



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA E BIOLOGIA CELULAR**

**DLÂNIO GABRIEL FIGUÊREDO SILVA**

**EFEITO DO TRATAMENTO COM *Euterpe Oleracea* (AÇAÍ) NO PROCESSO DE  
REPARO DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS**

**BELÉM  
2016**

**DLÂNIO GABRIEL FIGUÊREDO SILVA**

**EFEITO DO TRATAMENTO COM *Euterpe Oleracea* (AÇAI) NO PROCESSO DE REPARO DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS**

Defesa da dissertação de mestrado submetido ao Programa de Pós- Graduação em Neurociência e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Biologia Celular

Orientador: Prof. Dr. Anderson Manoel Herculano Oliveira da Silva, ICB-UFPA

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suellen Alessandra Soares de Moraes

**BELÉM**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFPA

---

Silva, Dlânio Gabriel Figuêredo, 1985-

Efeito do tratamento com Euterpe oleracea (açai) no  
processo de reparo do tendão de Aquiles em ratos /  
Dlânio Gabriel Figuêredo Silva. - 2016.

Orientador: Anderson Manoel Herculano  
Oliveira da Silva;

Coorientadora: Suellen Alessandra Soares  
de Moraes.

Dissertação (Mestrado) - Universidade  
Federal do Pará, Instituto de Ciências  
Biológicas, Programa de Pós-Graduação em  
Neurociências e Biologia Celular, Belém, 2016.

1. Tendinopatia - tratamento. 2. Euterpe  
oleracea - açai. 3. Tendão de Aquiles - ruptura.  
I. Título.

CDD 22. ed. 617.47044

---

**DLÂNIO GABRIEL FIGUÊREDO SILVA**

**EFEITO DO TRATAMENTO COM *Euterpe Oleracea* (AÇAÍ) NO PROCESSO DE REPARO DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS**

Defesa da dissertação de Mestrado submetido ao Programa de Pós- Graduação em Neurociência e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como Requisito Parcial à Obtenção do Título de Mestre. Área de concentração: Biologia Celular

Orientador: Prof. Dr. Anderson Manoel Herculano Oliveira da Silva, ICB-UFPA

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suellen Alessandra Soares de Moraes

Banca Examinadora:

Avaliador 1: Prof(a).Dr(a). Karen Renata Herculano Matos Oliveira (membro titular)  
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará- UFPA

Avaliador 2: Prof. Dr. Evander Batista de Jesus (membro titular)  
Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará- UFPA

Suplente: Prof(a).Dr(a). Adelaide da Conceição Fonseca Passos  
Centro Universitário do Pará - CESUPA

## DEDICATÓRIA

*Dedico a mais essa vitória da minha vida ao meu senhor Deus que através da sabedoria, inteligência, confiança e da força interior que me deste ha cada dia foi o suficiente para ajudar-me a superar os obstáculos e as aflições no alcance da conclusão desse estudo*

*Aos meus queridos pais José Francinaldo da Silva e Lucineide de Figuerêdo Silva pelo amor incondicional apesar de estar longe fisicamente na cidade de Cajazeiras no estado da Paraíba, em pensamento estão sempre comigo torcendo pelo meu sucesso aqui na minha querida cidade do Belém capital do estado do Pará.*

*As minhas queridas irmãs Denise de Figuerêdo Silva e Daniele de Figuerêdo Silva pelo amor fraterno apesar de que também estão morando longe em João Pessoa capital da Paraíba se preocupam por mim e pelo andamento da minha pesquisa.*

*A minha querida noiva e futura esposa Claudia Nazaré Albuquerque da Silva; dedico este trabalho ao seu amor, companheirismo e por você cuidar sempre de mim.*

## AGRADECIMENTO

*Agradeço primeiramente ao professor adjunto do lab. neurofisiologia Eduardo Osvaldo Cruz o Dr. Fernando Allan de Farias Rocha inicialmente ter mim aceitado como seu aluno especial em 2012 e mim aconselhado a realizar a prova de ingresso há este respeitável programa de pós - graduação em 2013.*

*Aos meus queridos professores do lab. neurofarmacologia experimental (LNE) Dr. (a): Karen Renata Herculano Matos Oliveira por ter auxiliado na minha orientação; Dr. Evander Batista de Jesus pela sua preocupação no andamento do meu estudo e ao professor Dr. : Anderson Manoel Herculano Oliveira da Silva pela orientação explícita do meu trabalho e também ao apoio financeiro e emocional que teve comigo nos momentos delicados da pesquisa, sempre acreditando na minha capacidade intelectual; meus profundos e sinceros agradecimentos.*

*As minhas queridas colegas e amigas do meu coração: Martha Costa de Souza e a Snellen Alessandra Soares de Moraes pelos ensinamentos, paciência e até mesmo pelas repreensões impostas para mim, fazendo com que o meu foco esteja mantido no decorrer da pesquisa.*

*A Susanne Suely Santos da Fonseca pela ajuda que me deste no período que estive no LNE, através de informações preciosas sobre o produto natural em questão e pela a sua amizade. Agradeço muito!*

*As minhas colegas: Luana Leão, Ana Paula e Tarciane Garcia por ter mim ajudado diretamente a obter os resultados importantes na conclusão desta pesquisa científica.*

*Aos demais colegas do LNE: mestrandos, doutorandos e de iniciação científica agradeço pela ajuda indireta e pelo apoio emocional que teve comigo nos momentos complicados.*

*Aos meus colegas lab. neuroproteção e neuroregeneração experimental. (LNNE) por ter oferecido o seu o biotério no acomodamento dos meus animais de experimentação e por ter ajudado na melhora da estética do ultimo resultado.*

*Ao apoio financeiro agradeço ao órgão federal de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo que foi de expressiva importância para o estudo em tempo integral.*

*A clínica de atendimento a fisioterapia (CAFISIO) agradeço pelo emprego que foi concedido a mim quando mais precisei de um apoio financeiro que foi de extrema importância para o meu sustento e para o término do meu trabalho, devido o período de tempo expirado com bolsa de estudos.*

*E por fim agradeço ao meu tio Iramar de Sales Figuerêdo por ter no início aceitado morar com ele e com sua família e ter me empregado na sua empresa que foi importantíssimo para a minha adaptação no estado do Pará sendo o meu primeiro passo rumo ao sucesso entre eles a conquista do diploma do Mestrado de Neurociência e Biologia Celular na Universidade Federal do Pará (UFPA).*

*O néctar da vitória se bebe  
num cálice de sacrifício*

*Osiris*



## RESUMO

O tendão de Aquiles é o maior e mais forte tendão do corpo humano, seu uso em excesso induz o surgimento de microtraumas e ativação de vias de sinalização que levam a uma resposta inflamatória. O extrato etanólico de *Euterpe Oleracea*(açaí) é um produto natural extraído do fruto dessa palmeira. Apesar de evidências apontarem um efeito anti-inflamatório e antioxidante desse produto, não há dados na literatura sobre tais efeitos na lesão tendínea. Assim, o objetivo do trabalho foi investigar o efeito anti-inflamatório e pró-regenerativo do extrato etanólico de *Euterpe oleracea* em modelo de ruptura total do tendão de Aquiles em ratos. Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa animal da instituição (CEPAE-UFPA/206-14). Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n=24): controle; veículo (salina 0,9%); extrato de *E. oleracea* (extrato etanólico de *Euterpe oleracea*, 125µg/ml) e metilprednisolona (30 mg/ml). Após os respectivos tratamentos, o tecido foi analisado em 7, 14 ou 21 dias pós-injúria (dpi) por histoquímica com hematoxilina eosina e autofluorescência do colágeno. Imunofluorescência para COX2 e mensuração dos níveis de nitrito pelo método de Griess foi realizado em 7dpi. O tratamento com o extrato de *E. Oleracea* acelerou a organização tecidual e melhorou a orientação das células, um efeito semelhante ao anti-inflamatório esteroide metilprednisolona. O tratamento com o produto natural levou a um alinhamento precoce das fibras de colágeno, bem como na matriz, de modo geral, se comparado aos demais grupos, o que foi observado no 7dpi e mantido em 14 e 21 dpi. O tratamento com o extrato de *E. oleracea* ou metilprednisolona reduziram a marcação para COX2 se comparado ao veículo em 7 dpi. Redução nos níveis teciduais de nitrito foi observado em 7dpi nos grupos tratados com extrato de *E. oleracea*( $20.80 \pm 2.54 \mu\text{m/ml}$ ) e metilprednisolona ( $19.40 \pm 2.31 \mu\text{m/ml}$ ) se comparado ao grupo veículo ( $29.33 \pm 3.98\mu\text{m/ml}$ ). O tratamento com extrato de *E. oleracea* melhorou o padrão de organização tecidual, reduziu a marcação para COX2 e os níveis de nitrito, sugerindo efeito anti-inflamatório e antioxidante. Nossos achados destacam que o extrato de *E. oleracea* representa um produto natural com potencial aplicação no reparo do tendão de Aquiles.

**PALAVRAS-CHAVES:** Tendinopatia, COX2, *Euterpe oleracea*, Reparo tecidual.

## ABSTRACT

Achilles tendon is the largest and strongest tendon in the human body, its excessive use induces microtrauma and activation of signaling pathways that lead to an inflammatory response. The ethanolic extract of *Euterpe oleracea*(açai) is a natural product extracted from the fruit of the palm tree. Although evidence suggests an anti-inflammatory and antioxidant effect of this product, there is no data in the literature about such effects on tendon lesion. The aim of this study was to investigate the anti-inflammatory and pro-regenerative effects of ethanolic extract of *Euterpe oleracea* in a rat model of total Achilles tendon rupture. This study was approved by the Animal Research Ethics Committee (CEPAE-UFGA/206-14). The animals were divided into four groups (n = 24): control; vehicle (0.9% saline); *E. oleracea* extract (125 µg/mL ethanolic extract of *Euterpe oleracea*) and methylprednisolone (30 mg/ml). After the respective treatments, the tissue was analyzed at 7, 14 or 21 days post-injury (dpi) by immunohistochemistry with hematoxylin/eosin and collagen autofluorescence. Immunofluorescence for COX2 and measurement of nitrite levels by Griess method were performed at 7 dpi. Treatment with *E. oleracea* extract accelerated tissue organization and orientation of the cells, similarly to the anti-inflammatory steroid methylprednisolone. This natural product led to an early alignment in collagen fibers as well as in the overall matrix structure when compared to the other groups, which was observed at 7 dpi and maintained at both 14 and 21 dpi. Treatment with *E. oleracea* extract or methylprednisolone reduced COX2 labeling in comparison to the vehicle at 7 dpi. Reduction in nitrite tissue levels was observed at 7 dpi in groups treated with *E. oleracea* extract ( $20.80 \pm 2.54$  µm/ml) and methylprednisolone ( $19.40 \pm 2.31$  µm/ml) compared to vehicle group ( $29.33 \pm 3.98$  µm/ml). Treatment with *E. oleracea* extract improved tissue organization and reduced both COX2 labeling and nitrite levels, suggesting anti-inflammatory and antioxidant effects. Our findings highlight *E. oleracea* extract as a natural product with potential application in Achilles tendon repair.

**Keywords:** Tendinopathy, COX2, *Euterpe oleracea*, Tissue repair.

## LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

ANOVA: Análise de Variância  
AP-1: Ativador de proteína-1  
AMPc: Adenosina Monofosfato Cíclico  
BSA: Albumina Soro Bovino  
COX1: Cicloxigenase do tipo 1  
COX2: Cicloxigenase do tipo 2  
COX3: Cicloxigenase do tipo 3  
CEPAE: Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação  
COMP: Proteína Cartilaginosa da Matriz Oligométrica  
DNA: Acido Desoxirribonucléico  
DPI: Dias Pós Injúria  
DAPI: 4', 6 Diamino-2 Fenilindole  
Extr.etanoico.*E. Oleracea*: Extrato Etanóico de *Euterpe Oleracea*  
FADD: Domínio de Morte Associado por Fas  
GLY: Glicina  
IK $\beta$ - $\alpha$ : Inibidor Protéico Kappa  $\beta$   
IL1- $\beta$ : Interleucina 1- $\beta$   
iNOS: Óxido Nítrico Sintase Indutível  
IKK $\alpha$ -IKK $\beta$ : Serinatreonina-Cinases  $\alpha$ - $\beta$   
MMPs: Metaloproteinases  
MMP2: Metaloproteinase do tipo 2  
MMP3: Metaloproteinase do tipo 3  
MMP9: Metaloproteinase do tipo 9  
MAP-CINASE: Proteína Cinase Ativado por Mitogeno  
NFk $\beta$ : Fator Nuclear Kappa  $\beta$   
NOS: Óxido Nítrico Sintase  
NO: Óxido Nítrico  
PBS: Tampão Fosfato Salina  
PGH2: Prostaglandina Endoperoxido Intermediária  
PLA2: Fosfolipase do tipo A2  
ROS: Espécie Reativa de Oxigênio

SLRP: Pequenas Proteoglicanas Ricas em Leucinas

TNF- $\alpha$ : Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$

TGF- $\beta$ : Fatores de Crescimentos Transformantes  $\beta$

TIMPs: Inibidores de Metaloproteinases

TNE: Tris-Hidroximetil/ Cloreto de Sódio/ EDTA

UFPA: Universidade Federal do Pará

UV: Ultra Violeta

VEGF: Fator de Crescimento Vascular Endotelial

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	Dados epidemiológicos sobre a ruptura do tendão de Aquiles.....	16
1.2	A morfologia do tendão saudável.....	17
1.3	A tendinopatia.....	24
1.4	A fisiopatologia da lesão tendinea.....	27
1.5	Estudos da ação antioxidante e antiinflamatória de <i>Euterpe Oleracea</i> .....	32
2	OBJETIVOS.....	39
2.1	Objetivo geral.....	39
2.2	Objetivos específicos.....	39
3	MATERIAL E METODO.....	40
3.1	Modelo animal.....	40
3.2	Procedimento cirúrgico.....	40
3.3	Grupos experimentais.....	40
3.4	Obtenção do extrato etanólico de <i>Euterpe Oleracea</i> .....	41
3.5	Delineamento experimental.....	41
3.6	Procedimento histológico da amostra.....	42
3.7	Marcação por hematoxilina - eosina e autofluorescência do colágeno.....	42
3.8	Imunofluorescência.....	43
3.9	Análise bioquímica.....	43
3.9.1	Análise estatística.....	44
4	RESULTADOS.....	45
4.1	Análise do padrão de organização tecidual após a ruptura completa do tendão de Aquiles de ratos <i>Wistar</i> tratados localmente com extrato etanólico de <i>Euterpe Oleracea</i> .....	45
4.2	Análise da orientação das fibras de colágeno após a ruptura completa do tendão de Aquiles de ratos <i>Wistar</i> tratados localmente com extrato etanólico de açai ( <i>Euterpe Oleracea</i> ).....	48
4.3	Análise do efeito antiinflamatório do extrato etanólico de <i>Euterpe Oleracea</i>	

	em modelo de lesão tendínea de ratos <i>Wistar</i> . Expressão tecidual de COX2.....	50
4.4	Concentração de nitrito em modelo de lesão tendinea de ratos <i>Wistar</i> tratados localmente com extrato etanólico de <i>Euterpe Oleracea</i> .....	52
5	DISCUSSÃO.....	54
6	CONCLUSÃO.....	61
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1	-Divisão estrutural do tendão saudável em junções e zonas.....	19
Figura 2	-Estrutura do tendão de Aquiles.....	20
Figura 3	-Ilustração da organização histológica tendínea e molecular de uma fibra do colágeno do tendão saudável.....	23
Figura 4	-Ilustração da estrutura tendínea e molecular de uma fibra de colágeno após uma injúria.....	26
Figura 5	-Etapas do processo de reparo.....	31
Figura 6	-As três espécies da árvore palmeira da família da <i>Arecaceae</i> .....	34
Figura 7	-Histoquímica para hematoxilina e eosina em secções longitudinais do tendão de Aquiles de ratos <i>Wistar</i> .....	47
Figura 8	-Autofluorescência do colágeno em diferentes fases do reparo tecidual.....	49
Figura 9	-Imunofluorescência para COX2 de secções do tendão de Aquiles de ratos após 7 dias de lesão.....	51
Figura 10	-Níveis de nitrito nos tendões dos diferentes grupos no 7º dia pós-lesão.....	53
Tabela 1	-Composição fotoquímica da <i>Euterpe oleracea</i> .....	37
Tabela 2	-Composição fitoquímica e valor nutricional da <i>Euterpe oleracea</i> .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Dados epidemiológicos sobre a ruptura do tendão de Aquiles

A ruptura do tendão de Aquiles é uma das lesões tendíneas mais comuns que afetam a população adulta. Recentes estudos mostram maior incidência em homens (seis homens para cada mulher) com a faixa de idade entre os 30 a 40 anos em uma relação de 6 a 18 casos para 100.000 pessoas por ano (LANTTO *et al.*, 2014; S´LIWA., 2014; JALLAGEAS *et al.*, 2013). Segundo Tompsom e Bavarianian (2011), em mulheres, o fator de risco aumenta em relação aos homens após os 60 anos de idade e a incidência depois dos 80 anos.

A etiologia ainda é desconhecida, mas fatores extrínsecos e intrínsecos favorecem a lesão. (JÄVIRNEN *et al.*, 2005). Alguns fatores intrínsecos como condições inflamatórias, doenças autoimunes, anormalidades dos colágenos, a genética, processos infecciosos e neurológicos, tratamentos medicamentosos com glicocorticosteróides, fluoroquinolonas, tipo sanguíneo representam 10% dos casos de ruptura em indivíduos com mais idade (JÄVIRNEN *et al.*, 2005; OZGURTAS, 2003; WHITE, 2007; WEATHERALL *et al.*, 2010).

No caso de fatores extrínsecos, que envolvem os hábitos de vida e estão associados à prática de atividades esportivas de alto impacto como corrida e saltos, junto com a alteração anatômica e biomecânica (abdução do antepé com extensão do joelho e uma dorsoflexão/flexão plantar subita e violenta do tornozelo) induz o surgimento de microtraumas que correspondem a 75% dos casos de rupturas tendíneas em indivíduos jovens (JALLAGEAS *et al.*, 2013; OZGURTAS, 2003; NAN JIANG *et al.*, 2011).

A distribuição de diferentes incidências varia de acordo com os diferentes esportes tradicionais praticados de país para país. Os esportes como futebol (33,5%), atletismo (16,2%), badminton (52%) e basquetebol (13,3%) são responsáveis pelos casos de ruptura do tendão de Aquiles nos seguintes países: Finlândia haviam 18 casos para 100.000 em 1994; 6 casos por 100.000 na Escócia no mesmo ano e 37,3 casos por 100.000 na Dinamarca ( JÄVIRNEN *et al.*, 2001, 2005; TOMPSON & BARAVANIAN, 2011).



