society Experimental Biology and medicine**, v. 119, p. 981-988, 1965.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature – insight review articles**, v. 420 (19/26), p. 846-852, 2002.

NICKOLOFF, B. J.; NESTLÉ, F. O. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. **Journal Clinical Investigation**, v. 13, p. 1664-1675, 2004.

NIEMEGERES, C. J. E.; AWOUTERS, F.; LENAERTS, F. M.; JANSSEY, A. J. The activity of suprofen on nystatin-induced paw oedema in rats. **Arzneimittel-Forschung**, v. 23, p. 1516-1519, 1975.

NYSTRON, P. The systemic inflammatory response syndrome: definitions and etiology. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 41 (A), p. 1-7, 1998.

O. SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHEDE, I. C. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **Sm J Clin Nutr**, v. 79 (6), p. 1199-1206, 2004.

OH, Y. T.; LEE, J. Y.; LEE, J.; KIM, H.; YOON, K. S.; CHOE, W.; KANG, I. Oleic acid reduces lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 in BV2 murine microglial cells: possible involvement of reactive oxygen species, p38 MAPK, and IKK/NF- κ B signaling pathways. **Neuroscience Letters**. v. 464 (2), p.93-97, 2009

PACHECO-PALENCIA, L. A.; TALCOTT, S. T.; SAFE, S.; MERTENS-TALCOTT, S. Absorption and Biological Activity of Phytochemical-Rich Extracts from Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Pulp and Oil in Vitro. **J Agric Food Chem**, v. 56, p. 3593-3600, 2008.

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

PACHECO-PALENCIA, L.; MERTENS-TALCOTT, S.; TALCOOT, S. T. Chemical Composition, Antioxidant Properties, and Thermal Stability of a Phytochemical Enriched Oil from Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) *J Agric Food Chem*, v, p., 2008

PACHER, P.; BECKMAN, J.S.; LIAUDET, L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. **Physiology Reviews**, v. 87, p. 315-424, 2007.

PARENTE, L.; PERRETTI, M. Advances in the pathophysiology of constitutive and inducible cyclooxygenases: two enzymes in the spotlight. **Biochem Pharmacol**, v. 65, p. 153-159, 2003.

PARK, J.Y.; KIM, Y.M.; SONG, H.S.; PARK, K.Y.; KIM, Y.M.; KIM, M.S.; PAK, Y.K.; LEE, I.K.; LEE, J.D.; PARK, S.J.; LEE, K.U. Oleic acid induces endothelin-1 expression through activation of protein kinase C and NF-kappa B, **Biochem Biophys Res Commun**. v. 303, p. 891–895, 2003.

PATCHA, V.; WIGREN, J.; WINBERG, M.E.; RASMUSSEN, B.; LI, J.; SÄRNDAHL, E. Differential inside-out activation of β 2-integrins by leukotriene B4 and fMLP in human neutrophils. **Experimental Cell Research**, v. 300, p. 308-319, 2004.

PATTERSON, C. E.; LUM, H. Update on pulmonary edema: the role and regulation of endothelial barrier function. **Endothelium**, v. 8, p. 75-105, 2001.

PAULINO, N.; ABREU, S. R. L.; UTO, Y.; KOYAMA D.; NAGASAWA H.; HORI, H.; DIRSCH, V. M.; VOLLMAR, A. M.; SCREMIN, A.; BRETZ W. A. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**. p. 1–6, 2008.

PAWLINSKI, R.; PEDERSEN, B.; KEHRLE, B.; AIRD, W. C.; FRANK, R. D.; GUHA, M.; MACKMAN, N. Regulation of tissue factor and inflammatory mediators by Erg-1 in a mouse endotoxemia model. **Blood**, v. 101, p. 3940-3947, 2003.

PEREIRA, M. L.; HATANAKA, E.; MARTINS, E. F.; OLIVEIRA, F.; LIBERTI, E. A.; FARSKV, S. H.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Effect of oleic and linoleic acids on the inflammatory phase of wound healing in rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 26, p. 197–204, 2008.

PEREIRA, S. L.; LEONARD, A. E.; MUKERJI, P. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. **Prost Leukot Essent Fatty Ac**. v. 68(2), p. 97-106, 2003.

PESQUERO, J. B.; ARAUJO, R. C.; HEPPENSTALL, P. A.; STUCKY, C. L.; SILVA, J. A.; WALTHER, T.; OLIVEIRA, S. M.; PESQUERO, J. L.; PAIVA, A. C. M.; CALIXTO, J. B.; LEWIN, G. R.; BADER, M. Hypoalgesia and altered inflammatory responses in mice lacking kinin B1 receptors. **Proc Natl Acad Sci U.S.A.**, v. 97, p. 8140-8145, 2000.

