

O EXTRATO HIDROALCOÓLICO DO CAROÇO DE AÇAÍ (*Euterpe Oleracea Mart.*)  
PREVINE PERDA DE MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS C57B16 IDOSOS

MICHELLE GOMES DA SILVA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO DE (UNIRIO)  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE (CCBS)  
INSTITUTO BIOMÉDICO (IB)  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Rio de Janeiro,

2017.

MICHELLE GOMES DA SILVA

O EXTRATO HIDROALCÓOLICO DO CAROÇO DE AÇAÍ (*Euterpe Oleracea Mart.*)  
PREVINE PERDA DE MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS C57B16

Trabalho de conclusão de curso apresentado como  
exigência para obtenção do grau de Bacharel em  
Biomedicina da Universidade Federal do Estado do Rio  
de Janeiro – UNIRIO.

Orientador(a): Prof. PhD Ana Paula Machado da Rocha  
Co-orientador(a): Prof. PhD Angela de Castro Resende

Rio de Janeiro,  
2017.

**MICHELLE GOMES DA SILVA**  
**O EXTRATO HIDROALCOÓLICO DO CAROÇO DE AÇAÍ (*Euterpe Oleracea* Mart.)**  
**PREVINE A PERDA DE MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS C57Bl/6 IDOSOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como exigência para  
obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina da Universidade  
Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO.

Aprovado em \_\_\_\_\_ de 2017.

**BANCA EXAMINADORA**

\_\_\_\_\_  
Prof. PhD Ana Paula Machado da Rocha - orientadora  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

\_\_\_\_\_  
Prof. PhD Luiz Fernando Rodrigues Junior  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

\_\_\_\_\_  
Msc. Ricardo de Andrade Soares  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

À minha família, aos meus amigos e a todos os animais que participaram desta pesquisa

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço ao Deus do Universo por ser o meu maior e melhor professor. Através Dele aprendi que todos os erros e acertos fazem parte da aprendizagem, que todos os caminhos me levam a realização das minhas metas e independente de qual caminho eu escolher ele sempre estará comigo.

Em segundo lugar agradeço aos meus pais Carlos José e Maria Helena e também ao meu irmão Mateus, pelo apoio e força incondicionais, pelas altas doses de paciência e compreensão nos momentos de estresse e por me lembrar que por maior que sejam as minhas dificuldades elas nunca serão maiores que os meus sonhos. Ao meu companheiro Thomas Pieto por ser minha força, minha inspiração e minha alegria. Por se fazer presente em todos os momentos, mesmo que fisicamente estivéssemos a 10 mil km de distância. A minha segunda família, a Pieto pelo incentivo, compreensão e admiração.

As minhas orientadoras Ana Paula Machado da Rocha e Ângela de Castro Resende pela oportunidade de realização da iniciação científica. Aos meus colegas do estado do Rio de Janeiro, com destaque para Grazielle de Bem, Izabelle Barcelos, Ricardo Andrade e Anicet Okinga por compartilhar comigo seus conhecimentos técnicos. Grande parte do que eu pude reproduzir neste trabalho devo a eles.

As minhas companheiras de estágio da UNIRIO, Cristiane Santino, Jessica Blanco, Letícia Kobayashi, Maria Carolina Lima, Mayra Braga e Rayssa Moraes, que me ajudaram nesses 4 anos de estágio na UERJ e na UNIRIO. Principalmente à Jessica Blanco por nossas longas conversas e por me apresentar um mundo de possibilidades que a nossa graduação oferece.

Meus amigos merecem agradecimento especial. Eles participaram ativamente de toda a minha formação acadêmica, seja me dando apoio emocional, como Patrícia Mori, Carlos Adriano de Oliveira e Cristiane Oliveira que sempre me lembram da minha capacidade de me reinventar para resolver qualquer dificuldade com criatividade. Ao Bruno Duarte e Fernando Cardoso por oferecer ajuda e me explicar pacientemente as matérias de exatas. A Juliana Cardoso que me apresentou à UNIRIO e que graças à ela pude escolher a instituição para realizar a minha graduação e conhecer pessoas maravilhosas que citarei a seguir.

Aos meus amigos da turma 2013.1 Alice Duque, Carole Massolar, Isabela Gomes, Jessica Honorato, Lucas Quintães, Luiza Partenostro, Mayra Braga e Rayssa Moraes, aos nossos queridos agregados da UNIRIO e de outras faculdades Bruno Duarte, Jessica Pacheco, Lucas Cunha, Luciana Santos, Maiara Guedes (que foi adotada pela UNIRIO), Natália Mylonas e Thaynan Lopes e ainda aos nossos calouros Jessica Blanco, Juliana Barbosa e Rodrigo Pimentel. Aos meus colegas biomédicos, biólogos (Andressa Costa, Anikk Rocha e aos companheiros de graduação da Universidade Gama Filho) e cientistas

ambientais (principalmente à Daniela Serfim) que me acompanharam nesta longa jornada acadêmica e que tornaram a experiência das duas graduações mais leve e me acolheram da melhor forma possível e compartilharam comigo matérias, trabalhos em grupo, sentimentos e uma amizade que eu pretendo levar para a vida inteira. A Delson Assis e Eugênio Fábio da Silva que foram as primeiras pessoas que me receberam na UNIRIO e que sempre estão sempre dispostos a ouvir e a oferecer os melhores conselhos.

Dentre as pessoas citadas no parágrafo anterior, merecem meu reconhecimento especial minhas amigas Alice Duque, Jessica Honorato que me fizeram acreditar novamente no valor de uma amizade verdadeira, e que ao longo desses 4 anos de universidade se tornaram as minhas irmãs mais novas. Não há palavras no mundo e em nenhuma língua falada e escrita que seja suficiente para agradecer tudo o que vocês fazem por mim, pelos conselhos, experiências de vida e todos os momentos alegres e tristes que passamos juntas. À Luciana Santos e Natália Mylonas que além da nossa amizade de longos anos me ofereceram seus conhecimentos profissionais me auxiliando nos pormenores técnicos da confecção desta monografia.

E por último porém não menos importante agradeço a cada vida animal que foi disponibilizada para a realização deste projeto, uma vez que sem a presença deles a nossa capacidade de entendimento da neurofisiologia e de qualquer outro processo fisiológico que visa o entendimento da etiologia das doenças seria limitado.

Texto extraído do livro A hora da Estrela de Clarice Lispector

“Esta história será o resultado de uma visão gradual – há dois anos e meio venho aos poucos descobrindo os porquês. É a visão da iminência de. De quê? Quem sabe se mais tarde saberei. Como que estou escrevendo na hora mesma em que sou lido. Só não início pelo fim que justificaria o começo – como a morte parece dizer sobre a vida – porque preciso registrar os fatos antecedentes”.

## RESUMO

O açai é um fruto endêmico da região Amazônica, conhecido devido ao seu alto teor de polifenóis no qual a maioria está presente na semente. Em estudos anteriores foram comprovados diversos efeitos terapêuticos do extrato hidroalcolico do caroço de açai (ASE) que apresenta um potente efeito antioxidante, anti hipertensivo, hipoglicemiantes, nociceptivo e ainda reduz o estresse oxidativo. Todos esses fatores induzem que pode haver uma ação no sistema nervoso central (SNC) e que possivelmente são mediadas via hipotalamo que modula diversas funções fisiológicas e participa de processos de memórias. Pesquisas recentes sugerem que a resistência insulínica promove alterações bioquímicas e fisiológicas que desencadeiam processos demenciais, sendo a principal delas a doença de Alzheimer. Sabendo-se que o ASE apresenta redução significativa da glicemia e resistência insulínica de camundongos C57Bl/6 idosos submetidos à dieta hipercalórica, além de ação no SNC. O objetivo deste trabalho foi compreender o efeito do ASE na memória de camundongos C57Bl/6 idosos submetidos à dieta hipercalórica. Os camundongos C57Bl/6 foram divididos em 6 grupos: Controle (que receberam ração comercial e água *ad libitum*); ASEp (300mg/kg/dia de ASE na água de beber após 6 meses de experimento); ASEt (300mg/kg/dia de ASE na água de beber após 11 meses de experimento); HC (animais que foram tratados com dieta hipercalórica entre 6-9 meses de idade até o desenvolvimento da RI); HC+ASEp (camundongos tratados com dieta hipercalórica e 300mg/kg/dia de ASE na água de beber, 6-9 meses de desenvolvimento da RI); HC+ASEt (animais tratados com dieta hipercalórica 6-9 meses de idade até o desenvolvimento da RI e aos 11 meses iniciaram o tratamento com 300mg/kg/dia de ASE na água de beber por 4 semanas). De 6-12 meses de vida, os animais foram submetidos antes, durante e depois do tratamento com ASE e dieta hipercalórica (ração comercial, amendoim torrado, chocolate e biscoito de Maisena na proporção 3:2:2:1) ao teste de comportamento de Labirinto Aquático de Morris (LAM) para a avaliação da memória e aprendizagem e realizados testes para a mensuração de insulina e, ao final de 10 meses a curva glicêmica. Todos os resultados são apresentados pela média  $\pm$  EPM com a análise de variância One-Way ANOVA e depois realizado o teste t Student não pareado para a avaliação das diferenças entre os grupos. Valores de  $p < 0,05$  serão considerados estatisticamente significantes. O tratamento crônico e preventivo reduziu a glicemia dos camundongos idosos tolerantes à glicose. Os animais que receberam apenas a dieta hipercalórica tiveram um aumento significativo da glicemia. No LAM todos os grupos apresentaram redução significativa no tempo de latência a partir do segundo dia de teste, contudo os animais ASEp e ASEt + HC e ASEt aos 12 meses continuaram com a redução progressiva do tempo de latência. Em relação ao desempenho dos animais no teste de LAM reparou-se que após o tratamento hipercalórico (11 meses), os roedores permaneciam mais tempo no quadrante 1 (Q1) nas fases de treino e mnemônica do LAM, entretanto aos 12 meses essa diferença diminuiu, indicando a perda cognitiva. A idade avançada promoveu um dano cognitivo nos grupos controle e ASEt, porém no grupo HC essa característica não foi intensificada. O ASE não promoveu a redução dos níveis de glicemia de camundongos submetidos à dieta hipercalórica, e tampouco reverteu o dano cognitivo em animais com déficit de memória, entretanto a terapia preventiva com ASE promoveu a manutenção da capacidade cognitiva.

Palavras-chave: C57Bl/6; *Euterpe oleracea Mart.*; Idosos; Memória; Tolerância à glicose



## ABSTRACT

Agal is a fruit endemic to the Amazon region, known for its high content of polyphenols in which most are present in the seed. In previous studies, several therapeutic effects of the hydroalcoholic extract of the agal stone (ASE) have been demonstrated, which has a potent antioxidant, antihypertensive, hypoglycemic and nociceptive effect and also reduces oxidative stress. All these factors induce action in the central nervous system (CNS) and possibly mediated via the hypothalamus that modulates various physiological functions and participates in mnemonic processes. Recent research suggests that insulin resistance promotes biochemical and physiological changes that trigger dementia processes, the main one being Alzheimer's disease. It is known that ASE presents a significant reduction in glycemia and insulin resistance in elderly C57Bl/6 mice submitted to a hypercaloric diet, in addition to CNS action. The objective of this work was to understand the effect of ASE on the memory of elderly C57Bl/6 mice submitted to the hypercaloric diet. The C57Bl/6 mice were divided into 6 control groups (who received commercial ration and water ad libitum); ASEp (300mg / kg / day of ASE in drinking water after 6 months of experiment); ASEt (300mg / kg / day of ASE in drinking water after 11 months of experiment); HC (animals that were treated with a hypercaloric diet between 6-9 months of age until the development of IR); HC + ASEp (mice treated with hypercaloric diet and 300mg / kg / day of ASE in drinking water, 6-9 months of age until development of IR); HC + ASEt (animals treated with hypercaloric diet 6-9 months of age until the development of IR and at 11 months started treatment with 300mg / kg / day of ASE in drinking water for 4 weeks). From 6 to 12 months of age, the animals were submitted before, during and after treatment with ASE and hypercaloric diet (commercial ration, roasted peanut, chocolate and 3: 2: 1 ratio Maisena biscuit) to the behavior test of Morris Aquatic Labyrinth (LAM) for the evaluation of memory and learning and performed tests for the measurement of insulin and at the end of 10 months the glycemic curve. All results are presented by the mean  $\pm$  SEM with the One-Way ANOVA variance analysis and then the unpaired Student t-test was performed to evaluate the differences between the groups. Values of  $p < 0.05$  will be considered statistically significant. Chronic and preventive treatment reduced glycemia in elderly glucose tolerant mice. Animals that received only the hypercaloric diet had a significant increase in blood glucose. In the LAM, all the groups presented a significant reduction in the latency time from the second day of the test, however the animals ASEp and HC + ASEp and ASEt at 12 months continued with the progressive reduction of the latency time. Regarding the performance of the animals in the LAM test, it was noticed that after the hypercaloric treatment (11 months), the rodents remained longer in the quadrant 1 (Q1) in the training and mnemonic phases of the LAM, however at 12 months this difference decreases, indicating cognitive loss. Advanced age promoted cognitive impairment in the control and ASEt groups, but in the HC group this characteristic was not intensified. The ASE did not promote the reduction of the glycemia levels of mice submitted to the hypercaloric diet, nor did it reverse the cognitive damage in animals with memory deficit, however the preventive therapy with ASE promoted the maintenance of the cognitive capacity.

Keywords: Elderly; *Euterpe oleracea Mart.*; Memory; C57Bl/6; Glucose Tolerance.

## RÉSUMÉ

L'Agai est un fruit endémique de la région amazonienne, connu pour sa teneur élevée en polyphénols, ceux-ci fortement présents dans la graine. Dans des études précédentes, nous avons démontré divers effets thérapeutiques de l'extrait hydroalcoolique du noyau d'Agai (ASE) qui a un puissant effet antioxydant, antihypertenseur, hypoglycémiant, nociceptif et réduit également le stress oxydatif. Tous ces facteurs peuvent engendrer une action sur le système nerveux central (SNC) et peuvent être arbitrés par l'hypothalamus qui commande plusieurs fonctions physiologiques et participe aux processus mnémoniques. Des recherches récentes montrent que la résistance à l'insuline favorise les changements biochimiques et physiologiques, lesquels déclenchent les processus de la démence dont la principale maladie est l'Alzheimer. Sachant que l'ASE présente une réduction significative de la résistance à l'insuline des souris âgées C57BL/6 soumises au régime hypercalorique, en plus de l'action du système nerveux central. L'objectif de cette étude vise à comprendre l'effet de l'ASE sur la mémoire de souris C57BL/6 en âge avancé soumises à un régime hypercalorique. Les souris C57BL/6 ont été divisées en 6 groupes: le groupe Contrôle (qui a reçu une ration alimentaire commerciale et de l'eau *ad libitum*); le groupe ASEp (a reçu 300 mg / kg / jour d'ASE dans l'eau potable après 6 mois d'âge); le groupe ASEt (a reçu 300 mg / kg / jour d'ASE dans l'eau potable après 11 mois d'âge); le groupe HC (souris âgées de 6 à 9 mois et traitées avec un régime hypercalorique jusqu'au développement de la RI); le groupe HC + ASEt (souris âgées entre 6 et 9 mois et nourries avec un régime hypercalorique jusqu'au développement de la RI et à partir de 11 mois nourries avec le traitement avec ASE 300 mg / kg / jour dans l'eau potable pendant 4 semaines). Les souris âgées entre 6 et 12 mois ont été soumises, pendant et après le traitement ASE et régime hypercalorique (ration alimentaire, les arachides grillées, chocolat et biscuits de féculé de maïs dans la proportion 3: 2: 2: 1), aux tests comportementaux LAM (Labyrinth Aquatique de Morris). Ces tests ont pour but l'évaluation de la mémoire et de l'apprentissage mais servent à mesurer non seulement l'insuline mais également la courbe glycémique au bout de 10 mois. Tous les résultats sont présentés par la moyenne  $\pm$  SEM avec l'analyse de la variance ANOVA à un facteur. Puis le test t de Student non paramétrique a été effectué pour évaluer les différences entre les groupes. Les valeurs de  $p < 0,05$  seront considérées comme statistiquement significatives. Le traitement chronique et préventif a réduit la glycémie des souris âgées résistantes au glucose. Les animaux qui ont reçu seulement le régime hypercalorique ont eu une augmentation significative de la glycémie. Pendant le test LAM, tous les groupes ont montré une réduction significative du temps de retard dès la deuxième journée d'essais. Toutefois les souris ASEp, HC + ASEp et ASEt sat à 12 mois ont continué de montrer une réduction progressive du temps de latence. En ce qui concerne la performance des animaux test LAM, nous avons observé, après le traitement hypercalorique (11 mois), que les rongeurs ont passé plus de temps dans le quadrant 1 (Q1) du LAM de phase de formation et mnémothèque. Cependant, à 12 mois cette tendance diminue, indiquant une perte cognitive. L'âge avancé des souris a favorisé la déficience cognitive dans les groupes Contrôle et ASEt. Mais dans le groupe HC, cette caractéristique n'a pas été intensifiée. L'ASE n'a pas favorisé la réduction du taux de glycémie chez des souris soumises à un régime alimentaire riche en calories, ni inversé la déficience cognitive chez les animaux avec troubles de mémoire. En revanche, le traitement préventif ASE a facilité le maintien de la capacité cognitive.