Outros países desenvolvidos localizados no norte e no centro da Europa como também na América do Norte praticam diferentes tipos de esportes como: futebol, tênis, atletismo, esqui alpino, ginástica, futebol americano, basquetebol e o beisebol, e todos contribuem com dados estatísticos para destacar a alta incidência da ruptura do tendão de Aquiles nas últimas décadas. Nos países em desenvolvimento a exemplo do Brasil, os casos de ruptura do tendão de Aquiles são subnotificados (JÓZSA, 1997; JÄVIRNEN *et al.*, 2005).

Dependendo do grau da lesão o tratamento pode ser cirúrgico ou não cirúrgico, tratando-se de dois métodos reconhecidos de cuidados realizados atualmente. O tratamento cirúrgico apresenta uma vantagem por reduzir risco de re-ruptura numa incidência de 4—5% dos casos. Por outro lado, sua desvantagem é apresentar um aumento dos riscos de complicações pós-operatórios que interfere na qualidade de vida (WEATHERALL *et al.*, 2010; NAN JIANG *et al.*, 2012; CHONGYANG FU & WEI QU, 2014).

Já o tratamento não cirúrgico envolvendo fisioterapia, imobilização e medicamentos têm como vantagem reduzir a taxa de complicações do processo inflamatório e a desvantagem de aumentar as taxas de re-rupturas em 10-12% (WEATHERALL *et al.*, 2010; NAN JIANG *et al.*, 2012 ; CHONGYANG FU & WEI QU, 2014).

O tratamento farmacológico, na fase aguda da lesão tem resultado em melhora moderada da injúria tendínea, porém efeitos colaterais são sempre reportados (RILEY, 2004). Por outro lado, o uso e a efetividade de produtos naturais no tratamento da lesão ainda não foram relatados. Contudo, devido apresentar propriedades antioxidantes e antiinflamatórias combinadas, tal como observados em produtos como a curcumina (*Curcuma longa*) e no açaí (*Euterpe oleracea*), a investigação do uso terapêutico do extrato etanólico de açaí na lesão tendínea se mostra promissora (BUHRMANN *et al.*, 2011; POULOSE *et al.*, 2012).

## **1.2 A Morfologia do tendão saudável**

O tendão de Aquiles é o maior e mais forte tendão do corpo humano. Tem início no recesso profundo, onde se insere o ventre medial e lateral do músculo gastrocnêmio originados nos côndilos femorais. Esse tendão funde-se com o tendão

do músculo sóleo subjacente, para formar o tendão calcâneo do tríceps sural, que por sua vez; fixa na parte posterior do calcâneo e permite a execução do movimento de flexão plantar, fundamental para a propulsão na marcha (GEREMIA 2011 *apud* MAFFULLI; ALMEKINDERS, 2007 DANGELO; FATTINI, 2006; MORAES 2011 *apud* STROM; CASILAS, 2009).

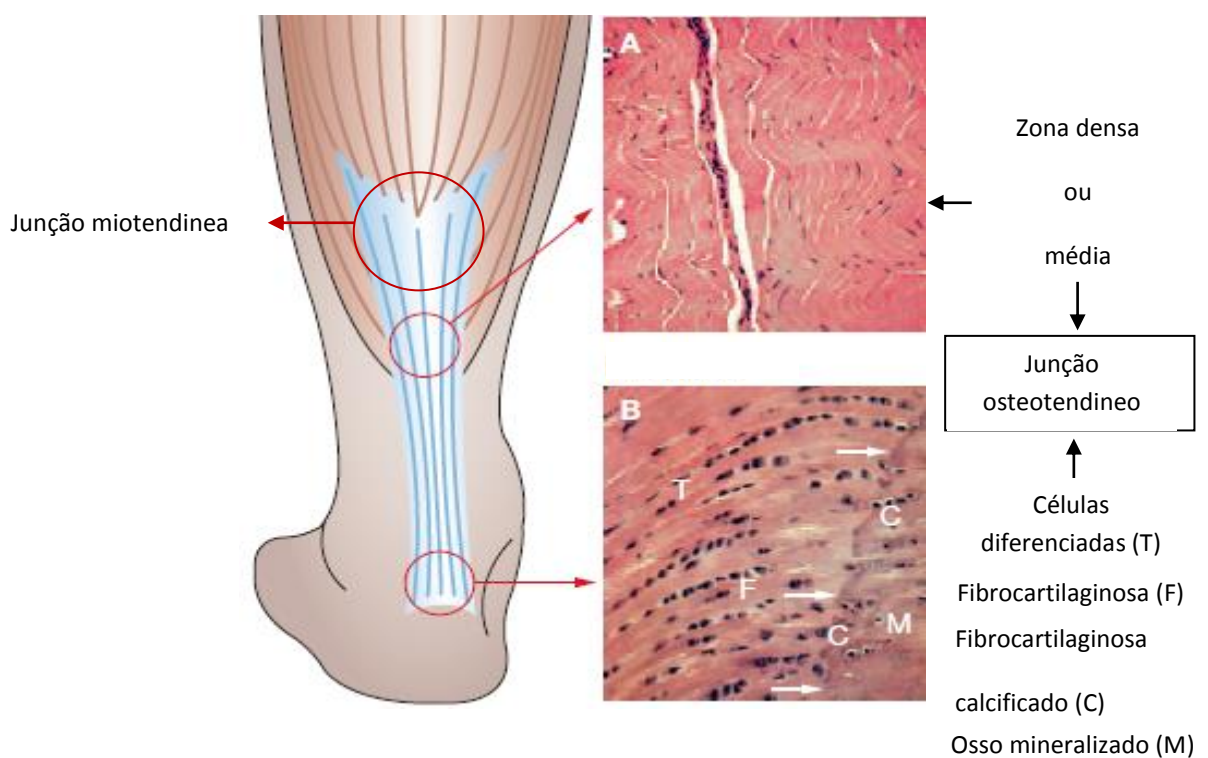
Em uma visão macroscópica o tendão apresenta uma textura fibroelástica de cor branca e com brilho, devido à agregação e organização das fibras de colágeno em toda a extensão do tecido (ARO *et al.*, 2013) . Pode ser dividido em duas junções; miotendínea e osteotendínea como mostrado na Figura 1.

A junção miotendínea transmite a tensão produzida pela contração das fibras musculares inseridas no tendão, o qual retransmitem à junção osteotendínea através das fibras de colágeno tipo I alcançando finalmente o osso (MASSOUD, 2013; SHARMA, MAFFULLI, 2006).

A junção osteotendínea é subdividida em quatro zonas: A zona densa ou média, fibrocartilaginosa, fibrocartilaginosa calcificada e osso mineralizado, permitindo a ligação gradativa do colágeno ao perióstio prevenindo atrito e desgaste (SHARMA; MAFFULLI, 2006; RILEY 2008).

Toda a extensão do tendão é revestida por uma fina membrana de tecido conectivo frouxo chamado paratendão. O paratendão é um tipo de envoltório formado por fibras colágenas tipo I, III e fibras elásticas. Na superfície interna desse envoltório existem células sinoviais que secretam o líquido sinovial no espaço entre o paratendão e o epitendão com a finalidade de lubrificar o tendão e facilitar o seu livre movimento comparado aos tecidos circundantes (DORVAL *et al.*, 2010; KANNUS, 2000).

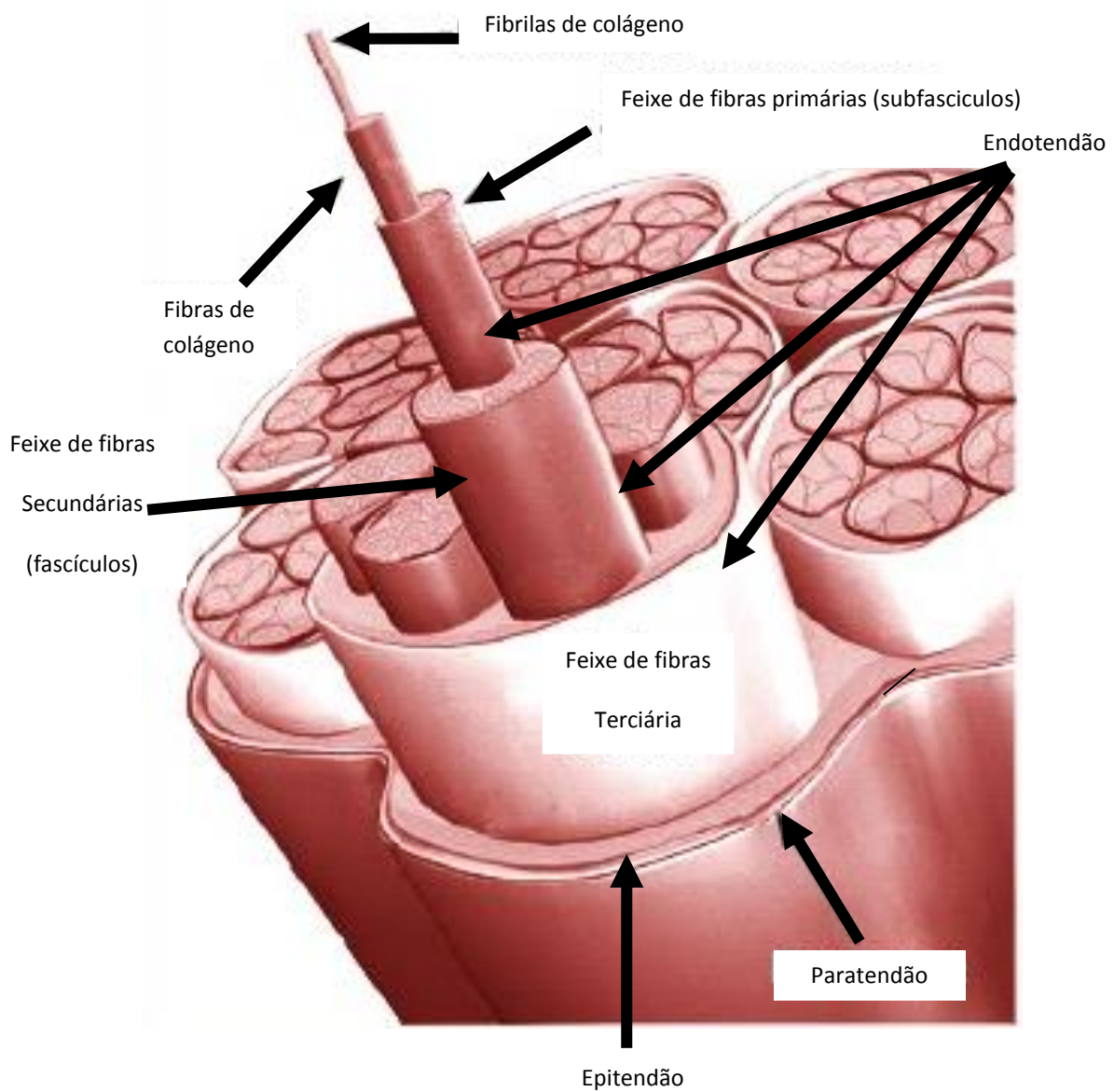
A continuação mais externa do paratendão é chamada de epitendão, que forma um envoltório circundante sobre os fascículos de colágeno. Já a continuação mais interna do envoltório do tendão é chamada de endotendão. Essa membrana envolve cada fibra ou feixes do mesmo. Ambas as membranas contem vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, originados nas respectivas junções e nos tecidos circundantes, cuja função é conduzir o suprimento sanguíneo, linfático e o estímulo nervoso para as porções profundas do tendão visando dar o suporte metabólico ao tecido que, comparado aos outros tecidos como os músculos e ossos, apresenta baixo metabolismo (Figura 2) (DORVAL *et al.*, 2010; KANNUS, 2000).



**Figura 1:** A divisão estrutural do tendão saudável em junções e zonas. Sendo que (A) representa a zona tendínea média e (B) a porção mais distal do tecido com células arredondadas organizadas em fileiras, permitindo a mudança gradual de tensão ao tendão (T) para a zona Fibrocartilaginosa (F) em seguida para a zona Fibrocartilaginosa calcificada (C) e chegando a tensão ao osso mineralizado (M).

Fonte: Adaptado de Riley, 2008.

## Estrutura do tendão



**Figura 2:** Estrutura do tendão de Aquiles. Notar a composição por fascículos, feixes, fibras e as fibrilas de colágeno como a menor unidade constituinte. O envoltório chamado de paratendão reveste o conjunto de fascículos continuado pelo epitendão e o endotendão.

Fonte <http://valesendor-dralexander.blogspot.com.br> Acesso em 24 de julho de 2016.

Nos tendões é constatado a presença de tenoblastos (células jovens e fusiforme com alta atividade metabólica) e tenócitos (células maduras e alongadas com baixa atividade metabólica), ambos correspondem há 90-95% da constituição celular do tendão e são responsáveis pela síntese da matriz e do colágeno (MAGNUSSON *et al.*, 2010; MASSOUD, 2013).

Outras células como os condrócitos, células sinoviais, células endoteliais e as células de músculos lisos de arteríolas correspondem a 5-10%. Todas as células são circundadas e embebidas por uma matriz hidrofílica extracelular constituindo por proteoglicanas, glicoproteínas, glicosaminoglicanas, água e várias outras pequenas moléculas, que são responsáveis pelo desenvolvimento, organização e crescimento do tendão (MAGNUSSON *et al.*, 2010; MASSOUD, 2013).

Na matriz extracelular, os proteoglicanos (decorin SLRP/ aggrecan 'hyalectans') são ligados aos glicosaminoglicanos( sulfato de dermatan/sulfato de condroitina e sulfato de keratan este dois últimos localizado na região fibrocartilaginosa ), e sua função é influenciar a síntese de colágeno e a sua orientação no tecido como também juntos aos colágeno dos tipos II, IX, X e XI dar a resistência contra forças tensionais do tipo rotacional ou cisalhamento em regiões próximas a inserção. Outra função dos proteoglicanos é facilitar a difusão de água na matriz e a migração celular (RILEY, 2005; SHARMA; MAFFULLI, 2006).

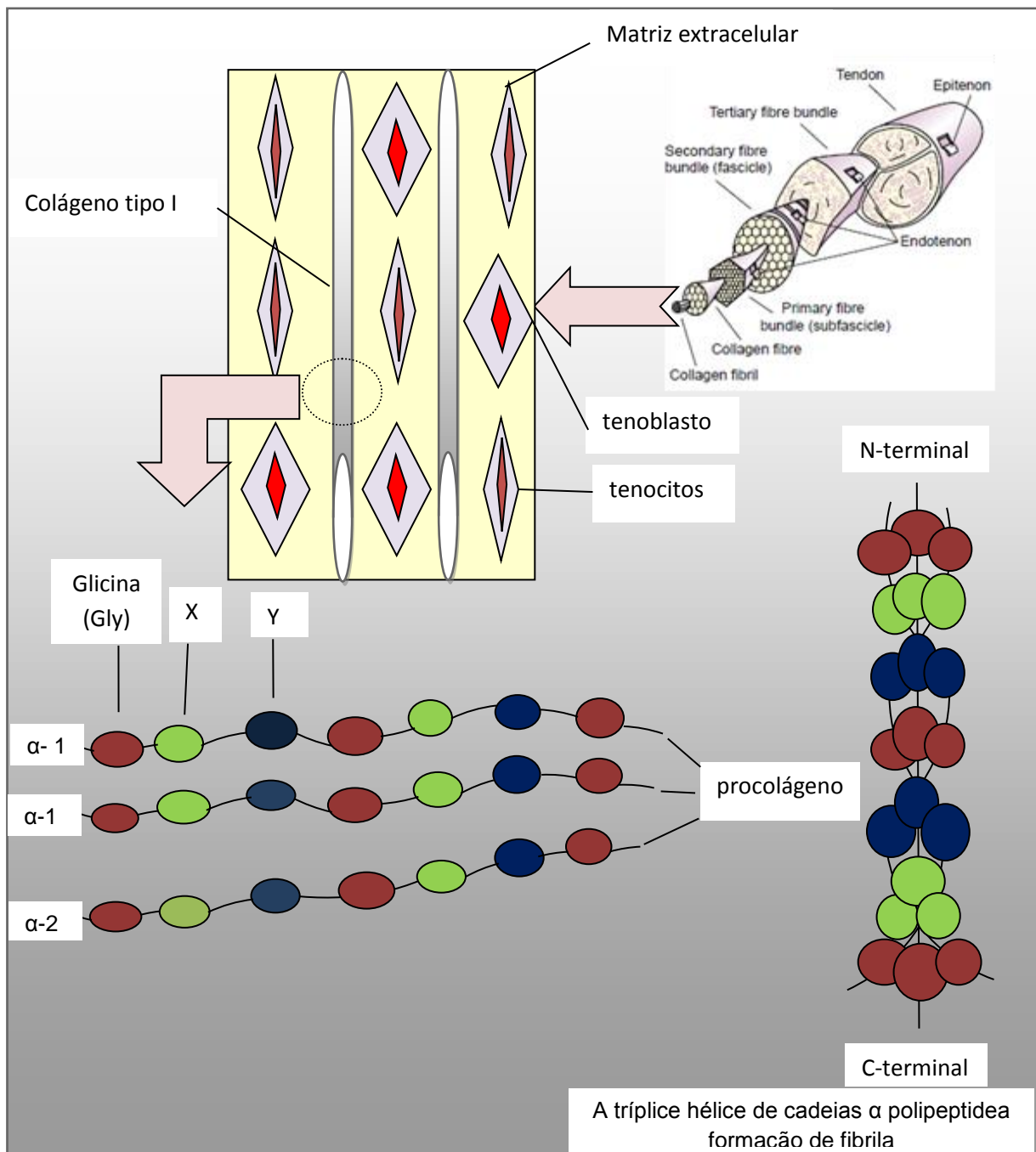
As glicoproteínas compreendem a elastina com 2% da massa seca do tendão, forma as fibras elásticas e dão à matriz extracelular as propriedades elásticas. A fibronectina interage as células com a matriz e participa nos processos de reparo e na regeneração do tecido, o COMP (Proteína Cartilaginosa da Matriz Oligométrica) pertence à família da Trombospondina 5 é o maior componente com 3% da massa seca estar localizado em todo o tendão possuem o papel de influenciar a estrutura como interagir a célula com a matriz e a tenascina-C realiza o alinhamento e a organização das fibrilas de colágenos (RILEY, 2005; SHARMA; MAFFULLI, 2006).

A fibrila de colágeno é produzida pelo retículo endoplasmático das células e é constituída por três longas cadeias  $\alpha$  de polipeptídeos (duas subunidades  $\alpha 1$  e uma  $\alpha 2$ ) compostos por moléculas de aminoácidos como glicina seguido pela prolina ou lisina sendo que é frequentemente ocupado pela hidroxiprolina. A hidroxilação enzimática produz a hidroxiprolina ou hidroxilisina que são derivações a partir da prolina e da lisina (CANTY; KADLER; 2002, 2005, JUNIOR *et al.*, 1997 ).

