

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-HIPERTENSIVO DO EXTRATO
AQUOSO DE JUÇARA

AUGUSTO ALTOÉ PUPPIN

VILA VELHA
SETEMBRO / 2019

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-HIPERTENSIVO DO EXTRATO
AQUOSO DE JUÇARA**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha, como pré-
requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciências Farmacêuticas,
para a obtenção do grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

AUGUSTO ALTOÉ PUPPIN

VILA VELHA
SETEMBRO / 2019

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

P976a Puppim, Augusto Altoé.
Avaliação do efeito anti-hipertensivo do extrato aquoso de
juçara / Augusto Altoé Puppim. – 2019.
40 f.

Orientadora: Denise Coutinho Endringer.
Coorientadora: Girlandia Alexandre Brasil
Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas)
Universidade Vila Velha, 2019.
Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Açai. 3. Antioxidante.
I. Endringer, Denise Coutinho. II. Brasil, Girlandia Alexandre.
III. Universidade Vila Velha. IV. Título.

CDD 615

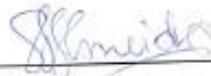
AUGUSTO ALTOÉ PUPPIN

Avaliação do efeito antihipertensivo do extrato aquoso de juçara

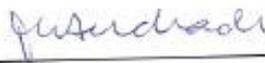
Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 16 de Setembro de 2019

Banca Examinadora:



Profa. Dra. Simone Alves de Almeida Simões (MULTIVIX)



Profa. Dr. Tadeu Uggere de Andrade (UVV)



Profa. Dra. Girlandia Alexandre Brasil (UVV)

Orientadora



Profa. Dra. Denise Coutinho Endringer (UVV)

Co-orientadora

‘Em todo o universo, coisas incríveis sempre estão esperando para serem descobertas.’

Carl Sagan

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente e em especial à Profa. Dra. Girlandia Alexandre Brasil pelos ensinamentos, motivação e carinho, que foram fundamentais para o desenvolvimento de todo o trabalho.

À Profa. Dra. Denise Coutinho Endringer, por aceitar ser Co-orientadora do trabalho e auxílio na obtenção do extrato utilizado na pesquisa.

À toda a equipe de alunos de iniciação científica, mestrandos, doutorandos e professores do curso de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Vila Velha, pelo companheirismo e solidariedade em auxiliar no trabalho em todas as etapas.

Ao biotério e funcionários da Universidade de Vila Velha, por cederem e auxiliarem no manejo dos animais.

Ao Prof. Silas Nascimento Ronchi, pelo apoio, habilidade manual e ensinamentos durante os experimentos do projeto.

À Universidade Federal do Espírito Santo e à Profa. Dra. Nazaré Souza Bissoli, por ter cedido o laboratório para a execução de parte dos experimentos.

SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Objetivos	15
3. Material e métodos	16
4. Resultados	20
5. Discussão	23
6. Conclusão	29
7. Referências bibliográficas	30

RESUMO

PUPPIN, A. A., M. Sc, Universidade Vila Velha – ES, Setembro de 2019. **Avaliação do efeito anti-hipertensivo do extrato aquoso de juçara.** Orientadora: Girlandia Alexandre Brasil. Co-orientadora: Denise Coutinho Endringer.

Introdução e objetivo: A Palmeira juçara (*Euterpe edulis*) é uma espécie nativa da mata atlântica, amplamente conhecida e explorada devido ao palmito que é consumido pela população; por conta dessa exploração, ela se tornou uma espécie em risco de extinção. A palmeira produz frutos de coloração roxo-escuro, ricos em compostos bioativos, especialmente as antocianidinas, que são conhecidamente cardioprotetoras. Estudos prévios demonstraram potencial cardioprotetor, entretanto, nenhum avaliou o consumo do fruto da juçara em modelo de hipertensão essencial. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é avaliar o impacto do tratamento crônico com extrato aquoso dos frutos de juçara em modelo de hipertensão essencial (ratos SHR) e os mecanismos envolvidos.

Materiais e métodos: Foram utilizados ratos SHR machos com idade entre 2-3 meses, fornecidos pelo laboratório de acompanhamento experimental da UVV, todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da universidade (447/2017). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas e separados nos seguintes grupos: grupo controle (S) recebeu apenas o veículo (água deionizada); grupo controle captopril (SC) foi tratado com captopril (40mg/kg/dia); grupo juçara (SJ) tratado com o extrato de juçara (4,4mL/kg/dia). Todos os tratamentos foram mantidos por 60 dias e foram realizados via oral. Após o período de tratamento, os animais foram anestesiados (cetamina/xilasina, 100/10mg/kg; i.p.) e tiveram a veia e a artéria femural cateterizadas 24h após o procedimento, a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram coletados, o barorreflexo arterial foi avaliado por meio da aplicação *in bolus* de nitroprussiato ou fenilefrina. Os órgãos foram coletados (coração) e a razão peso coração/comprimento da tibia analisada; adicionalmente, foram quantificados os produtos de oxidação proteica (AOPP), peroxidação lipídica (TBARS) e a atividade das enzimas antioxidantes (SOD e Catalase). Os resultados foram expressos como média±erro padrão da média, submetidos a análise de variância de uma via ANOVA, seguido pelo teste post hoc de tukey.

Resultados: O tratamento promoveu redução na PAM dos animais, de modo semelhante ao grupo controle (S: 169,1±4,6; SC: 154,5±0,9; SJ: 149,1±5,0 mmHg), não houve modificação na FC (S: 325,3±9,77; SC: 320,2±13,9; SJ: 309,3±4,6 bpm). O tratamento melhorou a sensibilidade do barorreflexo arterial frente ao nitroprussiato de sódio (S: 1,63±0,15; SC: 2,31±0,23; SJ: 2,45±0,37 bpm/mmHg), entretanto, não houve melhora na atividade frente a fenilefrina. Houve redução na hipertrofia cardíaca (S: 0,3008±0,0132; SC: 0,2673±0,008; SJ: 0,2774±0,006 g/cm). Foi possível observar redução no estresse oxidativo, demonstrado pela redução nos valores de AOPP (S: 1,417±0,370; SC: 0,519±0,176; SJ: 0,487±0,075 mM cloramina T/mg proteína) e TBARS (S: 1,65±0,08; SC: 1,48±0,02; SJ: 1,53±0,02 TBARS/mg de proteína), quando comparado ao grupo S, bem como aumento da atividade das enzimas antioxidantes SOD (S: 2,00±0,23; SC: 4,28±1,77; SJ: 16,02±5,66 USOD/mg de proteína) e Catalase (S: 1,30±0,39; SC: 1,70±0,22; SJ: 2,50±0,40 Δ E/min/mg proteína).

Conclusões: O tratamento crônico com juçara possui efeito anti-hipertensivo *in vivo*, sendo os mecanismos associados à redução no estresse oxidativo e, ainda, à melhora na sensibilidade do barorreflexo arterial.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante. Anti-hipertensivo. Frutas. Açaí.

ABSTRACT

PUPPIN, A. A., M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, September, 2019. **Antihypertensive effect of aqueous extract of juçara berry.** Advisor: Girlandia Alexandre Brasil. Co-advisor: Denise Coutinho Endringer.

Introduction and objective: Juçara palm (*Euterpe edulis*) is a native species of the Atlantic forest, widely known and exploited due to the palm heart that is consumed by the population; Because of this exploitation, it has become an endangered species. Palm trees produce dark purple fruits rich in bioactive compounds, especially anthocyanidins, which are known to be cardioprotective. Previous studies have shown cardioprotective potential; however, none evaluated the consumption of juçara fruit in a model of essential hypertension. Thus, the aim of the present study is to evaluate the impact of chronic aqueous extract treatment of juçara fruits in an essential hypertension model (SHR rats) and the mechanisms involved.

Materials and methods: Male SHR rats aged 2-3 months, provided by the UVV experimental follow-up laboratory, were used and all procedures were approved by the University Research Ethics Committee (447/2017). The animals were kept in collective cages and separated into the following groups: control group (S) received only the vehicle (deionized water); captopril control group (SC) was treated with captopril (40mg / kg / day); juçara group (SJ) treated with juçara extract (4.4mL / kg / day). All treatments were maintained for 60 days and were performed orally. After the treatment period, the animals were anesthetized (ketamine / xilasine, 100 / 10mg / kg; ip) and had the catheterized vein and femoral artery 24h after the procedure, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR). were collected, the arterial baroreflex was evaluated by the in bolus application of nitroprusside or phenylephrine. The organs were collected (heart) and the heart weight / tibial length ratio analyzed; In addition, protein oxidation products (AOPP), lipid peroxidation (TBARS) and antioxidant enzyme activity (SOD and Catalase) were quantified. Results were expressed as mean \pm standard error of the mean, submitted to one-way ANOVA, followed by tukey post hoc test.

