

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM SAÚDE E AMBIENTE

ANILDES IRAN PEREIRA SOUSA

**EFEITOS DO MESOCARPO DE BABAÇU
(*Orbignya phalerata*, Mart.) SOBRE A BIOQUÍMICA
SANGÜÍNEA EM ANIMAIS COM TUMOR DE EHRlich**

São Luís
2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM SAÚDE E AMBIENTE

**EFEITOS DO MESOCARPO DE BABAÇU
(*Orbignya phalerata*, Mart.) SOBRE A BIOQUÍMICA
SANGÜÍNEA EM ANIMAIS COM TUMOR DE EHRLICH**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Saúde e Ambiente.

Aluno: Anildes Iran Pereira Sousa
Orientadora: Prof^a Dr^a Rosane Nassar Meireles Guerra

São Luís,
2008

ANILDES IRAN PEREIRA SOUSA

**EFEITOS DO MESOCARPO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata*, Mart.)
SOBRE A BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA EM ANIMAIS COM
TUMOR DE EHRLICH**

A Comissão julgadora dos trabalhos de defesa da Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em/...../....., considera o candidato

(1º examinador)

(2º examinador)

(3º examinador)

Profª Drª Rosane Nassar Meireles Guerra
Orientadora

Dedico este trabalho a Deus pelos desafios e conquistas que Ele tem me concedido.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sempre iluminado meus passos.

Aos meus pais, pelos ensinamentos mais sublimes.

À Profa. Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra, pela orientação, competência e dedicação a este trabalho.

Ao Laboratório de Imunofisiologia da Universidade Federal do Maranhão pela disponibilização das condições necessárias.

À Mayara Tânia Pinheiro pela colaboração na obtenção dos soros e pelo incentivo constante.

À minha irmã Adilene Mary Pereira Sousa, por sua orientação e apoio ao longo dos anos.

Às Professoras Dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento e Dra. Marilene Oliveira da Rocha Borges pelas sugestões e contribuições durante a qualificação

Ao Abbott Laboratórios do Brasil pela doação dos reagentes para realização dos ensaios.

Aos colegas do Mestrado, pela convivência.

*“A mente que se abre para uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	vi
Lista de ilustrações	vii
Resumo	viii
Abstract	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Babaçu	1
1.2 Bioquímica sanguínea	2
2 OBJETIVOS	7
2.1 Geral	7
2.2 Específicos	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 Animais	8
3.2 Extrato Aquoso do Mesocarpo de Babaçu (EAB)	8
3.3 Administração do EAB	8
3.4 Manutenção do tumor de Ehrlich	8
3.5 Tratamento com extrato e implantação do tumor	9
3.6 Células tumorais	9
3.7 Obtenção do soro	9
3.8 Avaliação bioquímica no soro	9
3.8.1 Dosagem de colesterol total	10
3.8.2 Dosagem de colesterol HDL.....	10
3.8.3 Dosagem de triglicerídios.....	10
3.8.4 Determinação de colesterol LDL/VLDL.....	13
3.8.5 Dosagem de proteínas totais.....	13
3.8.6 Dosagem de albumina.....	13
3.9 Análise estatística	14
4 RESULTADOS	11

4.1	Determinação do número de células tumorais.....	11
4.2	Avaliação bioquímica dos animais.....	12
4.2.1	Concentração sérica de colesterol total e frações.....	12
4.2.2	Concentração sérica de triglicerídios.....	13
4.2.3	Relação colesterol / triglicerídios.....	14
4.2.4	Concentração sérica de proteínas totais, albumina e globulina.....	15
5	DISCUSSÃO.....	16
6	CONCLUSÕES.....	19
	REFERÊNCIAS.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS

C - colesterol

EAB – Extrato Aquoso de mesocarpo de Babaçu

HDL - *High Density Lipoproteins* (proteínas de alta densidade)

IDL – *Intermediry Density Lipoproteins* (proteínas de densidade intermediária)

ip. – intraperitoneal

LDL- *Low density lipoprotein* (proteínas de baixa densidade)

PBS – Solução Tamponada de Fosfato

VLDL – *Very Low density lipoprotein* (proteínas de densidade muito baixa)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (EAB) sobre o número de células tumorais em camundongos	11
Figura 2 -	Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu sobre a concentração do colesterol total e as frações HDL-C e LDL-C.....	12
Figura 3 -	Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu sobre a concentração de triglicérides.....	13
Figura 4 -	Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (EAB) sobre VLDL	14
Figura 5 -	Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (EAB) sobre a concentração de proteínas	15

RESUMO

O mesocarpo de babaçu (*Orbignya phalerata*, Arecaceae) é popularmente usado no Maranhão, nordeste do Brasil, como alimento e medicamento. Esse trabalho avaliou o efeito do tratamento com extrato bruto aquoso do mesocarpo de babaçu (EAB) na bioquímica sanguínea de camundongos C3H/HePas que desenvolveram o tumor de Ehrlich. Camundongos C3H/HePas (n= 10 por grupo), com idade de 120 e 240 dias, receberam, via oral, *ad libitum*, EAB (2mg/mL) durante 15 ou 30 dias. Em seguida ao último dia do tratamento os animais receberam, via intraperitoneal, 10^6 células de tumor de Ehrlich. Os animais foram sacrificados dez dias após a implantação do tumor, quando foram obtidos o soro e as células tumorais. As células foram quantificadas em câmara de Neubauer com auxílio de microscópio ótico de luz comum e o soro foi utilizado para determinar, por ensaios colorimétricos, a concentração de colesterol, triglicérides, proteínas totais e albumina. O tratamento com EAB induziu aumento significativo no número de células tumorais em camundongos C3H/HePas. A determinação do perfil lipídico mostrou que o tratamento com EAB resultou na redução da concentração de colesterol total e das frações HDL, LDL e no aumento da concentração de triglicérides. Além disso, os valores de VLDL e de proteínas totais foram maiores do que o controle em animais tratados previamente com EAB. Assim, é possível concluir que o tratamento oral com EAB aumenta a invasividade do tumor, possivelmente por reduzir a concentração de colesterol. Adicionalmente, o consumo de EAB tem efeitos variáveis sobre alguns parâmetros bioquímicos do sangue, dependendo da idade e do tempo de tratamento, o que inviabiliza o seu uso no tratamento de tumores com as mesmas características do tumor ascítico de Ehrlich.

Palavras-chave: Mesocarpo de babaçu; Tumor de Ehrlich; C3H/HePas; Lipoproteínas; Proteínas Totais; Senescência.