No retículo endoplasmático a fibrila chamada de procolágenos é sintetizada começando na extremidade C - terminal até a N - terminal. A ligação entre três moléculas de procolágeno por ligação de dissulfeto forma a tríplice hélice  $\alpha$  de polipeptídeo citado anteriormente. A agregação de várias cadeias inicialmente forma a microfibrila e posteriormente passa a formar a fibrila (Figura 3) (CANTY; KADLER; 2002, 2005; HALÁSZ *et al.*, 2007).

Após ser formada a fibrila passa para o complexo de Golgi e através das vesículas secretoras a mesma é então liberada para a matriz extracelular sendo posicionada entre as células. Atua como uma principal fonte de resistência mecânica para o tecido tendíneo (CANTY; KADLER; 2002, 2005; CANTY; LU; KADLER, 2012).

Após a compreensão das características normais do tendão, torna-se mais fácil o entendimento sobre as alterações histopatológicas e bioquímicas do tendão em resposta há uma injúria, que serão descritas logo abaixo.



**Figura 3:** Ilustração da organização histológica tendínea e molecular de uma fibra de colágeno do tendão saudável. Mostra a composição celular envolvendo o colágeno e a matriz. Em baixo, à esquerda, as três longas cadeias  $\alpha$  com as respectivas subunidades compostos por três tipos de molécula de aminoácidos e a direita no formato de uma tríplice hélice, formando uma fibrila.

Fonte: Dados do autor e adaptado de RILEY, 2005.

### 1.3A Tendinopatia

A terminologia adequada em nomear uma alteração tecidual no tendão em resposta a uma lesão é a tendinopatia. Apesar ser um pouco confuso o seu significado comparado aos outros autores, Franceshi e colaboradores 2014 deixam bem claro o seu significado. Consiste em uma desordem músculo esquelética que atinge os tendões, principalmente o patelar, Aquileo e do manguito rotador, e os tecidos circundantes.

Quanto às definições das terminologias tendinites e tendinoses, o primeiro significa presença de elementos inflamatórios em resposta a uma lesão e o último expressa a degeneração tendínea em resposta a lesão, mas com ausência de elementos inflamatórios. A diferença entre os termos, de fato acontece após a realização de um estudo histológico (FREDBERG; PEDERSEN, 2008; DAKIN; DUDHIA; SMITH, 2014).

A etiologia é multifatorial e os sinais e sintomas da tendinopatia são: quadro álgico na palpação e no movimento ativo ou passivo, sensibilidade focal, edema, fraqueza e diminuição da mobilidade do tecido no local da lesão (MILLAR; MURRELL; MCLNNES, 2012; FRANCESHI *et al.*, 2014).

Dentre os aspectos fisiopatológicos da lesão tendínea, destaca-se o aumento na produção de colágeno tipo III comparado ao tipo I em resposta a lesão. O colágeno do tipo III além de ser pouco resistente e desorganizado, predispõe o indivíduo a re-rupturas espontâneas (Figura – 4) (MAFFULLI *et al.*, 2000; KADER, *et al.*, 2002; MILLAR; MURRELL; MCLNNES, 2012).

Na matriz extracelular ocorre o aumento das proteoglicanas e das glicosaminoglicanas. O aumento na expressão de glicosaminoglicanas estimula o aumento dos níveis das grandes proteoglicanas como agrecanas e versicanas que influenciam na retenção de um grande volume de água no tecido. Já as pequenas proteoglicanas como o decorina, fibromodulina e biglicana contribuem para a degeneração da rede de colágeno (PARKINSON *et al.*, 2011; MILLAR; MURRELL; MCLNNES, 2012).

As glicoproteínas envolvendo a tenascina-c e a fibronectina também se apresentam em grande quantidade no tecido lesado. De modo que a tenascina-c expressa uma isoforma diferente ligada a fragmentos de pequenas moléculas

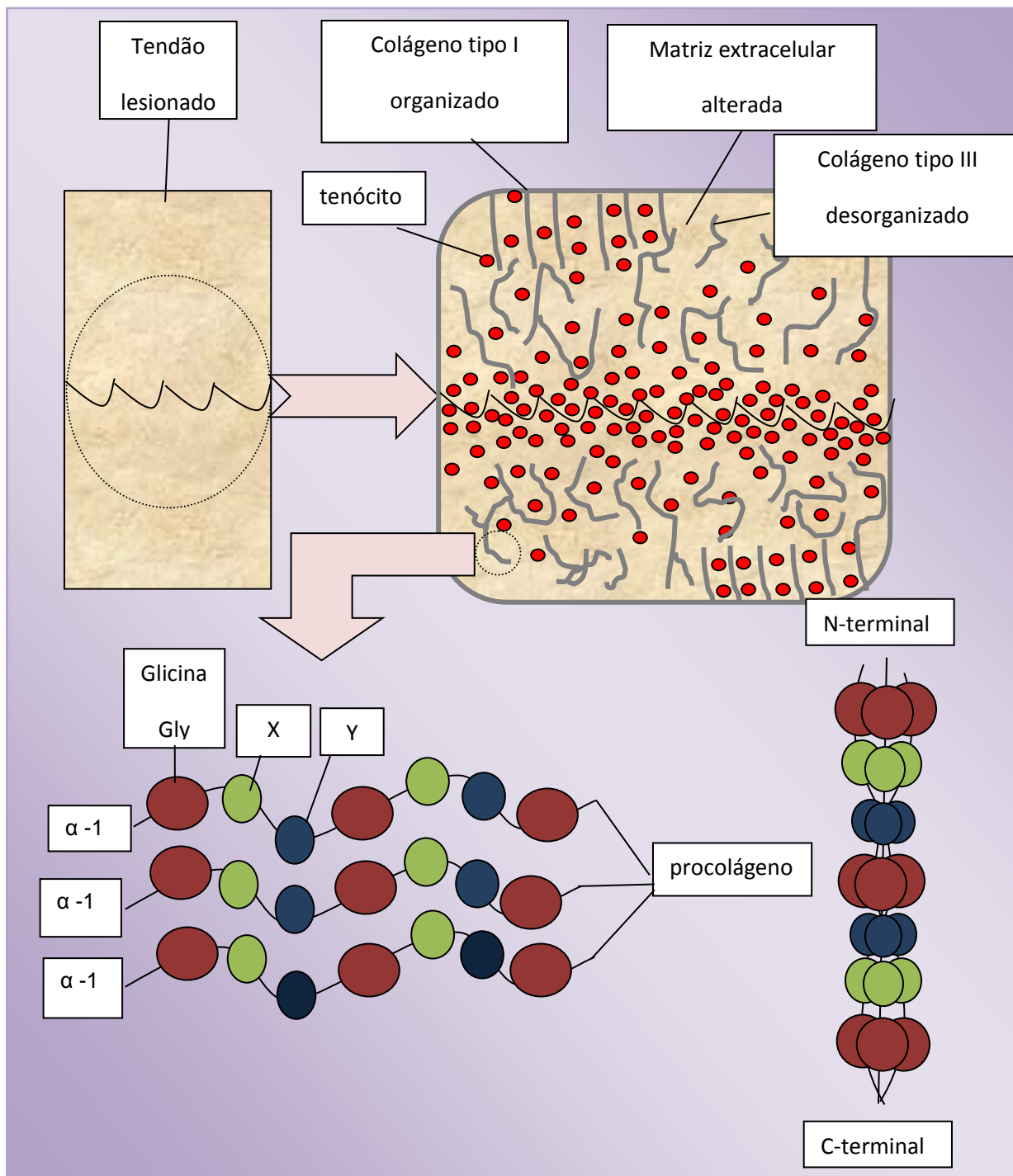


peptídicas que pode clivar o colágeno através do controle enzimático. Já a fibronectina apenas acumula-se no tecido necrótico e na fibrila (RILEY, 2005).

Na tendinopatia, o tendão é composto por uma grande quantidade de células com um formato mais ovoide chamadas de tenocitos, que através da liberação de mediadores químicos estimulam a formação de novos vasos sanguíneos acompanhado por neuroplasticidade (FREDBERG; PEDERSEN, 2008; BACKMAN *et al.*, 2011; MILLAR; MURRELL; MCLNNES, 2012)

Em relação as alterações macroscópicas são observadas aumento do volume tecidual de coloração amarela-marrom ou acinzentado com pouca birrefringência e textura pouco consistente (FREDBERG; PEDERSEN, 2008; MILLAR; MURRELL; MCLNNES, 2012).

Para entender aprofundadamente como ocorre à alteração tecidual envolvendo células inflamatórias com liberação de mediadores químicos passando pelas três fases de reparo tecidual faz necessário o entendimento da fisiopatologia da lesão tendínea que será descrito logo a seguir.



**Figura-4:** Ilustração da estrutura histológica tendínea e molecular de uma fibra de colágeno após uma injúria. Notar: à esquerda alteração macroscópica da morfologia do tendão e a direita a composição microscópica alterada do mesmo (acima). A esquerda notar as cadeias de procolágeno composta apenas por três subunidade  $\alpha$  -1 e com as mesmas três moléculas de aminoácidos. À direita cadeia polipeptídico formando uma tripla hélice resultando em uma fibrila de colágeno tipo III desorganizado e de pouca resistência (abaixo).

Fonte: Dados do autor

#### 1.4 A fisiopatologia da lesão tendínea

A ruptura do tendão resulta em uma resposta inflamatória associada com alterações histopatológicas, bioquímicas e moleculares com a presença de elementos inflamatórios e estendem-se de um até cerca de sete dias após a lesão (KADER *et al.*, 2002).

Essa resposta inflamatória é iniciada com a ativação do Fator Nuclear Kappa B (NFk-B) através da separação das subunidades p-65 e p-50 do seu inibidor protéico IKb- $\alpha$ . Em condições fisiológicas o inibidor protéico liga-se as duas subunidades formando um heterodímero, localizado no citoplasma e, impede que as mesmas possam deslocar-se ao núcleo (WANG; TANG; YENARI, 2007; ZHU *et al.*, 2014).

A separação ocorre através da fosforização do inibidor por uma das vias de sinalização que possibilita ser ubiquitinizado e finalmente degradado pela protease 26S. Desse modo ficam livres as duas subunidades para movimentar-se em direção ao núcleo, para que o NFk- $\beta$  possa se ligar a um domínio específico do DNA, estimulando a regulação da transcrição gênica do COX, NOS, TNF- $\alpha$  e da interleucina-  $\beta$  (IL1- $\beta$ ) em resposta a lesão tendínea na fase aguda (WANG; TANG; YENARI, 2007; ZHU *et al.*, 2014).

A ciclooxygenase conhecida como COX é um homodímero localizado no retículo plasmático das células. Apresentam-se em duas isoformas, a COX-1 e a COX-2. A COX-1 é encontrada em todas as células e é responsável por mediar às respostas fisiológicas das mesmas. A COX-2 é encontrada em várias células e a sua expressão ocorre através dos estímulos de mediadores inflamatórios, de modo que uma vez expressa é responsável pela regulação parcial do processo inflamatório (VANE *et al.* 1993; NOGAWA *et al.*, 1997; MINGHETTI, 2004; YU *et al.*, 2014).

Existe um terceiro tipo, a COX-3. Está localizada no córtex cerebral, mas a sua função ainda é pouco conhecida (VANE *et al.*, 1993; NOGAWA *et al.*, 1997; MINGHETTI, 2004; YU *et al.*, 2014).

Qualquer que seja a isoforma, a via de produção do mediador pró-inflamatório lipídico é a mesma; a enzima catalisa o ácido araquidônico para converter em prostaglandinas. Uma vez produzida é liberada para recrutar as células inflamatórias ao local da lesão como também estimula a síntese de outros mediadores inflamatórios

tais como bradicinina, histamina, serotonina, TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e o VEGF (ISHIDA *et al.*, 2010; YU *et al.*, 2014).

De acordo com Besson (1997) a histamina e a serotonina são substâncias químicas, que geram o estímulo nociceptivo nas terminações nervosas da fibra C e transmitem essas informações para o sistema nervoso central na geração da dor aguda. A bradicinina, no entanto apenas intensifica a sensação dolorosa que é uma característica marcante da tendinopatia aguda (DAKIN; DUDHIA; SMITH, 2014).

Outro aspecto da fase inflamatória consiste na produção de pequenos ramos nervosos associados com a formação de novos vasos sanguíneos, produzidos através do VEGF (fator de crescimento vascular endotelial) pelos macrófagos. Junto com outros mediadores inflamatórios como a bradicinina, histamina e, fator ativador de plaquetas, realizam principalmente a neoangiogênese, para aumentar o aporte sanguíneo a fim de atender as demandas do tecido lesado, como também alterar a permeabilidade vascular para facilitar a migração de células inflamatórias ao local da lesão (KANER *et al.*, 2000; THICHETT, ARMSTRONG, MILLAR, 2002; DANTON, DIETRICH, 2003; BAHATIA, MOOCHHALA, 2004, REES; STRIDE; SCOTT, 2013).

As células inflamatórias tais como neutrófilo, monócitos, macrófagos entre outras chegam em grande número ao local da lesão atraídas pelos fatores quimiotáticos e realizam a fagocitose. Ao mesmo tempo o TNF-  $\alpha$  e a IL-1 $\beta$  são liberados para induzir apoptose celular através da via de sinalização do domínio de morte associado por fas (FADD) com caspases-3 contribuindo com a degradação do tecido tendíneo (KOCHANNEK; HALLENBERK, 1992; WANG; TANG; YENARI, 2007; XU, MURRELL, 2008; ALBERTS *et al.*, 2010; MOURA *et al.*, 2012; FREIRE, DYKE, 2013).

A prostaglandina pode agravar a lesão tendínea através do seu efeito tóxico sobre as células produzindo um dano secundário ao tecido. Associado a prostaglandina, o Óxido Nítrico (NO), presente no local após a lesão, é um pequeno radical livre sintetizado a partir da oxidação da L- arginina, o que pode ser realizado pelas três isoenzimas chamadas de Oxido nítrico sintase (NOS), sendo a tipo II (iNOS), o principal envolvida na inflamação. O NO pode levar a citotoxicidade nas células, dependendo da concentração em questão. A sua presença no tecido pode ser avaliada através da quantificação de nitrato ou nitrito, produtos da reação do NO com o oxigênio e a água (NOGAWA *et al.*, 1997; FILHO; ZILBERSTEIN, 2000;

MOLLOY *et al.*, 2006; WANG; TANG; YENARI, 2007; ALBERTS *et al.*, 2010; YU *et al.*, 2014).

O estresse oxidativo também está envolvido na degradação do tendão e é resultado do desequilíbrio entre os mecanismos oxidantes e antioxidantes. Os mecanismos oxidantes envolvem as espécies reativas de oxigênio (ROS), enquanto os mecanismos antioxidantes endógenos, envolvem as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. Tal desequilíbrio pode causar danos na membrana celular como também ao DNA levando as células a morte (WANG, MURRELL, WANG, 2007; VOLP *et al.*, 2008; BARBOSA *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2014).

O excesso de radicais livres no tendão lesionado estimula o aumento da produção das metaloproteinases (MMPs) na matriz extracelular como também as ativa. Essas enzimas tem função crucial na clivagem do colágeno da matriz, portanto, estão envolvidas diretamente no dano tendíneo. No tendão normal a concentração das MMPs é muito baixa sendo sua ação controlada pela TIMPs (inibidores de metaloproteinases). A MMP do tipo MMP-9 é altamente expressa na inflamação e a sua função é realizar a degradação do colágeno na fase aguda, agravando a lesão tendínea (WANG, MURRELL, WANG, 2007; XU, MURRELL, 2008; COSTA *et al.*, 2012; ARO *et al.*, 2013 ).

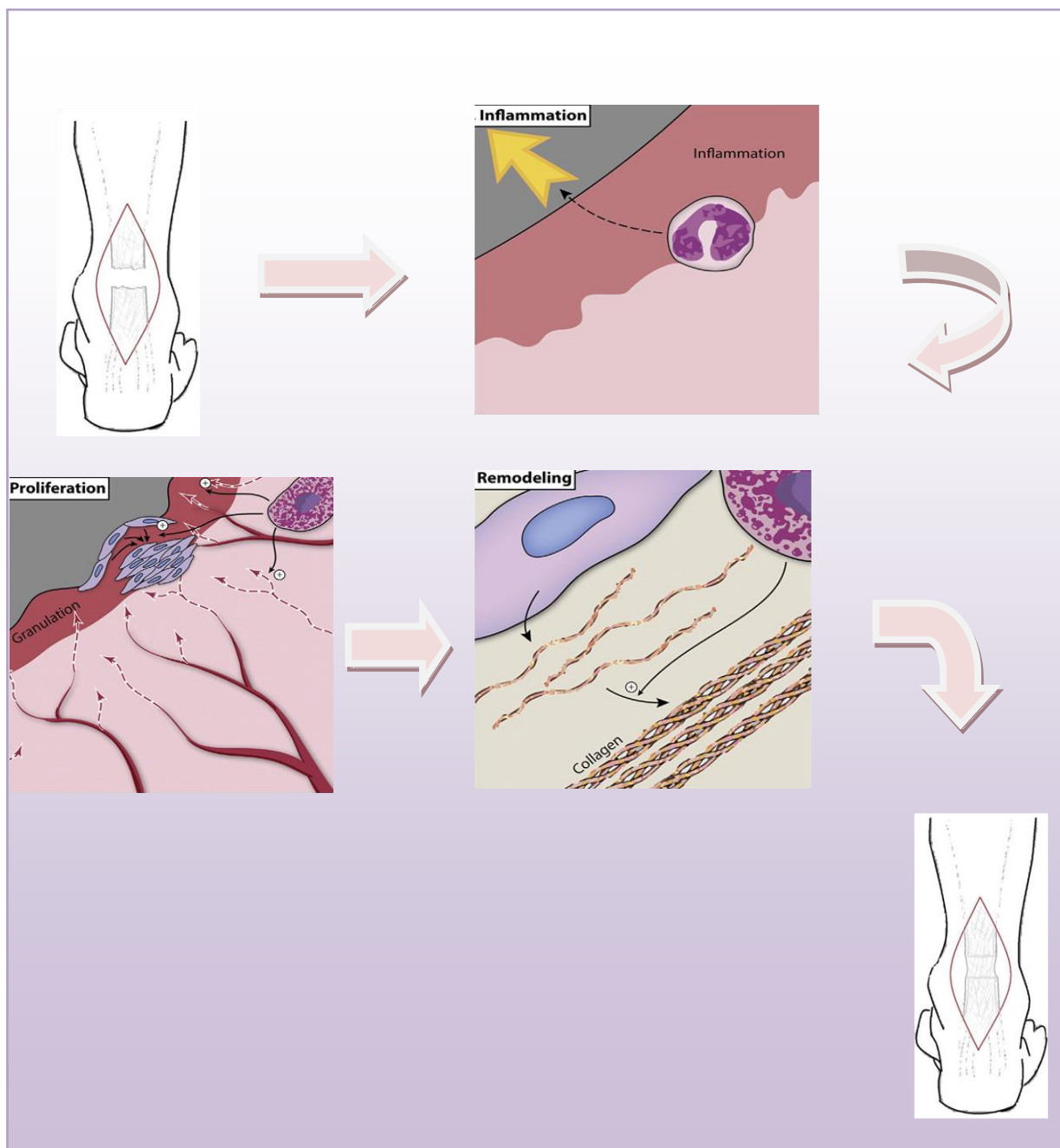
A resposta inflamatória chega ao seu desfecho mostrando as principais características que são: concentração de uma grande variedade de mediadores inflamatórios tendo a prostaglandina o mediador responsável em orquestrar a formação da cascata inflamatória, seguido da alta concentração de células inflamatórias no local da lesão e a degradação do tecido seguido por várias vias resultando na modificação morfológica, bioquímica e molecular do tendão.