Results: The treatment promoted reduction in MAP of animals, similar to the control group (S: 169.1 ± 4.6 ; SC: 154.5 ± 0.9 ; SJ: 149.1 ± 5.0 mmHg), There was no change in HR (S: 325.3 ± 9.77 ; SC: 320.2 ± 13.9 ; SJ: 309.3 ± 4.6 bpm). Treatment improved arterial baroreflex sensitivity to sodium nitroprusside (S: 1.63 ± 0.15 ; SC: 2.31 ± 0.23 ; SJ: 2.45 ± 0.37 bpm / mmHg), however, There was no improvement in activity against phenylephrine. There was a reduction in cardiac hypertrophy (S: 0.3008 ± 0.0132 ; SC: 0.2673 ± 0.008 ; SJ: 0.2774 ± 0.006 g / cm). It was possible to observe reduction in oxidative stress, demonstrated by the reduction in AOPP values (S: 1.417 ± 0.370 ; SC: 0.519 ± 0.176 ; SJ: 0.487 ± 0.075 mM chloramine T / mg protein) and TBARS (S: 1.65 ± 0.08 ; SC: 1.48 ± 0.02 ; SJ: 1.53 ± 0.02 TBARS / mg protein) when compared to group S, as well as increased activity of antioxidant enzymes SOD (S: 2.00 ± 0.23 ; SC: 4.28 ± 1.77 ; SJ: 16.02 ± 5.66 USOD / mg protein) and Catalase (S: 1.30 ± 0.39 ; SC: 1.70 ± 0.22 ; SJ: 2.50 ± 0.40 ΔE / min / mg protein).

Conclusions: Chronic treatment with juçara has antihypertensive effect in vivo, and the mechanisms associated with the reduction in oxidative stress and also the improvement of arterial baroreflex sensitivity.

Keywords: Antioxidant. Antihypertensive. Fruits. Açai Berry.

1. INTRODUÇÃO

Frutas ricas em compostos bioativos, provenientes do metabolismo secundário das plantas, como polifenóis, terpenóides entre outros, têm sido amplamente estudadas, devido principalmente a sua alta capacidade antioxidante (Samarghandian et al., 2016; da Costa et al., 2017; Cassidy, 2018). Dentre as frutas com esse potencial, destaca-se o açaí proveniente do gênero *Euterpe*, disseminado no Brasil (Barroso et al., 2018). O seu consumo e interesse têm aumentado consideravelmente nos últimos anos devido, principalmente, a sua riqueza energética e nutritiva, e ainda devido aos benefícios proporcionados à saúde por sua elevada atividade antioxidante (da Costa et al., 2017).

Dentre as espécies de açaí, a *Euterpe edulis* Martius (*E. edulis*) é uma palmeira, que possui frutos pequenos, arredondados e de coloração roxo-escuro, em função da presença de pigmentos naturais denominados antocianinas (Barroso et al., 2018). Essa planta é popularmente conhecida como Palmeira-juçara (juçara), jicara ou açaí da Mata Atlântica (Silva e Reis, 2019; Schultz et al., 2016).

Desde a década de 60, a *E. edulis* tornou-se a principal palmeira extraída na Mata Atlântica, graças à produção de palmito, levando sua inclusão na lista de espécies brasileiras em extinção (Schultz et al., 2016). Seus frutos tornam-se então uma opção importante para a preservação da planta pelo aproveitamento da mesma, sem necessidade do corte da palmeira (Oyama, 2016).

O fruto de *E. edulis* tem composição química rica, apresentando antocianinas como componente majoritário (Barroso et al., 2018), mas também é rica em ácidos fenólicos e carotenoides (de Brito et al., 2007). Além desses componentes, a fruta também é rica em fibras, vitamina E, proteínas, minerais e lipídios, sobretudo os ácidos graxos ômega-6 e ômega-9 além de vitamina C (Schultz 2015; Inada et al., 2017).

As antocianinas pertencem à classe de compostos fenólicos naturais denominados flavonóides (Lila et al., 2016). Esta classe de bioativos apresenta enorme potencial farmacológico graças às suas propriedades antioxidantes (Samarghandian et al., 2016) e anti-inflamatórias (Kalt et al., 2017), além de promover benefícios sobre o

sistema cardiovascular (Guerrero et al., 2012), podendo ainda atuar na diminuição dos riscos para doenças cardiovasculares (DCV) (Cassidy et al., 2018).

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de DCV está a Hipertensão Arterial (HA) (Samandian et al., 2016), que é uma doença crônica e multifatorial caracterizada pelo aumento da pressão arterial (PA) em valores iguais ou superiores a 140/90mmHg (Whelton et al., 2018). Entretanto, mesmo com a existência de tratamentos tradicionais e alternativos para a HA (Samandian et al., 2016), dados recentes indicam as DCV como a principal causa de morbidade e mortalidade (OMS, 2017), por se tratar de doenças geralmente incapacitantes que impactam diretamente os custos dos serviços de saúde (Whelton et al., 2018), matando cerca de 17,5 milhões de pessoas por ano no mundo (OMS, 2017).

Um dos fatores associados à patogênese da HA é o estresse oxidativo, pois a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) promove a modulação da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, altera a PA (Guzik e Touyz, 2017; Vale e Tirapelli, 2019). Dentre os fatores afetados pelas ERO, podemos citar a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico, inflamação, desequilíbrio na homeostase, hiperatividade do sistema nervoso simpático e distúrbios do Sistema Renina-Angiotensina (SRA), sendo que, em conjunto, esses fatores podem promover o desenvolvimento da hipertensão (do Vale e Tirapelli, 2019).

O estresse oxidativo é um estado anormal relacionado à fisiopatogênese de diversas doenças (Vale e Tirapelli, 2019). Sabe-se que há formação de radicais livres durante os diversos processos metabólicos no organismo; entretanto, essas espécies são eliminadas por meio de um sistema enzimático e não enzimático antioxidante (Guzik e Touyz, 2017). Esses mecanismos têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de ERO e controlar a ocorrência de danos colaterais (Alqurashi et al, 2016). Algumas enzimas atuam diretamente nesses processos antioxidantes de defesa, como a superóxido dismutase (SOD) e a Catalase (Samarghandian et al., 2017). Essas enzimas irão agir eliminando os radicais livres formados durante o metabolismo.

A regulação da pressão arterial é uma função fisiológica complexa que depende de ações integradas dos sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2016). Destes, o controle neural se dá principalmente pela ativação de reflexos cardiovasculares, como o quimioreflexo, o reflexo cardiopulmonar e o barorreflexo. Desses últimos, o barorreflexo é responsável por controlar a pressão arterial batida a batida e a perda na sua sensibilidade é um marco na hipertensão (Head, 1995).

Diversas terapias medicamentosas são utilizadas para o tratamento da HA e, em geral, o paciente faz uso de vários medicamentos, o que é preocupante, pois a incidência de efeitos adversos é maior (Normand et al., 2019). Dentre as terapias empregadas, aquelas em que o tratamento da HA é associado com inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) levam a uma melhora da sensibilidade do barorreflexo (Mancia et al., 1982; Osterziel et al., 1988).

Sendo assim, o uso de alimentos que possam atuar de modo adjuvante às terapias tradicionais é interessante, pois possibilitam o sinergismo e a ampliação de resultados aos pacientes (Yuan et al., 2016). Estudos prévios demonstraram a ação anti-hipertensiva de flavonóides isolados e de alimentos ricos em flavonóides (Samarghandian et al., 2017; Cassidy 2018).

Em geral, os efeitos positivos são associados à sua atividade vasodilatadora, antioxidante e inibidora da ECA (Kalt, 2017; Cassidy 2018). Sendo assim, o consumo desses frutos pode trazer efeitos benéficos em médio e longo prazo, sendo importante o aumento no número de pesquisas sobre esse assunto (Valli et al., 2018).

Diante do exposto, a hipótese do presente estudo é a de que o tratamento crônico com os frutos promove a redução da PA e melhora a sensibilidade do barorreflexo de ratos espontaneamente hipertensos, por reduzir o estresse oxidativo nesses animais.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito anti-hipertensivo do tratamento crônico com o extrato dos frutos de juçara, seu impacto sobre o barorreflexo e o estresse oxidativo em animais espontaneamente hipertensos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito anti-hipertensivo do tratamento crônico com extrato aquoso dos frutos de *Euterpes edulis* e investigar o impacto sobre o barorreflexo arterial e o sistema redox no coração.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o impacto do tratamento sobre:

- Parâmetros hemodinâmicos: pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC);
- A sensibilidade do barorreflexo arterial;
- A hipertrofia cardíaca; o nível de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e de produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP);
- A atividade das enzimas antioxidantes (SOD e Catalase).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Preparação do extrato

Os frutos de juçara foram coletados na Reserva Biológica Augusto Ruschi, Santa Teresa - ES e cedidos pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural – INCAPER. Os frutos foram congelados a -20°C até o momento do uso. O processo de extração foi realizado manualmente. Para tanto, os frutos maduros foram selecionados, lavados e mantidos em água por 30 minutos (40°C); após esse período, a extração foi realizada utilizando-se 250 mL de água deionizada e a polpa foi então liofilizada e armazenada a -80°C até o momento do uso (EMBRAPA, 2008).