ABSTRACT

The babassu mesocarp (*Orbignya phalerata*, Arecaceae) is popularly used in Maranhão, northeast of Brazil, as food and as medicine. It was the aim of this work to evaluate the effect of the babassu mesocarp extract (BME) on the biochemical parameters in mice bearing Ehrlich Ascitic tumor. C3H/HePas (N = 10 for group) with age of 120 and 240 days, were treated orally with BME (2mg/mL) during 15 or 30 days. At the end of this period the animals received, by intraperitoneal route, 10^6 cells of Ehrlich tumor. The animals were sacrificed ten days after the tumor implantation, when it was obtained the serum and the tumoral cells. The total number of tumoral cells was quantified in Neubauer chamber with aid of an optic microscope. The concentration of cholesterol, LDL, HDL, VLDL, triglicérides, total proteins and albumin was determined in serum, by colorimetric assay. The oral treatment with BME significantly increases on the number of tumoral cells. BME also affect the lipidic profile due to a strong reduction on the concentration of total cholesterol and HDL, LDL fractions. It was also observed a significant increase on the triglycerides concentration. Besides, the values of VLDL and total proteins were larger than the control in animals treated with EAB. Based on this, it is reasonable to propose that the reduction of cholesterol seems to be increased the tumor virulence. Additionally it was observed that BME induced a variable effect on blood biochemistry. Those results altogether makes BME unfeasible for using in the treatment of tumors with the same characteristics of the Ehrlich ascitic tumor.

Keywords: Babassu mesocarp; Tumor of Ehrlich; mice; Lipoproteins; total proteins; senescence.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Imunofisiologia da Universidade Federal do Maranhão e teve apoio financeiro do CNPq – Edital Universal – processo nº

Sousa, Anildes Iran Pereira

Efeitos do mesocarpo de babaçu (*Orbignya phalerata*, Arecaceae) sobre a bioquímica sanguínea em animais com tumor de Ehrlich. Anildes Iran Pereira Sousa. – São Luís, 2008.

24 f. il.

Impresso por computador

Orientadora: Dra Rosane Nassar Meireles Guerra.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Mestrado em Saúde e Ambiente, 2008.

1. *Orbignya phalerata* (Babaçu) – Tumor de Ehrlich – Tratamento. I. Guerra, Rosane Nassar Meireles. II. Título.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Babaçu

Orbignya phalerata Mart, família Arecaceae [Palmae], é uma palmeira oleaginosa cujo fruto é conhecido como coco babaçu, coco de macaco, aguaçu ou uauaçu (PIO CORRÊA, 1984; ANDERSON e BALICK, 1988). Esta espécie, nativa do Brasil, tem a sua maior densidade demográfica no meio norte brasileiro, com marcada predominância nos Estados do Maranhão, Piauí, Tocantins e Mato Grosso (PINHEIRO e FRAZÃO, 1995).

A avaliação proporcional das diferentes partes que compõem o fruto do babaçu mostra que 15% do peso total do fruto correspondem ao epicarpo; 20% ao mesocarpo e 58% ao endocarpo incluindo as amêndoas (ROSENTHAL, 1975).

Do mesocarpo é obtida uma farinha amplamente comercializada no Maranhão. A farinha é obtida a partir da secagem e trituração do mesocarpo. O mesocarpo transformado em pó é peneirado, umedecido e finalmente torrado em fogo alto (BALICK, 1988).

Segundo Rosenthal (1975), a farinha de mesocarpo de babaçu tem em sua composição 68,3% de amido; 1,54% de proteínas; 0,27% de lipídios; 1,25% de glicídios solúveis, 2,51% de fibras e aminoácidos. Além disso, apresenta hemicelulose e pentosanas (GARROS-ROSA, 1986) entre outras substâncias orgânicas.

A farinha do mesocarpo de babaçu é utilizada pela população como alimento e como medicamento. Dados etnobotânicos indicam que essa farinha pode ser utilizada no tratamento de feridas crônicas, úlceras gástricas e duodenais e inflamações diversas, tumores, obesidade entre outras doenças (BARROQUEIRO et al., 2001; CARVALHO FILHO, 2003).

Os primeiros relatos investigando os efeitos biológicos do mesocarpo de babaçu no sistema imunológico foram feitos em 1994, por Gaitan et al. Estes autores detectaram a endemicidade de bócio, em crianças com idade escolar, em uma determinada área do estado do Maranhão, constatando que a maioria dessas crianças consumiam, em larga escala, as farinhas de mesocarpo de babaçu e de mandioca, o que os levou a suspeitar que o aparecimento do bócio estava relacionado ao consumo dessas farinhas. Assim, utilizando animais de laboratório e cultura de tecidos, demonstraram que o tratamento com mesocarpo de babaçu isolado ou associado à mandioca aumentava significativamente os títulos de anticorpos antitireóide, em ensaios *in vivo* ou *in vitro*, indicando que o consumo constante da farinha de mesocarpo de babaçu de fato estava entre os fatores de risco relacionados ao aumento de respostas autoimunes.

A possibilidade do extrato aquoso do mesocarpo de babaçu (EAB) apresentar substâncias capazes de induzir ou agravar doenças autoimunes foi também investigada em experimentos realizados no Laboratório de Imunofisiologia da Universidade Federal do

Maranhão (UFMA). Os resultados obtidos mostraram que animais tratados com EAB apresentavam significativo aumento na produção de anticorpos auto-reativos anti-DNA, anti-miosina murina, anti-hemácias (GUERRA et al, 1998), antiinsulina (BARROQUEIRO, 2001; BARROQUEIRO et al., 2001; GUERRA et al., 2001) e anti-L-tiroxina (BARROQUEIRO et al., 2001). Esses resultados em conjunto mostraram uma importante correlação entre o consumo do mesocarpo de babaçu e o aumento das respostas imunes auto-reativas em ensaios pré-clínicos.

Barroqueiro (2001) demonstrou que a administração de extrato aquoso do mesocarpo de babaçu (EAB), em curto prazo, por via intraperitoneal, ou em longo prazo, por via oral, induziu elevação da glicose sérica em camundongos. Entretanto, Carvalho Filho (2003), Azevedo (2004) e Silva (2007) constataram que esse efeito hiperglicemiante não acontecia em todas as linhagens de camundongos, sugerindo uma possível relação entre os efeitos do tratamento e a linhagem utilizada no estudo.