PLOTKIN, M. J.; BALICK Medicinal uses of South American palms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 10, p. 157-179, 1984.

POBER, J. S.; SESSA, W. C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. **Nature reviews**. v. 7, p. 803-815, 2007.

POMPÉIA, C.; LOPES, L. R.; MIYASAKA, C.K.; PROCÓPIO, J.; SANNOMIYA, P.; CURI, R. Effect of fatty acids on leukocyte function. **Biological Research**, v. 33, p. 1255-1268, 2000.

POSADAS, I.; BUCCI, M.; ROVIEZZO, F.; ROSSI, A.; PARENTE, L.; SAUTEBIN, L.; CIRINO, G. Carrageenan-induced paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. **British Journal of Pharmacology**, v. 142, p. 331 – 338, 2004.

RACKE, K.; SCHWORER, H. Regulation of serotonin release from the intestinal mucosa. **Pharmacol Res**, v. 23, p. 13-25, 2000.

REGOLI, D.; BARABE, J. Pharmacology of bradykinin and related kinins. **Pharmacol Rev**, v. 32, p. 1-46, 1980.

ROCHA E SILVA, M.; GARCIA LEME, J. Chemical mediators of the acute inflammatory reaction. In: **International series of Monographs in Pure and Applied Biology, Modern Trends in Physiological Sciences**. v. 37, p. 1-47, 2006.

ROCHA, A. P. M.; CARVALHO, L. C. R. M.; SOUSA, M. A. V.; MADEIRA, S. V. F.; SOUSA, P. J. C.; TANO, T.; SCHINI-KERTH, V. B.; RESENDE, A. C.; SOARES DE MOURA, R. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascular Pharmacology**, v. 46, p. 97-104, 2007.

RODRIGUES, M.R.; RODRIGUEZ, D.; RUSSO, M.; CAMPA, A. Macrophage activation includes high intracellular myeloperoxidase activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 292, p.869-873, 2002.

RODRIGUES, R.; LICHTENTHÄLER, R.; ZIMMERMANN, B.; PAPAGIANNOPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F.; MAIA, J.; ALMEIDA, O. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) seeds and identification of their polyphenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4162-4167, 2006.

ROGEZ, H. Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação. Belém, Brazil: EDUFPA, p. 313, 2000.

SALEH, T. S. F.; VIANNA, R. M. J.; CRECZYNSKI-PASA, T. B.; CHAKRAVARTY, B. J. M.; KYLE, D. J.; CALIXTO, J. B. Oral-anti-inflammatory action of NPC 188884, a novel bradykinin B2 receptor antagonist. **Eur J Pharmacol**, v. 363, p. 179-187, 1998.

SALEH, T. S. F.; CALIXTO, J. B.; MEDEIROS, Y. S. Effects of anti-inflammatory drugs upon nitrate and myeloperoxidase levels in the mouse pleurisy induced by carrageenan. **Peptides**, v. 20, p. 949-956, 1999.

SALLUSTO, F.; MACKAY, C.R. Chemoattractants and their receptors in homeostasis and Inflammation. **Curr Opin Immunol**, v. 16, p. 724-731, 2004.

SANTOS JUNIOR, J. C. M. Rubor, calor, tumor e dor e o paciente grave. **Revista Brasileira de coloproctologia**, v. 23, n. 3, p. 206-210, 2003.

SAYAR, K.; MELLI, M. Effect of combination of misoprostol and indomethacin on eicosanoid production in carrageenan-induced air pouch inflammation rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 369, p. 365-371, 1999.

SCHAUSS, A.; WU, X.; PRIOR, R.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry *Euterpe oleracea* Mart. (açai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.8598-8603, 2006.

SCHNEIDER, E.; ROLLI-DERKINDEREN, M.; AROCK, M.; DY, M. Trends in histamine research: new functions during immune responses and hematopoiesis. **Trends Immunol**, v. 5, p. 255-263, 2002.

SCHRAMM, R.; THORLACIUS, H. Neutrophil recruitment in mast cell-dependent inflammation inhibitory mechanisms of glucocorticoids. **Inflammation research**, v.53 (12), p. 644-652, 2004.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, v. 18, p. 385-405, 2004.

SILVA, C. S.; CARVALHO, J.C.T. Inflamação. In: CARVALHO, J.C.T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. São Paulo:Tecmedd, 2004.

SMITH, N. J. H. The Amazon river forest. New York. **Oxford University Press**, p. 208, 1999.