3.2 Animais experimentais

Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos (*Spontaneously Hypertensive Rats* - SHR) machos, com peso variando entre 200-250 gramas e oito semanas de idade. Os animais foram fornecidos pelo Laboratório de Acompanhamento Experimental do Complexo Biopráticas – UVV. Os mesmos foram mantidos em mini-isoladores coletivos, alojados em Rack IVC (Individually Ventilated Caging) Alesco®, com controle de umidade e temperatura, ciclo claro-escuro de 12h e acesso à água e comida *ad libitum* (ração padrão para biotério Probiotério, Moinho Primor, S.A.). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA-UVV) sob o número 447/2017. Todos os experimentos foram realizados conforme preconizado pelo National Institute of Health (Garber et al., 2010).

3.3 Grupos experimentais

Os animais foram separados em três grupos experimentais ($n=6$ cada), a saber: grupo controle hipertenso (S), os animais receberam diariamente água deionizada (via oral – VO) como veículo, em volume semelhante ao utilizado nos tratamentos; grupo controle Captopril (SC), os animais receberam diariamente o fármaco Captopril (30 mg/kg, VO) (Quilley et al., 1987; Kosmala et al., 1992); grupo juçara (SJ), os animais receberam o extrato do fruto de juçara (4,4 mL/kg, VO) (Costa et al., 2012 e da Costa et al., 2017). A dose diária administrada aos animais foi calculada de modo a mimetizar o consumo humano de 150 mL de polpa de açaí por dia, de

acordo com a fórmula do estudo de Reagan-Shaw, Nihal e Ahmad 2016.

Dose em humanos = Dose em animais x Km animal/Km humano

Os animais foram pesados no início (PI) e ao fim (PF) do tratamento de modo a determinar o ganho de peso (Δ Peso). Os tratamentos foram realizados diariamente por 8 semanas (da Costa et al., 2017).

3.4 Avaliação da hemodinâmica basal e da sensibilidade do barorreflexo

Após o período de tratamento, os animais foram anestesiados (Quetamina/ Xilasina, 100/10 mg/kg; via intraperitoneal – IP; Vetnil®; Syntec®), após a anestesia profunda, tiveram a artéria e veia femurais canuladas (Andrade *et al.*, 2008). No mínimo 24 horas após o procedimento de canulação, os animais tiveram a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) basais determinadas conforme Andrade et al., (2008). Em seguida, o barorreflexo arterial foi avaliado e adaptado de acordo com El Mas et al., 2001. A PAM e a FC foram controlados batida a batida nos animais acordados e as variações destes parâmetros avaliados através da aplicação *in bolus* de doses randomizadas de fenilefrina (25, 50, 75 e 100 μ g/kg) e nitroprussiato de sódio (45, 90, 135 e 180 μ g/kg). O coeficiente de regressão (inclinação da curva) expresso como batimentos por minuto/mmHg ($\text{bpm}\cdot\text{mmHg}^{-1}$) foi utilizado como índice de sensibilidade do barorreflexo frente à fenilefrina (BRS_{PE}) e ao nitroprussiato (BRS_{NP}) (El-Mas et al., 2001).

3.5 Coleta de tecidos e avaliação da hipertrofia cardíaca

Após as avaliações hemodinâmicas, os animais foram eutanasiados, o sangue foi coletado por punção cardíaca, acondicionado em tubos sem anticoagulante e centrifugado (3500 rpm; 15 minutos a 4 °C); o soro foi então separado e refrigerado -80 °C até o momento das análises. O coração foi então retirado, limpo, seco e pesado. O peso do órgão, normalizado pelo comprimento da tíbia (g/cm) foi utilizado como parâmetro de hipertrofia. Adicionalmente, o coração foi armazenado em -80 C para a realização das avaliações bioquímicas.

3.6 Quantificação de proteínas

Para a realização de todas as análises posteriores, a proteína no tecido cardíaco foi determinada pelo método de Bradford (Bradford, 1976). Para tanto, o tecido previamente homogeneizado (10 μ L) foi misturado ao reagente de Bradford, em seguida a mistura foi lida em leitor de microplacas em 595 nm (Filter Max F5 Multi-Mode Microplate Readers, Molecular Devices, California, EUA). Todos os resultados subsequentes foram normalizados pela proteína total.

3.7 Determinação dos produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP)

A quantificação dos AOPP foi realizada pela técnica colorimétrica (Witko-Sarsat et al., 1996), na qual o homogenato cardíaco é misturado com Iodeto de Potássio (KI, 1.16M) e ácido acético glacial. Após agitação, a absorbância foi lida em 340 nm. (Filter Max F5 Multi-Mode Microplate Readers, Molecular Devices, California, EUA). A análise quantitativa dos AOPP foi feita por meio da interpolação dos resultados frente a uma curva padrão de cloramina T (100-1000 μ M). Os resultados foram expressos como μ M de cloramina T/mg de proteína.

3.8 Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para a determinação das TBARS, o tecido cardíaco homogeneizado (100 μ L) foi misturado com solução de ácido tiobarbitúrico (200 μ L; TBA), seguida de aquecimento em banho maria a 100°C, por duas horas. Após resfriamento completo das amostras, a absorbância foi lida em 532 nm em leitor de microplacas (Filter Max F5 Multi-Mode Microplate Readers) em 532nm. Para a quantificação dos resultados, a absorbância das amostras foi interpolada em uma curva padrão de malondialdeído (MDA; 0.5-25 μ M). Os resultados foram expressos como μ M de MDA/mg de proteína.

3.9 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi realizada em amostra do coração pelo método de Misra e Fridovich (1972). O meio de reação foi composto de 1,0 ml de tampão de carbonato (0,2 M, pH 10,2), KCl 0,8 ml (0,015M), 0,1 ml de homogenato e água de modo a atingir o volume final de 3,0 ml. A reação foi iniciada pela adição de 0,2 ml de epinefrina (0,025 M). A alteração na absorbância foi registrada em 480 nm em intervalos de 15 segundos durante um

minuto a 25 °C. Os resultados foram expressos como Unidade de SOD/mg de proteína, sendo uma USOD definida como a quantidade de enzima que provoca 50% de inibição da auto-oxidação de epinefrina.

3.10 Atividade da Catalase (CAT)

A determinação da atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada no coração de acordo com o descrito por Aebi (1984) com modificações. A amostra (60µL) foi misturada ao tampão fosfato (3 mL; 0,050 M, pH 7,4) e 40 ul de H₂O₂ (0,066 M). A mudança na absorbância em 240 nm foi registrada a cada 15 segundos durante 1 minuto. Os resultados foram expressos como coeficiente de extinção do peróxido por minuto ($\Delta E \cdot \text{min}/\text{mg}$ proteína).

3.11 Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Os dados tiveram a normalidade determinada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Tendo em vista que todos os resultados se apresentaram normais, os dados foram submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. A significância foi aceita quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Os achados do presente trabalho mostram que o tratamento crônico com a polpa de juçara foi capaz de reduzir a pressão arterial média (SJ) quando comparado ao grupo controle (S), de forma semelhante ao tratamento com o captopril, droga de referência utilizada (SC) (Figura 1). Entretanto, não houve mudança na frequência cardíaca nos animais submetidos ao tratamento.

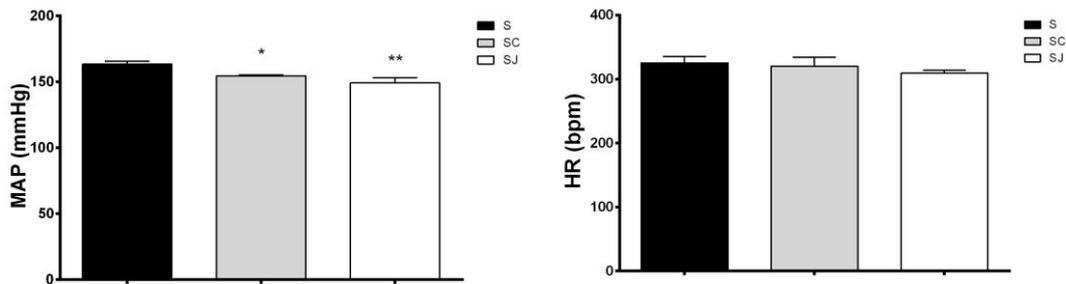


Figura 1. Avaliação do impacto do tratamento com Extrato de juçara sobre a pressão arterial (Painel A) e frequência cardíaca (Painel B), após o tratamento crônico. Observa-se redução da pressão arterial média de modo semelhante ao grupo tratado com a droga padrão (captopril). S: SHR controle; SC: SHR captopril; SJ: SHR juçara. Resultados apresentados como média±erro padrão da média (EPM), avaliados por meio de ANOVA de uma via e submetidos ao teste post hoc de tukey. * $p < 0,05$ comparado ao grupo SHR controle (S). ** $p < 0,01$ comparado ao grupo SHR controle (S).