Mots-clés: C57BL/6; *Euterpe oleracea* Mart.; Mémoire; Résistance à l'insuline; Souris âgées; Tolérance au glucose

## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

ACH - Acetilcolina

AMPC - Monofosfato cíclico de adenosina

ASE – do inglês “Agat Stone Extract”, designação utilizada para o extrato hidroalcolico do carogo de agat

ASEp - Animais que receberam a terapia preventiva com o extrato hidroalcolico de agat

ASEt - Animais que receberam o tratamento com o extrato hidroalcolico de agat

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro

CREB - do inglês “cAMP response element binding protein”, proteína de ligação a elemento de resposta de cAMP

CTE - Cadeia de transporte de elétrons

C57Bl/6 - do inglês “C57”black 6” são camundongos black derivados da linhagem C57

DA – Doença de Alzheimer

HC - animais que receberam dieta hipercalórica

HC + ASEp - animais que receberam dieta hipercalórica e a dieta preventiva

HC + ASEt - animais que receberam dieta hipercalórica e o tratamento com o extrato hidroalcolico de agat

ERK - do inglês “extracellular signal-regulated kinases”, quinases reguladas por sinal extracelular

EROS - Espécies reativas de oxigênio

IRS-1 - Substrato do receptor de insulina 1

IRS-2 - Substrato do receptor de insulina 2

IRS-3 - Substrato do receptor de insulina 3

LAM - Labirinto Aquático de Morris

MDA - Malondialdeído

NMDA - N-metil D-aspartato

OMS - Organização Mundial da Saúde

PAI-1 - Inibidor-1 do ativador de plasminogênio

RI - Resistência insulínica

SHR - do inglês "Spontaneously hypertensive rats", ratos espontaneamente hipertensos

SNC - Sistema nervoso central

UERJ - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

UNIRIO - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Diferença entre as palmeiras de *E. precatória* e *E. oleracea* (página 19)
- Figura 2** – Comparação entre o cérebro saudável e os danos causados pela DA leve e a DA severa (página 27).
- Figura 3** – Diferenças entre o neurônio saudável e um neurônio com DA (página 27).
- Figura 4** – Representação do efeito neuroprotetor da insulina através da fotografia de neurônios (página 32).
- Figura 5** – Representação gráfica do início e do objetivo do teste de Labirinto Aquático de Morris (LAM) e a discriminação de seus quadrantes (página 42)
- Figura 6** – Gráfico representativo do peso dos animais por tempo de tratamento (página 45)
- Figura 7** – Teste de tolerância à glicose dos diferentes grupos experimentais aos 11 meses de idade (página 47).
- Figura 8** – Efeito do ASE sobre a glicemia dos camundongos C57Bl/6 (página 48).
- Figura 9** – Efeito do ASE sobre a glicemia dos camundongos C57Bl/6 (página 49).
- Figura 10** – Avaliação do tempo de latência de cada grupo no Labirinto Aquático de Morris e de acordo com a idade (página 50).
- Figura 11** – Avaliação do tempo de latência dos animais em Labirinto Aquático de Morris dos 12 meses de idade (página 51).

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

- Quadro 1** – Estimativa do número total dos casos de demência por faixa etária e região do mundo (página 23)
- Quadro 2** – Peso (g) dos camundongos C57Bl/6 e o consumo de ração (g/dia) avaliado em diferentes idades (página 46).
- Tabela 1** – Tipo de doenças neurodegenerativas e suas origens (página 24)
- Tabela 2** – Exemplos de alimentos com ação neuroprotetora que combatem o estresse oxidativo e a RI (página 33).
- Tabela 3** – Tabela nutricional da composição química da ração comercial para animais de laboratório Nuvlab CR1<sup>®</sup> da empresa Quimtia (página 40).
- Tabela 4** – Tabela nutricional da ração hipercalórica (HC) utilizada que teve como base a ração comercial Nuvlab CR1<sup>®</sup> da empresa Quimtia (página 41)

## SUMÁRIO

18	<b>I. INTRODUÇÃO</b>
18	1.1 Açai
20	1.1.1 Potencialidades terapêuticas do Açai
22	1.2. Demência
25	1.2.1 Doença de Alzheimer (DA)
29	1.3. Diabetes e a resistência insulínica
31	1.3.1. Os efeitos da RI no sistema nervoso central (SNC)
37	<b>II. OBJETIVO GERAL</b>
37	II.1 Objetivos específicos
38	<b>III. METODOLOGIA</b>
38	III.1. Obtenção do extrato hidroalcolólico de semente de açai.
39	III.2 Animais
40	III.3 Dieta
41	III.4 Labirinto Aquático de Morris (LAM)
43	III.5 Análises bioquímicas
43	III.5.1 Determinação da glicemia em jejum
43	III.5.2 Análise da glicose plasmática e da tolerância à glicose
44	III.6 Análise estatística
45	<b>IV. RESULTADOS</b>
45	IV.1 Acompanhamento do peso dos animais
46	IV.2 Análise da Tolerância à glicose
47	IV.3 Efeito do ASE sobre a glicemia
48	IV.4 Desempenho dos camundongos C57Bl/6 nos quadrantes do teste de Labirinto Aquático de Morris (LAM)
52	<b>V. DISCUSSÃO</b>
58	<b>VI. CONCLUSÃO</b>
59	<b>VII. BIBLIOGRAFIA</b>

## I. INTRODUÇÃO

### 1.1 Agai

O agai-do-Pará, ou simplesmente agai (*Euterpe oleracea* Mart.), é um fruto endêmico da Bacia Amazônica proveniente da região do Amapá, Maranhão, Pará e Tocantins (CALZAVARA, 1972; BALICK, 1986; CAVALCANTE, 1991) e também de países que fazem fronteira com o Brasil, como Colômbia, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Venezuela (CALZAVARA, 1972; CAVALCANTE, 1991). De forte apelo popular no Brasil - destaque para a região Norte - o agai é comercializado e pode ser encontrado de diversas formas: sucos, polpas congeladas, sorvetes, cremes e mingau. Entretanto, de acordo com Townsend *et al.*, 2001, seu consumo mais conhecido é o do vinho do agai. Outro fato que podemos destacar é o uso da palmeira como ornamentação.

A distribuição das plantas da Família Arecaceae (antiga Palmaeae) ocorre por todo o planeta (exceto na Antártida), porém sua maior prevalência é nas regiões tropical e subtropical. A família engloba cerca de 200 gêneros e 2600 espécies (CALZAVARA, 1972). O gênero *Euterpe* contém 28 espécies localizadas na região Centro-Sul das Américas e com distribuição por toda a Bacia Amazônica. O nome do gênero é em homenagem a uma deusa grega, que significa "elegância da floresta", que menciona a beleza da palmeira.

As espécies do gênero que são mais frequentes no Brasil são: *Euterpe edulis*, *Euterpe oleracea* (a primeira a ser descrita do gênero) e *Euterpe precatoria*, porém somente as duas últimas apresentam algumas semelhanças, tais como os seus frutos são utilizados para consumo e fins comerciais (FELSSNER, 2016). A *E. precatoria*, popularmente conhecida por agai-do-Amazonas, é uma palmeira monocaula (TOWNSEND *et al.*, 2001), de altura de 15 a 35 m e 12 a 20 cm de diâmetro, distribuída entre os planaltos e planícies da bacia amazônica, sendo usualmente encontrada, principalmente na Amazônia Ocidental e no sul do Equador (YAMAGUCHI *et al.*, 2015).



Já as do gênero *E. olracea* Mart. são palmeiras multicaules, nas quais os troncos adultos podem medir de 3 a 20m de altura e 12 a 18 cm de diâmetro (TOWNSEND *et al.*, 2001) com até 25 colmos por touceira (HENDERSON, 1995). Normalmente são encontradas em densas concentrações, geralmente em áreas de várzea e em solos de floresta alagada, incluindo rios e montanhas do estuário do Rio Amazonas (ODENDAAL & SCHAUSS, 2014) nos estados supracitados.

Diferente da maioria das frutas tropicais, que contém mesocarpo carnoso e sabor marcante, o açai possui um fruto com pouca polpa e gosto insípido, sendo consumido apenas após seu processamento. A presença de antocianinas nele deixa a boca, gengivas e dentes com um aspecto púrpuro. Segundo de Oliveira *et al* (2000), a extração é geralmente realizada de forma mecânica manual ou por intermédios de equipamentos despolpadores, com adição de água.

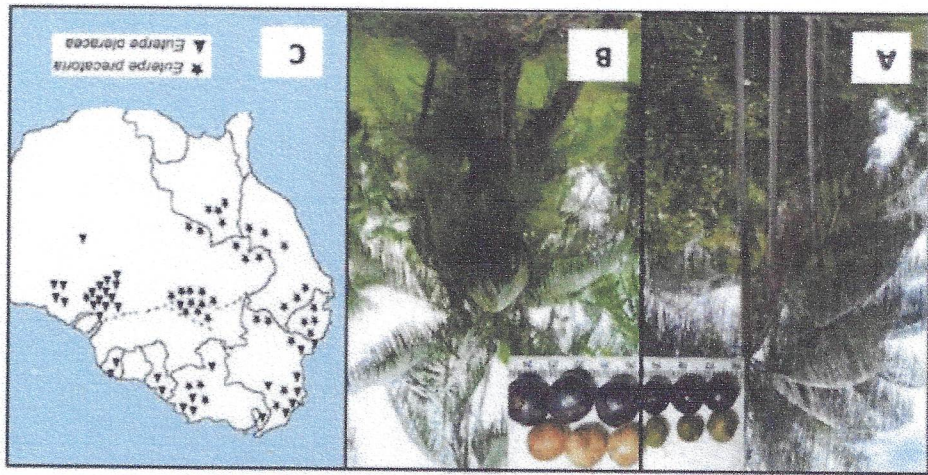


Figura 1. As diferenças entre as palmeiras de (a) *E. precatória* e (b) *E. olracea* e (c) disposição botânica das duas espécies no continente Sul-Americano. (YAMAGUCHI *et al.*, 2015).

Segundo Yamaguchi (2015) existe uma diversidade de estudos que relatam a atividade biológica e farmacológica entre as espécies de *Euterpe*, embora na maioria dos trabalhos não seja feita distinção entre as mesmas, e, quando a fazem, se limitam apenas às propriedades da polpa e/ou da casca e ao açai-do-Pará. Em relação aos metabólitos encontrados no fruto,

a *E. oleracea* é conhecida por sua grande quantidade de compostos fenólicos, antocianinas e flavonóides (HEINRICH *et al.*, 2011). Essas substâncias possuem uma alta capacidade antioxidante em ensaios *in vitro*, sobretudo contra as espécies reativas de oxigênio (superóxido, peróxido e hidróxido) podendo prevenir uma série de doenças (SCHAUSS; JENSEN; WU, 2010). Tais propriedades fazem com que exista diferentes estudos na indústria alimentar, cosmética e farmacêutica sobre o fruto (YAMAGUCHI, 2015).

#### 1.1.1 Potencialidades terapêuticas do Açaí

O açaí é um dos alimentos funcionais mais populares no mundo inteiro devido a quantidade de substâncias bioativas presentes em seu fruto (FELSNER, 2016). De acordo com Yamaguchi (2015), cerca de 90 substâncias já foram descritas na planta, incluindo flavonóides (31%), lignóides (11%), antocianinas (9%), outros compostos fenólicos (23%) e ainda quinonas, ácidos graxos, norisoprenóides e terpenos. Todavia, os compostos químicos de maior predominância são os derivados de antocianinas e protocianinas (ODENDAAAL & SCHAUSS, 2014).

A maioria dos estudos sobre a *Euterpe oleracea* Mart., são realizados através do extrato hidroalcoólico da polpa e da casca do açaí, já sendo comprovado a atividade anti proliferativa de células tumorais C6 do cérebro (HOGAN *et al.*, 2010), atenua a carcinogênese de cólon induzida por dimetilhidrazina (FRAGOSO *et al.*, 2013), possui atividade antioxidante no cerebelo e hipocampo (MACHADO, 2014). Foi constatado também que o extrato da polpa possui efeito neuroprotetor contra a exposição a  $\beta$ -amilóide em ensaios *in vitro* (WONG *et al.*, 2013) e que a suplementação dietética com a polpa de açaí melhora a cognição de ratos idosos, atenuando a sinalização inflamatória das células da glia (CAREY *et al.*, 2015) e o efeito previne déficits eletrofisiológicos e estresse oxidativo induzidos por metilmercúrio na retina de ratos Wistar (BRASIL *et al.*, 2016).

Há uma década, os cientistas brasileiros descobriram que a semente do agai possui uma quantidade maior de compostos fitoterápicos comparados ao fruto e a casca (ROCHA *et al.*, 2008; ODENDAAL & SCHAUSS, 2014). No extrato hidroalcoólico da semente do agai (ASE, do inglês *agai stone extract*) foram encontrados em maior quantidade oligômeros de proantocianidina (cianidina-3-O-rutinoside e cianidina-3-O-glucuronide), ácido protocatecúico, ácido dihidroxibenzoico fenólico e (-) epicatequina (RODRIGUES *et al.*, 2006; SCHAUSS *et al.*, 2006; KANG *et al.*, 2010).

Além desta propriedade o ASE pode atuar como anti-hipertensivo (ROCHA *et al.*, 2008), vasodilatador dependente do endotélio (ROCHA *et al.*, 2008), hipolipemiante (DE OLIVEIRA, 2015), protetor contra o enfisema pulmonar em ratos expostos à fumaça de cigarro (MOURA *et al.*, 2013), proteção da obesidade induzida pela dieta e da esteatose hepática em camundongos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2015) e tratamento contra a endometriose (MACHADO *et al.*, 2016). Recentemente, verificou-se que o ASE apresenta uma ação antinociceptiva (SUDO *et al.*, 2015) em camundongos submetidos à dor neuropática, através de uma modulação central, aparentemente a partir de receptores opióides, muscarínicos e adrenérgicos.

Devido à ampla ação do extrato hidroalcoólico de semente de agai, cogitou-se que a ampla gama de ações do ASE poderia ser decorrente, em parte, de uma ação no sistema nervoso central. Assim, pesquisas recentes puderam observar que o ASE possui ação ansiolítica, antidepressiva e uma possível ação sobre o ganho cognitivo em ratos Wistar (OKINGA *et al.*, 2015, no prelo). No entanto, mais testes em modelos experimentais de demência fazem-se necessário a fim de comprovar se o ASE tem ação efetiva no ganho cognitivo.