SMITH, W. L.; DEWITT, D. L.; GARAVITO, R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology. **Ann Rev Biochem**, v. 69, p. 145-182, 2000.

SOLDATI, L.; LOMBARDI, C.; ADAMO, D.; TERRANEGRA, A.; BIANCHIN, C.; BIANCHI, G.; VEZZOLI, G. Arachidonic acid increases intracellular calcium in erythrocytes. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 293(3), p. 974-8, 2002.

SOUZA, G. E. P.; FERREIRA, S. H. Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. **Agents and actions**. v. 17 (1), p.97-103, 1985.

STRUDWICK, J.; SOBEL, G. L. Uses of *Euterpe oleracea* Mart. in the Amazon Estuary, Brazil. **Adv Econ Bot**. v. 6, p.225-253.

SUBBARAMAIAH, K.; DANNENBERG, A. Cyclooxygenase-2: a molecular target in cancer prevention and treatment. **Trends in Pharmacol Sci**, p. 96-102, 2003.

SUBONGKOT, S.; FRAME, D.; LESLIE, W.; DRAJER, D. Selective cyclooxygenase-2 inhibition: a target in cancer prevention and treatment. **Pharmacotherapy**, v. 23, p. 928, 2003.

SUZUKI, Y.; RUIZ-ORTEGA, M.; LORENZO, O.; RUPEREZ, M.; ESTEBAN, V.; EGIDO, J. Inflammation and angiotensin II. **Int J Biochem Biol**, v. 35, p. 881-900, 2003.

SWINGLE, K.F., SHIDEMAN, F.E., 1972. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 13, 226–234, 1972.

TAN, P.; LUSCINKAS, F. W.; HONNER-VANNIASINKAM, S. Cellular and molecular mechanisms of inflammation and thrombosis. **Eur J Vasc Endovasc Surg**, v. 17, p.373-389, 1999.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. **Cir. Res**, v. 88, p. 877-887, 2001.

TROWBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C. Mediadores químicos da resposta vascular. Inflamação uma revisão do processo. **São Paulo: Quitessence Publishing CO Inc.**, p. 27-42, 2002.

TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA LOGGIA, R. The Croton Oil Ear Test Revisited. **Agents and Actions**, v.17, p. 347-349, 1985.

TYSON, J.J.; CHEN, K.; NOVAK, B. Network dynamics and cell physiology. **Nat Rev Mol Cell Biolec**, v. 2, p. 908-916, 2001.

VANE, J.R Nomenclature for COX-2 inhibitors. **Lancet**. v. 356, p. 1373, 2002.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. **Progress in Neurobiology**, v. 64, p. 327-363, 2001.

VAZQUEZ, R. L. P.; MARTINEZ-DOMINGUEZ, E.; PERONA, J. S.; RUIZ-GUITERREZ, V. Effects of different dietary oils on inflammatory mediator generation and fatty acid composition in rat neutrophils. **Metabolism**, v. 53(1), p. 59-65, 2004.

VERLENGIA, R.; GORJAO, R.; KANUNFRE, C. C.; LIMA, T. M. B. Genes Regulated by Arachidonic and Oleic Acid in Raji Cells. **Lipids**, v. 38(11), p. 1157- 1165, 2003.

VIANNA, R. M.; CALIXTO, J. B. Characterization of the receptor and the mechanisms underlying the inflammatory response induced by des-Arg9-BK in mouse pleurisy. **Br J Pharmacol**, v. 23, p. 281-291, 1998.

VIGNERON, M.; DEPARIS, X.; DEHARO, E.; BOURDY, G. Antimalarial remedies in French Guiana: A knowledge attitudes and practices study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 351-360, 2005.

WAGNER, J. G.; ROTH, R. A. Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. **Pharmacological Reviews**, v. 52, p. 349 - 374, 2000.
WHITE, B. A. The use of changes in capillary in mice to distinguish between narcotic and non-narcotic analgesics. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 22, 246-253, 1964.

YOUNG, H. M.; FURNESS, J.B. Ultrastructural examination of the targets of serotonin-immunoreactive descending interneurons in the guinea pig small intestine. **J Comp Neurol**, v. 356, p. 101-114, 1995.

ZHELEV, Z.D.; ALTERAI, A.M.; CHODNIEWICZ, D. Controlled Pseudopod Extension of Human Neutrophils Stimulated with Different Chemoattractants. **Biophys J**, v. 87, p. 688-695, 2004.

ZIBOH, V. A.; MILLER, C. C.; CHO, Y. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of anti-inflammatory and antiproliferative metabolites. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71 (1), p. 361- 366, 2000.