Ademais, associada à redução da pressão arterial foi observada melhora na sensibilidade no barorreflexo arterial. Observou-se melhora no componente simpático do barorreflexo após o tratamento com juçara, de modo semelhante ao encontrado nos animais tratados com captopril (Figura 2 A), sem, entretanto, observar melhora na sensibilidade no componente parassimpático (Figura 2 B).

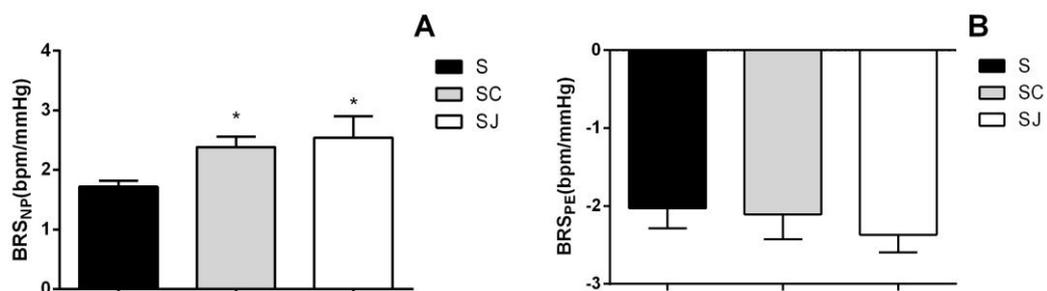


Figura 2. Resultado da avaliação da sensibilidade do barorreflexo após a ativação com nitroprussiato de sódio (Painel A) ou fenilefrina (Painel B) nos animais. Foi possível observar

aumento da sensibilidade do reflexo após o tratamento crônico com juçara de forma semelhante à do grupo tratado com captopril, apenas frente ao nitroprussiato de sódio. S: SHR controle; SC: SHR captopril; SJ: SHR juçara. Resultados apresentados como média±erro padrão da média (EPM), avaliados por meio de ANOVA de uma via e submetidos ao teste post hoc de tukey. * $p < 0,05$ comparado ao grupo SHR controle (S).

O tratamento com o Extrato de juçara foi capaz de reduzir a hipertrofia cardíaca de modo semelhante ao grupo Captopril (Tabela 1). Além do coração, outros órgãos como fígado e rim também tiveram a hipertrofia avaliada. Entretanto, não houve diferenças entre os tratamentos. A análise de ganho de peso demonstra que não existiu diferença entre o ganho de peso nos animais que receberam juçara, Captopril e os que não foram tratados (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados da análise ponderal dos animais SHR tratados cronicamente com extrato aquoso de juçara ou captopril.

Resultados	Grupos		
	S	SC	SJ
Ganho de peso corporal (g)	1,424±0,016	1,391±0,002	1,383±0,011
Peso do fígado/comprimento da tibia (g/cm)	3,093±0,224	3,358±0,176	3,050±0,110
Peso do rim/ comprimento da tibia (g/cm)	0,3244±0,0124	0,3298±0,0123	0,3110±0,0129
Peso do coração/comprimento da tibia (g/cm)	0,3008±0,0132	0,2673±0,008*	0,2774±0,006*

Resultados apresentados como média±erro padrão da média (EPM), avaliados por meio de ANOVA de uma via e submetidos ao teste post hoc de tukey. * $p < 0,05$ comparado ao grupo SHR controle (S).

A hipertensão é frequentemente associada a danos teciduais causados pelo estresse oxidativo. Dessa forma, avaliamos a peroxidação lipídica (TBARS) e a oxidação das proteínas (AOPP). Ambos os tratamentos, com Captopril e juçara, foram capazes de reduzir o TBARS e AOPP formados nos animais SHR (Figura 3 A e B). Esse resultado foi associado a um aumento da atividade das enzimas antioxidantes SOD e Catalase (Figura 3 C e D).

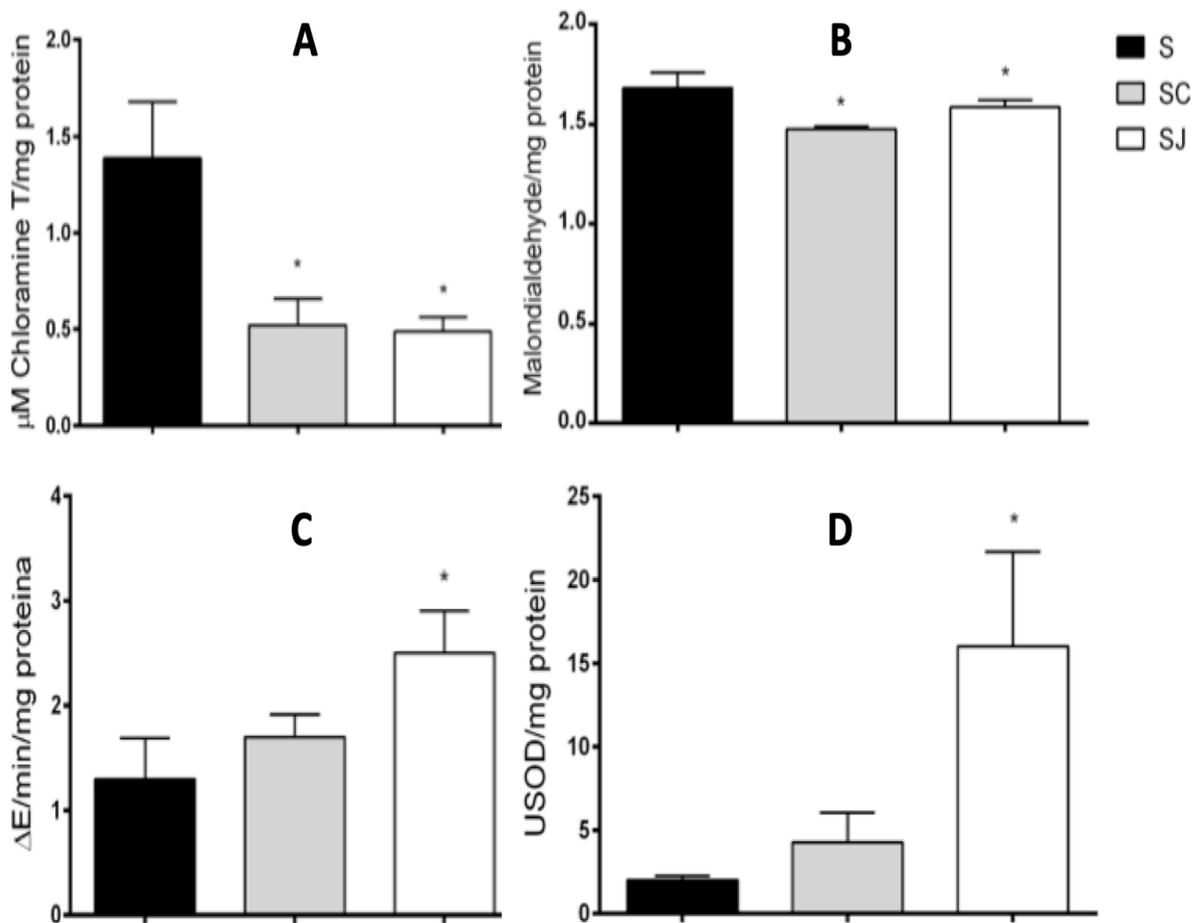


Figura 3. Resultado da análise do estresse oxidativo no tecido cardíaco dos animais SHR tratados com extrato de juçara ou captopril. Painel A: Avaliação dos produtos de oxidação proteica (AOPP). Painel B: Quantificação dos Produtos de peroxidação lipídica (TBARS). Painel C: Atividade da enzima SOD. Painel D: Atividade da enzima catalase S: SHR controle; SC: SHR captopril; SJ: SHR juçara. Resultados apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM), avaliados por meio de ANOVA de uma via e submetidos ao teste post hoc de tukey. * $p < 0,05$ comparado ao grupo SHR controle (S).

5. DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta resultados inéditos da avaliação *in vivo* dos efeitos anti-hipertensivos e prováveis mecanismos envolvidos do extrato de frutos de juçara em ratos SHR. Observa-se que houve redução nos valores de PAM nos animais tratados (SJ) de forma semelhante ao do grupo tratado com captopril, a droga padrão (SC). Em estudo prévio do nosso grupo, utilizando o mesmo extrato do presente trabalho, Barroso et al., 2018, demonstraram a presença de grande quantidade de polifenóis e antocianidinas. Sendo assim, nossos resultados podem ser atribuídos à composição química do fruto, rica em polifenóis, flavonóides e antocianinas (Schultz, 2015; Barroso et al., 2018).