Estas características manifestaram ser semelhantes em modelo animal do tipo rato da linhagem Sprague-Dawley, na pesquisa de Sullo *et al* (2001) quando o mesmo aplicou prostaglandina E1 no tendão de Aquiles dos animais e observou a degradação tendínea como consequência. Dessa forma, o respectivo modelo animal demonstrou que a substância produzida na inflamação prejudica o processo de reparo devido efeito danoso secundário ocasionando uma modificação morfológica, bioquímica e molecular compatível a observado em estudos com tendões humanos lesionados.

Apesar das fases de reparo serem sobrepostas, estima-se que a fase proliferativa é iniciada após a inflamação e estende-se até 21 dias. Consiste na migração de fibroblastos a partir de tecidos próximos ao local da lesão, acompanhado da diferenciação e proliferação em células tendíneas, fenômeno realizado pela ação conjunta de mediadores químicos incluindo citocinas e fatores de crescimento transformante- $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) liberados pelas plaquetas e macrófagos que também regulam a produção e a liberação de colágeno do tipo III e outros componentes da matriz (KADER *et al.*, 2002; KAWAMURA *et al.*, 2005; ARO *et al.*, 2013).

No tecido encontra-se um grande número de tenoblasto, com alta atividade metabólica, produzindo e liberando em grande quantidade os componentes da matriz. No tecido também é observado grande quantidade de água circundando o colágeno tipo III recém-formados. Esse tipo de colágeno começa a ser gradualmente substituídos pelo colágeno tipo I entre 12 e 14 dias após a lesão, culminando em aumento progressivo da força tensiva. A atividade de reparo tem como suporte as extensas redes de vasos sanguíneos, sustentando a formação do tecido de granulação (KADER *et al.*, 2002 XU, MURRELL, 2008; PARKINSON *et al.*, 2011; MASSOUD, 2013; HENDERSON, MILLIS, 2014).

Por fim, a fase de remodelamento começa na terceira semana e termina aproximadamente em um ano. Tem como resultado um tecido cicatricial com aspectos mais próximos do tendão saudável, porém menos resistente, apresenta redução do número de células, baixa atividade metabólica dentre as remanescentes e aumento da produção do colágeno tipo I com orientação longitudinal. Nessa fase, as MMP-2 também são ativadas para remodelar o tecido cicatricial, degradando o excesso desses componentes. A vascularização tendínea tende a redução e a birrefringência é aumentada; Todas essas características que o tendão adquire no final do remodelamento concluem, dentro do possível, o processo de cicatrização. Ilustrações dos três processos de reparo são mostradas na Figura 5 (KADER *et al.*, 2002; BOUVET *et al.*, 2005; ARO *et al.*, 2013; MASSOUD, 2013).



**Figura-5:** Etapas do processo de reparo. O reparo tem início após a injúria do tendão de Aquiles (à esquerda) com a fase inflamatória seguida da proliferativa e terminando na fase de remodelamento (seguir as setas). O processo culmina na formação do tecido cicatricial, que não tem a mesma resistência e capacidade funcional do tendão de Aquiles antes da lesão (à direita)

Fonte: Adaptado de OZKAYA *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2014.

## 1.5 Estudos da ação antioxidante e antiinflamatória de *Euterpe Oleracea*

*Euterpe oleracea*, conhecido popularmente como “açai”, é uma espécie de palmeira, pertencente à família das *Arecaceae*, nativa do norte da América do Sul; Esta planta é encontrada na Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname e no Brasil sendo distribuído quase amplamente na região Amazônica ao Nordeste pela mata Atlântica até o estado da Bahia. No estado do Pará a concentração é mais intensa em áreas de planícies inundadas (COSTA; OLIVEIRA; MOURA, 2001; CHIN *et al.*, 2008; FAVACHO *et al.*, 2011; XIE *et al.*, 2011).

Na natureza esta planta é encontrada em três espécies diferentes que são: *Euterpe edulis martius*, *Euterpe precatória* e a *Euterpe oleracea* (Figura 6). A primeira espécie é encontrada na Mata Atlântica e o seu fruto é chamado de “juçara” ou “açai” sendo também extraído dela o palmito. Árvore seriamente ameaçada de extinção. As duas últimas espécies são encontradas na bacia Amazônica e ambos produzem os frutos chamados de açai. A diferença entre as três espécies está na altura, no desenvolvimento e na composição fitoquímica; sendo a *Euterpe oleracea* a mais alta e longa palmeira com a formação de moita de 25 plantas, que pode chegar de 18 até 33 metros de altura. Devido a grande capacidade antioxidante e um potencial efeito antiinflamatória do seu fruto, essa espécie é a mais estudada. Figura. 6 (NOVELLO, 2011; KANG *et al.*, 2012).

A semente do açai após ser germinada, demora três anos ou mais, para produzir os primeiros cachos do fruto, sendo esta produção potencializada, em torno de cinco a seis anos, com a produção de três ou quatro cachos, pesando cada cacho 3-6 kg de fruta. A colheita ocorre em duas safras ao ano: no verão e no inverno (INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; FAVACHO *et al.*, 2011).

Quando colhidas o fruto maduro pode apresentar duas variedades de coloração sendo elas: violácea e a branca; sendo o ultimo denominada também de verde por causa da sua polpa verde escuro brilhante. O fruto apresenta de 1.0 para 1.5 cm de diâmetro e 10 – 12 mm de espessura (a camada comestível) com o formato esférico aos frutos de coloração violácea e o formato arredondado aos frutos de coloração branca. Ambos são macerados manual ou mecanicamente com água quente, para extrair uma polpa viscosa, de modo que a variedade violácea é rica em antocianinas com alta quantidade de polifenóis antioxidantes, já a variedade branca possui menor



teor de óleo na polpa (COSTA; OLIVEIRA; MOURA, 2001; GALLORI *et al.*, 2004; INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; INSFRAN; PERCIVAL; TALCOTT, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2006; FARVACHO *et al.*, 2011).

A partir da extração da polpa de açaí, derivações de produtos são formadas como, por exemplo; bebidas energéticas, licores, vinho, picolés, sorvetes, geléias, dermocosméticos, corantes naturais para alimentos, entre outros. Todos esses produtos são encontrados em supermercados, restaurantes e lojas de produtos naturais. O Pará é o estado brasileiro com a maior produção e consumo do extrato, consumindo ao ano cerca de 180 toneladas e por dia cerca de 2 L de polpa em algumas regiões. A capital também é o principal exportador de polpas congeladas e dos seus produtos para outras regiões do país e do mundo como, por exemplo, países localizados na Europa, Ásia e na América do Norte (COSTA; OLIVEIRA; MOURA, 2001; GALLORI *et al.*, 2004; CHIN *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2010).

Segundo Chin *et al.*, (2008); Schreckinger *et al.*,(2010); Okada *et al.*, (2011) Favacho *et al.*,(2011); Feio *et al.*,(2012) as diferentes partes da planta são utilizadas na medicina popular há muito tempo, por exemplo, a raiz associada com a *Carica papaya*, *Citrus sp.* (Limão) e *Quassia amara* (Quina) possuem efeito antimalárico; a seiva possui ação adstringente; a folha triturada pode auxiliar na coagulação sanguínea em feridas; o óleo extraído da semente do fruto é composto de ácidos graxos (60% monoinsaturados e 13% poliinsaturados) e possuem ação antidiarreica, utilizados sobretudo pelos povos da Colômbia e Suriname e a polpa do açaí é dada atenção especial por apresentar efeito antioxidante e antiinflamatório, sendo utilizado nesta pesquisa através do extrato etanólico de açaí no tratamento da tendinopatia aguda, ocasionada pela injúria completa do tendão de Aquiles de ratos, na intenção de avaliar a redução dos danos secundários ocasionados pelo processo inflamatório.

A



B



C



**Figura 6:** As três espécies da árvore palmeira da família da *Arecaceae*: **(A)** *Euterpe edulis martius*; **(B)** *Euterpe precatória*; **(C)** *Euterpe oleracea* com moita de múltiplas árvores

Fonte: Adaptado de NOVELLO, 2011; KANG *et al.*, 2012.

Os frutos da *Euterpe oleracea* são os mais consumidos por apresentar alta atividade antioxidante e antiinflamatória, sustentada pelas antocianinas e vários compostos polifenólicos que compõem a polpa do fruto. As antocianinas são pigmentos vegetais associados aos flavonoides e outros polifenóis formam um grupo chamado de flavonóides (INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; VOLP *et al.*, 2008; SPADA *et al.*, 2009; POULOSE *et al.*, 2012).

De acordo com Talcott *et al.*,(2008), Schreckinger *et al.*,(2010) e Moura *et al.*,(2012) a cianidina 3 - O - glicosídeo e a cianidina - 3 - O - rutinosídeo são as antocianinas com a maior constituição no composto fitoquímico do açaí. Todas as antocianinas, flavonoides e outros compostos polifenólicos estão descritos na Tabela 1.

Rodrigues *et al.*,(2006) descreve que a polpa do fruto contém 63-81% de celulose e hemicelulose, seguido por 5-6% de proteínas, 2-6% de minerais e 2-3% de lipídeos. Todos esses compostos são apresentados na Tabela 2.

Na extração dos compostos fitoquímicos do açaí em uma quantidade considerada, o extrato etanólico, foi utilizado, nesta pesquisa. Embora a extração dos compostos seja superior no extrato metanólico se comparado ao primeiro, estudos *in vitro* demonstram alterações na viabilidade celular. Além disso, a quantidade de composto extraído em um determinado solvente influencia na capacidade antioxidante e antiinflamatória do fruto em questão (POULOSE *et al.*, 2012).

Após o processo de extração, o extrato etanólico foi utilizado nesta pesquisa por apresentar menos risco de citotoxicidade para as células do tecido tendíneo. Recentes estudos mostram que, quando aplicados os componentes fitoquímicos do açaí *in vivo*, os mesmos apresentam como uma das bioatividades a capacidade de neutralizar a maioria dos radicais livres especialmente as espécies reativas de oxigênio tais como: o ânion superóxido, radical hidroxila e radical peróxido que, em grande quantidade, podem contribuir para uma resposta inflamatória generalizada associada com danos teciduais (SCHAUSS *et al.*, 2006; VOLP *et al.*, 2008; SUN *et al.*, 2010; POULOSE *et al.*, 2012).

Ao mesmo tempo, estudos demonstram que os compostos fitoquímicos podem penetrar no interior da célula e controlar as vias de sinalização como: a via NF $\kappa$ B constituído pelo IK $\beta$  cinase; que é um complexo multiproteico contendo duas serinatreonina cinase (IKK $\alpha$  e IKK $\beta$ ) e a via proteína cinase ativado por mitógeno

(MAP-cinase). Ambos estão implicados na produção da resposta inflamatória em qualquer célula, inclusive nos tenocitos. Os polifenóis atuam sobre o IK $\beta$  evitando a sua fosforilação, permitindo a continuação da ligação do IK $\beta$  $\alpha$  com a p.65 e a p.50, subunidades do NF $\kappa$ - $\beta$  para evitar a migração do mesmo ao núcleo da célula. Na via MAP- cinase os polifenóis pode evitar a fosforilação de alguns elementos da via, desse modo a reduzir a ativação do fator de transcrição. De maneira geral os flavonóides impedem que ambas as vias possam estimular a produção do COX2 e da iNOS como também de outros mediadores inflamatório(TNF- $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ ), reduzindo diretamente a produção da prostaglandina e do oxido nítrico e proporcionado o efeito antiinflamatório e antioxidante que vem sendo relatado em vários estudos (ALBERTS *et al.*, 2010; JENSEN *et al.*, 2011; XIE *et al.*, 2012; POULOSE *et al.*, 2012).

**Tabela 1:** Composição fotoquímica da *Euterpe oleracea*.

<b>Componentes</b>	<b>Constituintes</b>
Antocianinas	<b>cianidina – 3 - glicosídeo; cianidina – 3 - rutinosídeo;</b> cianidina – 3 - O arabinoside; cianidina- 3- O- arabinosylara- binoside; cianidina- 3- sambubiosides; feonidina -3 -rutinoside;delfinidina; malvinidina; pelargonidina;peonidina
Carotenóides	<b>luteína; α-caroteno; β-caroteno</b>
Flavonas	<b>luteína;</b> luteína- 8- glicosídeo;quercetina; dihydrokaempferol; <b>chrysoerial;</b> taxifolina; taxifolina-3-rammosídeo; <b>apinegina;</b> apinegina-6-glicosídeo; catequina; <b>velutin;</b> orientina; isovitexina; scoparin; deoxyhexose
Fenólicos	<b>ácido olêico; ácido palmítico;</b> ácido valínico; <b>ácido gálico; ácido benzóico;</b> ácido esteárico; ácido linoléico; ácido hidroxibenzóicos

*Fonte:* GALLORI *et al.*, 2004; MENEZES; TORRES; SRUR, 2008; TALCOTT *et al.*, 2008; SPADA *et al.*, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2010; SCHRECKINGER *et al.*, 2010; FAVACHO *et al.*, 2011; MOURA *et al.*, 2012; POULOSE *et al.*, 2012; XIE *et al.*, 2012. Os constituintes de maior concentração de cada componente estão destacados em negrito.

**Tabela 2:** Composição fitoquímica e valor nutricional da *Euterpe oleracea*.

<b>Componentes</b>	<b>Concentrações (mg/100g)</b>	<b>Quantidade de matéria seca</b>
Matéria seca	%	15.0
Proteínas	g/100g	13.0
Lipídeos	g/100g	48.0
Gordura monoinsaturada	g/100g	28.8
Gordura poliinsaturada	g/100g	6.24
Carboidratos	g/100g	1.50
Frutose	g/100g	0.00
Glicose	g/100g	1.50
Sacarose	g/100g	0.00
Fibras	g/100g	34.0
Energia	Kcal/100g	66.3
Cinza	g/100g	3.50
Sódio	mg/100g	56.4
Potássio	mg/100g	932
Cálcio	g/100g	286
Magnésio	g/100g	174
Ferro	g/100g	1.50
Cobre	g/100g	1.70
Zinco	g/100g	7.00
Fósforo	g/100g	124
Vitamina B1	g/100g	0.25
$\alpha$ -tocoferol (vitamina E)	g/100g	45.0
Ácido ascórbico (vitamina C)	mg/100g	15.70
Alumínio	mg/100g	0.36
Manganês	mg/100g	10.71
Cobalto	mg/100g	0.009
Níquel	mg/100g	0.28
Arsênio	mg/100g	< 0.004
Rubídio	mg/100g	5
Molibdênio	mg/100g	0.013
Selênio	mg/100g	< 0.02
Prata	mg/100g	< 0.0002
Cádmio	mg/100g	< 0.0002
Bário	mg/100g	0.34
Mercúrio	mg/100g	< 0.01
Chumbo	mg/100g	0.014
Tório	mg/100g	0.002
Urânio	mg/100g	< 0.0001
Estrôncio	mg/100g	0.79
Antimônio	mg/100g	< 0.0002

Fonte: RODRIGUES *et al.*, 2006; MENEZES; TORRES; SRUR, 2008; SPADA *et al.*, 2009; FEIO *et al.*, 2012.

## 2. OBJETIVOS

### Geral

Investigar o efeito antiinflamatório e pró-regenerativo do extrato etanólico de açaí (*Euterpe oleracea*) em modelo de ruptura total do tendão de Aquiles em ratos.

### Específicos

- Observar o padrão histológico de organização no tecido tendíneo, em modelo de lesão em ratos após o tratamento local com extrato etanólico de *Euterpe oleracea*.
- Analisar a orientação das fibras de colágeno, através da autofluorescência, em modelo de lesão tendínea em ratos, tratados localmente com extrato etanólico de *Euterpe oleracea*.
- Avaliar a expressão da COX2 na fase aguda da ruptura do tendão após o tratamento local com o extrato etanólico de *Euterpe oleracea*.
- Verificar os níveis de nitrito na fase aguda da ruptura do tendão após o tratamento local com extrato etanólico de *Euterpe oleracea*.

### 3. MATERIAL E METODO

#### Modelo animal

Foram utilizados ratos da linhagem *Wistar*, machos, pesando aproximadamente 250 a 300 gramas. Os animais são provenientes do biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Os ratos permaneceram alojados em gaiolas padrão, sendo respeitado o ciclo claro-escuro de 12 horas com alimentação e água *ad libitum*. Para realizar a análise histológica, da autofluorescência do colágeno tendineo e da imunofluorescência foram utilizados 3 animais por grupo enquanto 5 animais foram usados para a dosagem de nitrito. Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo comitê de ética (CEPAE parecer 206-14 da UFPA).

#### Procedimento cirúrgico

Os anestésicos Ketamina 10% (80mg/kg) e Cloridrato de Xilazina a 2% (12mg/kg) foram aplicados por via intraperitoneal. Em seguida, a região posterior da pata traseira direita do animal foi tricotomizada manualmente. Com um bisturi ocorreu uma incisão de 0,5 cm acima da inserção do tendão calcâneo, o qual ficou exposto e foi suturado com a técnica cirúrgica de Kessler modificado. Após a secção total feita por uma tesoura cirúrgica, as partes do tendão foram unidas e por último a pele foi suturada com um ponto simples. A linha utilizada foi de nylon não absorvível nº 4.0. Todos os procedimentos foram feitos de forma assépticas.

#### Grupos experimentais

Quatro grupos foram utilizados nesta pesquisa: O primeiro, grupo controle, não possui lesão tendínea nem tratamento. Já os três grupos restantes foram submetidos à lesão tendínea. Ao grupo veículo, foi aplicada solução salina de concentração 0,9%. No grupo extrato de *E. Oleracea* foi utilizado o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* na concentração de 125 µg/ml. De acordo com Poulouse *et al.*, (2012) essa concentração apresentou o melhor efeito tanto antioxidante quanto antiinflamatório.