Da mesma forma, Pinheiro (2005) mostrou uma forte correlação entre a linhagem de camundongos utilizada e os efeitos do EAB em camundongos portadores do Tumor ascítico de Ehrlich. Segundo os autores, consumo de EAB por camundongos da linhagem C3H/HePas potencializava o crescimento tumoral, enquanto nos camundongos da linhagem C57Bl/6, o tratamento não alterava o padrão de crescimento do tumor. Dessa forma, foi sugerido que, não só o tempo de administração e a idade, mas, sobretudo, o tipo de H-2 dos camundongos poderia interferir no resultado, fortalecendo a hipótese de que o efeito do EAB sobre o sistema imunológico poderia estar relacionado ao Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC).

1.2 Bioquímica sangüínea

O colesterol é necessário à biossíntese de vários hormônios, da vitamina D e do ácido biliar. Pode ser encontrado nas membranas celulares de todos os tecidos do corpo humano e é transportado no plasma sangüíneo de todos os animais. Pequenas quantidades, ou formas clivadas, de colesterol também são encontradas nas membranas celulares das plantas. O colesterol foi identificado pela primeira vez, na forma sólida, em pedras da vesícula biliar, (RAVEL, 1997).

A maior parte do colesterol presente no corpo é sintetizada pelo organismo, apenas uma pequena parte é ingerida na dieta. portanto, a concentração de colesterol no

sangue não é somente aumentada ao se aumentar a ingestão de colesterol na dieta. O colesterol é mais abundante nos tecidos que o sintetizam ou nas membranas das células densamente agrupadas, como ocorre no fígado, medula espinhal, cérebro e placas ateromatosas nas artérias (CAMPBELL, 2000). Tem papel central em muitos processos bioquímicos, porém, é mais conhecido pela associação existente entre doenças cardiovasculares e as diversas lipoproteínas que o transportam, em decorrência do aumento da concentração no sangue (hipercolesterolemia).

Os principais lipídios do plasma humano são colesterol, ésteres do colesterol, triglicérides, e ácidos graxos não-esterificados. Os lipídios são substâncias insolúveis em água e são transportados na forma de lipoproteínas, que podem ser divididas, de acordo com a sua densidade, em cinco classes: quilomícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). A função principal das lipoproteínas plasmáticas parece ser o transporte dos triglicérides e do colesterol dos locais de origem – no intestino (origem exógena) e no fígado (origem endógena) para os locais de armazenamento e utilização (HENRY, 1988).

Os triglicérides e o colesterol entram no plasma na forma de partículas de lipoproteínas ricas em triglicérides (quilomícrons e VLDL) e sofrem mudanças intravasculares devido a ação da enzima lipase lipoprotéica, que hidrolisa os triglicérides e os diglicerídios em ácidos graxos e monoglicerídios. As partículas de superfície, chamadas de fosfolipídios, e as apolipoproteínas são transferidas de VLDL a HDL por interação com a lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) para formar ésteres de colesterol e lisolecitina. Os ésteres do colesterol são subseqüentemente transferidos a IDL, que é convertida em LDL rica em ésteres de colesterol. A LDL é, assim, um produto final do metabolismo da VLDL intravascular (HENRY, 1988; WYNGAARDEN, 1988).

O colesterol é o principal componente da LDL, enquanto é um componente menor das VLDL e HDL (RAVEL, 1997). O HDL deve ser visto como tendo um papel vital no transporte do excesso de colesterol dos tecidos extra-hepáticos de volta para o fígado, por onde é excretado pela bile (transporte reverso do colesterol). A remoção do excesso de colesterol celular das paredes arteriais pode ter um papel crucial em diminuir o acúmulo de colesterol nas mesmas, inibindo a aterogênese (WYNGAARDEN, 1988).

Variações significativas nas dosagens do colesterol e triglicérides limitam sua utilização clínica. Estas variações podem ser analíticas, quando relacionadas à metodologia e

a procedimentos utilizados pelos laboratórios, e pré-analíticas quando relacionadas aos fatores intrínsecos dos indivíduos, tais como: estilo de vida – obesidade, idade, consumo de álcool, estresse, sedentarismo, tabagismo, entre outros uso de medicação incluindo drogas hipolipemiantes; doenças associadas: diabetes, hipotireoidismo, entre outras; procedimento de coleta e preparo da amostra. Os fatores pré-analíticos, especialmente os de origem biológica intra-individual como idade, sexo e raça, são os principais responsáveis pela variabilidade dos resultados (RAPP, 2002).

Segundo a referência para a trigliceridemia desenvolvida pelo Consenso da Conferência do *National Institute of Health* sobre hipertrigliceridemia, valores acima de 400mg/dL são considerados anormalmente altos, devem sofrer futuras avaliações e ser tratados; e valores inferiores a 200mg/dL devem, geralmente, ser aceitos como normais. Pessoas com concentrações de triglicérides plasmáticos de jejum entre 200mg/dL e 400mg/dL apresentam um problema diferente, porque esses níveis estão associados a um risco de cerca de duas vezes maior para o desenvolvimento de doenças vasculares. Para o paciente, estes níveis de triglicérides podem ser normais ou representar um marcador para riscos aumentados de aterogenicidade (RAPP, 2002).

A elevação dos triglicérides no soro está associada ao aumento do risco de doenças coronarianas (NAKAYA, 2002), devido a um efeito aterogênico direto das lipoproteínas ricas em triglicérides, particularmente as VLDL (LIBBY, 2001). O tamanho das partículas de VLDL liberadas depende da disponibilidade de triglicérides no fígado. As VLDL muito grandes, ricas em triglicérides, são secretadas quando está ocorrendo síntese excessiva de triglicérides hepáticos, como na obesidade, na diabetes melito não-insulino-dependente (DMNID) e nos casos de excesso do consumo de álcool. Em contrapartida, as pequenas VLDL são secretadas quando a disponibilidade de triglicérides, mas não a de colesterol, é diminuída (WYNGAARDEN, 1988).

Os valores de referência para o colesterol total, segundo o Programa Nacional de Colesterol Americano (*National Cholesterol Education Program - NCEP*, 1987) são de até 200mg/dL (FRANCESCHINI, 2001). Altos níveis de LDL e baixos níveis de HDL estão relacionados com doenças cardíacas (SACKS, 2007). É desejável ter baixos níveis de colesterol total e LDL na circulação sangüínea, mas também é desejável ter uma concentração tão alta quanto possível do colesterol na forma de HDL (ABBASI, 2000).