É sabido que o estresse oxidativo pode ser causa e consequência da hipertensão arterial (Fanelli e Zatz, 2011; Guzik e Touyz, 2017; Virdis et al., 2011; Wu et al., 2015). Como mecanismo, pode-se destacar o aumento da biossíntese de ânion superóxido via NADPH oxidase, que ocorre especialmente por ação da Angiotensina II (Ang II), peptídeo vasoativo do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) (Virdis et al., 2011).

A maior síntese do ânion superóxido tem como principal efeito a depleção do óxido nítrico (NO) endotelial, o NO é um importante agente vasodilatador, promovendo assim o controle da resistência vascular periférica, sendo a redução da sua biodisponibilidade relacionada com a hipertensão (Nakazono et al., 1991; do Vale e Tirapelli, 2019). Desse modo pode-se inferir que a maior produção do ânion superóxido, que caracteriza o estresse oxidativo, pode participar da patogênese da hipertensão.

O consumo de produtos naturais ricos em polifenóis, que são conhecidamente antioxidantes, pode ser uma alternativa para o tratamento da hipertensão (Hügel et al., 2016). Nesse sentido, estudos prévios comprovaram que plantas ricas em polifenóis são capazes de reduzir PAM utilizando diferentes modelos animais (Silva et al. 2011, Kukongviriyapan, 2015; Pons, 2017), indicando que essas moléculas possuem efeito antioxidante (Alqurashi, 2016; Kim, 2018; Silva 2017), vasodilatador (Guerrero, 2012; Alqurashi, 2016; Moura, 2016; Freitas et al., 2017) e anti-hipertensivo (Silva, 2011; Dillemburg, 2013; Figueiredo, 2017; Da Costa et al., 2017).

Os polifenóis são, portanto, importantes formas de defesa do organismo frente aos radicais livres, pois possuem em suas estruturas moleculares radicais hidroxilas que previnem ou reduzem o estresse oxidativo (Freitas et al., 2017). Este mecanismo ocorre através do sequestro direto de radicais livres, atividade *scavenger*, eliminação dos precursores dos radicais como o peróxido de hidrogênio, quelação de metais e, ainda, elevação dos antioxidantes endógenos por meio da modulação da atividade de enzimas-chave na defesa antioxidante (Cardoso et al., 2018).

Sendo assim, sugere-se que os efeitos anti-hipertensivos da juçara possam estar relacionados com a presença de polifenóis e antocianidinas em altas concentrações, como demonstrado previamente para o extrato utilizado no presente estudo (Barroso, 2018).

A ação anti-hipertensiva em animais SHR com uso de extrato de plantas do gênero *Euterpe* já foi reportado previamente (Da Costa et al., 2017; Zapata-Sudo et al. 2014). Esses estudos, entretanto, se concentram na espécie *E. Oleracea Mart.*, popularmente chamada de Açaí (Schultz, 2015). Gale et al., (2014) avaliaram o impacto do consumo agudo de Açaí em indivíduos saudáveis e observaram uma redução na pressão arterial sistólica (SBP) após 6 horas do consumo de açaí. Por outro lado, Udani e colaboradores (2011), avaliando o consumo de 100mg de açaí por dia durante quatro semanas, não observaram melhora na pressão arterial. Entretanto, deve-se ressaltar que nenhum estudo foi encontrado avaliando o consumo de extrato de juçara em animais ou humanos hipertensos por mais de 8 semanas.

No estudo realizado por Alqurashi et al. (2016), foi demonstrado que a ingestão aguda de açaí por humanos com sobrepeso não promoveu mudança na pressão arterial ou na FC. No entanto, foi observada melhora na função vascular, e os autores inferem que isso pode diminuir o risco para DCV como a HA. Moura et al., (2016) verificaram a capacidade vasodilatadora do açaí e atribuíram ao aumento de síntese de óxido nítrico (NO) e a fatores relacionados ao endotélio.

Portanto, podemos supor que o efeito anti-hipertensivo da juçara observado no presente estudo, pode ser explicado por uma ação vasodilatadora, gerada pelo

aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico nos vasos, o que levaria à redução da resistência vascular periférica, resultados esses atribuídos à ação antioxidante do extrato.

Adicionalmente à redução da PAM, observou-se melhora na sensibilidade do barorreflexo arterial nos animais tratados com juçara. O barorreflexo é responsável pelo controle da pressão arterial momento a momento, promovendo resposta rápida frente a variações da pressão (Vasquez et al., 1997). Uma das características do barorreflexo é que frente a processos fisiopatológicos como a hipertensão ele se torna menos sensível, processo denominado adaptação (Head, 1995). Aliado a isso, estudos clínicos têm mostrado que a baixa sensibilidade do barorreflexo está relacionada com morte súbita (Wen, 2019), o que torna esse processo ainda mais preocupante. Desse modo, o achado do presente estudo é importante, pois demonstra que a polpa de juçara promove melhora na sensibilidade deste reflexo.

Estudos prévios indicam que a melhora na sensibilidade do reflexo não está presente em todas as drogas anti-hipertensivas (Grassi et al., 2006), sendo observada para as drogas inibidoras da ECA (Mancia, 1982; Sesin, 1996). Estudos prévios mostram que os polifenóis são capazes de inibir a enzima conversora de angiotensina (ECA) (Brasil et al., 2014; Guerrero et al., 2012; Hügel et al., 2016; Al Shukor et al., 2013), havendo demonstração dessa capacidade para as antocianidinas (Ojeda et al., 2010).

Estudos anteriores realizados por da Costa e colaboradores (2017) demonstraram a capacidade anti-hipertensiva após tratamento crônico com o extrato dos frutos (polpa) de juçara em um modelo de hipertensão secundária dependente do sistema renina angiotensina (2K1C). Levando em consideração esses dados, podemos inferir que é possível que a polpa de juçara possa promover a redução na pressão por modular o SRA, que, em conjunto, pode auxiliar no efeito anti-hipertensivo e na melhora da sensibilidade do barorreflexo observada.

Assim, em um tratamento para a hipertensão, cujo controle momento a momento e resposta rápida da PA é função do barorreflexo (Tsai, 2019), a melhora na sensibilidade do mesmo pode determinar grande redução da mortalidade (Whelton, 2018).

Nesse sentido, um alimento à base de juçara possibilitaria uma melhor resposta do sistema barorreflexo e diminuiria os riscos para comorbidades observadas frequentemente em indivíduos com DCV, sendo indicado, portanto, o consumo desse alimento como forma de prevenir a hipertensão, ou ainda, como adjuvante no tratamento da mesma.

Outro resultado encontrado foi que o uso crônico do extrato reverteu a hipertrofia cardíaca nos animais. A hipertrofia cardíaca é uma condição fisiopatológica que pode estar relacionada com o desenvolvimento de comorbidades as DCV como a insuficiência cardíaca (Sesin, 1996; Tsai, 2019). A hipertensão pode contribuir para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca (Mancia, 1982; Whelton, 2018) e, portanto, a redução da PAM pelo tratamento com juçara em animais hipertensos, pode ter contribuído para a causa da redução da hipertrofia cardíaca dos mesmos.

O estudo de Zapato-Sudo et al., (2014) com extrato de Açaí em ratos demonstrou a reversão do aumento da PA, taxa de relaxamento ventricular, hipertrofia cardíaca e fibrose ventricular em ratos submetidos a infarto do miocárdio. Nossos resultados corroboram esses resultados experimentais, indicando que a administração do extrato de juçara pode promover efeito benéfico no retardamento do remodelamento cardíaco. Novamente, vale destacar que esta é a primeira vez que é demonstrado esses resultados para o extrato aquoso de juçara.

Acredita-se que a ativação do sistema nervoso simpático nesses animais é o principal mecanismo que aumenta a resistência vascular periférica fazendo com que haja o desenvolvimento de hipertensão em animais SHR (Okamoto, 1963; Doris, 2017); entretanto, o aumento do estresse oxidativo também é um dos mecanismos envolvidos nesse aumento (Fanelli e Zatz, 2011; Cordeiro, 2018)

As ERRO estão envolvidas na patogênese da HA promovendo induções de vias celulares e modificações estruturais dos seus alvos (Freitas et al., 2017). Alimentos que reduzam a quantidade de ERO no organismo, como a juçara, a partir de mais pesquisas e comprovações, poderiam ser usados como nutracêuticos com finalidade antioxidante e concomitantemente anti-hipertensiva.

O estresse oxidativo reduz a biodisponibilidade de NO (Rush et al., 2007) que contribui para um aumento na expressão da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) (Negish et al., 2007). O uso de antioxidantes já demonstrou ser efetivo na redução da expressão da eNOS, tendo como consequência a redução da PAM em ratos SHR (Vaziri et al., 2000; Cordeiro et al., 2018).