E no último grupo, denominado metilprednisolona, os animais receberam um fármaco de ação antiinflamatória de caráter esteroide, como controle positivo na concentração de 30mg/kg.



### **Obtenção do extrato etanólico de *Euterpe Oleracea***

Os frutos da *E. oleracea* foram coletados no sítio Pinheiro localizado na BR010 do município de Irituia- PA. Em seguida foram lavados e secados em uma estufa a 35°C para a estabilização do conteúdo enzimático e a retirada da umidade da polpa do fruto, durante uma semana. Para a extração, foram utilizados como solventes água e etanol há 70% em um volume total de 800 ml para 150g do fruto.

Após 48h em que os frutos ficaram embebidos por esta solução de solvente, apenas o etanol foi reciclado a cada 24h. Imediatamente a solução foi filtrada em uma bomba a vácuo para a retirada de impurezas e posteriormente encaminhada há um rotaevaporador para eliminar o solvente volátil como etanol em quantidade considerada através da evaporação, permanecendo apenas o extrato composto pelos fitoconstituintes do referido fruto.

### **Delineamento experimental**

Após o procedimento cirúrgico, a cada dois dias até o 6º dia pós-lesão os animais receberam solução salina ou extrato etanólico de *Euterpe oleracea*, ambos com o volume de 40µl. O grupo tratado com metilprednisolona recebeu uma única dose de 64 µl da droga no dia dois. Todas as aplicações ocorreram localmente na região peritendínea.

Os animais foram eutanasiados por meio de guilhotina nos dias 07, 14 e 21 para obtenção do material biológico. No sétimo dia foi realizada uma análise histológica e da autofluorescência de colágeno para avaliar o padrão de organização tecidual, em seguida foi realizado a marcação e avaliação da enzima COX2 no tecido tendíneo.

Na dosagem de nitrito uma análise bioquímica foi realizada para avaliar as diferentes concentrações de nitrito das amostras. Já no décimo quarto e no vigésimo primeiro dia, apenas foi realizado uma análise histológica e da autofluorescência de colágeno para avaliar uma possível alteração no padrão de organização tecidual referente à fase de proliferação e de remodelamento após o tratamento na fase inflamatória.

## **Processamento histológico da amostra**

Após isolamento dos materiais biológicos os mesmos foram imediatamente fixados em paraformoldeído 4% por 24 horas, em seguida lavados em PBS onde foram mantidos até o dia anterior ao da realização dos cortes. Para isso, as peças foram crioprotegidas em concentrações crescentes de sacarose (10%, 20% e 30%) diluída em tampão fosfato a 0,1M.

Na realização dos cortes, os tecidos foram blocados em Tissue Tek (Sakura Finetek, Inc., Califórnia, USA) para serem cortados em espessura de 10 µm pelo criostato (Leica, CM3050 S) em temperatura de -24°C seguindo a orientação longitudinal do tendão.

Uma vez cortados, os cortes foram transferidos para lâminas histológicas que foram armazenadas em caixa porta lâminas de plástico e encaminhadas ao freezer a temperatura de -4°C, no qual os mesmos foram conservados e posteriormente utilizados para as análises abaixo.

## **Marcação por hematoxilina - eosina e autofluorescência do colágeno**

Para avaliar a organização celular e a trajetória das fibras de colágeno, nos dias 07, 14 e 21, primeiramente, os cortes do tecido tendineo, ficaram imersos por 5 minutos em água destilada para hidratá-los, em seguida, os mesmos foram mergulhados em álcool de concentrações crescentes de 50%, 60%, 70%, 80% e 90% durante 2 minutos. Logo após, foram corados por hematoxilina de Harris e eosina durante 20 segundos cada.

Para retirar o excesso dos corantes foi utilizado o álcool ácido a 1% e imediatamente, as lâminas foram montadas em Permout ®(Fisher Scientific, New Jersey, USA) e conduzidas ao microscópio de campo claro (Nikon eclipse Ni) com objetiva de 20x para possibilitar a visualização das porções, ventral, medial e dorsal do tecido tendíneo e examinar os diferentes padrões de organização tecidual entre os distintos grupos.

Na análise da trajetória dos feixes de colágeno do referido tecido, os cortes corados por hematoxilina e eosina também foram conduzidos ao mesmo microscópio, com objetiva de 40x, porém com a utilização da fluorescência e de um filtro específico, para a excitação da autofluorescência do colágeno.

Para auxiliar na avaliação do padrão de organização tecidual no tendão de Aquiles dos ratos, as imagens da autofluorescência foram capturadas através de uma câmera digital acoplada ao microscópio.

### **Imunofluorescência**

A imunofluorescência para COX2 foi realizada em amostras coletadas no sétimo dia pós lesão. Para isso foi utilizado o anticorpo primário COX2, produzido em cabra, e como secundário o Alexa fluor 594, produzido em burro e anti-cabra.

O anticorpo primário foi diluído em solução de diluição composta por PBS, triton X-100 e BSA a 1% (1/200) enquanto o secundário foi diluído em PBS e BSA 1% (1/1000). Para a marcação dos núcleos de tenoblastos o marcador DAPI foi utilizado (1/10.000). O microscópio de fluorescência com os filtros adequados e com a objetiva de 20x foi utilizado para a visualização dos cortes com as respectivas marcações.

### **Análise bioquímica**

Para a dosagem de nitrito, o tendão foi cortado em vários pedaços na placa de petri e transferido para o Potter juntamente com o tampão de lise TNE(Tris-Hidroximetil/cloreto de sódio e EDTA, 3ml ) a fim de ser homogeneizado.

As amostras, depois de homogeneizadas, foram transferidas para eppendorfs e mantidas a -4°C para a dosagem posterior. O homogeneizado foi encaminhado a centrifuga para extrair o sobrenadante.

Uma microplaca de 96 poços foi utilizada para a dosagem de nitrito, para isso, além do volume de 25µl das amostras, o equivalente volume do reagente de Griess composto por naftileno (0.1%), sulfanilamida (1%) e ácido fosfórico (5%) foi adicionado a cada poço e os valores de absorbância de nitrito foram mensurados por um leitor de microplaca (Biotek ELX-800) após ajuste do comprimento de onda para 630nm.

A concentração de nitrito das amostras foi calculada com base nos valores de absorbância obtidos de uma curva padrão de nitrito.

### **Análise estatística**

Os dados da concentração de nitrito foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. O programa estatístico usado foi o BioEstat 5.0. Os resultados foram comparados aos diferentes grupos através do teste de Análise de Variância (ANOVA) de um critério, seguido de Tukey como pós-teste para comparar as diferentes médias entre os grupos. Valores de  $p \leq 0.05$  foram considerados significativos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISE DO PADRÃO DE ORGANIZAÇÃO TECIDUAL APÓS A RUPTURA COMPLETA DO TENDÃO DE AQUILES DE RATOS *WISTAR* TRATADOS LOCALMENTE COM EXTRATO ETANÓLICO DE *Euterpe Oleracea*

Para a análise histológica, seções longitudinais do tendão de Aquiles foram coradas com hematoxilina e eosina a fim de verificar o padrão de organização tecidual entre os grupos Controle, Veículo, Metilprednisolona e Extrato etanólico de *Euterpe oleracea*.

No grupo controle foi observado um padrão organizado, com células fusiformes, alongadas e alinhadas em fileiras (Figura 7 a). Os demais grupos foram analisados em 7, 14 e 21 dia pós-injúria.

No grupo veículo foi observado um padrão desorganizado, com células mais arredondadas, em maior densidade e sem direção definida. A matriz extracelular deste grupo apresentou uma quantidade expressiva de lacunas (indicado por\*), sugerindo maior degeneração tecidual e edema (Figura 7 b).

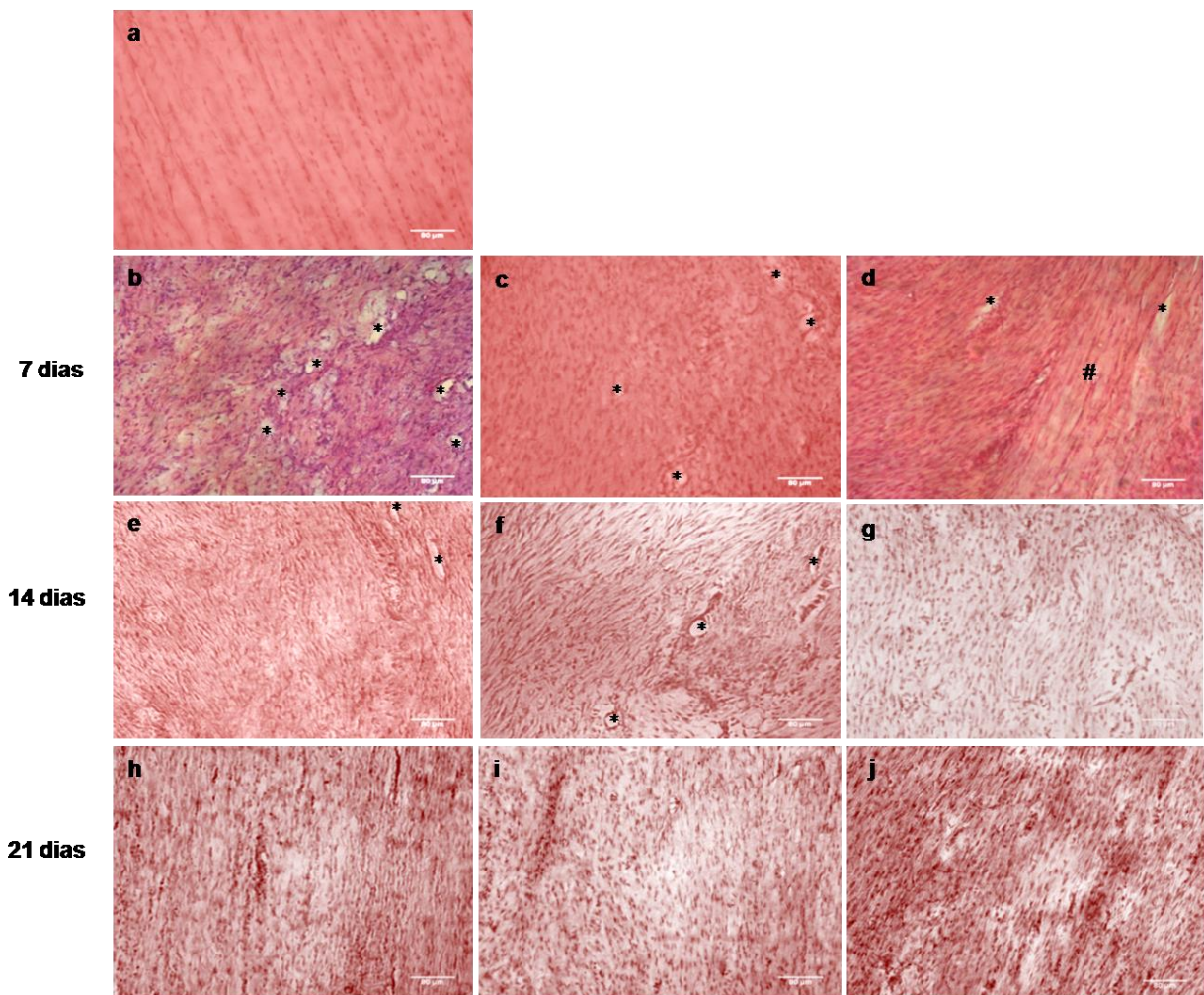
No grupo da metilprednisolona foi observado também a desorganização por todo o tecido, assim como a desorientação das fibras de colágeno e dos tenócitos, os quais apresentavam morfologia ligeiramente arredondada e com densidade moderada e com maior tendência a seguir uma direção definida. A matriz extracelular apresentou lacunas (indicado por \*) distribuídas moderadamente de modo difuso na área tecidual analisada, sugerindo uma degeneração tecidual de menor intensidade se comparado ao veículo (Figura 7 c).

O grupo tratado com extrato etanólico de *Euterpe oleracea* apresentou uma melhor organização tecidual se comparado aos grupos anteriores, sendo observado redução da densidade celular, morfologia ligeiramente alongada e orientação tecidual e celular definida. A matriz extracelular do referido grupo possui lacunas (indicadas por \*) em menor número, distribuídos em regiões difusas. Este grupo experimental chamou atenção pela área preservada de organização (indicado por #) (Figura 7 d).

Terminando a fase inflamatória e iniciando a fase proliferativa representada pelo 14º dia, todos os grupos representados pela Figura 7e, f e g apresentaram

um padrão desorganizado com grande densidade celular e tendência a orientação das células. Lacunas (\*) ainda são observadas nos grupos Veículo e Metilprednisolona, mas não no grupo tratado com extrato etanólico de *Euterpe oleracea*.

Na fase de remodelamento, representado pelo 21º dia, todos os grupos, representados na Figura 7h, i e j apresentaram um padrão mais organizado, não sendo mais observadas as lacunas. As células já seguem uma direção melhor definida e menor densidade celular é notada.



**Figura 7:** Histoquímica para Hematoxilina e Eosina em secções longitudinais do tendão de Aquiles de ratos *wistar*. As amostras foram analisadas em microscópio óptico de campo claro com a objetiva de 20x para a análise do padrão de organização tecidual dos grupos: (a) Controle; (b,e,h) Veículo; (c,f,i) Metilprednisolona e (d,g,j) Extrato etanólico de *Euterpe oleracea*. Barra de escala: 80 µm.

## 4.2 ANÁLISE DA ORIENTAÇÃO DAS FIBRAS DE COLÁGENAS APÓS A RUPTURA COMPLETA DO TENDÃO DE AQUILES DE RATOS *WISTAR* TRATADOS LOCALMENTE COM EXTRATO ETANÓLICO DE AÇAÍ (*Euterpe Oleracea*)

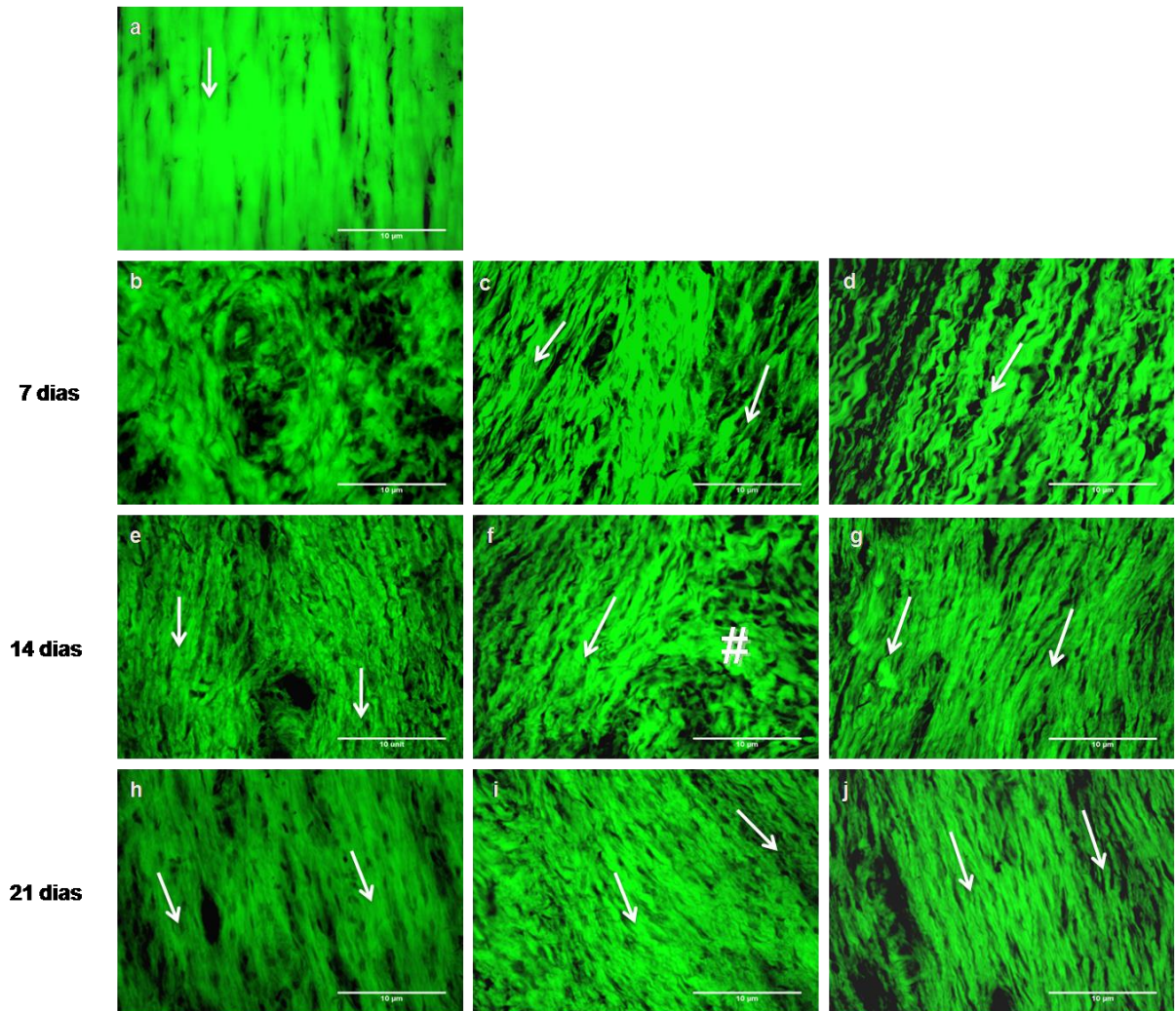
As fotomicrografias abaixo mostram a autofluorescência dos cortes do tendão de Aquiles de ratos *Wistar*, avaliados por um microscópio de fluorescência, tornando possível observar a orientação das fibras de colágeno nos referidos grupos.

No grupo controle, (Figura 8 a) é possível notar fibras orientadas em uma direção definida (indicado por ↓) e células bem organizadas em fileiras. O grupo veículo apresentou no 7º dia (Figura 8 b) desorientação das fibras de colágeno associado a células sem orientação definida na matriz.

Os grupos tratados com metilprednisolona e extrato etanólico de *Euterpe oleracea* (Figura 8 c e d) apresentaram células e fibras de colágeno com orientação melhor definida (indicado por ↓) se comparado ao veículo. Destaca-se que o grupo tratado com o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* (Figura 8 d) apresentou uma excelente organização das fibras de colágeno apesar de ainda tratar-se do 7º dia pós lesão.