## 1.2. Demência

A demência é uma síndrome de causa multifatorial, que se refere a um conjunto de sinais e sintomas que causam a deteriorização mnemônica, redução do raciocínio e alteração do comportamento, levando a capacidade de limitação das atividades diárias até a invalidez (OMS, 2017), causada perda e a destruição das células cerebrais (KANDEL, 2013) e cujo principal fator de risco é a idade avançada.

Há um conjunto de sintomas que caracterizam a demência, como o prejuízo na memória (amnésia), déficits de linguagem (afasia), de reconhecimento (agnosia), ou de função executiva, tais como memória de trabalho e resolução de problemas. Ainda podem ocorrer alterações na personalidade do indivíduo, muitas vezes antes do prejuízo da memória (STAHL, 2014).

Dentre os diversos sintomas apresentados na demência, podemos destacar que a síndrome prejudica diretamente dois deles, necessários à adaptação e sobrevivência dos indivíduos no meio ambiente, que são o aprendizado e memória. Através do aprendizado o indivíduo obtém novas informações através da experiência e através da memória essas informações podem ser armazenadas para o entendimento e planejamento de experiências futuras. Fisiologicamente, este sistema envolve a formação de novos neurônios e conexões entre eles, que são chamadas de sinapses. A transmissão de informações de um neurônio a outro ocorre por meio de neurotransmissores como a acetilcolina (ACh), glutamato, dopamina, serotonina e ácido gama-aminobutírico (GABA). Atualmente sabemos que mesmo que o mecanismo das doenças neurodegenerativas não seja totalmente esclarecido, os neurotransmissores supracitados são parte importante do processo (BUENO, 2009; GUYTON & HALL, 2006 ; IZQUERDO, 1989; PETRUZZIO, 2001; STAHL, 2014).

Em relação à epidemiologia, a cada três segundos é diagnosticado um novo caso de demência (OMS, 2017) e por este motivo é caracterizada como uma patologia global, que atinge todos os continentes do planeta e acomete 47,47 milhões da população, sendo que em sua maioria (63%) são pessoas que habitam em países subdesenvolvidos (OMS, 2015), já que com o envelhecimento da população mundial, a síndrome é considerada um problema de saúde pública, com um custo anual de 818 bilhões de dólares/ano (OMS, 2017)..

De acordo com o relatório feito em 2015 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a população de idosos deve dobrar até o ano de 2050, podendo chegar a 2,1 bilhões de pessoas. Com a expansão gradual deste segmento da população, uma das principais consequências dessa mudança na pirâmide populacional é que ela afeta diretamente os sistemas de saúde pública (CHARCHAT-FICHMAN *et al.*, 2005), uma vez que com a chegada da terceira idade, aumenta a propensão a desenvolver doenças cardiovasculares, osteoporose, artrite, diabetes (SILVA *et al.*, 2005) e demências. Segundo o relatório da OMS (2015) em 2030 serão 75,63 milhões de pessoas com demência e, em 2050, 135,46 milhões de pessoas (Quadro 1).

Quadro 1. Estimativa do número total de casos de demência por faixa etária e região do mundo - valores em milhões de pessoas (OMS, 2015).

Região	Grupo etário (anos)						Total
	60-64	65-69	70-74	75-79	80-84	85-89	
Ásia	0,39	0,48	0,62	0,72	0,66	0,44	3,56
Europa	0,13	0,18	0,32	0,43	0,54	0,44	2,34
Américas	0,20	0,13	0,17	0,21	0,25	0,23	1,25
África	0,07	0,09	0,10	0,11	0,09	0,04	0,53
Total	0,69	0,88	1,22	1,46	1,54	1,15	7,68

As demências neurodegenerativas (Tabela 1) são aquelas com capacidade irreversível de recuperação ou ganho de memória e atualmente esses males possuem tratamentos que podem reduzir a progressão da doença, porém não há cura, como a doença de Alzheimer (DA), demência de corpúsculos de Lewy, demência frontotemporal, doença de Huntington, doença de Creutzfeldt-Jakob.

Tabela 1. Tipos de doenças neurodegenerativas e suas origens (STAHL, 2014 - modificado).

Demência	Características clínicas	Patologia
Doença de Alzheimer	Déficit de memória Ataxia Agnosia Apraxia	amiloide/tau
Demência com corpúsculos de Lewy	Déficit de memória Atenção flutuante Sinais extrapiramidais Psicose	Sinucleína
Demência frontotemporal	Déficit de memória, Transtornos da fala/linguagem Desinibição Hiporalidade	Tau
Doença de Huntington	Déficit de memória Distúrgo executiva Coreia	Repetição de trinucleotídeos
Doença de Creutzfeldt-Jakob	Déficit de memória Ataxia Mioclonias Distúrgos de linguagem	Associada à prions

No entanto, apesar das doenças neurodegenerativas apresentarem várias causas, a doença de Alzheimer (DA) é a que apresenta maior prevalência. Segundo STAHL (2014), por deficiência de tratamentos mais avançados, a DA apresenta crescimento exponencial, atingindo 1 em cada 85 pessoas no mundo. Estima-se que em 2006 0,4% da população mundial

18,62% em 2030. Esses dados afetam diretamente o Sistema Único de Saúde, que embora não tenha um número exato da quantidade de pessoas com demências no país informou que para o principal tipo de demência neurodegenerativa, a DA, foram gerados 38,13 milhões de atendimentos em 2015 além do fornecimento de medicamentos como galantamina, donepezila e rivastigmina, segundo uma publicação da Associação Brasileira de Alzheimer (ABRAZ, 2016).

## 1.2.1 Doença de Alzheimer (DA)

A DA foi descoberta em 1906 pelo médico psiquiatra alemão Alois Alzheimer e envolve um conjunto de alterações neurológicas, progressivas, degenerativas de forma lenta e irreversível. Sua etiologia ainda é desconhecida, embora já se saiba que pode ter predisposição genética e que também pode ser influenciada por complicações fisiopatológicas provenientes de uma dieta inadequada durante a vida (GALLUCCI NETO *et al.*, 2005; STAHL, 2013).

De acordo com a OMS (2017) todas as demências neurodegenerativas, a AD é a mais importante uma vez que abrange cerca de 60-80% de todas as demências. Seus sintomas são divididos em três estágios, que podem sofrer alterações de acordo com o paciente e o grau de desenvolvimento da doença.

O estágio inicial pode durar de dois a quatro anos e uma fase assintomática na qual inicialmente há um prejuízo nos neurônios colinérgicos do sistema límbico e hipocampo, que afetam diretamente os processos de

codificação (transformação da memória de curto prazo em memória de longo prazo). O paciente tem dificuldade de aquisição de novas habilidades e perda de memória recente que evolui lentamente para a perda de outras funções cognitivas (julgamento, raciocínio abstrato, habilidade visual e espacial e cálculo).

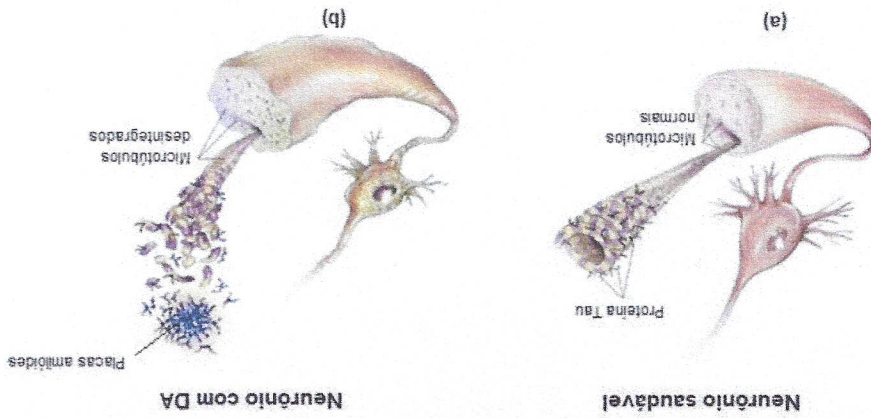
No estágio intermediário há uma destruição significativa dos neurônios do sistema límbico e do hipocampo e o indivíduo passa a apresentar prejuízos na memória de curto prazo, quadros de déficit de linguagem e a dificuldade de execução de movimentos e gestos precisos (apraxia). Com a progressão da doença, é observado o início diminuição nos níveis de acetilcolina (ACh) em regiões responsáveis pelo armazenamento da memória de longo prazo como o lobo temporal, amígdala e hipotálamo.

No estágio terminal, a neurodegeneração já atinge uma grande porção do sistema límbico e com a diminuição dramática dos níveis de ACh observados na fase anterior, atingem os neurônios colinérgicos em toda área do cérebro. O indivíduo não possui mais memória a longo prazo, não reconhece mais as pessoas a sua volta, há modificações no ciclo de sono-vigília; mudanças comportamentais na qual ocorre quadros de agressividade e irritabilidade; sintomas psicóticos e incapacidade física que gradativamente leva o paciente a óbito (GALLUCCI NETO *et al.*, 2005; KANDEL *et al.*, 2013; PALLAS & CAMINS, 2006).

Toda essa evolução da doença decorre de uma perda de neurônios e sinapses nas áreas subcorticais do córtex cerebral. Estudos publicados por Wenk (2013), BRAAK e Del Tredici (2012) demonstraram que a consequência dessa perda de células e ligações sinápticas, inicia a atrofia e degeneração do lobo temporal, lobo parietal, partes do lobo frontal, do giro cíngulo, do tronco cerebral, cerebelo (Figura 2).

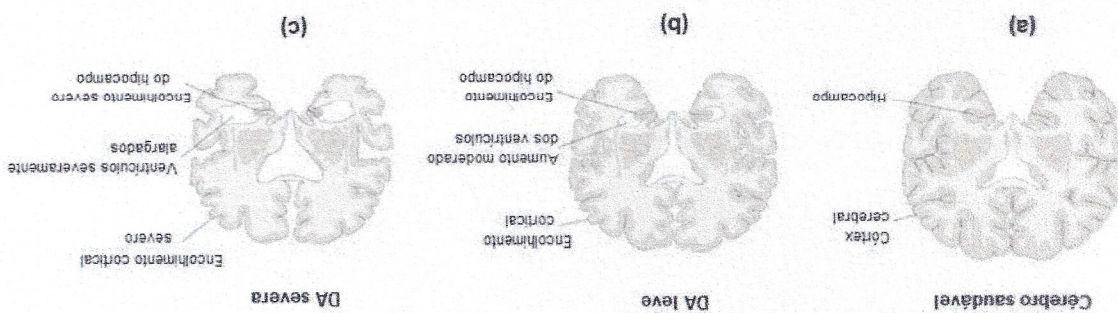


**Figura 3. Diferenças entre o neurônio saudável e um neurônio com DA.** Representação de um neurônio saudável, com a proteína tau envelhecida e microtúbulos normais (a) e um neurônio com DA (b). As placas amiloides observadas e os noveles de proteína tau nos microtúbulos desintegrados (Bright Focus Foundation, 2015 - modificado)



TIRABOSCHI *et al.*, 2004 demonstrou que a partir de cérebro de pessoas com Alzheimer é possível observar placas amiloides, como noveles neurofibrilares no microscópio. Depósitos densos e praticamente insolúveis de peptídeos beta amiloides e material celular, as placas são observadas no exterior e ao redor dos neurônios. Já os noveles são agregados de proteína tau associado aos microtúbulos hiperfosforilados acumulados no interior da célula (Figura 3). Em função do acúmulo no cérebro de placas de proteínas beta-amiloides e tau de envelhecimento anômalo (HASHIMOTO *et al.*, 2003), a doença de Alzheimer é uma proteopatia<sup>1</sup>;

**Figura 2. Comparação entre o cérebro saudável e os danos causados pela DA leve e a DA severa.** Uma das anormalidades da DA é caracterizada pelo encolhimento do córtex cerebral e do hipocampo. Na imagem acima, há uma comparação entre o cérebro saudável (a); DA severa (b) e DA severa (c) e suas alterações (Bright Focus Foundation, 2015 - modificado).



Além disso, na doença de Alzheimer, existem diversos processos inflamatórios que podem ser decorrentes da lesão do tecido ou uma resposta imunitária (GREIG *et al.*, 2004) bem como alterações na distribuição de diferentes fatores neurotróficos e na expressão de receptores, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), responsável pela neuroplasticidade<sup>2</sup> (TAPIA-ARANCIBIA *et al.*, 2008; SCHINDOWSKI *et al.*, 2008). Também se sabe que o beta-amiloide se acumula nas mitocôndrias das células de cérebros de pacientes com Alzheimer, inibindo determinadas funções enzimáticas e a utilização de glicose pelos neurônios (CHEN e YAN, 2006).

Atualmente são usados cinco medicamentos no tratamento dos problemas cognitivos de Alzheimer: quatro são inibidores da acetilcolinesterase (tacrina, rivastigmina, galantamina e donepezila), sendo o outro um antagonista dos receptores de glutamato - NMDA (memantina). Os inibidores da acetilcolinesterase, impedem a degradação da ACh, promovendo uma melhora cognitiva leve, uma vez que a ACh está envolvida na formação de memórias a longo prazo. A memantina é um antagonista dos receptores de NMDA e é bastante eficaz nos casos de DA moderada e grave (STANDAERT & YOUNG, 2005).

No entanto, os benefícios da sua utilização são pouco significativos, já que esses medicamentos não bloqueia a morte dos neurônios, apenas impedem por um determinado período de tempo o declínio da cognição (DE FELICE *et al.*, 2009). Dependendo do estágio da doença, além dos medicamentos utilizados para retardar a progressão, são também administrados medicamentos antidepressivos, antipsicóticos e ansiolíticos, com a finalidade de retardar os outros sintomas provocados pela doença. Todavia, ainda não há cura para a DA (BRUTON, 2015).

Uma alternativa, ainda não testada em seres humanos, porém já tem pesquisas com camundongos é a utilização de células tronco pluripotentes, que

<sup>2</sup> Capacidade de formação para novas sinapses cerebrais.

vêm obtendo resultados positivos, porém ainda não há a implementação de uma técnica que consiga reproduzir a terapia celular com segurança e eficácia (SUH & RA, 2012).

Estudos recentes têm demonstrado que a resistência à insulina tem papel prejudicial importante sobre a memória (LOURENÇO *et al.*, 2013; DE FELICE, 2015). Aparentemente, o aumento da resistência à insulina no Sistema Nervoso Central (SNC) é capaz de aumentar o estresse oxidativo, favorecendo a formação de agregados proteicos que favorecem a lise celular, principalmente das células do hipocampo, sendo um importante fator no desenvolvimento do mal de Alzheimer (CRAFT *et al.*, 2013).

### 1.3. Diabetes e a resistência insulínica

A insulina é um hormônio que atua em receptores de membrana específicos, atuando no transporte da glicose até o meio intracelular, viabilizando a nutrição e a geração de energia. A resistência insulínica (RI) é caracterizada por uma condição metabólica anormal que bloqueia este processo de nutrição celular pela ausência de glicose e os níveis dessa substância circulante na corrente sanguínea aumentam, uma vez que o carboidrato não consegue entrar na célula. Consequentemente esta condição ativa a síntese de enzimas glicolíticas que, em alta concentração suscitam o aparecimento do estresse oxidativo, alterações no metabolismo encefálico (GUIMARÃES & LAZARETTI, 2017).

Devido a estes fatores, a RI é indicada na literatura científica como um fator pró oxidativo, considerando o grande número de disfunções metabólicas associadas a ela, como doença hepática gordurosa não alcoólica, síndrome dos ovários policísticos, hiperuricemia, doença renal crônica, insuficiência cardíaca, alterações cognitivas e câncer (CARVALHEIRA & SAAD, 2006). Quando além desses fatores o indivíduo portador de RI é obeso, os danos

citados anteriormente são ainda mais severos (GUMARRÃES & LAZARETTI, 2017).