Alguns estudos têm demonstrado que os polifenóis, em ratos SHR, não aumentam a expressão da eNOS, mas reduzem de forma significativa a atividade da NADPH oxidase, favorecendo a redução da pressão arterial e a disfunção endotelial (Rush et al., 2007; Negish et al., 2007).

Nossos resultados demonstram redução do estresse oxidativo indiretamente pela redução nos valores de AOPP e TBARS. Esses resultados podem ser atribuídos ao aumento na atividade das enzimas SOD e Catalase observado no presente estudo. Freitas et al., (2017) observaram aumento da atividade das enzimas SOD e Catalase em animais que receberam dieta de cafeteria e foram tratados com extrato de juçara. Já Castro et al., (2014), utilizando juçara e somando ao seu uso o exercício físico, não obteve resultados em relação aos níveis de enzimas antioxidantes nos grupos observados.

Estudos investigando a capacidade antioxidante do Açaí em animais e também em humanos foram realizados avaliando a atividade das enzimas antioxidantes e os subprodutos do estresse oxidativo (Alqurashi et al., 2016; Cordeiro et al., 2018; Da Costa et al., 2017; Carvalho et al., 2019, Udani et al., 2011; Gale et al., 2014; Caiado et al., 2019). Os resultados, entretanto, são divergentes no tocante à demonstração da real capacidade da fruta de diminuição do estresse oxidativo. Porém, todos concordam que mais estudos são necessários para determinar os mecanismos envolvidos nos efeitos da juçara.

O que se pode inferir é que a capacidade antioxidante da polpa pode ser atribuída à reação direta dos polifenóis aos radicais livres presentes no organismo, ou ainda, por alteração em mecanismos moleculares como a ativação do fator de transcrição eritroide 2 (NRF2), importante via bioquímica responsável pela transcrição de enzimas antioxidantes (Poulose et al., 2017).

Por fim, foi observado que o tratamento com extrato de juçara não altera o ganho de peso corporal e a hipertrofia renal e hepática. A literatura indica perda de peso e alteração hepática como indicativos de intoxicação (Mariz et al., 2012); logo, os dados do presente estudo indicam a segurança no consumo da polpa de juçara.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que o tratamento crônico com a polpa de juçara promove melhora cardiovascular nos animais SHR tratados, levando à redução na pressão arterial média e hipertrofia cardíaca, bem como à melhora na sensibilidade do barorreflexo arterial. Adicionalmente, houve redução nos produtos do estresse oxidativo (AOPP e TBARS) e aumento da atividade das enzimas antioxidantes (SOD e catalase) sem indicativo de toxicidade.

Podemos concluir que o tratamento com juçara é promissor como adjuvante da redução de HA, sendo um dos mecanismos para essa atividade a redução do estresse oxidativo. Porém, necessita-se de mais estudos, a fim de determinar e compreender os mecanismos biológicos envolvidos no consumo deste fruto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL SHUKOR N. , VAN CAMP J., GONZALES G. B., STALJANSSENS D, STRUIJS K, ZOTTI M. J., et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: A study of structure activity relationships. *J Agric Food Chem* 2013;61:11832–9. doi:10.1021/jf404641v.

ALQURASHI R. M., GALANTE L. A., ROWLAND I. R., SPENCER J. P., COMMANE D. M. Consumption of a flavonoid-rich açai meal is associated with acute improvements in vascular function and a reduction in total oxidative status in healthy overweight men. *Am J Clin Nutr.* 2016 Nov;104(5):1227-1235. Epub 2016 Sep 28. PubMed PMID: 27680990

ANDRADE T. U., EWALD B. T., FREITAS P. R., LENZ D., ENDRINGER D. C. (2012). *Pavonia alnifolia* a. St. HILL.: In vivo hypotensive effect and in vitro ACE Inhibitory activity. *Int J Pharm Sci* 4:124–126.

BARROSO MES, OLIVEIRA BG, PIMENTEL EF, PEREIRA PM, RUAS FG, ANDRADE TU, LENZ D, SCHERER R, FRONZA M, VENTURA JA, VAZ BG, KONDRATYUK TP, ROMÃO W, ENDRINGER DC. Phytochemical profile of genotypes of *Euterpe edulis* Martius - Juçara palm fruits. *Food Res Int.* 2019 Feb;116:985-993. doi: 10.1016/j.foodres.2018.09.036. Epub 2018 Sep 13. PubMed PMID: 30717031.

BRASIL GA, RONCHI SN, DO NASCIMENTO AM, DE LIMA EM, ROMÃO W, DA COSTA HB, SCHERER R, VENTURA JA, LENZ D, BISSOLI NS, ENDRINGER DC, DE ANDRADE TU. Antihypertensive effect of *Carica papaya* via a reduction in ACE activity and improved baroreflex. *Planta Med.* 2014 Nov;80(17):1580-7. doi: 10.1055/s-0034-1383122. Epub 2014 Oct 8. PubMed PMID: 25295669.

BRITO ES, DE ARAÚJO MC, ALVES RE, CARKEET C, CLEVIDENCE BA, NOVOTNY JA. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. *J Agric Food Chem.* 2007 Nov 14;55(23):9389-94. Epub 2007 Oct 12. PubMed PMID: 17929888.

CARDOSO A. L., DE LIZ S., RIEGER D. K, FARAH A. C. A, KUNRADI VIEIRA F .G, Altenburg de Assis MA, Di Pietro PF. An Update on the Biological Activities of

Euterpe edulis (Juçara). *Planta Med.* 2018 May;84(8):487-499. doi: 10.1055/s-0044-101624. Epub 2018 Feb 21. Review. PubMed PMID: 29466809.

CASSIDY A. Berry anthocyanin intake and cardiovascular health. *Mol Aspects Med.* 2018 Jun;61:76-82. doi: 10.1016/j.mam.2017.05.002. Epub 2017 May 11. Review. PubMed PMID: 28483533.

COSTA CA, OGNIBENE DT, CORDEIRO VSC, DE BEM GF, SANTOS IB, SOARES RA, DE MELO CUNHA LL, CARVALHO LCRM, DE MOURA RS, RESENDE AC. Effect of *Euterpe oleracea* Mart. Seeds Extract on Chronic Ischemic Renal Injury in Renovascular Hypertensive Rats. *J Med Food.* 2017 Oct;20(10):1002-1010. doi: 10.1089/jmf.2017.0011. Epub 2017 Jun 26. PubMed PMID: 28650699.

COSTA, G. N. S. et al. Desenvolvimento de um iogurte sabor juçai (*Euterpe edulis* Martius): avaliação físico-química e sensorial. *Revista eletrônica TECEN, Vassouras*, v. 5, n. 2, p. 43-58, mai/ago, 2012.

DE BARRIOS FREITAS R, MELATO FA, OLIVEIRA JM, BASTOS DS, CARDOSO RM, LEITE JP, LIMA LM. *Euterpe edulis* effects on cardiac and renal tissues of Wistar rats fed with cafeteria diet. *Nutr Hosp.* 2017 Feb 1;34(1):186-192. doi: 10.20960/nh.996. PubMed PMID: 28244791.

DEL POZO-INSFRAN D, BRENES CH, TALCOTT ST. Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J Agric Food Chem.* 2004 Mar 24;52(6):1539-45. PubMed PMID: 15030208

DILLENBURG DR, MOSTARDA C, MORAES-SILVA IC, FERREIRA D, BÓS DDA S, DUARTE AA, IRIGOYEN MC, RIGATTO K. Resveratrol and grape juice differentially ameliorate cardiovascular autonomic modulation in L-NAME-treated rats. *Auton Neurosci.* 2013 Dec;179(1-2):9-13. doi: 10.1016/j.autneu.2013.06.002. Epub 2013 Jun 28. PubMed PMID: 23810687.

DORIS PA. Genetics of hypertension: an assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat. *Physiol Genomics.* 2017 Nov 1;49(11):601-617. doi: 10.1152/physiolgenomics.00065.2017. Epub 2017 Sep 15. Review. PubMed PMID: 28916635; PubMed Central PMCID: PMC5792135

EL-MAS MM, AFIFY EA, MOHY EL-DIN MM, OMAR AG, SHARABI FM. Testosterone facilitates the baroreceptor control of reflex bradycardia: role of cardiac sympathetic and parasympathetic components. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2001 Nov;38(5):754-63. PubMed PMID: 11602822.

FANELLI C, ZATZ R. Linking oxidative stress, the renin-angiotensin system, and hypertension. *Hypertension* 2011;57:373–4. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.167775.