No 14º (Figura 8 e, f e g) e 21º (Figura 8 h, i e j) dia todos os grupos apresentaram células e fibras de colágeno com melhor organização e em direção definida (indicado por ↓), tendo apenas o grupo tratado com metilprednisolona (Figura 8 f) áreas de desorganização (indicado por #). Destaca-se novamente o melhor padrão de orientação tecidual da matriz no grupo tratado com *Euterpe oleracea* em todas as fases.





**Figura 8:** Autofluorescência do colágeno em diferentes fases do reparo tecidual. Observar a orientação dos feixes de colágeno nos grupos: (a) Controle; (b,e,h) Veículo; (c,f,i) Metilprednisolona e (d,g,j) Extrato etanólico de *Euterpe oleracea*. Barra de escala 10 µm. Secções longitudinais do tendão de Aquiles de ratos *Wistar*.

### **4.3 ANÁLISE DO EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Euterpe Oleracea* EM MODELO DE LESÃO TENDÍNEA EM RATOS WISTAR: EXPRESSÃO TECIDUAL DE COX2**

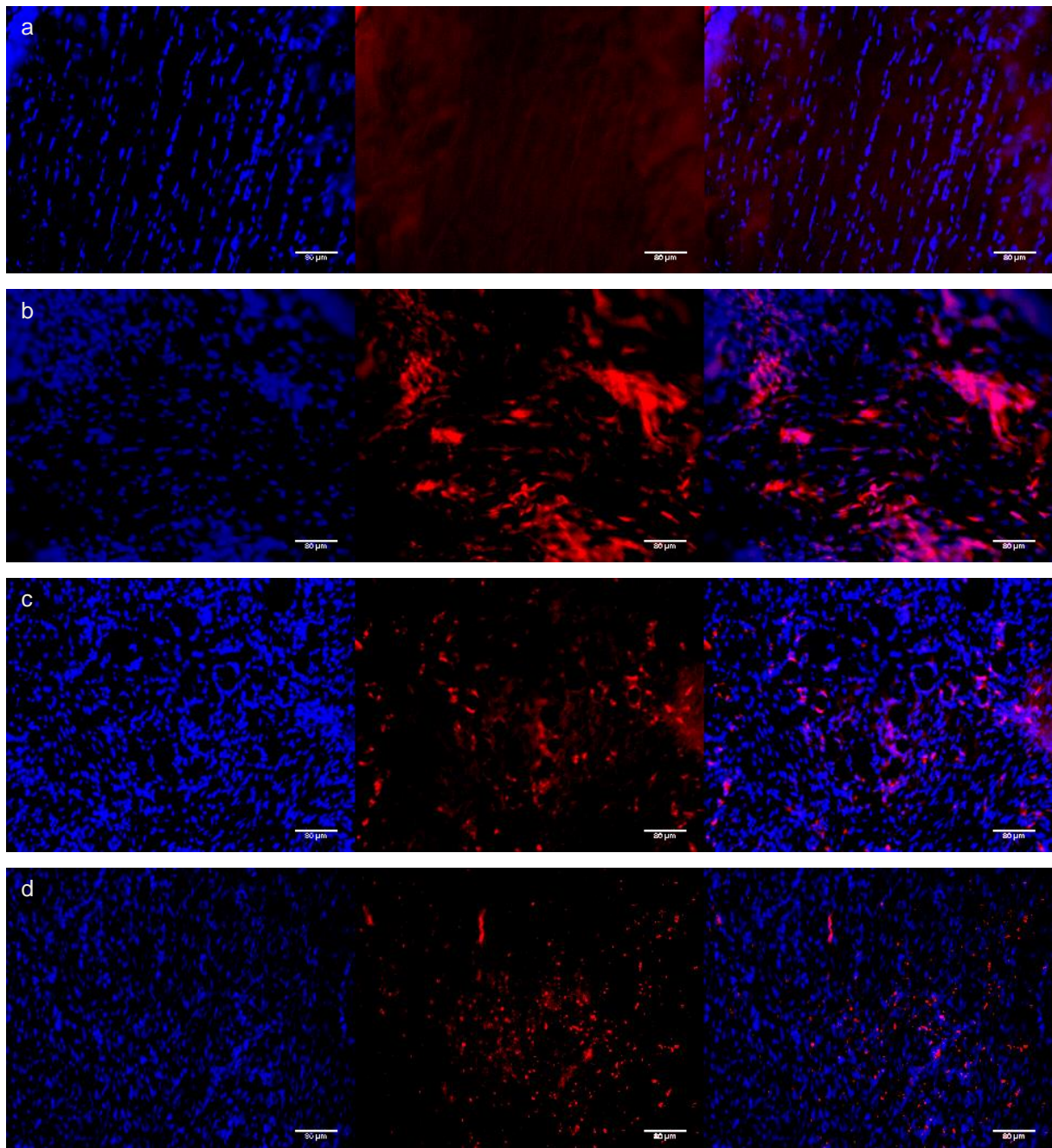
Para avaliar o efeito antiinflamatório do extrato etanólico de *Euterpe oleracea*, foi realizada a técnica de imunofluorescência a fim de avaliar o padrão de marcação da enzima COX2 entre os diferentes grupos estudados por microscopia de fluorescência após o 7º dia de lesão.

A Figura 9 a mostra o resultado para o grupo controle, em que não há presença de marcação para COX2, uma vez que, de fato, não há processo inflamatório desencadeado nesse grupo. Por outro lado, em todos os grupos que sofreram lesão é observado a marcação para COX2 (Figura 9b, c e d).

No grupo veículo (Figura 9b) consideráveis marcações difusas para COX2 são identificadas por todo o tecido.

No grupo da metilprednisolona (Figura 9 c) a marcação para COX2 demonstra ser pontual e consideravelmente menor que no grupo veículo.

Por último o grupo tratado com o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* (Figura 9 d) apresentou uma marcação pontual e em menor quantidade para COX2, semelhante ao observado no grupo metilprednisolona. Desta forma, a ação antiinflamatória do extrato é notável, sendo eficiente na redução da expressão da COX2 tanto quanto o antiinflamatório esteroideal.

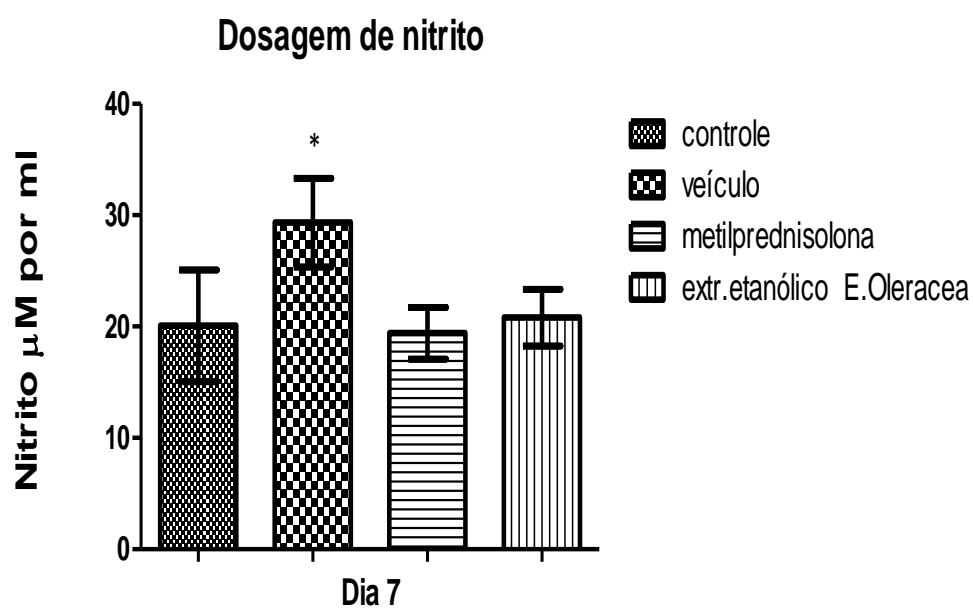


**Figura 9:** Imunofluorescência para COX2 de secções do tendão de Aquiles de ratos após 7 dias de lesão. (a) grupo controle, (b) grupo veículo, (c) grupo metilprednisolona e (d) grupo extrato etanólico de *Euterpe oleracea*. À esquerda para Dapi ao centro marcação de COX2 e, a direita, a sobreposição de imagens. Barra de escala 80 μm.

#### **4.4 CONCENTRAÇÕES DE NITRITO EM MODELO DE LESÃO TENDINEA DE RATOS *Wistar* TRATADOS LOCALMENTE COM EXTRATO ETANÓLICO DE *Euterpe Oleracea*.**

Para avaliar os níveis de atividade nitrérgica no tendão na fase aguda da lesão foi realizada a dosagem de nitrito nos tecidos em todos os grupos no 7º dia pós injúria (Figura. 10). Verificamos que após 7 dias de lesão os níveis de nitrito do grupo veículo ( $29.33 \pm 3.98 \mu\text{m/ml}$ ) foram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) mais alto se comparado ao controle ( $20.07 \pm 5.02 \mu\text{m/ml}$ ). No grupo metilprednisolona ( $19.40 \pm 2.31$ ) e extrato etanólico de *Euterpe oleracea* ( $20.80 \pm 2.54$ ) os níveis de nitrito encontrados eram iguais aos valores encontrados no grupo controle, não havendo diferença estatística entre eles.

Dessa forma, verificamos que o tratamento com metilprednisolona ou extrato etanólico de *Euterpe oleracea* levaram, igualmente, a uma redução nos níveis de nitrito na fase aguda da lesão tendínea, sugerindo que o antiinflamatório esteroide e o produto natural em questão teriam capacidades semelhantes de reduzir a atividade nitrérgica no tecido.



**Figura 10:** Níveis de nitrito nos tendões dos diferentes grupos no 7<sup>o</sup> dia pós-lesão. O grupo veículo foi o único que apresentou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis de nitrito comparado aos demais grupos.



## 5 DISCUSSÃO

Foi estudado o efeito do extrato etanólico de *Euterpe Oleracea* (açai) no padrão histológico de organização do tecido tendineo, levando em consideração; densidade e alteração morfológica do núcleo das células e a trajetória das fibras de colágeno no referido tecido. Também foi abordado o efeito do extrato sobre a enzima ciclooxigenase do tipo II (COX 2) sendo a principal responsável pelo processo inflamatório junto com o óxido nítrico (NO) produzido pela enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) no qual a sua presença no tecido é representada pelo nitrito.

Neste estudo a marcação da COX2 e a mensuração do nível de nitrito tecidual são utilizadas como parâmetro, para avaliar a intensidade inflamatória manifestada após uma injúria total do tendão de Aquiles de ratos *Wistar* que pode influenciar na alteração da propriedade mecânica do tecido, culminando com a alteração do padrão histológico de organização em nosso modelo experimental de lesão.

Dependendo da resposta inflamatória, os constituintes microscópicos do tecido sendo eles as células, fibras de colágeno e a matriz extracelular podem ser intensamente modificadas morfológicamente.

De acordo com Cook *et al* 2004 esta modificação estar relacionada através da resposta destes constituintes perante estímulos diversos como mediadores inflamatórios entre eles a prostaglandina liberados a partir de uma lesão tecidual, que pode induzir a redução da carga mecânica em toda a extensão do tecido ( DEVKOTA, 2007).

Comparando estas informações com os resultados da nossa análise histológica; o grupo do extrato etanólico de *Euterpe Oleracea* (açai) aplicado na fase inflamatória, teve como padrão histológico; tenocitos organizados em menor densidade e ligeiramente alongada, associada com as fibras de colágeno seguindo uma mesma direção. Também foi observada na matriz extracelular, pouca quantidade de lacunas distribuídas de modo difuso e uma área preservada de organização (Figura 7-8 d). Padrão semelhante é visualizado na metilprednisolona, porém com moderada quantidade de lacunas distribuídas na matriz extracelular, mas sem esta

área preservada de organização (Figura 7-8 c). Já o padrão oposto é visto pelo grupo veículo com uma quantidade considerada de lacunas (Figura 7-8b).

De modo que o primeiro padrão tecidual descrito acima é decorrência do efeito antiinflamatório e antioxidante dos compostos fitoquímicos do extrato etanólico de *Euterpe oleracea* no qual diminuiu a intensidade inflamatória e possivelmente proporcionou à expressão de inibidores de metaloproteinase (TIMPs), no qual explica a presença preservada desta área organizada e a redução da quantidade de lacunas encontradas na matriz do tecido (SEERAM, 2006; POULOSE *et al.*, 2012; XIE *et al.*, 2012).

Já Landolfi *et al.*, (1984) propôs que a redução desta desorganização tecidual, supostamente ocorre por meio de um componente fitoquímico do tipo flavona encontrada em várias frutas e leguminosas, no qual, possuem uma ação antiinflamatória e antioxidante mais expressiva. Ao aplicar quinze diferentes componentes de flavonoides em plaquetas de coelho ele observou por meio da flavona uma redução da agregação plaquetária *in vitro*.

Seeram (2006) reforça esta informação relatando que a quercetina é um dos constituintes da flavona com uma atividade quimiopreventivo considerada. Através dessas informações é possível expressar nesta pesquisa que o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* reduziu consideradamente a resposta inflamatória e melhorou o padrão histológico de organização do tecido tendineo na fase inflamatória.

Em seguida no grupo tratado com a metilprednisolona, apresentou um padrão intermediário de organização com tenocitos desorganizados em moderada densidade e ligeiramente arredondados e associado a outras particularidades já descritas anteriormente (Figura 7-8 c). A presença dessas características no tecido corresponde ao fármaco apenas ter apresentado um efeito antiinflamatório. Sendo que o efeito antioxidante é secundário em relação ao primeiro e por isso não deteve eficazmente o estresse oxidativo (WU *et al.*, 2010).

Levando em consideração esta peculiaridade o fármaco reduziu a resposta inflamatória em menor intensidade em relação ao produto natural, intervindo menos na degradação do tecido e auxiliando na formação moderada de lacunas.

Terminando a fase inflamatória o ultimo grupo, o veiculo, no qual foi aplicada a solução salina, sem expressar efeito algum, praticamente, representa um tecido sem tratamento com alta resposta inflamatória, mas com um padrão tecidual bastante desorganizado de tenocitos em grande densidade totalmente arredondados associado há desordem de fibras de colágeno e com expressiva presença de lacunas na matriz extracelular (Figura 7-8 b).

A presença de lacuna na matriz extracelular em um tecido biológico representa a degradação dos seus constituintes através de diversos estímulos como acumulo de mediadores inflamatórios diversos, excesso de radicais livres e a ação de enzimas colagenases em especial a metaloproteinases.

A metaloproteinase é enzima responsável pela degradação dos componentes da matriz extracelular e das fibras de colágenos em resposta a um intenso processo inflamatório e oxidativo. Existem vinte três enzimas metaloproteinases (MMPs) identificados em humanos sendo a MMP-3 encarregado em degradar a matriz extracelular do tendão e de ativar outras MMPs. E a MMP-9 em fragmentar preferencialmente o colágeno tipo I na fase inflamatória (IRELAND *et al.*, 2001; MAGRA; MAFFULLI, 2005).

A partir destas referencias, teoricamente, podemos explicar que o surgimento de varias lacunas na matriz extracelular e a desorientação das fibras de colágeno do tipo I no grupo veículo, foram possíveis, devido à ação de MMP-3 e MMP-9 de modo a agravar ainda mais a desorganização do tecido e reduzir a sua propriedade mecânica.

Logo após, na fase proliferativa e de remodelamento não teve intervenção terapêutica e os cortes histológicos apresentaram um determinado padrão de organização: Padrão desorganizado com tenocitos ligeiramente arredondados em grande densidade, exceção do grupo veiculo, em que ocorreu uma redução bastante expressiva da sua densidade na fase de remodelamento. Todas essas características seguiram uma trajetória definida junto com as fibras de colágenos que estão visualmente alinhados no campo analisado dos três grupos estudados (Figura 7, 8 e, f, g) e (Figura 7, 8 h, i, j).



De maneira que esta aparente organização é resultante da tensão gerada principalmente pelas junções (miotendínea e osteotendínea) e pelos constituintes microscópicos do tecido no qual é transmitida por toda a extensão do tendão facilitando a organização histológica. Apesar da existência de áreas difusas de desorganizações encontradas nos dois grupos estudados (Figura 7 e, f) prova as evidências que a distribuição da tensão não é uniforme durante o processo de cicatrização.

Estes dados são confirmados por Wakatsuki; Elson, (2003); Tohyama *et al.*, (2003) dizem que as células exercem forças contráteis em resposta a estímulo mecânico externo em prol da compressão e endurecimento da matriz extracelular de forma a alinhar as fibras de colágenos como também uma força de reação é exercida no sentido inverso para orientar as células no interior da matriz e auxiliar no seu formato que habitualmente possuem um formato fusiforme ou alongado. Padrão fisiológico de organização é observado no grupo controle (Figura 7-8 a).

Corroborando com estas informações Lavagnino; Gardner; Arnoczki, (2013) declara que a alteração da densidade celular associado com a alteração da matriz extracelular do tecido pode limitar as células de contrair o seu conteúdo circundante e, portanto altera na contratibilidade geral do tecido.

Correlacionando este conhecimento com o que foi observada no grupo veículo deste estudo; houve uma considerada redução da densidade de células com uma provável limitação da sua força contrátil sobre as fibras de colágenos, originando fibras de formato ondulado vista na Figura 7h. Diferente do grupo extrato etanólico de *Euterpe oleracea* no qual foi observada uma expressiva densidade de células que exerceu uma força contrátil considerada sobre as fibras de colágenos, alinhando-o (Figura 7-8j).

Para auxiliar na avaliação do padrão histológico de organização foi utilizado à propriedade natural do colágeno do tecido tendíneo em gerar fluorescência diante de um estímulo luminoso, no qual, foi empregado como parâmetro para avaliar a trajetória das fibras nos grupos estudados das três fases de reparo.

Segundo Hoell *et al.*, (2006) todos os tecidos contendo moléculas de colágeno constituídos por aminoácidos específicos, emitem uma fluorescência natural sob irradiação de uma luz ultravioleta (UV).

Depois de analisar as características das três fases de reparo, o grupo tratado na fase inflamatória com extrato etanólico de *Euterpe Oleracea* (açai) mostrou ter melhorado o seu padrão histológico de organização com redução da intensidade inflamatória através da ação das suas propriedades fitoquímicas, no qual ao longo das evidências a propriedade mecânica do tecido pode ter melhorado comparado aos outros grupos no qual comprovado a interferência indireta do extrato nas fases posteriores de reparo.

No entanto a redução da intensidade inflamatória, propriamente dita, ocorre através da ação dos constituintes fitoquímicos do extrato em relação à possível interferência das vias de sinalização intracelular e provável interferência na atividade metabólica de várias enzimas.