Elevadas concentrações de triglicérides no soro estão associadas à pelo menos quatro condições patogênicas que aceleram a aterosclerose (RAPP, 2002): diminuição dos

níveis de HDL no soro (ABBASI, 2000); aumento das lipoproteínas remanescentes; pequena elevação na LDL e aumento das condições trombogênicas, sugerindo que a ocorrência de algum tipo de hipertrigliceridemia pode estar relacionada ao aparecimento ou agravamento da aterosclerose (NAKAYA, 2002), sendo que esse risco é maior nas mulheres que nos homens (AUSTIN et al., 1998; SPOSIT, 2001). Quando a elevação de triglicérides é controlada pelo ajustamento do HDL-colesterol e de outros fatores de compensação, os riscos de desenvolver uma doença arterial crônica (DAC) diminuem significativamente.

O aumento de HDL retarda o aparecimento de aterosclerose e conseqüentemente faz a diminuição da progressão das doenças da artéria coronária. A HDL exerce efeito protetor com enzimas antioxidantes que podem prevenir algum processo inflamatório inicial. O papel anti-aterogênico da HDL tem implicações importantes para o controle das doenças cardíacas (LIBBY, 2001). Embora a síntese acentuada de triglicérides possa levar a um aumento da eliminação de triglicérides, o número de partículas de VLDL liberadas não está necessariamente aumentando. Ao contrário, são liberadas partículas maiores de VLDL contendo mais triglicérides (WYNGAARDEN, 1988). A elevação rápida dos triglicérides reflete um incremento nas VLDL. É importante observar que nem todas as VLDL são aterogênicas e a determinação laboratorial dos níveis de triglicérides não distingue entre aterogênicas (pequenas VLDL) e não-aterogênicas (partículas grandes de VLDL) (CULLEN, 2000).

O tumor de Ehrlich possui poucas células inflamatórias e estroma escasso. Um elevado índice mitótico e a grande invasividade caracterizam essa neoplasia (FECCHIO et al., 1990). Esse tumor cresce em cavidades serosas como a abdominal e pleural, bem como em músculos. Não se observa, porém, crescimento em vísceras parenquimatosas, como fígado (FUNG et al., 1988). O tumor de Ehrlich é um bom modelo para estudos envolvendo citologia, por crescer na forma ascítica, o que permite a obtenção de células tumorais isoladas (KLEIN e KLEIN, 1951). Além disso, é um excelente modelo para o entendimento do comportamento dos tumores malignos e para o estudo de compostos com atividade antitumoral (SIGIURA, 1965; HOSSNE, 2002).

Devido a pouca afinidade das células do tumor de Ehrlich por tecidos parenquimatosos, como o fígado, nos propusemos a quantificar os componentes lipídicos, os quais são sintetizados em maior quantidade e armazenados neste órgão (HENRY, 1988).

Muito tem sido publicado acerca do uso de produtos naturais no controle das dislipidemias. O mesocarpo de babaçu é empregado popularmente como antiinflamatório e

suplemento alimentar. Com base nessas considerações investigamos os efeitos da administração oral do EAB sobre os componentes lipídicos e protéicos em camundongos portadores do tumor ascítico de Ehrlich.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar os efeitos do extrato aquoso de mesocarpo de babaçu sobre os componentes lipídicos e protéicos do sangue de camundongos que desenvolveram o tumor ascítico de Ehrlich.

2.2 Específicos

- Determinar o número de células tumorais em camundongos de adultos e idosos desenvolveram o tumor ascítico de Ehrlich após tratamento com extrato de babaçu;
- Dosar colesterol total, colesterol HDL e triglicérides no soro
- Determinar a concentração de proteínas totais e albumina no soro

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos das linhagem C3H/HePas (H-2^k), (10 animais/grupo), com idade de 4 meses (25 a 30 gramas) e 8 meses, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Os animais foram mantidos em temperatura ambiente de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com umidade relativa de 44-56%, em ciclos de claro e escuro de 12 horas, com acesso livre à água e ração. Todo o procedimento descrito foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética Experimental da UEMA. Os animais com quatro meses de idade foram considerados como animais adultos jovens e os com oito meses de idade como adultos idosos.

3.2 Extrato Aquoso do Mesocarpo de Babaçu (EAB)

O extrato foi preparado com 20g de farinha do mesocarpo de babaçu, ressuspenso em 500mL de água filtrada. A suspensão foi submetida à maceração por 24 horas, à temperatura ambiente, sob agitação constante. Em seguida, foi filtrada e a água renovada para mais uma extração de 24 horas. O produto da extração correspondente a 1 litro foi considerado como extrato aquoso do mesocarpo de babaçu (EAB). Para determinação do rendimento e da concentração final do extrato, três alíquotas de 1 mL do EAB foram levadas à estufa até a completa evaporação do solvente com peso seco de aproximadamente 20mg/mL.

3.3 Administração do EAB

Os camundongos receberam por via oral, *ad libitum*, EAB na concentração de 20mg/mL. Estes animais foram divididos em três grupos: o primeiro o recebeu água e ração (Controle), o segundo recebeu água, ração e EAB durante 15 dias e o terceiro água, ração e EAB durante 30 dias.

3.4 Manutenção do tumor de Ehrlich

Para a obtenção das células neoplásicas transplantáveis, camundongos, oito dias depois da inoculação do tumor ascítico de Ehrlich, foram sacrificados, e o fluido ascítico aspirado com auxílio de seringa e agulhas estéreis após excisão da parede abdominal. Este

líquido ascítico foi injetado em outros animais para manutenção do tumor (KLEEB, 1997, NASCIMENTO et al, 2007).

3.5 Tratamento com EAB e implantação do tumor

Os animais com 4 e 8 meses de idade foram tratados por via oral, durante 15 ou 30 dias com EAB. Em todos os casos o extrato foi oferecido em garrafas colocadas nas gaiolas.

Após 48 horas do final do tratamento com EAB, os animais receberam o inóculo de 10^6 células tumorais, via intraperitoneal. O desenvolvimento tumoral foi acompanhado a partir da determinação da variação ponderal e do número total de células tumorais, células de baço e medula, 10 dias após a inoculação do tumor.

3.6 Determinação do número de células tumorais

As células do tumor de Ehrlich foram obtidas com auxílio de seringa e agulha da cavidade peritoneal. Em seguida foram centrifugadas e ressuspensas na proporção de 1:100 em PBS diluídas a 1:2 em azul de Tripán, para determinação do número e da viabilidade celular. O número total de células vivas e mortas foi determinado em câmara de Neubauer, com auxílio de microscópio ótico de luz comum.