FIGUEIREDO EA, ALVES NFB, MONTEIRO MMO, CAVALCANTI CO, SILVA TMSD, SILVA TMGD, BRAGA VA, OLIVEIRA EJ. Antioxidant and Antihypertensive Effects of a Chemically Defined Fraction of Syrah Red Wine on Spontaneously Hypertensive Rats. *Nutrients.* 2017 Jun 3;9(6). pii: E574. doi: 10.3390/nu9060574. PubMed PMID: 28587200; PubMed Central PMCID: PMC5490553

FREITAS CARVALHO MM, LAGE NN, DE SOUZA PAULINO AH, PEREIRA RR, DE ALMEIDA LT, DA SILVA TF, DE BRITO MAGALHÃES CL, DE LIMA WG, SILVA ME, PEDROSA ML, DA COSTA GUERRA JF. Effects of açai on oxidative stress, ER stress, and inflammation-related parameters in mice with high fat diet-fed induced NAFLD. *Sci Rep.* 2019 May 30;9(1):8107. doi: 10.1038/s41598-019-44563-y. PubMed PMID: 31147590.

GRASSI G, TREVANO FQ, SERAVALLE G, SCOPELLITI F, MANCIA G. Baroreflex function in hypertension: consequences for antihypertensive therapy. *Prog Cardiovasc Dis.* 2006 May-Jun;48(6):407-15. Review. PubMed PMID: 16714160.

GUERRERO L, CASTILLO J, QUIÑONES M, GARCIA-VALLVÉ S, AROLA L, PUJADAS G, MUGUERZA B. Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by flavonoids: structure-activity relationship studies. *PLoS One.* 2012;7(11):e49493. doi: 10.1371/journal.pone.0049493. Epub 2012 Nov 21. PubMed PMID: 23185345; PubMed Central PMCID: PMC3504033.

GUERRERO L, CASTILLO J, QUIÑONES M, GARCIA-VALLVÉ S, AROLA L, PUJADAS G, et al. Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme Activity by Flavonoids: Structure-Activity Relationship Studies. *PLoS One* 2012;7:1–11. doi:10.1371/journal.pone.0049493.

GUZIK TJ, TOUYZ RM. Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension. *Hypertension*. 2017 Oct;70(4):660-667. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.07802. Epub 2017 Aug 7. Review. PubMed PMID: 28784646.

GUZIK T. J, TOUYZ R. M. Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension. *Hypertension* 2017;70:660–7. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.07802.

HEAD, G, A. Baroreflex and Cardiovascular Regulation in Hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26 (Suppl.:S7–16.

HÜGEL HM, JACKSON N, MAY B, ZHANG AL, XUE CC. Polyphenol protection and treatment of hypertension. *Phytomedicine* 2016;23:220–31. doi:10.1016/j.phymed.2015.12.012.

INADA KOP, DUARTE PA, LAPA J, MIGUEL MAL, MONTEIRO M. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice obtained by steam-extraction: phenolic compound profile, antioxidant capacity, microbiological stability, and sensory acceptability. *J Food Sci Technol*. 2018 Jan;55(1):52-61. doi: 10.1007/s13197-017-2769-3. Epub 2017 Nov 8. PubMed PMID: 29358795; PubMed Central PMCID: PMC5756182.

KALT W, MCDONALD JE, LIU Y, FILLMORE SA. Flavonoid Metabolites in Human Urine during Blueberry Anthocyanin Intake. *J Agric Food Chem*. 2017 Mar 1;65(8):1582-1591. doi: 10.1021/acs.jafc.6b05455. Epub 2017 Feb 17. PubMed PMID: 28150498.

KIM H, SIMBO SY, FANG C, MCALISTER L, ROQUE A, BANERJEE N, TALCOTT ST, ZHAO H, KREIDER RB, MERTENS-TALCOTT SU. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) beverage consumption improves biomarkers for inflammation but not glucose- or lipid-metabolism in individuals with metabolic syndrome in a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Food Funct*. 2018 Jun 20;9(6):3097-3103. doi: 10.1039/c8fo00595h. PubMed PMID: 29850709.

KIM JY, HONG JH, JUNG HK, JEONG YS, CHO KH. Grape skin and loquat leaf extracts and acai puree have potent anti-atherosclerotic and anti-diabetic activity in vitro and in vivo in hypercholesterolemic zebrafish. *Int J Mol Med*. 2012

Sep;30(3):606-14. doi: 10.3892/ijmm.2012.1045. Epub 2012 Jun 28. PubMed PMID: 22751734.

KOIKE H, ITO K, MIYAMOTO M, NISHINO H. Effects of long-term blockade of angiotensin converting enzyme with captopril (SQ14,225) on hemodynamics and circulating blood volume in SHR. *Hypertension*. 1980 May-Jun;2(3):299-303. PubMed PMID: 6248462

KUKONGVIRIYAPAN U, KUKONGVIRIYAPAN V, PANNANGPETCH P, DONPUNHA W, SRIPUI J, SAE-EAW A, BOONLA O. Mamac Pomace Extract Alleviates Hypertension and Oxidative Stress in Nitric Oxide Deficient Rats. *Nutrients*. 2015 Jul 28;7(8):6179-94. doi: 10.3390/nu7085275. PubMed PMID: 26225998; PubMed Central PMCID: PMC4555114

LILA MA, BURTON-FREEMAN B, GRACE M, KALT W. Unraveling Anthocyanin Bioavailability for Human Health. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016;7:375-93. doi: 10.1146/annurev-food-041715-033346. Epub 2016 Jan 11. Review. PubMed PMID: 26772410.

MANCIA G, PARATI G, POMIDOSSI G, GRASSI G, BERTINIERI G, BUCCINO N, FERRARI A, GREGORINI L, RUPOLI L, ZANCHETTI A. Modification of arterial baroreflexes by captopril in essential hypertension. *Am J Cardiol*. 1982 Apr 21;49(6):1415-9. PubMed PMID: 6803560

MOURA RS, RESENDE ÂC. Cardiovascular and Metabolic Effects of Açaí, an Amazon Plant. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2016 Jul;68(1):19-26. doi: 10.1097/FJC.0000000000000347. Review. PubMed PMID: 26657713.

NAKAZONO K, WATANABE N, MATSUNO K, SASAKI J, SATO T, INOUE M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:10045–8.

NEGISH, H.; XU, J. W.; IKEDA, K.; NJEKELA, M.; NARA, Y. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increase in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr*. 2004; 134: 38-42.

NORMAND C, KAYE DM, POVSIC TJ, DICKSTEIN K. Beyond pharmacological treatment: an insight into therapies that target specific aspects of heart failure

pathophysiology. *Lancet*. 2019 Mar 9;393(10175):1045-1055. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32216-5. Review. PubMed PMID: 30860030.

OJEDA D, JIMÉNEZ-FERRER E, ZAMILPA A, HERRERA-ARELLANO A, TORTORIELLO J, ALVAREZ L. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *J Ethnopharmacol*. 2010 Jan 8;127(1):7-10. doi: 10.1016/j.jep.2009.09.059. Epub 2009 Oct 4. PubMed PMID: 19808084.

OKAMOTO K, AOKI K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*. 1963 Mar;27:282-93. PubMed PMID: 13939773

OSTERZIEL KJ, RÖHRIG N, DIETZ R, MANTHEY J, HECHT J, KÜBLER W. Influence of captopril on the arterial baroreceptor reflex in patients with heart failure. *Eur Heart J*. 1988 Oct;9(10):1137-45. PubMed PMID: 3061820

OYAMA LM, SILVA FP, CARNIER J, DE MIRANDA DA, SANTAMARINA AB, RIBEIRO EB, OLLER DO NASCIMENTO CM, DE ROSSO VV. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. *Diabetol Metab Syndr*. 2016 Jan 22;8:8. doi: 10.1186/s13098-015-0122-4. eCollection 2016. PubMed PMID: 26807159; PubMed Central PMCID: PMC4722765.

PATEL P, ORDUNEZ P, DIPETTE D, ESCOBAR MC, HASSELL T, WYSS F, HENNIS A, ASMA S, ANGELL S; por la Red de Prevención y Tratamiento Estandarizado de la Hipertensión Arterial. [Improved Blood Pressure Control to Reduce Cardiovascular Disease Morbidity and Mortality: The Standardized Hypertension Treatment and Prevention Project]. *Rev Panam Salud Publica*. 2017 Jun 8;41:1. Spanish. PubMed PMID: 28614461.

PONS Z, MARGALEF M, BRAVO FI, AROLA-ARNAL A, MUGUERZA B. Chronic administration of grape-seed polyphenols attenuates the development of hypertension and improves other cardiometabolic risk factors associated with the metabolic syndrome in cafeteria diet-fed rats. *Br J Nutr*. 2017 Jan;117(2):200-208. doi: 10.1017/S0007114516004426. Epub 2017 Feb 6. PubMed PMID: 28162106

POULOSE SM, BIELINSKI DF, CAREY A, SCHAUSS AG, SHUKITT-HALE B. Modulation of oxidative stress, inflammation, autophagy and expression of Nrf2 in

hippocampus and frontal cortex of rats fed with açai-enriched diets. *Nutr Neurosci.* 2017 Jun;20(5):305-315. doi: 10.1080/1028415X.2015.1125654. Epub 2016 Jan 11. PubMed PMID: 26750735.