Podem apresentar RI indivíduos portadores de diabetes tipo 2, diabetes tipo 1 descontrolada, cetoadicidose diabética, obesidade e em pessoas com idade avançada. Pacientes não diabéticos podem também apresentar a RI devido a mudanças metabólicas/cardiovasculares como hipertiglicidemia, hipertensão arterial, doença vascular aterosclerótica, intolerância a carboidratos, obesidade centripeta, redução nos níveis de colesterol HDL, hiperuricemia e aumento do inibidor-1 do ativador de plasminogênio (PAI-1). Essas alterações da RI leva o metabolismo a uma condição conhecida como síndrome da resistência insulínica ou síndrome metabólica (GELONEZE & TAMBASCA, 2006), que atualmente é considerado a maior causa de morbidade e mortalidade no mundo (DE OLIVEIRA, 2010).

A alteração da dieta humana que podem acarretar na RI podem ser induzidas pelo próprio sujeito através da dieta. Desde o período pré-histórico até o consumo exacerbado de gorduras e açúcares dos dias atuais podem ter contribuído para o desenvolvimento das doenças citadas anteriormente, devido ao consumo de alimentos pobres em antioxidantes (GOTTLIEB; MORASSUTTI; CRUZ, 2011). Para entender melhor esta patologia, modelos experimentais com animais são utilizados para mimetizar as doenças causadas por uma dieta desequilibrada (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006), visando a compreensão da fisiopatologia da resistência insulínica e o seu tratamento. Os animais utilizados para esta finalidade possuem genes de sinalização da leptina homólogos aos genes humanos (ZHANG *et al*, 1994).

Os fatores importantes para a detecção da RI e obesidade em animais são a alteração da resposta à leptina, uma vez que nessas condições fisiopatológicas há uma diminuição na produção do hormônio e/ou alterações em seus receptores; modificações no receptor da insulina (delegação ou alteração da transdução nos receptores IRS-1, IRS-2 e IRS-3) promove a exacerbção de peptídeos anorexígenos ou a diminuição da ação desses

peptídeos no hipotálamo que ocorrem em camundongos C57Bl/6. Para a indução da RI e da obesidade, os animais são tratados com uma ou mais dessas condições: dieta rica em frutose, dieta hipercalórica, excesso de glicocorticóides ou lesão hipotalâmica induzida por monoglutamato de sódio em animais recém-nascidos (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006).

### 1.3.1. Os efeitos da RI no sistema nervoso central (SNC)

A maior parte das células absorve e metaboliza uma diversidade de açúcares para a produção de energia ou para reservar na forma de glicogênio. Entretanto as células do cérebro de vertebrados apresentam uma condição especial, uma vez que são completamente dependentes de glicose e, as outras substâncias necessárias à sua sobrevivência, são adicionadas através da barreira hematoencefálica que transpassa pequenos íons e moléculas, já que as junções apertadas das células endoteliais impedem a passagem de grandes moléculas. Para garantir a produção de energia para outras atividades metabólicas os neurônios ainda reservam a glicose na forma de glicogênio, elevando ainda mais a dependência da glicose circulante e o oxigênio para o metabolismo aeróbico (SHEPHERD, 1994).

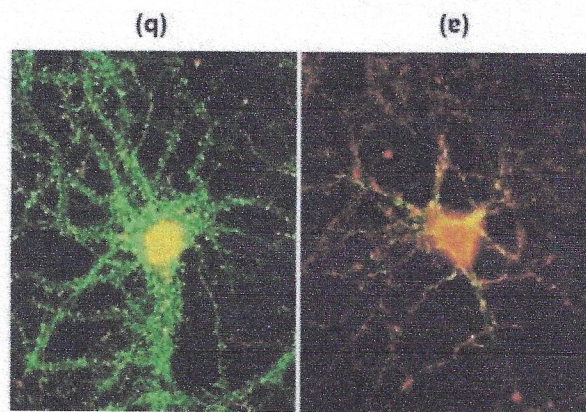
Devido a esta condição, Husain *et al.*, 2011 comprovaram que as altas taxas de glicose derivadas do *diabetes mellitus* esta associado a alterações no sistema monoaminérgico cerebral tanto em ratos como em humanos. Quando esta patologia é induzida em ratos existe um bloqueio significativo nas funções serotoninérgicas em várias partes do cérebro. Essas mudanças também ocorrem na depressão induzindo que pode ocorrer uma relação entre o *diabetes* e a depressão no nível do sistema monoaminérgico cerebral (ALVES, 2014).

Ainda Lourenço *et al.*, 2013 e de Felice *et al.*, 2015 observaram que o diabetes mellitus do tipo II pode facilitar o desenvolvimento da demência, uma vez que a RI exerce danos significativos à memória. Em uma pesquisa anterior,

Em outro estudo observou-se que a Metformina que é utilizada como um sensibilizador da insulina é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, regulando o mecanismo de controle do apetite através da redução dos níveis de leptina e, consequentemente causando a redução de peso, além do efeito

transmissão sináptica neuronal (DE FELICE *et al*, 2014) .  
 tanto em humanos quanto em animais a administração de insulina prejudica a **desempenho** da memória em ratos e quando aplicado via spray nasal em humanos aumenta a concentração destes pacientes, contudo a longo prazo (2004) **comprovou** que a insulina injetada no cérebro intraventricular melhora o diabéticos **podem** utilizá-lo. Nos experimentos com animais, Zhao *et al* (2004) **administrou** o medicamento via nasal para que os pacientes não insulina já que o hormônio reduz os níveis de açúcares no sangue. Benedict *et al* (2004) **foi** justamente o tratamento com primeira opção de Stockhorst *et al*. (2004) **foi** justamente o tratamento com dessensibilização e normalizar as funções neuronais (HÖLSCHER, 2014). A para o tratamento da diabetes, com a perspectiva de se reverter a Esses achados instigaram estudos com fármacos utilizados inicialmente

Figura 4. **Efeito protetor da insulina em neurônios.** Sem insulina (a) os aglomerados de peptídeos (em vermelho) se ligam e eliminam as sinapses (em verde). Com insulina (b) esses aglomerados desaparecem e o neurônio preserva sinapses ativas (DE FELICE *et al*, 2009).



de Felice *et al*, 2009, verificaram que a insulina em níveis normais protege os neurônios da ação de aglomerados de peptídeos, impedindo assim a indução da morte celular (Figura 4).

inibitório do complexo mitocondrial na cadeia de transporte de elétrons (CTE), responsável pela produção de EROs (PORTELA, 2014).

Estudos recentes apostam na utilização de polifenóis, uma vez que essas substâncias derivadas de compostos naturais podem diminuir a resistência insulínica, têm ação antiinflamatória e ainda reduzem os radicais livres, prevenindo o estresse oxidativo (Tabela 2). Há uma diversidade de alimentos com efeitos antioxidantes que possuem o potencial de modular a estrutura e função do cérebro (Tabela 2), uma vez que mesmo composto apenas 2% do peso corporal, este órgão consome 20% da energia total derivada do consumo de nutriente (PHILLIPS, 2017).

Tabela 2. Exemplos de alimentos ricos em polifenóis com ação neuroprotetora e que combatem o estresse oxidativo e a RI.

Alimentos	Artigos	Referência
Curcuma	Efeito do extrato etanólico de curcuma longa ( <i>Curcuma longa</i> L.) sobre a atividade da enzima histona desacetilase no processo de envelhecimento cerebral Poder antioxidante da curcuma ( <i>Curcuma longa</i> L.)	DOS SANTOS SANT'ANNA, 2013 BARANKEVICZ, 2015
Mitílio	Modulação da plasticidade do hipocampo e do comportamento cognitivo por suplementação de mitílio ( <i>Vaccinium myrtillus</i> ) a curto prazo em ratos idosos	CASADESUS, 2004
Roma	Agão anti-diabética do extrato de flor de <i>Punica granatum</i> : ativação de PPAR-γ e identificação de um componente ativo	HUANG et al, 2005
	Resíduos de roma ( <i>Punica granatum</i> ) na	

MORZELLE et al, 2012	prevenção da doença de Alzheimer	MORZELLE et al, 2016	Efeito neuroprotetor da casca da romã ( <i>Punica granatum</i> )
DE OLIVEIRA et al, 2010	Efeitos de um extrato obtido a partir de frutos de <i>Euterpe oleracea</i> Mart. nos componentes da síndrome metabólica induzida em ratos C57BL / 6J alimentados com uma dieta rica em gordura.	DE OLIVEIRA et al, 2013	O extrato de baga do Açaí ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart.) exerce efeitos neuroprotetores contra a exposição ao amiloide in vitro
DE OLIVEIRA et al, 2015	Polifenóis derivados de <i>Euterpe oleracea</i> Mart. protegem os ratos da obesidade induzida pela dieta e do fígado gordo, regulando a lipogênese hepática e a excreção de colesterol.	DE OLIVEIRA et al, 2016	A suplementação dietética com as polpas de açaí ricas em polifenóis ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart e <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) Melhora a cognição em ratos idosos e atenua a sinalização inflamatória em células microgliais BV-2
SOKOLOV et al, 2013	Chocolate e cérebro: impacto neurobiológico de flavonóides de cacau ( <i>Theobroma cacao</i> ) na cognição e no comportamento	WANG et al., 2014	Os extratos de cacau ( <i>Theobroma cacao</i> ) reduzem a oligomerização da $\beta$ amiloide: implicações para a melhora cognitiva da doença de Alzheimer
GARCIA et al, 2017	Suplementação com chá verde ( <i>Camellia sinensis</i> ) tem efeito neuroprotetor-antioxidante em um modelo da doença de Alzheimer		
SENGER et al., 2010	Chá verde ( <i>Camellia sinensis</i> ) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não-transmissíveis		
TEIXEIRA, 2008	Efeito do extrato da casca de uva ( <i>Vitis vinifera</i> ) (ACH 09) na hiperglicemia e no		



Alguns autores sugerem que os polifenóis aumentam a neurogênese do hipocampo no indivíduo adulto mediado por BDNF (ZAINUDDIN; THURET, 2012). Outros estudos observaram que o tratamento com flavonóides melhoram quadros de depressão (CHANG *et al.*, 2016) (KHALID *et al.*, 2007) e a memória espacial em ratos idosos mediado pelo fator de transcrição CREB (elemento de ligação à proteína responsivo ao AMFc) e produção de BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) no hipocampo (WILLIAMS *et al.*, 2008). A cúrcuma utilizada como tempero, possui um alto teor de compostos fenólicos não flavonóides e em altas concentrações é citotóxica, porém em baixas concentrações promove plasticidade cerebral em ratos, diminuindo sintomas de depressão e aumentando a memória de trabalho espacial em ratos, por meio da ativação de CREB, BDNF e ainda ativam quinases reguladas por sinal

<p>ALEZANDRO, 2013</p>	<p>Jabuticaba (<i>Myrciaria jaboticaba</i>) uma uva-brasileira melhora o perfil lipídico plasmático no estresse oxidativo mediado por estreptozotocina em ratos diabéticos</p>	<p>Jabuticaba</p>
<p>LEITE <i>et al.</i>, 2010</p>	<p>Avaliação da capacidade antioxidante "in vivo" e "in vitro" de antocianinas na casca de jabuticaba (<i>Myrciaria jaboticaba</i>) liofilizada em ratos Wistar</p>	<p>Jabuticaba</p>
<p>FARIAS MARENGO <i>et al.</i>, 2009</p>	<p>Determinação dos processos envolvidos na atividade analgésica das folhas de <i>Aristolochia chilensis</i> em um modelo de dor térmico agudo</p>	<p>Maqui</p>
<p>TORRES ROSAS <i>et al.</i>, 2007</p>	<p>Avaliação das atividades analgésicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas das folhas de <i>Aristolochia chilensis</i> e de susceptíveis de efeitos tóxicos</p>	<p>Maqui</p>
<p>HARADA <i>et al.</i>, 2011</p>	<p>sistema de sinalização de insulina em camundongos diabéticos</p> <p>O resveratrol melhora a função cognitiva de camundongos, aumentando a produção de fator de crescimento semelhante à insulina I no hipocampo</p>	<p>Maqui</p>

extracelular (ERKs) e quinase p38 que são envolvidos na resposta ao estresse e plasticidade neuronal (LEE *et al.*, 2013)

Frete aos possíveis benefícios dos polifenóis à memória, a nossa hipótese é de que o ASE em função de seus múltiplos efeitos no sistema cardiovascular, no esforço físico, bem como sua ação na fome e na saciedade, sugere que o extrato pode ter alguma atuação no Sistema Nervoso Central. Trabalho recente devolvido por Sudo e colaboradores (2015) comprovou que o ASE apresenta uma importante ação antinociceptiva em modelos de camundongos para dor neuropática, com eficácia similar amitriptilina. Seu mecanismo de ação ainda não está claro, mas sofrer modulação opióide, catecolaminérgico e o óxido nítrico.

Somando-se a ação do ASE sobre a resistência insulínica pode desempenhar um papel importante na memória, uma vez que estudo recente demonstrou que a resistência à insulina tem papel importante na demência (Lourenço *et al.*, 2013). Estudo desenvolvido por Wong e colaboradores (2013), demonstrou que o suco de açaí apresenta importante efeito neuroprotetor contra a exposição a  $\beta$ -amiloide *in vitro*.

## II. OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho é avaliar o efeito do ASE na memória de camundongos C57Bl/6 em idade avançada e submetidos à dieta hipercalórica.

### II.1 Objetivos específicos

- ✓ Aferir o efeito do ASE sobre a glicemia;
- ✓ Avaliar se a RI afeta a memória de camundongos insulino-resistentes;
- ✓ Analisar se o ASE favorece o ganho de memória de camundongos insulino-resistentes em idade avançada que já apresentam dano cognitivo;
- ✓ Determinar o desempenho da memória e da aprendizagem de camundongos insulino-resistentes em idade avançada.

### III. METODOLOGIA

#### III.1. Obtenção do extrato hidroalcolico de semente de agai.

Os frutos maduros de *Euterpe oleracea* Mart. foram obtidos do Belém do Pará fornecidos pelo nosso colaborador Prof. Pergentino José Cunha de Souza da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará. Para manter as propriedades do fruto e evitar o apodrecimento, o produto é congelado em freezer comum (-20°C) até minutos antes de sua utilização.

O extrato hidroalcolico de semente de agai (ASE) é obtido através do processo de decocção de aproximadamente 200g de agai, descrito por Rocha *et al.*, 2007. As sementes são separadas do epicarpo e mesocarpo de forma manual, na qual perde metade de seu peso inicial e posteriormente são trituradas. Após esse processo, o triturado do semente é fervido durante 5 min com 300 mL de água destilada e deixado resfriar, onde é extraído com 300 mL de etanol absoluto (v/v) durante 10 dias. A seguir o extrato hidroalcolico é filtrado a vácuo (filtro de papel Whatman n°1) e a fase líquida é evaporada sob baixa pressão e a 55°C em um rotavapor (Fisatom Equipamentos Científicos Ltda São Paulo, Brasil), para a extração do etanol e posteriormente liofilizado (LIOTOP modelo 202, Fisatom Equipamentos Científicos Ltda São Paulo, Brasil) a temperaturas de -30° a -40°C sob vácuo a 200 mmHg. O liofilizado foi mantido em recipiente protegido da luz e do calor até o dia do uso, quando foi diluído na água de beber ofertada aos animais.