3.7 Obtenção do soro

O sangue foi obtido por punção cardíaca ao término do período de administração do EAB por via oral, e 10 dias depois da implantação das células do tumor de Ehrlich por via intraperitoneal.

Após a retração do coágulo as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm durante 10 minutos e o soro obtido foi armazenado a -20°C até a realização dos ensaios.

3.8 Avaliação bioquímica no soro

Os ensaios bioquímicos foram realizados em procedimentos totalmente automatizados - Architect-C8000 Abbott.®

3.8.1 Dosagem de colesterol total: O colesterol total foi dosado pelo método enzimático colorimétrico com colesterol-esterase, colesterol oxidase e reação catalisada pela peroxidase. O ensaio consistiu em adicionar 2,5 µL do soro a cuvetas contendo 240 µL do tampão de reação (Tampão Fosfato 50mmol, pH 7,0, contendo: fenol 24 mmol/L; colato de sódio 500 µmol/mL; azida sódica 15 mmol/L; 4-aminoantipirina 500 µmol/L; colesterol esterase 250 U/L; colesterol oxidase 250 U/L e peroxidase 1000 U/L). As cuvetas foram incubadas por 5 minutos à 37° C e a leitura foi realizada por espectrofotometria a 500/670nm de densidade ótica.

3.8.2 Dosagem de colesterol-HDL: O HDL-colesterol foi dosado com kit HDL-Colesterol Direto FS (Fluido Estável). A determinação do colesterol HDL consistiu em adicionar 2,5 µL do soro a cuvetas contendo 160 µL do tampão R1 de reação (Tampão R1 a 26mmol, pH 7,0, contendo: 4-aminoantipirina 0,6mmol/L; peroxidase 1600 U/L; ascorbato oxidase 1800 U/L; anticorpo de B-lipoproteína anti-humana) e 40 µL de tampão R2 (Tampão R2 pH 7, contendo colesterol esterase 800 U/L, colesterol oxidase 4000 U/L) ; As cuvetas foram incubadas por 6 minutos a 37° C e a leitura foi realizada por espectrofotometria a 660/700nm de densidade ótica.

3.8.3 Dosagem de triglicérides: Os triglicérides foram determinados pelo método enzimático colorimétrico. O ensaio consistiu em adicionar 2,5 µL do soro a cuvetas contendo 200 µL do tampão de reação (Tampão Fosfato 50mmol, pH 6,9; acetato de magnésio 4mmol/L; 4-cloranfenicol 5 mmol/L; 4-aminoantipirina 300 µmol/L; atp 1,0 mmol/L; lipase da lipoproteína 1400 U/L; glicerolquinase 1000 U/L; glicerolfosfato oxidase 1500 U/L; peroxidase 900 U/L; azida sódica 7 mmol/L). As cuvetas foram incubadas por 5 minutos à 37° C e a leitura foi realizada por espectrofotometria à 500/660nm de densidade ótica.

3.8.4 Determinação do Colesterol VLDL: O LDL-colesterol foi calculado pela fórmula de Friedwald LDL-colesterol = colesterol total - (HDL-colesterol + triglicérides/5) para valores de triglicérides inferiores a 400mg/dL segundo Friedwald.

3.9 Análise estatística

Os dados foram expressos como a média ± desvio padrão (S.D.). Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de *Newman Keuls*, sendo considerado como nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Determinação do número de células tumorais

O número de células tumorais foi quantificado em camundongos C3H/HePas tratados com EAB. Conforme mostra a Figura 1, o tratamento com EAB induziu aumento significativo no número de células tumorais, em camundongos com 4 meses de idade, tratados por 15 ou por 30 dias com EAB em comparação ao controle e aos animais da mesma idade.

Nos animais com 8 meses de idade somente o tratamento durante 15 dias teve efeito sobre o desenvolvimento tumoral ao aumentar o número de células tumorais.