Do modo que os constituintes fitoquímicos do extrato etanólico de *Euterpe Oleracea* (açai) possivelmente interferiu na via NF $\kappa$ B inibindo na fosforização do seu inibidor (IKB $\alpha$ ) e da via MAP-cinase interferindo parcialmente na fosforização das vias paralelas que o compõe como: (JNK/ ERK1/2/ p.38) ocasionando na interferência da propagação do sinal de fosforização até o núcleo celular resultando na redução considerada da transcrição gênica da COX2/iNOS e de outras enzimas pro inflamatório em tenocitos (POULOSE *et al.*,2012; XIE *et al.*, 2012).

Também pode ter interferido diretamente a atividade de várias enzimas como: fosfolipase(PLA2) inibindo a sua fosforização e impedindo a liberação do ácido araquidônico para COX2. Na COX2 o produto natural provavelmente agiu no sítio peroxidase impedindo na formação da prostaglandina(PGH2) (LANDOLFI *et al.*, 1984; FORMICA; REGELSON,1995; YOON; BAEK, 2005).

Outro modo de interferir na atividade COX2 consiste no provável bloqueio da atividade da fosfodiesterase através do aumento do (AMPc) um segundo mensageiro intracelular produzido pela enzima adenil ciclase. Desse modo através da soma de fatores, o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* reduziu a atividade enzimática principalmente da COX2 diminuindo a produção da prostaglandina(PGH2) sendo

mediador lipídico responsável na síntese da resposta inflamatória no tecido tendineo( LANDOLFI *et al.*, 1984; FORMICA; REGELSON,1995; YOON; BAEK, 2005).

Todas essas informações a respeito do efeito do extrato etanólico de *Euterpe oleracea* com relação à enzima COX2 na injúria tendinea são confirmadas no nosso resultado da Figura 9 d havendo uma menor intensidade na marcação da COX2 em formato pontual.

Sem demora confrontando o efeito do extrato com o efeito da metilprednisolona, apenas a mesma interferiu na via NF $\kappa$ B associado com o ativador de proteína -1 (AP-1) diminuindo moderadamente a transcrição gênica da COX2/iNOS. O fármaco, também interferiu apenas na atividade enzimática da fosfolipase(PLA2) inibindo a liberação do ácido araquidônico para ambas as vias: cicloxigenase e lipoxigenase simultaneamente nos tenocitos (BARTHOLDI; SCHWAB, 1995; NADEAU; RIVEST, 2003; PERES *et al.*, 2012; YIN *et al.*, 2013 ).

Sendo que este medicamento, diante dessas informações, apenas ocasionou uma marcação pontual um pouco mais acentuada da COX2, observada na Figura 9 c.

E, por último, no grupo veículo tratado com solução salina no qual nenhum efeito foi relatado no processo inflamatório de modo que manifestou uma marcação bastante intensa da COX2 (Figura 9b) que hipoteticamente produziu no tecido tendineo lesionado, uma grande quantidade de prostaglandina (PGH2) que pode alterar no padrão histológico de organização (Figura 7-8 b).

De acordo com Devkota *et al.*, (2007) o excesso de prostaglandina (PGH2) encontrado no tecido lesionado, pode estimular o aumento da produção de enzimas do tipo metaloproteinases (MMPs) como também pode inibir a síntese de colágeno em tendões humanos e reduzir a propriedade mecânica do mesmo. Sendo que todos esses fatores podem ter contribuído para a desorganização tecidual visto anteriormente.

Na literatura o efeito antioxidante do extrato etanólico de *Euterpe oleracea* consiste na capacidade de neutralizar os radicais livres e converter-lo em água através da redução do oxigênio molecular em peróxido de hidrogênio com o auxílio das enzimas antioxidantes endógenas. Sendo que os flavonóides da *Euterpe oleracea*

não conseguem agir diretamente no NO (óxido nítrico) então para reduzir a sua produção no processo inflamatório, os flavonóides possivelmente interfere indiretamente no funcionamento da enzima iNOS através da redução desses radicais livres (KIM *et al.*, 1999; CHEN *et al.*, 2001; RASO *et al.*, 2001; MOURA *et al.*, 2012; MOUKETTE *et al.*, 2015).

Assim sendo, podemos explicar como os constituintes fitoquímicos do *Euterpe oleracea* podem ter reduzido a concentração de NO representado pelo nitrito, na injúria total do tendão de Aquiles de ratos *Wistar*, comparando aos outros grupos, principalmente ao veículo no qual possuem uma grande concentração Figura 10.

Além disso, a redução da concentração de NO pode contribuir para a diminuição do processo inflamatório, de modo que, menos NO se ligará ao sítio ativo de cicloxigenase composto por ferro localizado no centro da COX2 ou menos NO se unirá com o radical ânion superóxido, para formar uma nova espécie de reativo nitroso, chamado de ânion peróxido nitrito, no qual se ligará ao sítio peroxidase da mesma enzima, podendo influenciar na redução da produção da prostaglandina resultando numa melhora do padrão histológico de organização do tecido tendineo( Figura 7-8 d) (LANDINO *et al.*, 1996; MACCARRONE; PUTTI; AGRÒ, 1997; LIN *et al.*, 2001; SURH *et al.*, 2001; TSATSAMIS *et al.*, 2006; BHANDARE *et al.*, 2011) .

Desse modo ao finalizar este estudo a partir dessas premissas descritas acima o extrato etanólico de *Euterpe Oleracea* (açai) demonstrou ter um efeito antioxidante associado a um efeito antiinflamatório em prol de um melhor reparo do tecido tendineo culminando com um padrão menos desorganizado e com uma maior capacidade de gerar tensão.

## 6 CONCLUSÃO

- O extrato etanólico de *Euterpe oleracea*, aplicado localmente na lesão tendínea, proporcionou uma melhora precoce do padrão histológico de organização tecidual e celular, o que se refletiu ainda na fase proliferativa e de remodelamento.
- O tratamento local com extrato etanólico de *Euterpe oleracea* na lesão tendínea promoveu uma precoce organização das fibras de colágeno, as quais apresentavam uma direção bem definida desde a fase aguda, permanecendo organizadas nas demais fases de reparo.
- O tratamento local com o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* reduziu a expressão de COX2 na fase inflamatória após a ruptura total do tendão de Aquiles de ratos *Wistar*.
- O tratamento local com o extrato etanólico de *Euterpe oleracea* reduziu os níveis de nitrito teciduais na fase inflamatória após a ruptura total do tendão de Aquiles de ratos *Wistar*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARO, A.A; FREITAS, K.M; FOGGIO, M.A; CARVALHO, J.E; DOLDER, H; GOMES, L; VIDAL, B.C; PIMENTEL, E.R: Effect of the *Arrabidaea Chica* Extract on Collagen Fiber Organization During Healing of Partially Transected Tendon. **Life Sciences**. 92: 799-807, 2013.

ALBERTS, B; JOHNSON, A; LEWIS, J; RAFF, M; ROBERTS,K; WALTER, P: **Biologia Molecular da Célula 5º ed.** Porto Alegre: Artmed, 2010. 1539 p.887-889.

BACKMAN, L.J; ANDERSSON, G; WENNSTIG, G; FORSGREN, S; DANIELSSON, P: Endogenous Substance P Production in the Achilles Tendon Increases with Loading in an in Vivo Model of Tendinopathy --- Peptidergic Elevation Preceding Tendinosis – Like Tissue Changes. **J. Musculoskelet Neuronal Interact.** vol.11, p.133-140, 2011

BARBOSA, K.B.F; COSTA, N.M.B; ALFENAS, R.C.G; PAULA, S.O; MINIM, V.P.R; BRESSAN, J: Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutrição**. Campinas, 23: 639-643, 2010.

BHATIA, M; MOOCHHALA, S: Role of Inflammatory Mediators in The Pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome. **Journal of Pathology**. 202: 145-156, 2004

BHANDARE. A; KSHIRSAGAR. A; VYAWARE. N; SHARMA. P; MOHITE. R: Evaluation of Anti-migraine Potential of *Areca Catechu* to Prevent Nitroglycerin-induced Inflammation in Rat Meninges: Possible Involvement of NOS Inhibition. **Journal of Ethnopharmacology**.136: p. 267-270, 2011.

BARTHOLDI. D; SCHWAB. M. E: Methylprednisolone Inhibits Early Inflammatory Processes but not Ischemic Cell Death After Experimental Spinal Cord Lesion in The Rat. **Brain Research**. 672: p. 177-186, 1995.

BESSON, JN: The Complexity of Physiopharmacologic Aspects of Pain. **Drugs**. 53: 1-9, 1997.

BOUVET, C; GILBERT, L-A; GIRARDOT, D; deBLOIS, D; MOREAU, P: Different Involvement of Extracellular Matrix Components in Small and Large Arteries During Chronic NO Synthase Inhibition. **Hypertension**. 45: 432-437, 2005.

BUHRMANN, C; MOBASHERI, A; BUSCH, F; ALDINGER, C; STAHLMANN, R; MONTASHI, A; SHAKIBAEI, M. Curcumin Modulates Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) Mediated Inflammation in Human Tenocytes in Vitro Role of the phosphatidylinositol 3 Kinase / Akt Pathway. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 286, n. 32, p. 28556-28566, 2011.

CANTY, E.G; KADLER, K.E: Collagen Fibril Bioynthesis in Tendon: A Review and Recent Insights. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. 133: 979-985, 2002.

CANTY, E.G; KADLER, K.E: Procollagen Trafficking, Processing and Fibrillogenesis. **Journal of Cell Science**. 118: 1341-1352, 2005.

CANTY, E.G; LU, YINHUI ; KADLER, K.E: Stepwise Proteolytic Activation of Type I Procollagen to Collagen Within the Secretory Pathway of Tendon Fibroblasts in *Situ*. **Biochem.J**. 2012; 447: 707-717, 2012.

CHEN. Y-C; SHEN. S-C; LEE. W-R; HOU. W-C; YANG. L-L; LEE. T. J. F: Inhibition of Nitric Oxide Synthase Inhibitors and Lipopolysaccharide Induced Inducible NOS and Cyclooxygenase-2 Gene Expressions by Rutin, Quercetin, and Quercetin Pentaacetate in RAW 264.7 Macrophages. **Journal of Cellular Biochemistry**. 82: p. 537-548, 2001.

CHIN. Y-W; CHAI. H-B; KELLER. W. J; KINGHORN. A. D: Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (Açaí) with antioxidant and cytoprotective activities. **Journal Agricultural. Food. Chemistry**. 56: p. 7759-7764, 2008.

COSTA, C.A; OLIVEIRA, P.R.B; BEM, G.F; CARVALHO, L.C.R.M; OGNIBENE, D.T; SILVA, A.F.E; VALENÇA, S.S; PIRES, K.M.P; SOUSA, P.J.C; MOURA, R.S;

RESENDE, A.C: *Euterpe oleracea* Mart.—derived polyphenols prevent endothelial dysfunction and vascular structural changes in renovascular hypertensive rats: role of oxidative stress. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.** 385: p. 1199-1209, 2012.

COSTA. M. R; OLIVEIRA. M. S. P; MOURA. E. F: Variabilidade genética em açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) conservação e caracterização de recursos genéticos vegetais na Amazônia Oriental. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento.** nº. 21; p. 46-50, 2001.

CHONGYANG FU; WEI QU: Acute Achilles Tendon Rupture: Mini-Incision Repair With Double –Tsuge Loop Suture vs. Open Repair With Modified Kessler Suture. **The Surgeon, Journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland.** p. 1-6, 2014.

COOK. J. L; FELLEN. J. A; BONAR. S. F; KHAN. K. M. Abnormal Tenocyte Morphology is more Prevalent than Collagen Disruption in Asymptomatic Athletes' Patellar Tendons. **Journal of Orthopaedic Research.** 22: p.334-338, 2004.

DANGELO, J.G; FATTINI, C. A: **Anatomia Básica dos Sistemas Orgânicos: com a descrição dos ossos, juntas, músculos, vasos e nervos.** São Paulo: ed.Atheneu, 2006. 481 p.222.

DAKIN, S. G; DUDHIA, J; SMITH, K. W: Resolving an Inflammatory Concept: The Importance of Inflammation and Resolution in Tendinopathy. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** 158; p.121-127, 2014.

DANTON, G.H; DIETRICH, D: Inflammatory Mechanisms After Ischemia and Stoke. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology.** vol.62; nº.2; p127-136, 2003.

DEVKOTA. A. C; TSUZAKI. M; ALMEKINDERS. L. C; BANES. A. J; WEINHOLD. P. S: Distributing a Fixed Amount of Cyclic Loading to Tendon Explants Over Longer



Periods induces Greater Cellular and Mechanical Responses. **Journal of Orthopaedic Research**. 10: p. 1078- 1086, 2007.

DORAL, M. N; ALLAM, M; BOZKURT, M; TURHAN, E; ATAY, O.A; MAFFULLI, N: Functional Anatomy of The Achilles Tendon. **Knee Surg Sports Traumatol Arthosc**. 18: 638-643, 2010.

FAVACHO. H. A. S; OLIVEIRA. B. R; SANTOS. K. C; MEDEIROS. B. J. L; SOUSA. J. C; PERAZZO. F.F; CARVALHO. J. C. T: Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 21: p. 105-114, 2011.

FRANCESCHI F, PAPALIA R, PACIOTTI M, FRANCESCHETTI E, DI MARTINO A, MAFFULLI N, DENARO. V: Obesity as a Risk Factor for Tendinopathy: a Systematic Review. **Int J Endocrinol**. p.1-10, 2014.

FREDBERG, G. U; PEDERSEN, S. K: Chronic Tendinopathy Tissue Pathology, Pain Mechanisms, and Etiology with a Special Focus on Inflammation. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**. 18: p. 3-15, 2008.

FREIRE, M.O; DYKE, E.V: Natural Resolution of Inflammation. **Periodontal**. 2000. 2013; 63: p. 149-164, 2013.

FEIO. C.A; IZAR. M.C; IHARA. S.S; KASMAS. S.H; MARTINS. C.M; FEIO. M.N; MAUÉS. L. A; BORGES. N.C; MORENO. R.A; PÓVOA. R.M; FONSECA. F.A: *Euterpe oleracea* (Açaí) modifies sterol metabolism and attenuates experimentally-induced atherosclerosis. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**. vol. 19; nº. 3: p.237-245, 2012.

FILHO, R.F; ZILBERSREIN, B: Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Rev. Ass. Med. Brasil**.46: p. 265-271, 2000.

FORMICA. J. V; REGELSON. W: Review of the Biology of Quercetin and Related Bioflavonoids. **Food. Chemical. Toxic.** vol. 33, no. 12: p.1061-1080,1995.

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

GEREMIA, J. MARCEL: **Ruptura Total do Tendão de Aquiles: Propriedades Mecânicas Tendíneas em Indivíduos Submetidos a Diferentes Protocolos de Reabilitação.** 2011. 122f. Dissertação e Tese (Mestrado e Doutorado em Ciências do Movimento Humano) – Escola de Educação Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

HALÁSZ, KRISZTINA; KASSINER, ANJA; MÖRGELIN, MATTHIAS; HEINEGARD, DICK: Comp Acts as a Catalyst in Collagen Fibrillogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**, vol. 282, nº.43, p.31166-31173, 2007.

HENDERSON, A; MILLIS, DARRYL: Tissue Healing: Tendons, Ligaments, Bone, Muscles, and Cartilage. **Canine Rehabilitation and Physical Therapy, 2º ed.** p.79-91, 2014.

HOELL. T; HUSCHAK. G; BEIER. A; HÜTTMANN. G; MINKUS. Y; HOLZHAUSEN.H .J; MEISEL. H. J: Auto Fluorescence of Intervertebral Disc Tissue: A New Diagnostic Tool. **European Spine Journal.** vol. 15; nº. 3; p. 345-353, 2006.

HUANG, C; LEAVITT, T; BAYER, L. A; ORGILL, D.P: Effect of negative pressure wound therapy on wound healing. **Current Problems in Surgery.** 51: p. 301-331, 2014.

ISHIDA, T; YOSHIDA, M; ARITA, M; NISHITANI, Y; SISHIUMI, S; MASUDA, A; MIZUMO, S; TAKAGAWA, T; MORITA, Y; KUTSUMI, H; INOKUCHI, H; SERHAN, C.N; BLUMBERG, R.S; AZUMA, T: Resolvin E1, an Endogenous Lipid Mediator

Derived From Eicosapentaenoic Acid, Prevents Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis. **Inflamma Bowel Dis.** 16: 87-95, 2010.

INSFRAN. D.D.P; BRENES. C. H; TALCOTT. S.T: Phychemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 52: p. 1539-1545, 2004.

INSFRAN. D.D.P; PERCIVAL. S. S; TALCOTT. S.T: Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal. Agricultural and Food Chemistry.** 54:p. 1222-1229, 2006.

IRELAND. D; HARRALL. R; CURRY. V; HOLLOWAY. G; HACKNEY. R; HAZLEMAN. B; RILEY. G: Multiple Changes in Gene Expression in Chronic Human Achilles Tendinopathy. **International Society of Matrix Biology.** 20: p.159-169, 2001.

JÄVIRNEN, TERO. A.H; KANNUS, PEKKA; PAAVOLA MIKA; JÄVIRNEN, TEPPONEN L.N; JÓZSA, LÁSZLÓ; JÄVIRNEN, MARKKU: Achilles Tendon Injuries. **Current Opinion in Rheumatology.** 13: 150-155, 2001.

JÄVIRNEN, TERO. A.H; KANNUS, PEKKA; MAFFULLI, NICOLA; KHAN, KARIN.M: Achilles Tendon Disorders: Etiology and Epidemiology. **Foot and Ankle Clinics.** 10: 255-266, 2005.

JALLAGEAS.R; BORDES.J; DAVIET. J.-C; MABIT.C; COSTE.C: Evaluation of Surgical Treatment for Ruptured Achilles Tendon in 31 Athletes. **Orthopaedics & Traumatology Surgery & Research.** 99: 577-584, 2013.

JENSEN. G.S; AGER. D.M; REDMAN. K. A; MITZNER. M. A; BENSON. K. F; SCHAUSS. A. G: Pain reduction and improvement in range of motion after daily consumption of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp-fortified polyphenolic-rich fruit and berry juice blend. **Journal of Medicinal Food .** vol. 14; n<sup>o</sup>.7/8; p.702-711, 2011.

JÓZSA. L; KANNUS, P: Histopathological findings in spontaneous tendon ruptures. **Scandinavian Journal Medicine Science in Sports**. vol.7; nº 2; p.113-118, 1997.

JUNIOR, D. J. MCBRIDE; CHOE. VINCENT; SHAPIRO. JAY.R; BRODSKY. BARBARA: Altered Collagen Structure in Mouse Tail Tendon Lacking The  $\alpha 2(I)$  Chain. **J. Mol. Biol.** 270: 275-284,1997.

KANNUS, P: Structure of the Tendon Connective Tissue. **Scandinavian J. Medicine Science in Sports**. 10: 312 – 320, 2000.