RUSH, J.W.; QUADRILATERO, J.; LEVY, A.S.; FORD, R.J. Chronic resveratrol enhances endothelium-dependent relaxation but does not alter eNOS levels in aorta of spontaneously hypertensive rats. *Exp. Biol.Med.(Maywood).* 2007; 232 (6): 814-22.

SAMADIAN F, DALILI N, JAMALIAN A. Lifestyle Modifications to Prevent and Control Hypertension. *Iran J Kidney Dis.* 2016; 10(5):237-263.

SAMARGHANDIAN S, AZIMI-NEZHAD M, FARKHONDEH T, SAMINI F. Antioxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney. *Biomed Pharmacother.* 2017 Mar;87:223-229. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.105. Epub 2017 Jan 3. PubMed PMID: 28061405.

SAULO R. MARIZ^{*,I}; GILBERTO S. CERQUEIRA^{II}; WASHINGTON C. ARAÚJO^{III}; JADSON G. DANTAS^{III}; JOSUÉ A. RAMALHO^{III}; THAYSE V. PALOMARO^{III}; JOSÉ C. DUARTE^{III}; HOSANA B. DOS SANTOS^{II}; KARDILÂNDIA OLVEIRA^{II}; MARIA SALETE T. DE ARAÚJO^{II}; MARGARETH DE F. F. M. DINIZ^{III} ISAC A. DE MEDEIROS^{III}. Chronic toxicologic study of the ethanolic extract of the aerial parts of *Jatropha gossypifolia* in rats *Rev. bras.farmacogn.* vol.22 no.3 Curitiba May/June 2012 <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000024>.

SCHULZ M, BILUCA FC, GONZAGA LV, BORGES GD, VITALI L, MICKE GA, DE GOIS JS, DE ALMEIDA TS, BORGES DL, MILLER PR, COSTA AC, FETT R. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis Martius*) subjected to in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem.* 2017 Aug 1;228:447-454. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.038. Epub 2017 Feb 10. PubMed PMID: 28317748.

SCHULZ M, DA SILVA CAMPELO BORGES G, GONZAGA LV, OLIVEIRA COSTA AC, FETT R. Juçara fruit (*Euterpe edulis Mart.*): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. *Food Res Int.* 2016 Nov;89(Pt 1):14-26. doi: 10.1016/j.foodres.2016.07.027. Epub 2016 Aug 3. Review. PubMed PMID:

28460899.

SESIN J, TAMARGO J. [Effect of cilazapril, a converting enzyme inhibitor, on cardiovascular hypertrophy in the hypertensive patient]. *Medicina (B Aires)*. 1996;56(1):75-84. Spanish. PubMed PMID: 8734937.

SILVA C. C. V, DE BEM GF, DA COSTA CA, SANTOS IB, DE CARVALHO LCRM, Ognibene DT, da Rocha APM, de Carvalho JJ, de Moura RS, Resende AC. Euterpe oleracea Mart. seed extract protects against renal injury in diabetic and spontaneously hypertensive rats: role of inflammation and oxidative stress. *Eur J Nutr*. 2018 Mar;57(2):817-832. doi: 10.1007/s00394-016-1371-1. Epub 2017 Jan 20. PubMed PMID: 28105508.

SILVA GC, BRAGA FC, LIMA MP, PESQUERO JL, LEMOS VS, CORTES SF. *Hancornia speciosa* Gomes induces hypotensive effect through inhibition of ACE and increase on NO. *J Ethnopharmacol*. 2011 Sep 1;137(1):709-13. doi: 10.1016/j.jep.2011.06.031. Epub 2011 Jul 3. PubMed PMID: 21756990

SILVA JZD, REIS MSD. Consumption of *Euterpe edulis* fruit by wildlife: implications for conservation and management of the Southern Brazilian Atlantic Forest. *An Acad Bras Cienc*. 2019;91(1):e20180537. doi: 10.1590/0001-3765201920180537. Epub 2019 Apr 8. PubMed PMID: 30994770.

TASIĆ T, DJORDJEVIĆ DM, DE LUKA SR, TRBOVICH AM, JAPUNDŽIĆ-ŽIGON N. Static magnetic field reduces blood pressure short-term variability and enhances baro-receptor reflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. *Int J Radiat Biol*. 2017 May;93(5):527-534. doi: 10.1080/09553002.2017.1276307. Epub 2017 Jan 31. PubMed PMID: 28051886.

TSAI WC, LIN HC, LAI YR, HSU CW, HUANG CC, WANG HC, SU CM, SU YJ, LIN WC, CHENG BC, CHANG WN, LU CH, TSAI NW. The Effect of Stroke Subtypes on Baroreceptor Sensitivity, a Predict for Acute Stroke Outcome. *Biomed Res Int*. 2019 Apr 18;2019:7614828. doi: 10.1155/2019/7614828. eCollection 2019. PubMed PMID: 31139650; PubMed Central PMCID: PMC6500628.

UDANI JK, SINGH BB, SINGH VJ, BARRETT ML. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population:

a pilot study. *Nutr J*. 2011 May 12;10:45. doi: 10.1186/1475-2891-10-45. PubMed PMID: 21569436; PubMed Central PMCID: PMC3118329.

VALE GT, TIRAPELLI CR. Are reactive oxygen species important mediators of vascular dysfunction? *Curr Hypertens Rev*. 2019 Apr 16. doi: 10.2174/1573402115666190416153638. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31038067.

VALLI M, RUSSO HM, BOLZANI VS. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *An Acad Bras Cienc*. 2018; 90(1 Suppl 1):763-778.

VASQUEZ EC, MEYRELLES SS, MAUAD H, CABRAL AM. Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: Interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. *Brazilian J Med Biol Res* 1997;30:521–32. doi:10.1590/S0100-879X1997000400014.

VAZIRI, N.D.; NI, Z.; OVEISI, F.; TRNAVSKY-HOBBS, D.L. Effect of antioxidant therapy on blood pressure and NO synthase expression in hypertensive rats. *Hypertension*. 2000; 36: 957-64.

VIRDIS A, DURANTI E, TADDEI S. Oxidative Stress and Vascular Damage in Hypertension: Role of Angiotensin II. *Int J Hypertens* 2011;2011:1–7. doi:10.4061/2011/916310.

WEN X, YU X, HUO R, YAN QX, WU D, FENG Y, LI Y, SUN X, LI XY, SUN J, LI KX, LI QY, HAN LM, LU XL, LIU Y, SHOU W, LI BY. Serotonin-Mediated Cardiac Analgesia via Ah-Type Baroreceptor Activation Contributes to Silent Angina and Asymptomatic Infarction. *Neuroscience*. 2019 Jul 15;411:150-163. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.05.045. Epub 2019 May 31. PubMed PMID: 31153963

WHELTON PK, CAREY RM, ARONOW WS, CASEY DE JR, COLLINS KJ, DENNISON HIMMELFARB C, DEPALMA SM, GIDDING S, JAMERSON KA, JONES DW, MACLAUGHLIN EJ, MUNTNER P, OVBIAGELE B, SMITH SC JR, SPENCER CC, STAFFORD RS, TALER SJ, THOMAS RJ, WILLIAMS KA SR, WILLIAMSON JD, WRIGHT JT JR. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the

Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Hypertension. 2018 Jun;71(6):1269-1324. doi: 10.1161/HYP.000000000000066. Epub 2017 Nov 13. Review. Erratum in: Hypertension. 2018 Jun;71(6):e136-e139. Hypertension. 2018 Sep;72(3):e33. PubMed PMID: 29133354.

WHO, World Health Organization. World health statistics 2017. monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 70, Indicator 2.3: Mortality rate attributed to cardiovascular disease, cancer, diabetes or chronic respiratory disease. 31.

WU J, HARRISON DG, GONGORA MC. Oxidative stress and hypertension. Med Clin North Am 2015;9781447151:621–35. doi:10.1007/978-0-387-72347-1_4.

YUAN H, MA Q, YE L, PIAO G. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. Molecules. 2016 Apr 29;21(5). pii: E559. doi: 10.3390/molecules21050559. Review. PubMed PMID: 27136524; PubMed Central PMCID: PMC6273146.

ZAPATA-SUDO G, DA SILVA JS, PEREIRA SL, SOUZA PJ, DE MOURA RS, SUDO RT. Oral treatment with *Euterpe oleracea* Mart. (açai) extract improves cardiac dysfunction and exercise intolerance in rats subjected to myocardial infarction. BMC Complement Altern Med. 2014 Jul 8;14:227. doi: 10.1186/1472-6882-14-227. PubMed PMID: 25000822; PubMed Central PMCID: PMC4105170