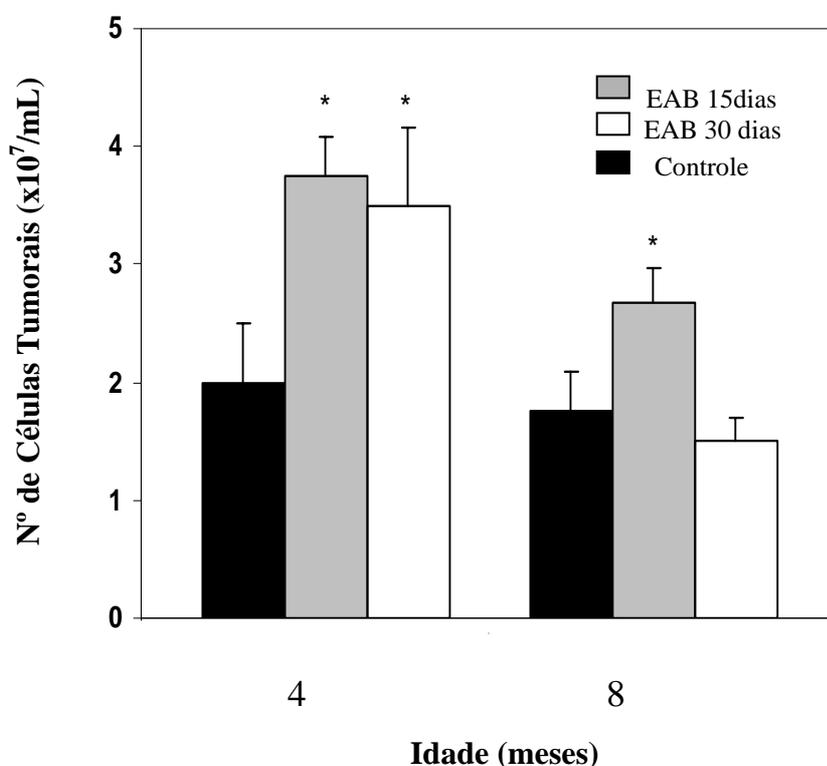


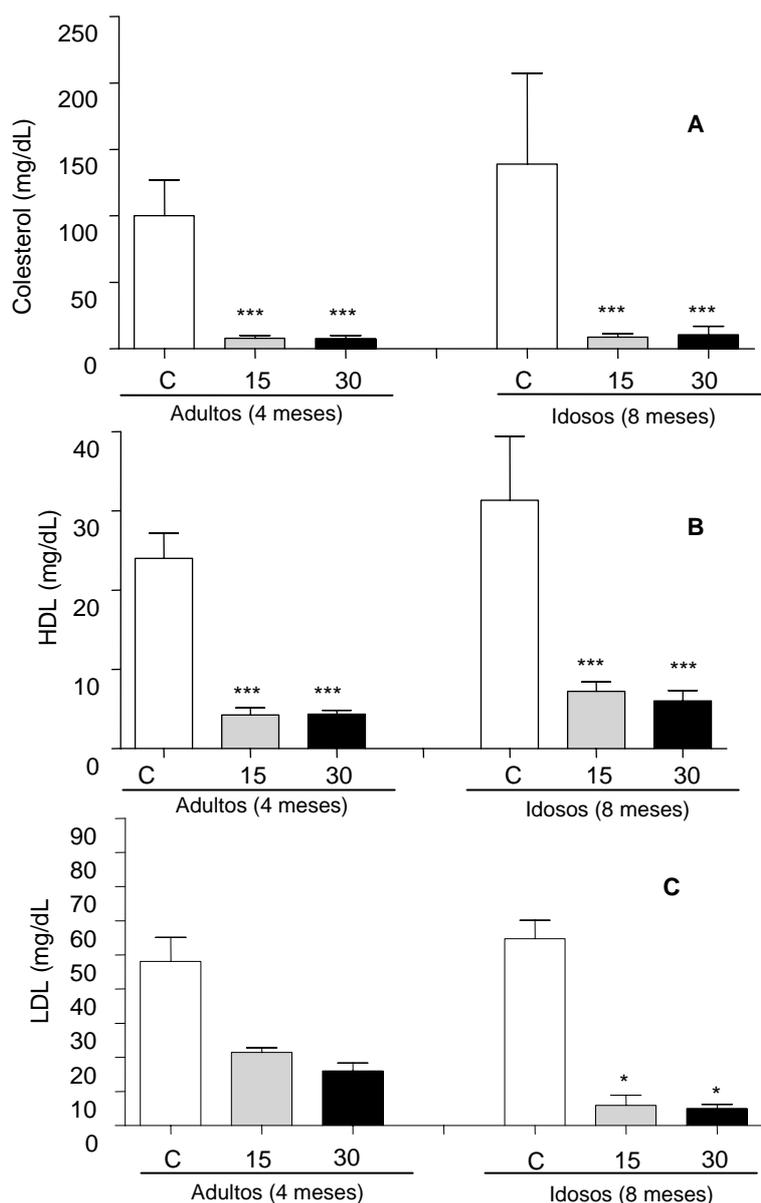
FIGURA 1: Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (EAB) sobre o número de células tumorais em camundongos C3H/HePas tratados ou não por via oral, *ad libitum*, durante 15 e 30 dias, com EAB (5 mg/kg). Ao final do tratamento os animais receberam 10⁶ células do Tumor de Ehrlich, via ip. Após 10 dias os animais foram sacrificados para obtenção das células tumorais. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo. (*) $p < 0,05$ em relação ao controle de mesma idade.

4.2 Avaliação bioquímica dos animais

4.2.1 Concentração sérica de colesterol total e frações

O tratamento prévio com EAB, durante 15 e 30 dias, reduziu significativamente a concentração de colesterol total no soro independentemente da idade dos animais (Figura 2A). O mesmo ocorreu na avaliação da concentração de HDL (Figura 2B) e LDL (Figura 2C).

FIGURA 2: Efeito do tratamento oral com mesocarpo de babaçu sobre a concentração do colesterol total (A) e das frações HDL-C (B) e LDL-C (C) em camundongos C3H/HePas, adultos (4 meses de idade) e idosos (8 meses) tratados, via oral, *ad libitum*, durante 15 e 30 dias, com EAB (5 mg/kg) antes desenvolverem o tumor de Ehrlich. As avaliações foram realizadas dez dias após o desenvolvimento do tumor. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo. (*) $p < 0,05$ e (*) $P < 0,001$ em relação ao controle de mesma idade.**



4.2.2 Concentração de triglicérides

A concentração de triglicérides foi significativamente maior nos dois grupos tratados durante 30 dias, independentemente da idade dos animais como mostra a Figura 5.

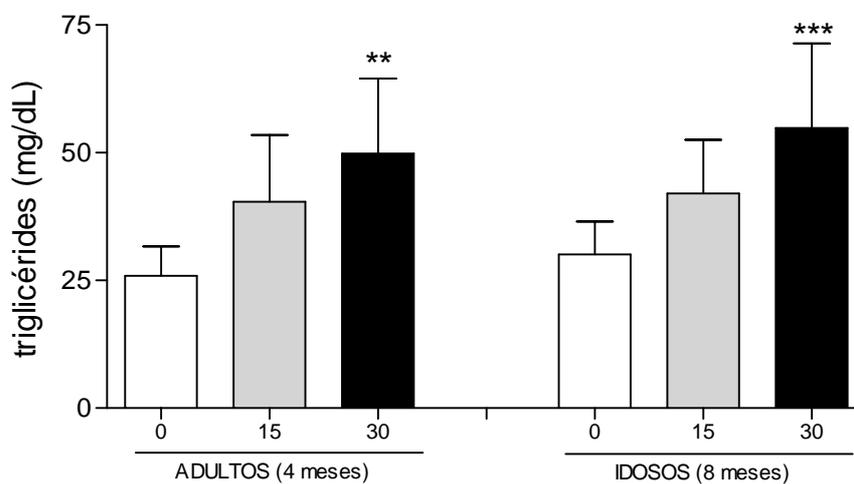


FIGURA 3: Efeito do tratamento oral com mesocarpo de babaçu (EAB) sobre a concentração de triglicérides em camundongos C3H/HePas, adultos (4 meses) ou idosos (8 meses), tratados ou não, via oral *ad libitum*, durante 15 e 30 dias, com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (5 mg/kg). Ao final do tratamento os animais receberam 10^6 células do Tumor de Ehrlich, via ip. Após 10 dias foram sacrificados para obtenção do soro. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo. (**) $p < 0,01$ e (***) $P < 0,001$ em relação ao controle de mesma idade

4.2.3 Colesterol VLDL

A Figura 4 mostra que a relação colesterol / triglicérides foi maior do que o controle em todos os grupos tratados com EAB. É também possível notar que o aumento teve relação direta com o tempo de tratamento, mostrando relação entre a dose e o efeito.