Uma vez obtido o liofilizado o quantitativo de polifenóis total foi medido através de método colorimétrico descrito por Singleton & Rossi (1975). Em balão volumétrico de 20 mL, adicionaram-se 2 mL de amostra diluída (1:10), 10 mL de reagente de Folin Ciocalteu diluído 1:9) e 8 mL de  $\text{Ca}_2\text{CO}_3$  a 75%. Após, foi deixado em banho-maria a 50°C, por 5 minutos. Em seguida, foram tomadas leituras a 765 nm em espectrofotômetro UV/VIS. Para quantificação foi empregada uma curva padrão com solução de ácido gálico nas seguintes

concentrações: 50, 100, 150, 250 e 500 mg/L. Foi calculado um coeficiente de correlação ( $R^2$ ), resultando  $R^2=0,9978$  ao nível de significância de 5%. O teor de polifenóis totais foi expresso em mg equivalente de Ácido Gálico (EAG)/L.

### III.2 Animais

Todas as experiências foram aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (CEUA/001/2016).

Os animais foram mantidos, a temperatura de 20° - 25°C, mantendo o ciclo de claro/escuro de 12h, além de água *ad libitum* e eram ofertadas a todos os grupos 300g de ração. O consumo de água e ração era mensurado 3 vezes/semana.

Aos 3 meses de idade, os animais foram divididos em 6 grupos. Ao completarem 6 meses de idade foram submetidos ao teste de comportamento labirinto aquático de Morris e posteriormente denominados, conforme apresentado abaixo:

**Grupo controle (C)** - 10 camundongos C57Bl/6 que receberam apenas água *ad libitum* e ração comercial comum;

**Grupo ASEP** - 10 camundongos C57Bl/6 que receberam 300 mg/kg/dia de ASE via água de beber, a partir 6 meses de idade;

**Grupo ASET** - 10 camundongos C57Bl/6 que receberam 300 mg/kg/dia de ASE via água de beber após 11 meses de idade;

A dieta de cafeteria tem como base a ração comercial supracitada e ainda chocolate ao leite, amendoim e biscoito de maisena, na proporção (3:2:2:1), contendo um valor calórico de aproximadamente 47710 kcal/kg (ver tabela 4) (MONTEIRO TERRA *et al.*, 2017). Os ingredientes eram triturados e

Nutrientes	Referência (%)
Proteínas	22,0
Carboidratos	45,5
Gorduras	4,0
Energia Bruta (Kcal/kg)	3060

Tabela 3. Tabela nutricional da composição química da ração comercial para animais de laboratório Nuvilab CR-1<sup>®</sup> da empresa Quimtia utilizada para este experimento (NUVILAB, 2017).

Em relação à dieta, os animais controle consumiam ração comercial para animais de laboratório Nuvilab CR-1<sup>®</sup> da empresa Quimtia (ver tabela 3) e animais que consumiam dieta de cafeteria.

### III. 3 Dieta

**Grupo HC + ASET** - 10 camundongos C57Bl6 que foram tratados com dieta hipercalórica até o desenvolvimento da RI. Após esse período (aos 11 meses) foi iniciado o tratamento com 300 mg/kg/dia de ASE por 4 semanas.

**Grupo HC + ASEP** - 10 camundongos C57Bl6 que foram tratados com dieta hipercalórica e 300 mg/kg/dia de ASE via água de beber, a partir dos 6 meses de idade;

**Grupo HC** - 10 camundongos C57Bl6 que foram tratados com dieta hipercalórica a partir de 6 meses de idade, até o desenvolvimento da resistência insulínica (RI);

misturados com um pouco de água (o suficiente para umedecer e dar forma) e depois eram deixados em uma estufa para secar.

**Tabela 4. Tabela nutricional da ração hipercalórica (HC) que teve como base a ração Nuvilab CR-1<sup>®</sup> da empresa Quimtia**

<b>Nutrientes</b>	<b>Referência (%)</b>
Proteínas	16,6
Carboidratos	45,2
Gorduras	25,5
Energia Bruta (Kcal/kg)	47710

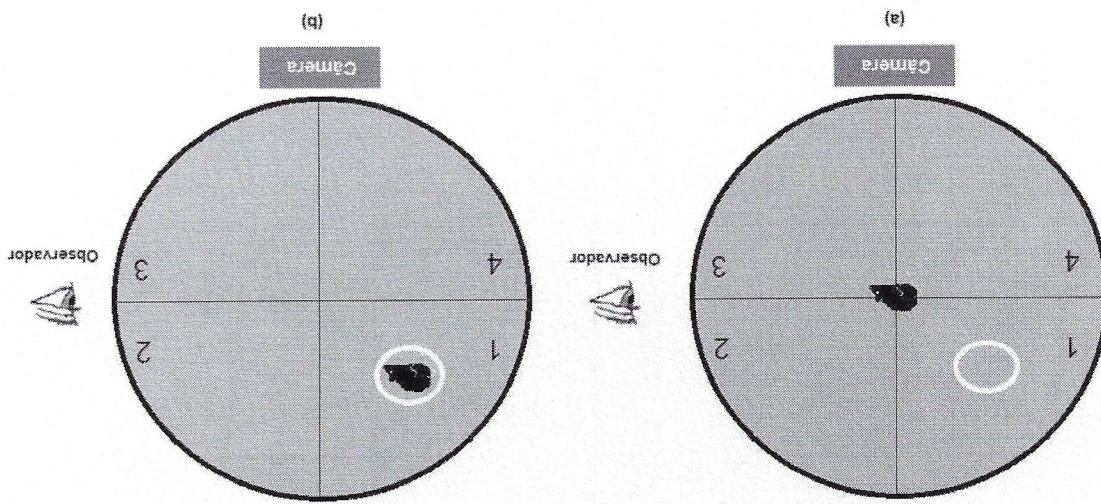
A ração hipercalórica foi administrada para os grupos HC; HC + ASEP e HC + ASET dos 6 aos 9 meses de idade até a atestação da RI. Para auxiliar na indução da resistência insulínica foi administrado na água de beber dos animais glicose a 2% por 1 mês (entre 8 e 9 meses de idade).

### III.4 Labirinto Aquático de Morris (LAM)

No labirinto aquático de Morris (MORRIS *et al.*, 1982) é avaliada a latência medida em segundos para encontrar uma plataforma submersa. Os camundongos são colocados em um tanque de 900mm de diâmetro e 500mm de altura, com capacidade para 318 L de água. Uma tinta guache atóxica branca foi utilizada para deixar a água opaca de modo que a plataforma não seja visível durante o experimento. Foram incluídos também alguns marcadores nas paredes da sala, para que pudessem servir de parâmetros para a localização da plataforma. O tempo de duração do ensaio é de até 2 min. Os testes realizados por cada animal foram filmados, utilizando para isso GoPro Hero+. O teste é dividido em duas fases: fase de aquisição e fase de teste mnemônico.

Na fase de aquisição, os roedores receberam sessões diárias de treino durante 5 vezes/dia durante 4 dias para encontrar a plataforma submersa e escondida pela coloração da água. A plataforma ficava no centro do quadrante 1 do tanque, como é demonstrado na figura 5 e não teve alteração da sua posição no decorrer dos 4 dias. Durante todo o teste de comportamento foi avaliado se os animais estavam aptos para a natação e, aqueles que não estavam eram excluídos da pesquisa. O experimento iniciava quando o camundongo era colocado gentilmente no meio do tanque, com o focinho do animal virado para qualquer uma das quatro plataformas (Figura 5).

A fase de teste memônico acontecia no 5º dia da experiência, na qual a plataforma era retirada do quadrante 1 e o camundongo era inserido no tanque nas mesmas condições que a fase anterior. O experimento foi realizado 2 vezes em dois tempos de 2 min cada um, tendo como objetivo que o animal procurasse a plataforma mesmo sem a presença desta.



**Figura 5.** Representação gráfica do Labirinto Aquático de Morris (LAM) e seus quadrantes discriminados por numeração. No início do teste (a) o camundongo é colocado no centro da piscina, na intersecção das linhas imaginárias. O objetivo do teste (b) é que o animal, através da natação encontre a plataforma submersa que não era visível devido a adição de tinta guache atóxica branca, como representado na figura. O círculo de bordas brancas representa a plataforma submersa. Na imagem estão representadas também a posição do experimentador e da câmera.



O hiato entre um treino e outro era de 15 a 20 minutos. Após a finalização dos experimentos os vídeos foram avaliados e a superfície do tanque foi dividida em quatro quadrantes imaginários (Figura 5) e foi levado em conta o tempo total do experimento e o tempo (cronometrado) em que os roedores permaneciam em cada quadrante.

Todos os grupos foram submetidos a esse teste de comportamento durante os 6 e 11 meses, onde ao final do segundo teste, os animais que participavam do grupo preventivo (ASEp e HF+ASEp) foram eutanasiados e os animais Controle e tratamento (ASEt e HF+ASEt), tiveram mais um terceiro teste de comportamento aos 12 meses de idade e, ao final deste também sofreram eutanásia.

### **III.5 Análises bioquímicas**

#### **III.5.1 Determinação da glicemia em jejum**

A determinação da glicemia era realizada uma vez por mês, a partir dos 5 meses de idade até o dia da eutanásia, na qual os animais foram mantidos em jejum por 6h e uma gota de sangue era obtido através de uma pequena incisão na cauda do animal e mensurada através do glucômetro digital Accu-Chek® (Roche).

#### **III.5.2 Análise da glicose plasmática e da tolerância à glicose**

A tolerância à glicose também foi avaliada através da análise da glicemia plasmática após a administração, por gavagem, de glicose a 2mg/kg em diferentes tempos: 0, 15, 30, 45, 60 e 120 minutos, após 3 meses de alimentação hipercalórica.

### III.6 Análise estatística

Todos os resultados do teste de comportamento e das análises bioquímicas foram apresentados pela média  $\pm$  EPM, através do programa GraphPad Prism 6.0. A variância foi mensurada pelo teste Two-Way ANOVA e posteriormente a diferença entre os grupos foram analisadas pelo o teste de Bonferroni ou o teste *t*-Student não pareado. Foram considerados estatisticamente significativos valores de  $p < 0,05$ .

## IV. RESULTADOS

### IV.1 Acompanhamento do peso dos animais

A partir dos 5 meses de idade, os animais tiveram seu peso acompanhado uma vez por semana a fim de avaliar os efeitos da administração de dieta hipercalórica e do tratamento com o ASE (Figura 6).

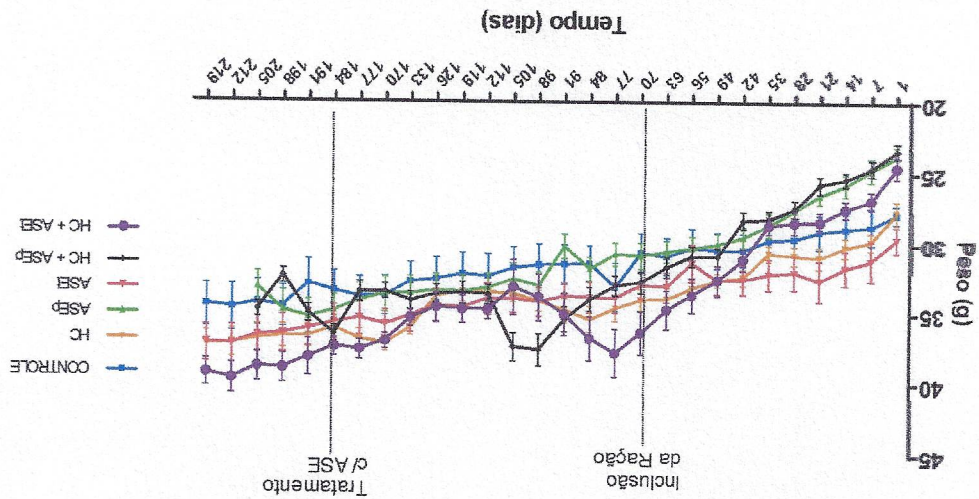


Figura 6. Gráfico representativo do peso dos animais por tempo de tratamento. As linhas tracejadas marcam o início do tratamento com a dieta hipercalórica e o início do tratamento com ASE (ASEi). O gráfico indica um aumento de peso para os grupos HC + ASEp e HC + ASEi após a administração da dieta HC. Os valores representam a média  $\pm$  o erro padrão da média.

Além de acompanhar o peso dos animais por tempo de tratamento, realizou-se também uma comparação com o consumo de ração comercial e o consumo de ração hipercalórica em diferentes idades, a fim de acompanhar a indução da obesidade. Como resultado, verificamos um aumento expressivo no peso, principalmente após a introdução da dieta hipercalórica, porém animais ASEp e HC + ASEp não apresentaram diferença significativa entre 11 e 12 meses de idade (quadro 2).

Quadro 2. Peso (g) dos camundongos C57Bl/6 e o consumo de ração (g/dia) avaliado em diferentes idades.

	Peso (g)			Consumo (g/dia)		
	6 meses	11 meses	12 meses	6 meses	11 meses	12 meses
Controle	29,74±3,23	30,04±4,47	35,91±5,56	25,84±2,12	28,17±2,47	24,9±0,31
ASEp	26,48±1,88	34,15±3,73	33,19±3,17	31,61±5,77	40,08±4,70 <sup>a</sup>	40,88±5,29 <sup>a</sup>
ASEt	30,32±2,71	35,73±2,99	35,73±3,35	35,48±1,90	31,08±2,75	34,14±6,49
HC	32,6±3,86	35,39±3,16	36,6±3,38	27,57±1,40	36,08±3,16 <sup>a</sup>	40,51±3,74 <sup>a</sup>
HC + ASEp	25,79±1,77	33,5±2,00	34,80±1,45	30,58±6,42	31,19±3,42	33,11±2,46
HC + ASEt	27,63±2,83	36,39±4,15	37,80±4,18	43,24±13,26	36,77±5,95	36,97±1,07

Valores representam a média e desvio padrão das médias (± SEM)

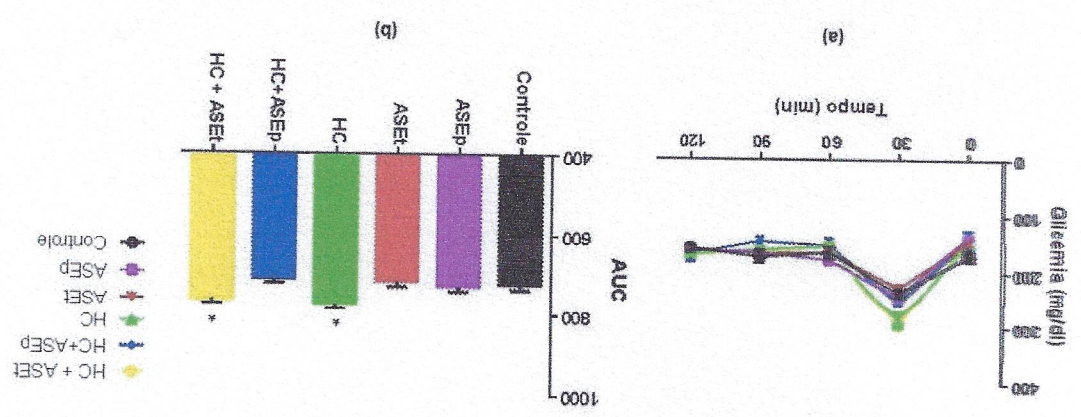
(a) Diferença significativa (p<0,05) em relação à idade de 6 meses.

(b) Diferença significativa (p<0,05) em relação aos grupos Controle, ASEt e HC + ASEp

## IV. 2 Análise da Tolerância à glicose

A tolerância à glicose foi mensurada nos diferentes grupos quando estes estavam com a idade de 11 meses, antes de iniciar o tratamento com o ASE. A dieta hipercalórica foi capaz de promover redução significativa (p<0,05) na tolerância à glicose no grupo HC e HC+ASEt em relação aos grupos Controle, ASEp e ASEt. No entanto, o grupo que recebeu dieta hipercalórica e ASE de forma preventiva (HC+ASEp) não houve redução da tolerância (Figura 7).