KANER, R.J; LADETTO, J.V; SINGH,R; FUKUDA, N; MATTAY, M. A; CRYSTAL, R.G: Lung Overexpression of The Vascular Endothelial Growth Factor Gene Induces Pulmonary Edema. **AM. J.Respir.Cell. Mol.Biol.** vol.22; p.657-664, 2000.

KADER, D; SAXENA, A; MOVIN, T; MAFFULLI, N: Achilles Tendinopathy: Some Aspects of Basis Science and Clinical Management. **Br J. Sports Med**. 36: 239-249, 2002.

KAWAMURA, S; YING, L; KIN, H—J; DYNBYL, C; RODEO, S. A: Macrophages accumulate in the early phase of tendon—bone healing. **Journal of Orthopaedic Research**. 23: p.1425-1432, 2005.

KANG. J; THAKALI. K. M; XIE. C; KONDO. M; TONG. Y; OU.B; JENSEN. G; MEDINA. M. B; SCHAUSS. A. G; WU. X: Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food. Chemistry**. 133: p. 671-677, 2012.

KIM. H. K; CHEON. B. S; KIM. Y-H; KIM. S. Y; KIM. H. P: Effects of Naturally Occurring Flavonoids on Nitric Oxide Production in the Macrophage Cell Line RAW 264.7 and Their Structure-Activity Relationships. **Biochemical Pharmacology**. vol.55: p.759-765, 1999.

KOCHANEK, P. M; HALLENBECK, J. M: Polymorphonuclear Leukocytes and Monocytes/ Macrophages in the Pathogenesis of Cerebral Ischemia and Stroke. **Stroke**. 23: p. 1367-1379, 1992.

LANTTO.I; HEIKKINEN.J; FLINKKLÄ.T; OHTONEN.P; LEPPILAHTI.J: Epidemiology of Achilles Tendon Ruptures: Increasing Incidence Over a 33-year Period. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**. p. 1-6, 2014.

LANDOLFI. R; MOWER. L; STEINER. M: Modification of Platelet Function and Arachidonic Acid Metabolism by Bioflavonoids. **Biochemical Pharmacology**. vol.33: no.9: p. 1525-1530, 1984.

LANDINO. L.M; CREWS. B.C; TIMMONS. M.D; MORROW. J.D; MARNETT. L.J: Peroxynitrite, the Coupling Product of Nitric Oxide and Superoxide, Activates Prostaglandin Biosynthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences.USA**. vol. 93: p.15069-15074, 1996.

LAVAGNINO. M; GARDNER. K; ARNOCZKZ. S. P: Age-Related Changes in the Cellular, Mechanical, and Contractile Properties of Rat Tail Tendons. **Connective Tissue Research**. vol. 54; n° 1: p. 70-75, 2013.

LIN. J-H; WANG. M-X; WEI. A; ZHU. W; DIWAN. A. D; MURRELL. G.A.C: Temporal Expression of Nitric Oxide Synthase Isoforms in Healing Achilles Tendon. **Journal of Orthopaedic Research**. 19: p. 136-142, 2001.

MAGNUSSON, S. PETER; LAMGBERG, HENNING; KAJAER, MICHAEL: The Pathogenesis of Tendinopathy Balancing The Response to Loading. **Nature. Rev. Rheumatology**. vol.6, p.262-268, 2010.

MASSOUD, E.I.E: Healing of Subcutaneous Tendons: Influence of The Mechanical Environment at The Suture Line on The Healing Process. **World Journal of Orthopedics**. vol.4, p.229-240, 2013.

MAFFULLI, N; EWEN, S. W. B; WATERSTON, S. W; REAPER, J; BARRASS, V: Tenocytes From Rupture and Tendinopathic Achilles Tendons Produce Greater Quantities of Type III Collagen Than Tenocytes from Normal Achilles Tendons an in Vitro Model of Human Tendon Healing. **The American Orthopaedic Society for Sports Medicine**. vol.28 nº.4 p.499-505, 2000.

MACCARRONE. M; PUTTI. S; AGRÒ. A. F: Nitric Oxide Donors Activate the Cyclo-Oxygenase Peroxidase Activities of Prostaglandin H Synthase. **Febs Letts**. p.470-476,1997.

MAGRA. M; MAFFULLI. N: Matrix Metalloproteases: A Role in Overuse Tendinopathies. **British Journal of Sports Medicine**. vol. 39; nº. 11; p. 789-791, 2005.

MENEZES. J.C; TORRES. A.T; SHUR. A.U.S: Valor nutricional da polpa de açaí( *Euterpe oleracea* Mart.) liofilizado. **Acta Amazonica**. vol.38; nº. 2: p.311-316, 2008.

MILLAR, N.L; MURREL, G. A. C; MCLNNES, L. B: Alarmins in Tendinopathy: Unravelling New Mechanisms in a Common Disease. **Journal Oxford Rheumatology**. p.270-281, 2012.

MINGHETTI, L: Cyclooxygenase-2(COX-2) in Inflammatory an Degenerative Brain Diseases. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**.vol.63; nº.9; p.901-910, 2004.

MORAES, S.A.S. **Inibição nitrérgica local favorece o processo de regeneração do tendão de Aquiles em ratos submetidos à tenotomia**. 2011. 88f. Dissertação( Mestrado em Neurociência e Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal do Pará, Belém.

MOLOY, T.J; BOCK, C. E; WANG, Y; MURRELL, G. A. C: Gene Expression Changes in SNAP- Stimulated and iNOS- Transfected Tenocytes-Expression of Extracelular

Matrix Genes and Its Implications for Tendon-Healing. **Journal of Orthopaedic Research**. p.1869-1882, 2006.

MOURA. R. S; FERREIRA. T. S; LOPES. A. A; PIRES. K. M. P; NESI. R. T; RESENDE. A. C; SOUZA. P. J. C; SILVA. A. J. R; BORGES. R. M; PORTO. L. C; VALENCA. S. S: Effects of *Euterpe oleracea* Mart (AÇAÍ) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse. **Phytomedicine**. 19: p. 262-269, 2012.

MOUKETTE. B. M; PIEME. C. A; BIAPA. P. C. N; MOOR. V. J. A; BERINYUY. E; NGOGANG. J. Y: *Afrostryax Lepidophyblus* Extracts Exhibit in Vitro Free Radical Scavenging, Antioxidant Potential and Protective Properties Against Liver Enzymes ion Mediated Oxidative Damage. **Biomed Central. Research Notes**. 8:p. 1-12, 2015.

NAN JIANG; BOWEI WANG; ANFU CHEN; FU DONG; BIN YU: Operative Versus Nonoperative Treatment for Acute Achilles Tendon Rupture: A Meta-Analysis Based on Current Evidence. **International Orthopaedics (SICOT)**. 36: 765-773, 2012.

NADEAU. S; RIVEST. S: Glucocorticoids Play a Fundamental Role in Protecting the Brain during Innate Immune Response. **The Journal of Neuroscience**. 13: p. 5536-5544, 2003.

NOGAWA, S; ZHANG, F; ROSS, M.E; IADECOLA, C: Cyclo-Oxygenase-2 Gene Expression in Neurons Contributes to Ischemic Brain Damage. **The Journal of Neuroscience**. 17: 2746-2755, 1997.

NOVELLO. A. A: **Extração de antocianinas dos frutos de açaí da mata Atlântica (*Euterpe edulis Martius*) e sua atuação nas atividades antioxidantes e antiaterogênica em camundongos APOE -/-** 2011. 80f Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

OZGURTAS TANER; YILDIZ CEMIL; MUHITTIN SERDAR; ATESALP SABRI; KUTLUAY TURKER: Is High Concentration of Serum Lipids a Risk Factor for Achilles Tendon Rupture? **Clinica Chimica Acta.** 331: p. 25-28, 2003.

OZKAYA, U; PARMAKSIZOGLU, A. S; KABUKCUOGLU, Y; SOKUCU, S; BASILGAN, S: Open minimally invasive Achilles tendon repair with early rehabilitation: Functional results of 25 consecutive patients. **Journal Care Injured.** 40: p.669-672, 2009.

OKADA. Y; MOTOYA. T; TANIMOTO. S; NOMURA. M: A study on fatty acids in seeds of *Euterpe oleracea* Mart Seeds. **Journal of oleo Science.** vol. 60; nº.9; p.463-467, 2011.

PARKINSON, J; SAMIRIC, T; ILIC, M. Z; COOK, J; HANDLEY, C. J: Involvement of Proteoglycans in Tendinopathy. **J. Musculoskelet Neuronal Interact.** vol.11; p.86-93, 2011.

PERES. M.F.S; RIBEIRO.F.V; RUIZ. K.G.S; NOCITI-JR F.H; SALLUN. E.A; CASATI. M. Z: Steroidal and Non-Steroidal Cyclooxygenase-2 Inhibitor Anti-Inflammatory Drugs as Pre-Emptive Medication in Patients Undergoing Periodontal Surgery.**Brazilian Dental Journal.** vol. 23; nº 6; p. 621-628, 2012.

POULOSE, S. M; FISHER, D. R; LARSON, J; BIELINSKI, D. F; RINANDO, A. M; CAREY, A. N; SCHAUSS, A. G; HALE, B. S. Anthocyanim- rich Açai ( *Euterpe oleracea* Mart.) Frut Pulp Fractions Attenuate Inflammatory Stress Signaling in Mouse Brain Bv- 2 Microglial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 60: 1084- 1093, 2012.

RASO. G.M; MELI. R; CARLO. G. D; PACILIO. M; CARLO. R. D: Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase and Cyclooxygenase-2 Expression by Flavonoids in Macrophage J774 A.1. **Life Sciences.** 68: p. 921-931, 2001.

REES, J. D; STRIDE, M; SCOTT. A: Tendons – time to revisit inflammation. **Br Journal Sports Med.** 0: p.1-7, 2013.



RILEY, G. The pathogenesis of tendinopathy. A molecular perspective. **Rheumatology**. 43: 131–142, 2004.

RILEY, G: Chronic Tendon Pathology: Molecular Basis and Therapeutic Implications. **Expert Reviews in Molecular Medicine**. vol.7, p.1 – 25, 2005.

RILEY, G: Tendinopathy --- From Basic Science To Treatment. **Nature Clinical Practice Rheumatology**. vol.4, nº 2, p. 1-8, 2008.

RIBEIRO. J. C; ANTUNES. L.M.G; AISSA. A. F; DARIN. JOANA D'ARC. C; ROSSO. V.V; MERCADANTE. A.Z; BIANCHI. M.L.P: Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açai pulp( *Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. 695: p. 22-28, 2010.

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

SHARMA, P; MAFFULLI, N: Biology of Tendon Injury: Healing, Modeling and Remodeling. **Journal. Musculoskelet Neuronal Interact**. vol. 6 p. 181-190, 2006.

SPADA. P.D.S; DANI. C; BORTOLINI. G. V; FUNCHAL. C; HENRIQUES. J.A.P; SALVADOR. M: Frozen fruit pulp of *Euterpe oleraceae* Mart. (Açai) prevents hydrogen peroxide-induced damage in the cerebral cortex, cerebellum, and hippocampus of rats. **Journal of Medicinal Food**. vol.12; nº.5; p.1084-1088, 2009.

SCHAUSS. A.G; WU. X; PRIOR. R.L; OU. B; HUANG. D; OWENS. J; AGARWAL. A; JENSEN. G.S; HART. A. N; SHANBROM. E: Antioxidant capacity and other

bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54: p. 8604-8610, 2006.

SCHRECKINGER. M.E; LOTTON. J; LILA. M.A; MEJIA. E.G: Berries from South America: A comprehensive review on chemistry, health potential, and commercialization. **Journal of Medicinal Food**. vol. 13; n<sup>o</sup>.2; p. 233-246, 2010.

SEERAM, N.P. Berries. In **Nutritional Oncology**, 2<sup>nd</sup> ed; Heber, D., Blackburn, G., Go, V.L.W., Milner, J., Eds.; Academic Press: London, U.K., 2006; Chapter 37, p.615-625

ŚLIWA MAREK: Percutaneous and Minimally Invasive Achilles Tendon Repair-Review of Surgical Techniques. **Polish Orthopedics and Traumatology**. 79: 92-96, 2014.

SUN. X; SEEBERGER. J; ALBERICO. T; WANG. C; WHEELER. C.T; SCHAUSS. A. G; ZOU. S: Açaí palm fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves survival of flies on a high fat diet. **Experimental Gerontology**. 45: p.243-251, 2010.

SURH. Y-J; CHUN. K-S; CHA. H-H; HAN. S. S; KEUM. Y-S; PARK. K-K; LEE. S.S: Molecular Mechanisms Underlying Chemopreventive Activities of Anti-inflammatory Phytochemicals: down- regulation of COX-2 and iNOS Through Suppression of NF-κB activation. **Mutation Research**. 480-481: 243-268, 2001.

SULLO. A; MAFFULLI. N; CAPASSO. G; TESTA. V: The effects of prolonged peritendinous administration of PGE<sub>1</sub> to the rat Achilles tendon: a possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. **Journal of Orthopaedic Science**. 6: 349-357, 2001.

TALCOTT. S.U.M; RIOS. J; STOHLAWETZ. P. J; PALENCIA. L.A.P; MEIBOHM. B; TALCOTT.S.T; DERENDORF. H: Pharmacokinetics of anthocyanin-rich açaí juice and pulp(*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 56: p.7796-7802, 2008.

TSATSANIS. C; ANDROULIDAKI. A; VENIHAKI. M; MARGIORIS. A. N: Signalling Networks Regulating Cyclooxygenase-2. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. 38:p. 1654-1661, 2006.

THICHETT, D.R; ARMSTRONG, L; MILLAR, A.B: A Role for Vascular Endothelial Growth Factor in Acute and Resolving Lung Injury. **Am J.Respir Crit. Care Med**. vol.166; p.1332-1337, 2002.

TOMPSON, JONATHAN; BARAVANIAN, BOB: Acute and Chronic Achilles Tendon Ruptures in Athletes. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**. p.117-135, 2011.

TOHYAMA. H; YASUDA. K; KITAMURA. Y; YAMAMOTO. E; HAYASHI. K: The Changes in Mechanical Properties of Regenerated and Residual Tissues in the Patellar Tendon after Removal of its Central Portion. **Clinical Biomechanics**. 18: p. 765-772, 2003.

VANE, J.R; MITCHELL, J.A; APPLETON, I; TOMLINSON, A; BAILEY, D.B; CROXTALL, J; WILLOUGHBY, D.A: Inducible Isoforms of Cyclooxygenase and Nitric-Oxide Synthase in Inflammation. **Pharmacology**. vol.91, p.2046-2050, 1994.

VOLP, A.C.P; RENHE, I.R.T; BARRA,K; STRINGUETA, P.C: Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Rev. Bras. Nutr. Clin**. 23: p.141-149, 2008.

WANG, Q; TANG, X.N; YENARI, M.A: The Inflammatory Response in Stroke. **Journal of Neuroimmunology**. 184: 53-68, 2007.

WANG, F; MURRELL, G.A.C; WANG, M-X: Oxidative Stress-Induce C-Jun N-terminal Kinase (JNK) Activation in Tendon Cells Upregulates MMP1 mRNA and Protein Expression. **Journal of Orthopaedic Research**. p. 378-389, 2007.

WAKATSUKI. T; ELSON. E. L: Reciprocal Interactions between Cells and Extracellular Matrix during remodeling of Tissue Constructs. **Biophysical Chemistry**. 100: p. 593-605, 2003.

WEATHERALL JUSTIN. M; MROCZEK. KENNETH; TEJWANI. NIRMAL: Acute Achilles Tendon Ruptures. **Orthopedics/ OrthoSuperSite.com**. vol.33, nº 10 p.758-764, 2010.

WHITE. LTC DANIEL W; WENKE. JOSEPH C; MOSELY. MAJ DANS; MOUNTCASTLE. SALY B; BASAMANIA. CARL. J: Incidence of Major Tendon Ruptures and Anterior Cruciate Ligament Tears in Vs Army Soldiers. **The American Journal of Sports Medicine**. vol.35, nº.8, p.1308-1314, 2007.

WU. J; YANG. H; QIU. Z; ZHANG. Q; DING. T; GENG. D: Effect of Combined Treatment with Methylprednisolone and Nogo-A Monoclonal Antibody After Rat Spinal Cord Injury. **The Journal of International Medical Research**. 38: p. 570-582, 2010.

YIN. Y; SUN. W; LI. Z; ZANG. B; CUI. H; DENG. L; XIE. P; XING. J; ZOU. J: Effects of Combining Methylprednisolone With Rolipram on Functional Recovery in Adult Rats Following Spinal Cord Injury. **Neurochemistry International**. 62: p. 903-912, 2013.

YOON. J-H; BAEK. S. J: Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. **Yonsei Medical Journal**. vol. 46: nº. 5: p. 585-596, 2005.

YU, L; YANG, B; WANG, J; ZHAO, L; LUO, W; JIANG, Q; YANG, J: Time Course Change of Cox-2-Pgl<sup>2</sup>/Txa<sup>2</sup> Following Global Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Rat Hippocampus. **Behavioral and Brain Functions**. 10:3-10, 2014.

XIE. C; KANG. J; BURRIS. R; FERGUSON. M. E; SCHAUSS. A.G; NAGARAJAN. S; WU. X: Açai juice atherosclerosis in Apo E deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Atherosclerosis**. 26: p. 327-333, 2011.

XIE. C; KANG. J; LI. Z; SCHAUSS. A. G; BADGER. T. M; NAGARAJAN. S; WU. T; WU. X: The açai flavonoid velutin is a potent anti-inflammatory agent: blockade of LPS- mediated TNF- $\alpha$  and IL-6 production through inhibiting NF- $\kappa$ B activation and MAPK pathway. **Journal of Nutritional Biochemistry**. 23: p. 1184- 1191, 2012.

XU, Y; MURRELL. G.A.C: The Basic Science of Tendinopathy. **Clin. Orthop Relat Res**. 466; nº.7;p. 1528-1538, 2008.

ZHANG. Z-F; FAN. S-H; ZHENG. Y-L; LU. J; WU. D-M; SHAN. Q; HU. B: Purple Sweet Potato Color Attenuates Oxidative Stress and Inflammatory Response Induced by *D*-Galactose in Mouse Liver. **Food and Chemical Toxicology**. 47: p. 496-501, 2009.

ZHU, X-C; JIANG, T; ZHANG, Q-Q; CAO, L; TAN, M-S; WANG, H-F; DING, Z-Z; TAN, L; YU, J-T: Chronic Metformin Preconditioning Provides Neuroprotection via Suppression of NF- $\kappa$ B-Mediated Inflammatory Pathway in Rats with Permanent Cerebral Ischemia. **Molecular Neurobiology**. vol.52.nº 1. p.375-385, 2014.