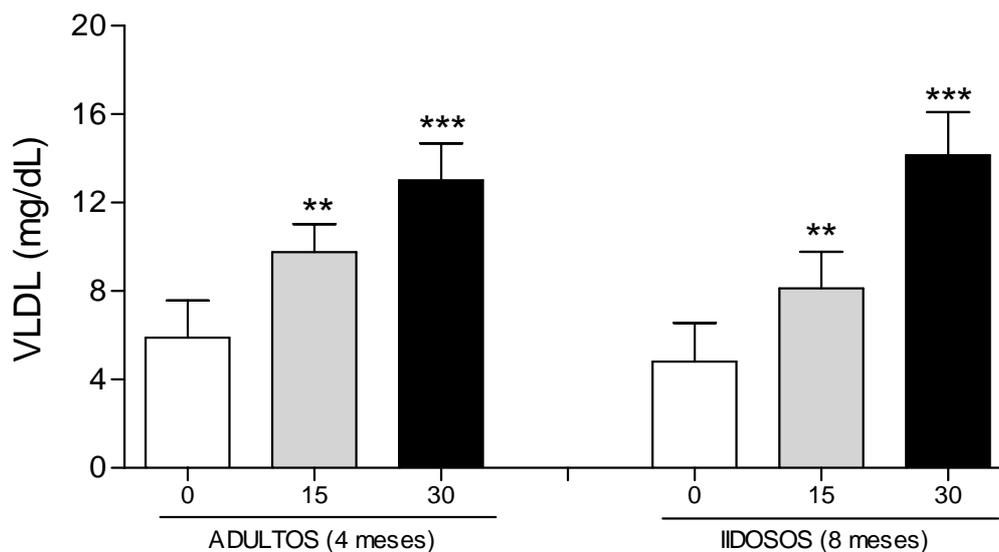


FIGURA 4: Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (EAB) sobre a concentração de VLDL em camundongos C3H/HePas com tumor de Ehrlich. Animais adultos (120 dias) ou idosos (240 dias) foram tratados ou não por via oral, *ad libitum*, durante 15 ou 30 dias, com EAB (5 mg/kg). Ao final do tratamento os animais receberam 10^6 células do Tumor de Ehrlich, via ip. Após 10 dias foram sacrificados para obtenção do soro. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo. (**) $p < 0,01$ e (***) $P < 0,001$ em relação ao controle de mesma idade.

4.2.4 Concentração sérica de proteínas totais, albumina e globulinas

O tratamento com EAB durante 15 ou 30 dias, aumentou significativamente a concentração sérica de proteínas totais em animais idosos, com 8 meses de idade, mas não alterou esse mesmo parâmetro nos animais adultos com 4 meses de idade (Figura 5A).

Por outro lado, é possível observar que o mesmo tratamento não induziu variações significativas na concentração de albumina (Figura 5B) nem de globulina (Figura 5C).

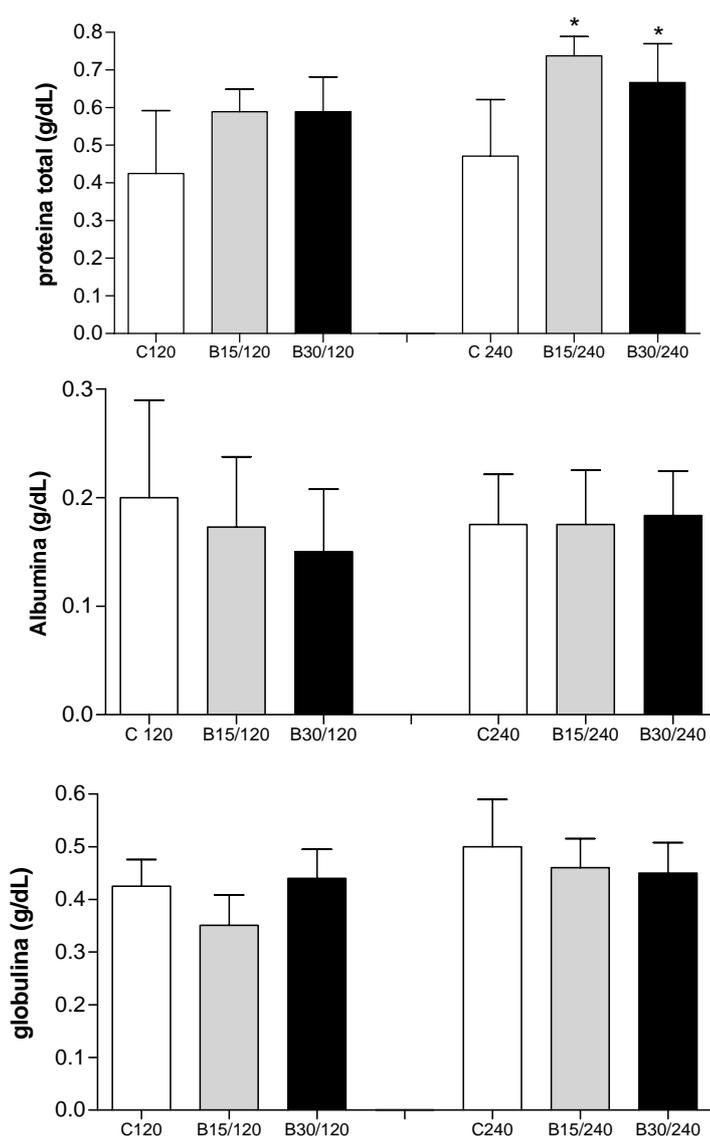


FIGURA 5: FIGURA 4: Efeito do tratamento oral com extrato aquoso de mesocarpo de babaçu (EAB) sobre a concentração de VLDL em camundongos C3H/HePas com tumor de Ehrlich. Animais adultos (120 dias) ou idosos (240 dias).

5 DISCUSSÃO

A farinha do mesocarpo de babaçu (*Orbignya phalerata*, Arecaceae) é amplamente utilizada pela população maranhense para tratar feridas crônicas, colites duodenais, úlceras, artrite, cólicas menstruais, esgotamento nervoso, celulite, varizes e no tratamento de tumores. Essa farinha também é utilizada pela população, dissolvida em água ou diretamente na comida, como suplemento alimentar (RÊGO, 1995; BARROQUEIRO et al., 2001; CARVALHO FILHO, 2003; NASCIMENTO et al., 2006).