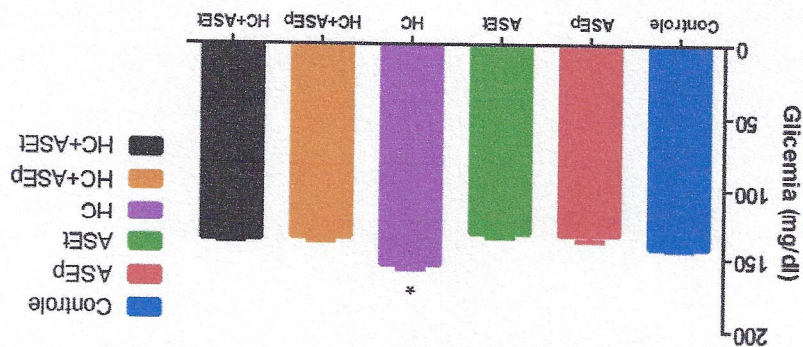
**Figura 7. Teste de tolerância à glicose dos diferentes grupos experimentais aos 10 meses de idade.** Em (a) curva glicêmica obtida dos diferentes grupos. Em (b) a área sob a curva (AUC) obtida a partir das curvas glicêmicas. Os valores representam a média  $\pm$  o erro padrão da média. (\*) Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo HC em relação aos grupos Controle, ASEp, ASEt e HC+ASEp.



### IV.3 Efeito do ASE sobre a glicemia

Ao final do experimento os níveis de glicose foram avaliados. Observamos um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) dos níveis glicêmicos para os animais tratados que receberam dieta hipercalórica em relação aos demais grupos. Entretanto, esse aumento não foi observado nos grupos HC + ASEp, HC + ASEt, demonstrando que o ASE foi capaz de prevenir e reduzir os níveis glicêmicos dos animais que receberam dieta hipercalórica (Figura 8).

**Figura 8. Efeito do ASE sobre a glicemia dos camundongos C57Bl/6.** Os resultados que os ratos submetidos à dieta hipercalórica (HC) obtiveram um aumento significativo da taxa glicêmica e que o ASE foi capaz de prevenir e reduzir os níveis glicêmicos. Os valores representam a média  $\pm$  o erro padrão da média. (\*) Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo HC e os demais grupos.



#### IV.4 Desempenho dos camundongos C57Bl/6 nos quadrantes do teste de Labirinto Aquático de Morris (LAM)

No teste de Morris, cada quadrante tem o tempo médio contabilizado para a avaliação da memória espacial e aprendizado, como demonstra a figura 10. O quadrante 1 (Q1) é aquele onde se encontra a plataforma escondida e por isso está destacado com a cor cinza. Ainda na figura 9, observamos o tempo médio de cada grupo no primeiro dia (T1, em azul) e no quinto dia (T5, em vermelho), que correspondem às fases de treino e fase mnemônica, respectivamente, nas idades de 6 meses (6m), 11 meses (11m) e 12 meses (12m). Observamos que todos os animais aos 6m permaneceram mais tempo no Q1 no período de fase mnemônica (T5). No entanto, quando observamos os grupos Controle, ASEt, e HC+ASEt, observamos uma redução progressiva na capacidade de memorização dos animais à medida que a idade dos animais avança. Já os grupos HC e HC+ASEp essa redução na capacidade mnemônica não é observada.

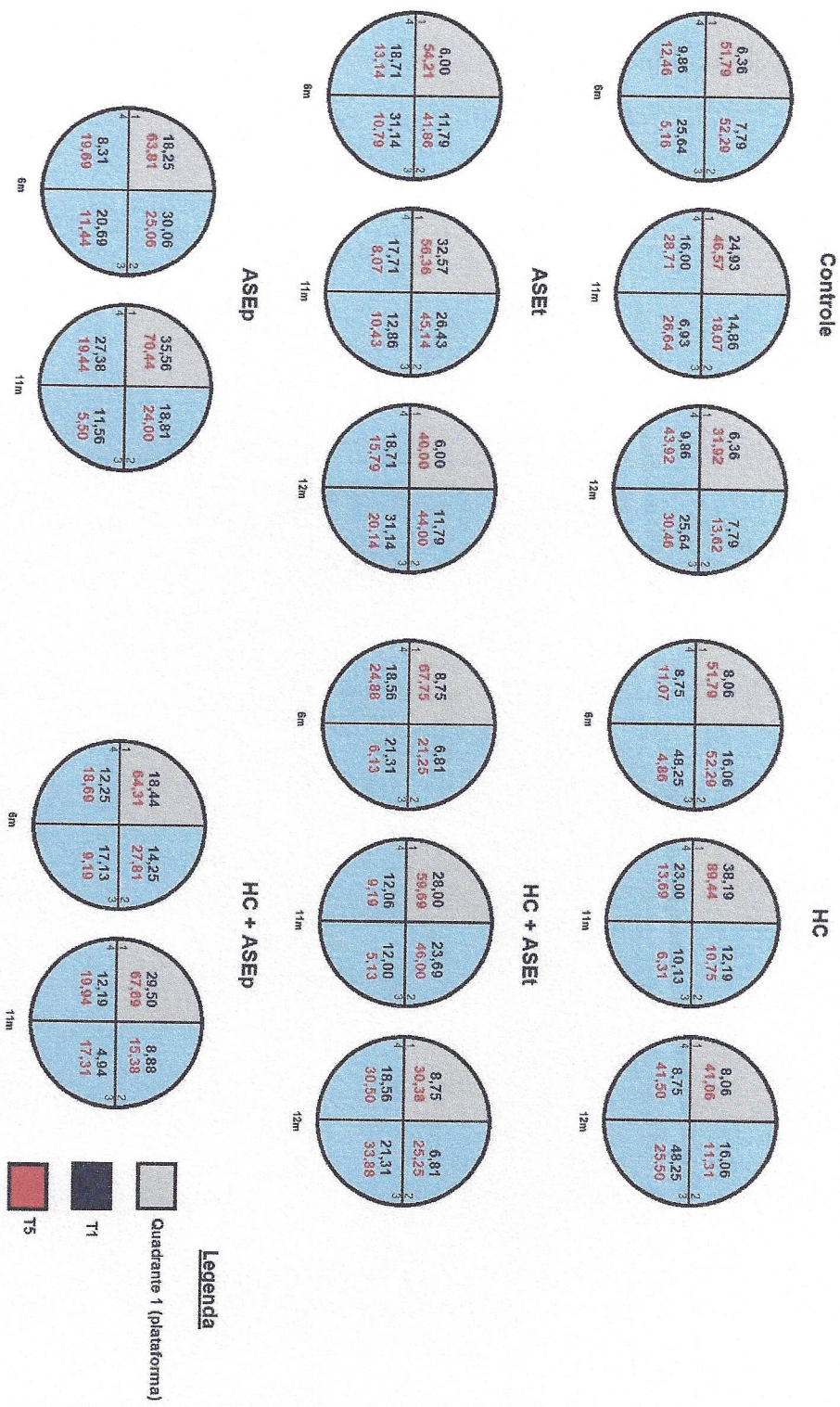


Figura 9. Avaliação do tempo médio (em segundos) das fases de treino (T1) e mnemônica (T5) do labirinto aquático de Morris em cada quadrante em diferentes idades. Além do tempo de latência, o tempo médio em cada quadrante é contabilizado para a avaliação da aprendizagem. A média do primeiro dia de teste (em azul) representa a fase de treino no qual o camundongo aprende a localizar a plataforma. A média do quinto dia de teste (em vermelho) representa a fase mnemônica na qual o camundongo deve lembrar-se da localização da plataforma. O quadrante em que se encontra a plataforma foi denominado quadrante 1 (Q1). Para este resultado foi realizado a média feita pelo teste ANOVA.

Os dados observados nos quadrantes são corroborados na figura 10. Ao observarmos o grupo Controle verificamos uma redução na capacidade de memorização dos animais aos 11 meses. O mesmo é observado no grupo ASET.

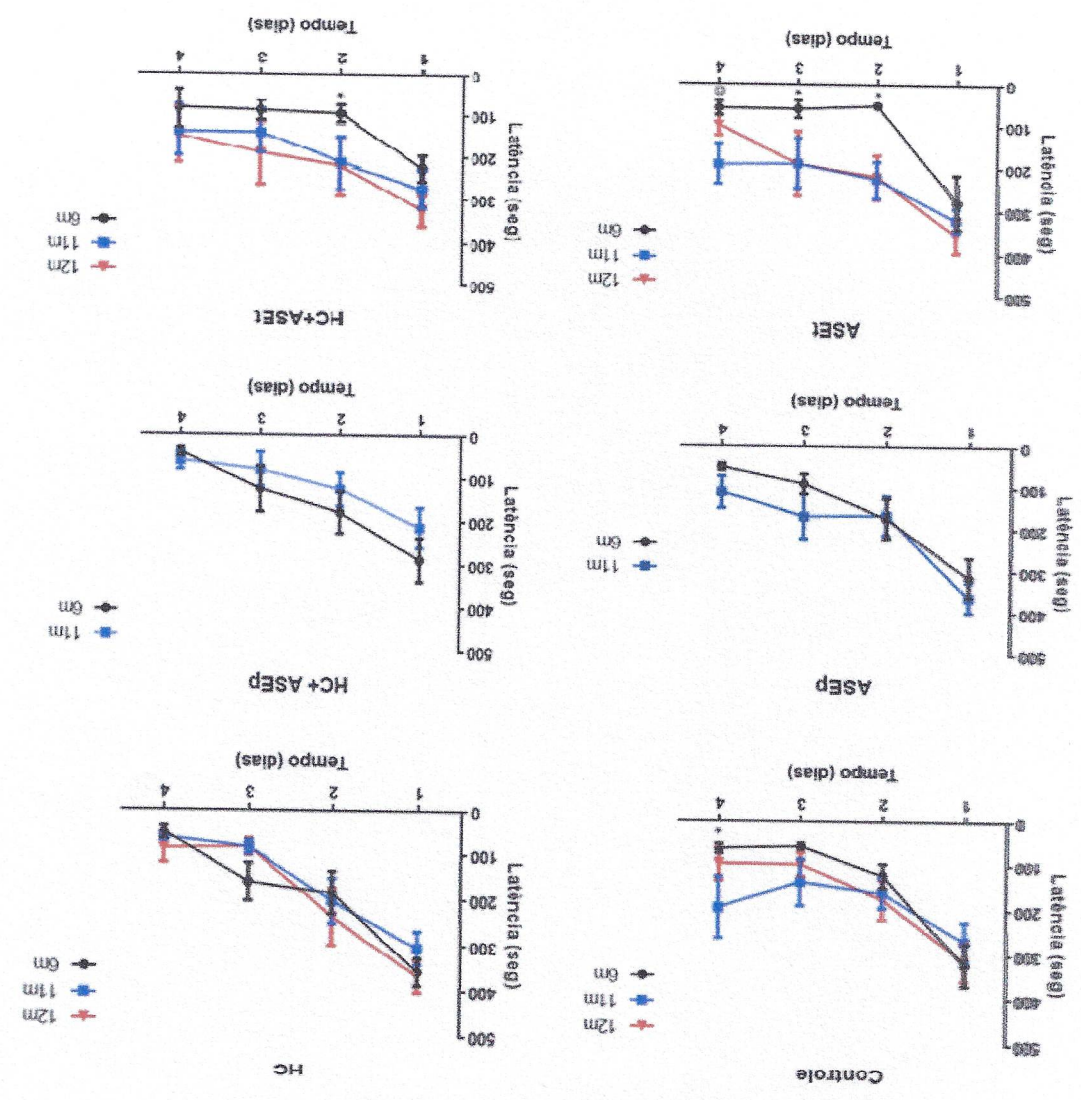


Figura 10. Avaliação do tempo de latência de cada grupo no Labirinto Aquático de Morris e de acordo com a idade. Quando o desempenho dos camundongos é visto separadamente verificamos a influência da idade no decorrer dos 4 dias de teste. Os gráficos demonstram redução do tempo de latência para todos os grupos, a partir do segundo dia de treino. Os grupos ASET e HC + ASET apresentaram uma performance significativa aos 6m e aos 12m, encontrando a plataforma em menor tempo durante a fase de treino.  $p < 0,05$  em relação às idades de 11m e 12m. Os gráficos são representativos de experimentos independentes, sendo observados a média  $\pm$  o erro padrão da média.



Quando observamos a capacidade de memória dos diferentes grupos ao final do experimento 12 meses, o grupo que recebeu a dieta hipercalórica e o ASE preventivamente (HC+ASEp) apresentaram maior capacidade de aprendizado/memória ( $p < 0,05$ ) que os grupos HC e ASEt nos tempos T1 e T2. E no tempo T3 a latência foi significativamente ( $p < 0,05$ ) menor que a do grupo ASEt.

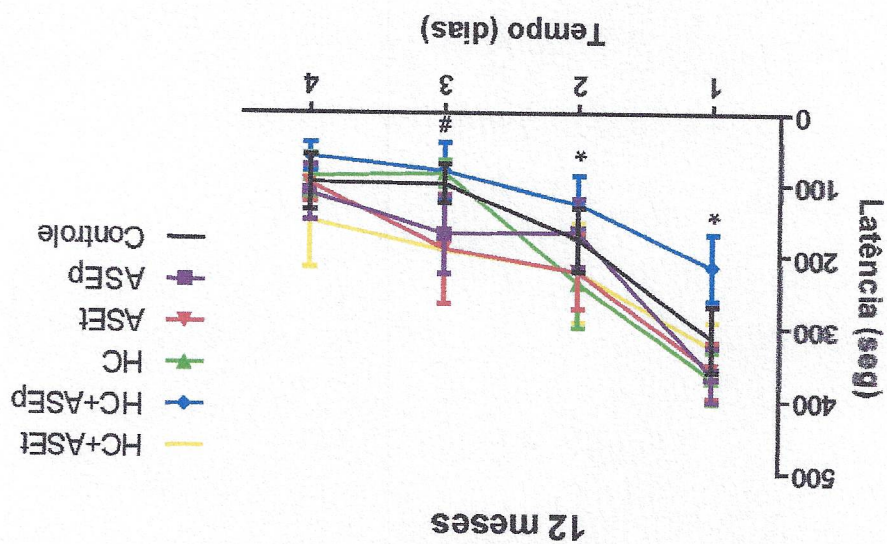


Figura 11. Avaliação do tempo de latência dos animais em Labirinto Aquático de Morris dos 12 meses de idade. Os resultados dos grupos ASEp e HC+ASEp foram obtidos aos 11 meses de idade. Os valores representam a média  $\pm$  o erro padrão da média. (\*) Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre HC + ASEp e os demais grupos. (#) Diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

## V. DISCUSSÃO

Estudos anteriores demonstraram que o ASE tem ação promotora na síntese do NO (ROCHA *et al.*, 2008), além de atuar na redução da síndrome metabólica e a atividade hipoglicêmica, principalmente referentes à RI (DE OLIVEIRA, 2010; DE OLIVEIRA 2015), além da ação antinociceptiva que embora os mecanismos não sejam totalmente compreendidos, já é conhecido o seu efeito central (SUDO *et al.*, 2015; CAREY *et al.*, 2015; WONG *et al.*, 2013). E ainda encontramos na literatura, pesquisas realizadas com outras partes do fruto além da semente que demonstraram resultados promissores, como o de Carey *et al.*, 2015, realizado com a polpa de açaí, que comprovou um alto desempenho no teste de labirinto aquático de Morris em ratos submetidos à suplementação de açaí na dieta o de Wong *et al.*, 2013 que utilizou a baga para averiguação da proteção in vitro de células de feocromocitoma de ratos contra a exposição a proteínas  $\beta$ -amilóide.

A grande maioria das pesquisas com ASE foram realizadas com animais muito jovens, com um a três meses de idade, em média. Como o dano cognitivo normalmente está associado à idade, nosso estudo visou justamente avaliar a ação do açaí em camundongos idosos, associando com a redução da tolerância a glicose. Nos animais submetidos apenas à dieta hipercalórica (HC), verificamos o aumento significativo dos níveis séricos de glicemia e da tolerância à glicose. O ASE foi capaz de prevenir e reduzir a glicemia dos camundongos submetidos à dieta hipercalórica, no entanto, possivelmente em função da idade dos camundongos, a redução não foi tão significativa como observado por Oliveira e colaboradores (2010; 2015) em animais jovens.

Modelos de obesidade induzidas por dieta hipercalórica são importantes para a indução de diabetes *mellitus*, resistência insulínica e inflamações sistêmicas. Atualmente há uma infinidade de pesquisas que visam estabelecer um modelo de obesidade que seja eficiente, de baixo custo, alta reprodutibilidade e que mimetizam as características observadas em humanos (WHITE *et al.*, 2013; FREITAS *et al.*, 2014).

A dieta hipercalórica é um protocolo bem conhecido para se induzir resistência insulínica em camundongos C57Bl/6 (DE OLIVEIRA *et al.*, 2010; DE OLIVEIRA *et al.*, 2015), além de outras doenças como a esteatose hepática (DE OLIVEIRA *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017; DE BEM *et al.*, 2017), bem como comprometimento na plasticidade neural de camundongos C57Bl/6, integridade sináptica e cognição (KHOTHARI *et al.*, 2017). Ela mimetiza os danos da dieta ocidental consumida por seres humanos e, a longo prazo podem desencadear resistência insulínica, diabetes, hipertensão, esteatose hepática dentre outras desordens metabólicas (THAMASHIRO *et al.*, 2015).

De acordo com Park (2010) dietas ricas em lipídios podem causar danos na plasticidade cerebral, uma vez que aumenta os níveis de malondialdeído (MDA) que tem relação com a peroxidação lipídica que induz a formação de EROs que consequentemente aumenta o estresse oxidativo (SUBASH *et al.*, 2015) provocando diversos danos, inclusive na memória e a diminuição na expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo (MOLTENI, 2002).

Para induzir essas condições nos camundongos C57Bl/6 aos 5 meses de idade iniciou-se o acompanhamento do peso dos animais e o consumo da ingesta de ração uma vez por semana e, após o primeiro teste de comportamento foi iniciado o uso da dieta hipercalórica nos animais HC; HC + ASEP; HC + ASET. Esses parâmetros foram observados até o último dia do manejo com os animais. Através dos resultados observamos que após um mês do início da dieta hipercalórica não foi verificado um aumento significativo no peso dos animais. Ao comparar o consumo desses animais é possível observar que os animais que receberam ASEP preventivamente aumentaram de forma significativa o aumento no consumo aos 11 e 12 meses de idade, assim como os animais que receberam dieta hipercalórica apenas.

Após três meses do início da alimentação hipercalórica foi constatado um aumento na tolerância à glicose nos grupos HC, mas o mesmo não foi visto

no grupo que recebeu ASE preventivamente. Ao se observar a tolerância à glicose a dieta especial fosse interrompida e o tratamento com ASE foi iniciado.

Sobre a glicemia, KHOTARI *et al.*, 2017 estabeleceu uma relação entre os níveis de insulina periférica e as alterações na sinalização de insulina cerebral em camundongos C57Bl/6, mediada por uma redução significativa na fosforilação de tirosina nos receptores IR e o aumento da fosforilação da serina nos receptores IRS-1 que estão envolvidas na regulação do crescimento neuronal e na plasticidade sináptica, na qual o prejuízo desta via desencadearam o declínio das funções cognitivas dos camundongos. Além disso, estudos anteriores têm reforçado que alterações nos receptores (IRS-1 e IRS-2) aumentam o estresse oxidativo e formação dos agregados proteicos do hipocampo, favorecendo o desenvolvimento do Alzheimer (LOURENÇO *et al.*, 2013; e DE FELICE *et al.*, 2015). Por este motivo era esperado que os animais hipercalóricos tivessem o desempenho prejudicado no teste de memória, uma vez que animais submetidos à dieta hipercalórica produzem desempenho reduzido no LAM (CORDNER *et al.*; TAMASHIRO *et al.*, 2015).

O teste do Labirinto Aquático de Morris é amplamente utilizado para pesquisa em neurociências devido a sua eficácia em utilizar a memória espacial e a neuroplasticidade para aprender a localizar a plataforma escondida sob a água opaca e ainda lembrar de sua localização através de sinalizadores localizados na sala de experimento. Neste teste analisamos duas variáveis: o tempo de latência; e o tempo médio em cada quadrante, principalmente o quadrante em que se encontra a plataforma e o quadrante oposto a este, representados neste estudo por Q1 e Q3, respectivamente. (D'HOOGHE; DE DEYN, 2001; KANDEL, 2013; MORRIS, 1982).

Através da comparação entre essas variáveis, são observados alguns padrões no comportamento de acordo com a idade dos animais. Aos 6 meses, os animais exploram mais os quatro quadrantes nas fases de treino do LAM (T1 a T4) e encontram a plataforma em menor tempo; na fase mnemônica (T5) todos os grupos restringem o campo de exploração apenas aos quadrantes 1 e

2. Durante o tratamento com a dieta hipercalórica e a terapia preventiva do ASE (11 meses) constatamos que a capacidade de exploração da área de teste é reduzida apenas ao primeiro quadrante (Q1), tanto em T1 a T4 quanto em T5; nesta idade, o tempo de latência varia para cada grupo. Os animais Controle, HC e ASEp tiveram tempos de latência ainda menores que os resultados anteriores, quando eram mais jovens e não recebiam nenhum tipo de tratamento. Os animais ASEp, ASEt e HC + ASEt apesar de apresentar maior tempo médio em Q1, demoraram mais tempo para encontrar e permanecer na plataforma submersa. Aos 12 meses, todos os animais exploram menos os quatro quadrantes na fase de treino, todavia apresentaram uma redução progressiva e discreta do tempo de latência durante os 4 dias dessa fase; em T5 apresentaram tempos médios variáveis entre os quadrantes.

Dados da literatura consideram que a performance desse teste de comportamento é influenciado pela idade do animal (D'HOOGHE; de DEYN, 2001). Camundongos jovens têm mais tônus muscular que favorece a capacidade de locomoção e ainda as funções cerebrais estão preservadas, facilitando assim a sua capacidade exploratória, a plasticidade cerebral e a memória espacial (KANDEL, 2013). O envelhecimento fisiológico causa déficits físicos, cognitivos e comportamentais mediados por uma diversidade de eventos que incluem a redução do tônus muscular e alterações no SNC que incluem a diminuição das sinapses, redução da cognição, da neuroplasticidade e da memória espacial. Se com a progressão da idade o indivíduo apresentar desordens metabólicas descritas no envelhecimento patológico, como diabetes, resistência insulínica, hipertensão ou doenças neurodegenerativas, esses danos tendem a ser exacerbados (KANDEL, 2013; STAHL, 2014).

Segundo Kandel (2013), as ações realizadas através do teste de LAM estão intimamente ligadas aos receptores de NMDA, uma vez mesmo que os camundongos tenham esses receptores estejam bloqueados via injeção-intrahipocámpal por meio de um antagonista farmacológico (como a memantina, por exemplo), o animal consegue encontrar a plataforma caso ela esteja visível porém não consegue lembrar a localização da plataforma

escondida, sugerindo que possivelmente esses receptores supracitados estejam envolvidos na consolidação da memória espacial, entretanto se o animal já aprendeu a tarefa, o bloqueio dos receptores de NMDA não impedem que ele utilize memórias antigas.

Por este motivo ao observar os tempos de latência e a média dos quadrantes aos 12 meses de idade podemos concluir que na fase de treino (T1 a T4) os animais perderam a capacidade de consolidação da memória e, encontravam a plataforma submersa ao acaso. Este fato é comprovado também através da observação do desempenho desses animais durante a fase mnemônica do teste (T5) na qual são observados tempos iguais para dois ou mais quadrantes.

A exceção para esta característica tem a ver com a administração de ASE. Observou-se que os animais que tiveram a terapia preventiva com ASE (HC + ASEp) apresentaram desempenho significativo nos T1 e T2 da latência em comparação ao grupo tratado (ASEt e HC + ASEt). Esse desempenho permaneceu significativo no terceiro dia de teste (T3). Essa característica pode também ser constatada ao observar o tempo médio em cada quadrante no primeiro (T1) e quinto dia (T5) de teste. Esses resultados presumem que o ASE é capaz de prevenir a perda cognitiva.

Comparando esses resultados encontrados no LAM com os obtidos na glicemia e considerando que os animais desenvolveram a obesidade, observamos que apesar das altas taxas glicêmicas e da tolerância à glicose a dieta hipercalórica, mesmo com altas taxas de lipídeos e açúcares não foi suficiente para induzir danos patológicos na memória, precisando assim de mais tempo de consumo. Em seu estudo, Hatzidis *et al.* (2017) indicam que a duração da dieta hipercalórica é importante para evitar a reversão da RI em camundongos C57Bl/6, com a mudança para a dieta comum. Sendo assim a perda da cognição, neste caso foi resultado do processo normal de envelhecimento dos animais.

Em sua pesquisa, PINI *et al.*, (2016), detectou que os camundongos tratados com dietas hipercalóricas e de cafeína apresentaram níveis menores de ansiedade no teste de Labirinto em Cruz Elevada. Assim, a redução de ansiedade pode ter contribuído para o bom desempenho dos animais que consumiram dieta hipercalórica.

## VI. CONCLUSÃO

- O ASE foi capaz de prevenir o aumento da tolerância à glicose em camundongos C57Bl/6 idosos submetidos a uma dieta hipercalórica;
- O ASE foi capaz de reduzir os valores glicêmicos após o estabelecimento da tolerância a glicose em camundongos C57Bl/6 idosos submetidos à dieta hipercalórica;
- A idade avançada promoveu um dano cognitivo e na memória nos grupos controle e ASEt, no entanto, a dieta hipercalórica não foi capaz de intensificar esse dano;
- A terapia preventiva com ASE promoveu uma resposta positiva na manutenção da capacidade cognitiva dos camundongos C57Bl/6 idosos;
- O tratamento com ASE não promoveu ganho cognitivo em camundongos C57Bl/6 idosos que já apresentavam déficit de memória.



## VII. BIBLIOGRAFIA

- ABRAZ - Associação Brasileira de Alzheimer (Org.). **A cada três segundos um idoso é diagnosticado com algum tipo de demência no mundo**. 2016. Disponível em: <<http://www.abraz.org.br/node/760#>>. Acesso em: 01 nov. 2017.
- ALEZANDRO, Marcela Roquim; GRANATO, Daniel; GENOVESE, Maria Inês. Jaboaticaba (*Myrciaria jaboaticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food research international**, v. 54, n. 1, p. 650-659, 2013.
- ALVES, A.C.S. *et al.* Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s.l.], v. 16, n. 3, p.593-606, set. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <[http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12\\_149](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_149)>.
- ANDRADE, A. et al, orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Disponível em: <<https://static.scielo.org/scielobooks/stwtj/pdf/andrade-9788575413869.pdf>>. Acesso em 10/11/2017. Available from SciELO Books .
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São José do Rio Preto, v. 1, n. 66, p.1-9, 2007.
- BALICK, M.J. **The palm-tree of life: biology, utilization and conservation**. New York: 1986. 42-49
- BARANKEVICZ, Gizele Bruna. **Poder antioxidante da cúrcuma (Curcuma longa L.) nos receptores neuroquímicos em ratos induzidos a depressão**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BEAR, Mark F. et al. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 878 p. Tradução de Quilfeldt et al. ISBN: 85-7307-911-8.

BENEDICT, C. Intranasal insulin improves memory in humans. **Psychoneuroendocrinology**, Lübeck, v. 29, n. 10, p.1326-1334, nov. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.04.003>.

BORGHT, Karin van Der et al. Reduced neurogenesis in the rat hippocampus following high fructose consumption. **Regulatory Peptides**, Sueden, v. 167, n. 1, p.26-30, fev. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.regpep.2010.11.002>.

BRAAK, Heiko; TREDICI, Kelly del. Where, when, and in what form does sporadic Alzheimer's disease begin? **Current Opinion in Neurology**, Ulm, Alemanha, v. 25, n. 6, p.708-714, dez. 2012. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/wco.0b013e32835a3432>.

BRASIL, Alodia et al. Diet enriched with the Amazon fruit açai (Euterpe oleracea) prevents electrophysiological deficits and oxidative stress induced by methyl-mercury in the rat retina. **Nutritional Neuroscience**, Belém, v. 20, n. 5, p.265-272, 8 jan. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1028415x.2015.1119378>.

BRIGHTFOCUS FOUNDATION. **Alzheimer's disease progression**. 2015. Illustration by Bob Morrae, courtesy of the BrightFocus Foundation. Disponível em: <http://www.brightfocus.org/alzheimers/infographic/progression-alzheimers-disease>. Acesso em: 06 nov. 2017.

- BROOKMEYER, Ron et al. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, Baltimore, MD, v. 3, n. 3, p.186-191, jul. 2007. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2007.04.381>>.
- BRUTON, L.L. Godman & Gilman. **As Bases da Farmacologia Terapêutica**. 12ed. SP: McHill, 2015.
- CAVALCANTE, P. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: CEJUP: 271 p. 1991
- CALZAVARA, B.B.G. **As possibilidades do açazeiro no estuário amazônico**. Belém: FCAP: 103p. 1972
- CARAMELLI, Paulo; BARBOSA, Maira Tonidandel. Como diagnosticar as quatro causas Como diagnosticar as quatro causas mais frequentes de demência? **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 1, n. 24, p.7-10, 2002.
- CAREY, Amanda N. et al. Dietary supplementation with the polyphenol-rich açai pulps (Euterpe oleracea Mart. and Euterpe precatoria Mart.) improves cognition in aged rats and attenuates inflammatory signaling in BV-2 microglial cells. **Nutritional Neuroscience**, Boston, v. 20, n. 4, p.238-245, 30 nov. 2015. Informa UK Limited. <<http://dx.doi.org/10.1080/1028415x.2015.1115213>>.
- CARVALHEIRA, José B.C.; SAAD, Mario J.A.. Doenças associadas à resistência à insulina/hiperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 2, p.360-367, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302006000200022>>.
- CASADESUS G, SHUKITT-HALE B, STELLWAGEN H.M, et al. Modulation of hippocampal plasticity and cognitive behavior by short-term blueberry supplementation in aged rats, **Nutr Neurosci**, v. 7, p.309-316, 2004.

CORDNER, Zachary A.; TAMASHIRO, Kellie L.K.. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *Physiology & Behavior*, Baltimore, Md, v.

2, p.190-197, abr. 2006.

Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, São Paulo, v. 50, n. Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. Modelos CESARETTI, Mario Luis Ribeiro; KOHLMANN JUNIOR, Osvaldo.

129042>

v. 33, n. 1, p.263-275, 2013. IOS Press. <[<<http://dx.doi.org/10.1080/15216540601047767>>](http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2012-Disease: Untangling the Web. Journal Of Alzheimer's Disease, Seattle, Wa, CRAFT, Suzanne; CHOLEERTON, Brenna; BAKER, L.D. Insulin and Alzheimer's</a></p></div><div data-bbox=)

p.686-694, dez. 2006. Wiley-Blackwell. dysfunction in Alzheimer's disease. *Lumb Life*, St. Louis, Missouri, v. 58, n. 12, CHEN, Xi; DUYAN, Shi. Mitochondrial Aβ A potential cause of metabolic

p.79-82, 2005

durante o envelhecimento. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, São Paulo, v. 2, CHARCHAT-FICHMAN, Helenice et al. Declínio da capacidade cognitiva

<<http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.115.124545>>

n. 3, p.704-714, 13 jul. 2016. *American Society for Nutrition*. midlife and older women. *American Journal Of Clinical Nutrition*, Boston, v. 104, CHANG, S.-c. et al. Dietary flavonoid intake and risk of incident depression in

2, p.190-197, abr. 2006.

Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, São Paulo, v. 50, n. Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. Modelos CESARETTI, Mario Luis Ribeiro; KOHLMANN JUNIOR, Osvaldo.

- 152, p.363-371, dez. 2015. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.008>>
- DE BEM, Grazielle Freitas de *et al.* Euterpe oleracea Mart. (agai) seed extract associated with exercise training reduces hepatic steatosis in type 2 diabetic male rats. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, Rio de Janeiro, v. 52, p.70-81, fev. 2018. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.09.021>>
- DE FELICE, F. G. *et al.* Protection of synapses against Alzheimer's-linked toxins: insulin signaling prevents the pathogenic binding of Abeta oligomers. **PNAS**. v. 106, n. 6, p. 1971-1976. 10 fev. 2009.
- FELICE, Fernanda G. de *et al.* How does brain insulin resistance develop in Alzheimer's disease? **Alzheimer's & Dementia**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p.26-32, fev. 2014. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2013.12.004>>
- DE FELICE, F.G. Alzheimer's disease and insulin resistance; translating basic science into clinical applications. **The Journal of Clinical Investigation**. Rio de Janeiro, v.123 (2), p.531-539, 2015.
- DE OLIVEIRA, M. do SP *et al.* **Agai (Euterpe oleracea Mart.)**. Funep, 2000.
- DE OLIVEIRA, Maria do Socorro Padilha, FERRREIRA, Daniel Furtado & DOS SANTOS, João Bosco. "Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos." **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Belém 41.7 (2006): 1133-1140.

- DE OLIVEIRA, P. R.; DA COSTA, C.A.; DE BEM, G.F.; DE CARVALHO, L.C.; DE SOUZA, M.A.; DE LEMOS NETO, M.; DA CUNHA SOUSA, P.J.; DE MOURA, R.S.; RESENDE, A.C. Effects of an extract obtained from fruits of *Eutepa oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2010; 56: 619-26.
- DE OLIVEIRA, P.R.; DA COSTA, C.A.; DE BEM, G.F.; CORDEIRO, V.S.; SANTOS, I.B.; DE CARVALHO, L.C.; DA CONCEIÇÃO, E.P.; LISBOA, P.C.; OGNIBENE, D.T.; SOUSA, P.J.; MARTINS, G.R.; DA SILVA, A.J.; DE MOURA, R.S.; RESENDE, A.C. Eutepa oleracea Mart.-Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion. *Plus One* 2015; 10 (12): e0143721
- D'HOOGHE, Rudi; DEYN, Peter P. de. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, Antwerp, v. 36, p.60-90, 26 jun. 2001.
- DUTRA, Rafael C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research*, Florianópolis, v. 112, p.4-29, out. 2016. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>>
- ELLENBROEK, B. A.; COOLS, A. R.. Models of animals with construction validity for schizophrenia. *Behav Pharmacology*, Nijmegen, Países Baixos, v. 6, n. 1, p.469-490, 1990.
- FARIAS MARENGO, Mariela del Carmen; DELPORTE VERGARA, Carla; MIRANDA GUZMÁN, Hugo. Determinación de los mecanismos involucrados en la actividad analgésica de las hojas de *Aristolotelia chilensis* en un modelo de dolor térmico agudo. 2009.

- FERRREIRA, Sergio T. et al. Inflammation, defective insulin signaling, and neuronal dysfunction in Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p.76-83, fev. 2014. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2013.12.010>>.
- FRAGOSO, Mariana F. et al. Agai (Euterpe oleracea Mart.) feeding attenuates dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. **Food And Chemical Toxicology**, São Paulo, v. 58, p.68-76, ago. 2013. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foct.2013.04.011>>.
- GALLUCCI NETO, José; TAMELINI, Melissa Garcia; FORLENZA, Orestes Vicente. Diagnóstico diferencial das demências. **Archives Of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.119-130, jun. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0101-60832005000300004>>.
- GARCIA, Alexandre et al. SUPLEMENTAÇÃO COM CHÁ VERDE TEM EFEITO NEUROPROTETOR-ANTIOXIDANTE EM UM MODELO DA DOENÇA DE ALZHEIMER. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 8, n. 2, 2017.
- GELONEZE, Bruno; TAMBASCA, Marcos Antonio. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Campinas, v. 50, n. 2, p.208-215, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302006000200007>>.
- GOTTLIEB, Maria Gabriela Valle; MORASSUTTI, Alessandra Loureiro; CRUZ, Ivana Beatrice Mânica da. Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 21, n. 2, p.69-80, 2011.

- GREIG, N. H. et al. New Therapeutic Strategies and Drug Candidates for Neurodegenerative Diseases: p53 and TNF-alpha Inhibitors, and GLP-1 Receptor Agonists. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, New York City, v. 1035, p.290-315, 2004.
- GUYTON, Arthur C.; HALL, John E.. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 875 p.
- HARADA, N et al. Resveratrol improves cognitive function in mice by increasing production of insulin like growth factor-I in the hippocampus, *J Nutr Biochem*, 2011, v. 22 p.1150-1159
- HASHIMOTO, M. et al. Role of Protein Aggregation in Mitochondrial Dysfunction and Neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. **Neuromolecular Medicine**, San Diego, Ca, v. 4, n. 1-2, p.21-36, 2003.
- HATZIDIS, Aikaterini et al. Removal of a high-fat diet, but not voluntary exercise, reverses obesity and diabetic-like symptoms in male C57BL/6J mice. **Hormones**, Colorado, v. 16, n. 1, p.62-74, 10 fev. 2017.
- HOGAN, Shelly et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food Chemistry**, Oxford, v. 118, n. 2, p.208-214, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.099>.
- HÖLSCHER, Christian. First clinical data of the neuroprotective effects of nasal insulin application in patients with Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, Lancaster, UK, v. 10, n. 1, p.33-37, fev. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2013.12.006>.
- HUANG, T et al. Anti-diabetic action of *Punica granatum* flower extract: Activation of PPAR-γ and identification of an active component. **Toxicology**



And Applied Pharmacology, Sidney, v. 207, n. 2, p.160-169, 1 set. 2005. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2004.12.009>>

HUSAIN, G.M.; CHATTERJEE, S.S.; SINGH, P.N.; KUMAR, V. Beneficial effect of Hypericum perforatum on depression and anxiety in a type 2 diabetic rat model. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, v.68, n. 6, p.913-918, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) (Brasília). IBGE (Org.). **Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação**. 2017. Disponível em: <<https://ww2.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

KHALID, Sundus et al. Effects of Acute Blueberry Flavonoids on Mood in Children and Young Adults. *Nutrients*, Reino Unido, v. 9, n. 2, p.158-168, 20 fev. 2017. MDPI AG. <<http://dx.doi.org/10.3390/nu9020158>>

KANDEL, Erick R. et al. **Principles of neural science**. 5. ed. Nova York: McGraw-hill Companies, 2013. 1760 p. ISBN 0-8385-7701-6.

KOTHARI, Vishal et al. High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. *Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular Basis Of Disease*, Auburn, v. 1863, n. 2, p.499-508, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.10.006>.

LEE, Wing-hin et al. Curcumin and its Derivatives: Their Application in Neuropharmacology and Neuroscience in the 21st Century. *Current Neuropharmacology*, Sidney, v. 11, n. 4, p.338-378, 1 jun. 2013. Bentham Science Publishers Ltd. <<http://dx.doi.org/10.2174/1570159x11311040002>>

LEITE, Alice Vieira et al. Avaliação da composição e da capacidade antioxidante" in vivo" e " in vitro" de antocianinas da casca de jabuticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell.) Berg) liofilizada em ratos Wistar. 2010.

- LOURENCO, M. V. et al. TNF- $\alpha$  mediates PKR-dependent memory impairment and brain IRS-1 inhibition induced by Alzheimer's  $\beta$ -amyloid oligomers in mice and monkeys. **Cell Metabolism**, Rio de Janeiro, v.18 p. 831-843, 2013.
- MACIEL, Maria Aparecida M. et al. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p.429-438, 2002.
- MACHADO, Daniel Escorsim et al. Euterpe oleracea Extract (Agai) Is a Promising Novel Pharmacological Therapeutic Treatment for Experimental Endometriosis. **Plos One**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 11, p.2619-2644, 16 nov. 2016. Public Library of Science (PLOS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0166059>>.
- MACHADO, Fernanda de Souza et al. Efeito do tratamento subcrônico com polpa de açaí sobre a atividade das enzimas antioxidantes em cerebello e hipocampo de ratos no modelo experimental de encefalopatia hepática. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 2, n. 4, p. 353-354, 2014.
- MANSUR, Leticia Lessa et al. Linguagem e cognição na doença de Alzheimer. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, São Paulo, v. 18, n. 3, p.300-307, 2005.
- MOLTENI, R et al. A HIGH-FAT, REFINED SUGAR DIET REDUCES HIPPOCAMPAL BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR, NEURONAL PLASTICITY, AND LEARNING. **Neuroscience**, Los Angeles, v. 112, n. 4, p.803-814, 2002.
- MORRIS, R. G. M. et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. **Nature**, Reino Unido, v. 297, n. 5868, p.681-683, jun. 1982. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1038/297681a0>>.

MORZELLE, Maresa Caldeira. **Resíduos de romã (Punica granatum) na prevenção da doença de Alzheimer**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MORZELLE, Maresa Caldeira. **Efeito neuroprotetor da casca de romã (Punica granatum)**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MOURA, Roberto Soares de et al. Addition of açai (Euterpe oleracea) to cigarettes has a protective effect against emphysema in mice. **Food And Chemical Toxicology**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 4, p.855-863, abr. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.12.007>>.

NUVLAB (São Paulo). Global Biotérios (Org.). **Tabela nutricional da composição química da ração comercial para animais de laboratório NuviLab CR-1®**. Disponível em: <<https://www.globalbiotérios.com.br/quimica-nuviLab>>. Acesso em: 22 out. 2017.

ODENDAAL, Antoinette Y.; SCHAUSS, Alexander G.. Potent Antioxidant and Anti-inflammatory Flavonoids in the Nutrient-Rich Amazonian Palm Fruit, Açai (Euterpe spp.). **Polypheols in Human Health And Disease**, Puyallup, WA, n. 18, p.219-239, 2014. Elsevier. <<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-398456-2.00018-9>>.

OKINGA, Anicet et al. THE SINGLE MATERNAL SEPARATION AFFECTS MEMORY/LEARNING, BUT NOT ANXIETY AND DEPRESSION IN ADULT RATS. In: INTERNATIONAL BRAIN RESEARCH ORGANIZATION, 9., 2015, Rio de Janeiro. **Anais...**. Rio de Janeiro: Ibro, 2015. p. 146 - 146.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (Nova York). OMS. **The Epidemiology and Impact of Dementia: Current State and Future Trends**. 2015. Disponível em: <[http://www.who.int/mental\\_health/neurology/dementia/en/](http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/en/)>. Acesso em: 23 nov. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (Nova York). OMS. **Demência**: Nota descritiva. 2017. Disponível em:

<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

PARK, Hee Ra et al. A high-fat diet impairs neurogenesis: Involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. **Neuroscience Letters**, Republic Of Korea, v. 482, n. 3, p.235-239, out. 2010. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.046>>.

PELLOW, Sharon et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal Of Neuroscience Methods**, Londres, v. 14, n. 3, p.149-167, ago. 1985. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)>.

PHILLIPS, Cristy. Lifestyle Modulators of Neuroplasticity: How Physical Activity, Mental Engagement, and Diet Promote Cognitive Health during Aging. **Hindawi: Neural Plasticity**, Arizona, v. 3589271, n. 2017, p.1-22, 12 jun. 2017. <<https://doi.org/10.1155/2017/3589271>>.

PINI, Renata Tavares Beschizza et al. Effects of cafeteria diet and high fat diet intake on anxiety, learning and memory in adult male rats. **Nutritional Neuroscience**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 7, p.396-408, mar. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1028415x.2016.1149294>.

PORSOLT, Roger D. ; LE PICHON, M. ; JALFRE, ML Depression: um novo modelo animal sensível aos tratamentos antidepressivos. **Nature** , v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.

PORTELA, Luis Valmor et al. Intracerebroventricular Metformin Decreases Body Weight But Has Pro-oxidant Effects and Decreases Survival.

- Neurochemical Research, Rio de Janeiro, v. 40, n. 3, p.514-523, 10 dez. 2014. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1007/s11064-014-1496-7>>.
- ROCHA, A.P.M.; CARVALHO, L.C.R.M.; SOUZA, M.A.V.; MADEIRA, S.V.F.; SOUSA, P.J.C.; TANO, T.; SHINI-KERTH, V.B.; RESENDE, A.C.; SOARES DE MOURA, R. Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart. (agai) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. *Vasc. Pharmacol.* 2007; 46: 97-104.
- ROCHA, A.P.M.; RESENDE, A.C.; SOUZA, M.A.V.; CARVALHO, L.C.R.M.; SOUSA, P.J.C.; TANO, T.; CRIDDLE, D.N.; PORTO, L.C.; VALENÇA, S.S.; DE MOURA, R. S. Antihypertensive effects and antioxidant action of a hydro-alcoholic extract obtained from fruits of Euterpe oleracea Mart (Açai). *J. Pharmacol. Toxicol.* 2008; 3:435-48.
- SANTOS, Izabelle Barcellos et al. Supplementation with *Vitis vinifera* L. skin extract improves insulin resistance and prevents hepatic lipid accumulation and steatosis in high-fat diet-fed mice. *Nutrition Research*, Rio de Janeiro, v. 43, p.69-81, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2017.05.007>.
- SCHINDOWSKI, K.; BELARBI, K.; BUEE, L. Neurotrophic factors in Alzheimer's disease: role of axonal transport. *Genes, Brain And Behavior*, Lille, France, v. 7, p.43-56, 3 jan. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-183x.2007.00378.x>.
- SHEPHERD, Gordon M. *Neurobiology*. 3. ed. New York: Oxford University Press, 1994. 760 p. ISBN 0195051718, 9780195051711.
- SILVA, Marília Lordêlo Cardoso et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Revista de Ciências Agrárias*, Londrina, v. 3, n. 31, p.669-682, set. 2010.

- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, v. 20, n. 2, p. 144-158, 1965.
- SOUZA, Carolina Melo de. **Efeito neuroprotetor da curcuminina sobre o estresse oxidativo, inflamação, memória e dano neuronal de ratos submetidos à isquemia cerebral transitória**. 2012. Tese de Doutorado.
- STAHL, Stephen M.. **Psicofarmacologia: Bases neurocientíficas e aplicações práticas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 843 p. Traduzido de Stahl's Essential Psychopharmacology Fourth Edition Syndicate of the Press of the University of Cambridge, England.
- STANDAERT, David G.; YOUNG, Anne B.. Tratamento dos Distúrbios Degenerativos do SNC: Tratamento da Doença de Alzheimer. In: GILMAN, Alfred Goodman et al. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-hill Companies, 2005. Cap. 22, p. 420.
- STOCKHORST, Ursula et al. Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. **Physiology & Behavior**, Düsseldorf, v. 83, n. 1, p.47-54, out. 2004. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.07.022>>
- SUBASH, S. et al. Long term (15mo) dietary supplementation with pomegranates from Oman attenuates cognitive and behavioral deficits in a transgenic mice model of Alzheimer's disease. **Nutrition**, Paris, v.31, p. 223-229, 2015.
- SUDO, R.T.; LEMOS NETO, M.; TAKASHI, R.; SOARES DE MOURA, R.; RESENDE, A.C. Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract (ASE) from *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) rodent models of acute and neuropathic pain. **BMC Complement Altern. Med.** 2015; 2(15): 208.