Macrófagos peritoneais estimulados com EAB apresentam aumento da capacidade fagocítica e da produção tanto de peróxido de hidrogênio como de óxido nítrico de forma dose-dependente (NASCIMENTO et al., 2006). Assim, considerando que o EAB exerce um efeito modulador sobre a ativação de macrófagos e proteínas específicas e ainda o efeito pró-tumoral do extrato em camundongos C3H/HePas, (Pinheiro, 2005) este estudo investigou os efeitos da administração oral do extrato aquoso de mesocarpo do babaçu durante 15 e 30 dias, sobre as concentrações séricas de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicérides em camundongos adultos (4 meses) e idosos (8 meses) transplantados com células de tumor de Ehrlich. Foram adicionalmente quantificadas as concentrações séricas de proteínas totais, albumina e globulinas, na perspectiva de que estas informações pudessem contribuir para um melhor entendimento dos efeitos do EAB sobre organismo murino.

Embora a maioria dos trabalhos sobre desenvolvimento tumoral utilize camundongos jovens, com 30 a 60 dias de idade, nós optamos aqui por avaliar o desenvolvimento tumoral e o efeito do mesocarpo de babaçu empregando animais adultos, com idade de 120 dias, e animais idosos, com idade de 240 dias. Esse estudo foi desenvolvido com base na premissa que cerca de 50% dos diagnósticos de câncer humano são feitos em pessoas com idade maior do que 65 anos (GOECKLER et al., 2003).

O efeito potenciador do crescimento tumoral nos animais C3H/HePas apresentou peculiaridades: Nos animais com 4 meses o efeito foi independente do tempo de tratamento e nos animais idosos com 8 meses, o efeito só foi observado no grupo tratado por 15 dias (Figura 1). É possível que o tratamento tenha efeito cumulativo, ou ainda que, os animais idosos desenvolvam tolerância ao tratamento, o que terminaria por se refletir nos resultados obtidos. No entanto, essa hipótese precisa ainda ser melhor investigada.

O tratamento com EAB alterou significativamente a concentração sérica de lipídios, incluindo colesterol total e as frações HDL e LDL em animais jovens e idosos (Figura 2).

As maiores reduções de colesterol total foram observadas nos animais idosos que fizeram uso oral da suspensão de mesocarpo por 15 e 30 dias (Figura 2A). Esses resultados confirmam os anteriormente descritos por Matos (2006) e Pinheiro (2008) os quais detectaram também significativa redução na concentração sérica de colesterol em animais desta mesma linhagem, submetidos ao tratamento com EAB, em vários intervalos. Assim, é possível inferir que o tratamento com EAB afetou o metabolismo dos lipídios em animais que desenvolveram o tumor de Ehrlich, da mesma forma do observado anteriormente em outros protocolos de tratamento utilizando animais sem tumor.

O colesterol interfere nas interações cooperativas entre os fosfolipídios (LADBROOKE, WILLIAMS e CHAPMAN, 1968; CHAPMAN, 1975; HAEFNER et al, 1984) e a concentração de colesterol circulante tem relação direta com a sua concentração na membrana celular e com a modulação de sua fluidez (ANDERSON, 1993). Por isso, variações na concentração de colesterol podem alterar tanto a expressão de receptores como a secreção de produtos (XIE, COHEN e LINDA, 1999).

Outro parâmetro do perfil lipídico avaliado foi à concentração sérica da lipoproteína de alta densidade (HDL). Considerando que o fígado é um local importante de armazenamento e metabolização dos lipídios, foi possível evidenciar que o tratamento com EAB durante 15 e 30 dias, em animais com o tumor ascítico de Ehrlich, diminuiu significativamente a concentração sérica de HDL, tanto em animais adultos, quanto em idosos (Figura 2B). A redução de HDL tem sido relacionada à diminuição da atividade da enzima de origem hepática, a lecitina colesterol aciltransferase plasmática, a qual atua na catalisação do colesterol na superfície da lipoproteína de alta densidade plasmática (HDL) promovendo o efluxo de colesterol dos tecidos periféricos, uma vez que a acil CoA é responsável pela esterificação do colesterol no fígado (RAVEL, 1997).

Além disso, o tratamento com EAB em animais idosos também induziu uma acentuada redução na concentração de LDL (Figura 2C). Dessa forma, é possível que a diminuição de colesterol observada em animais com tumor de Ehrlich seja decorrente da redução da principal função das lipoproteínas plasmáticas, que é o transporte de triglicérides e do colesterol dos locais de origem – no intestino (origem exógena) e no fígado (origem endógena) para os locais de armazenamento e utilização (HENRY, 1988),

A nossa suposição para explicar essa drástica redução de colesterol total e frações fundamenta-se na hipótese de que há um elevado consumo de lipídios durante a evolução do tumor de Ehrlich, por conta da invasividade desse tipo de carcinoma. Adicionalmente, há uma elevada concentração de colesterol no fluido ascítico como forma de favorecer a proliferação das células tumorais (BRENNEMAN et al, 1974). Assim, é possível que o consumo de colesterol por ser aumentado no fluido ascítico sofra redução na circulação e que essa mobilização seja ainda potenciada pelo o tratamento com EAB. Durante a evolução do tumor de Ehrlich a proliferação celular se intensifica em presença de prostaglandinas (COCKERILL, 1995; ABBASI, 2000). Considerando que as prostaglandinas são derivadas de uma cascata de reações na qual o consumo de colesterol é exacerbado, é razoável supor que o tratamento com EAB tenha aumentado ainda mais esse consumo.

Na verdade, como o EAB pode ter induzido aumento no número de células por reduzir o colesterol total, e aumentar a glicose sanguínea (dados não mostrados), visto que o aumento no número de células tumorais tem sido freqüentemente associado à redução de colesterol (RAMACHANDRAN, et al, .1986). Segundo esses autores foi observado que a inibição na síntese de colesterol pelas células endoteliais favorecia a adesão de células tumorais, estimulando, conseqüentemente a infiltração dessas células no organismo – metástase.

A concentração de triglicérides foi significativamente maior após 30 dias de tratamento com EAB, independentemente da idade dos animais (Figura 3), o que se refletiu na concentração de VLDL, que apresentou cinética semelhante. Nesse caso ocorreu também, nos animais adultos, importante redução do c-HDL. Em geral, uma intensa hipolipidemia é observada quando macrófagos esplênicos aumentam os seus índices fagocíticos, pois essa atividade resulta em acúmulo de grande quantidade de gordura, o que também poderia explicar os resultados encontrados. Outra explicação para a redução lipídica seria a depuração plasmática feita pela fagocitose de estruturas encontradas nas lipoproteínas HDL e LDL (COOPER, 1985). Na verdade, muitas hipóteses podem ser levantadas quanto à redução lipídica observada, mas o fato é que o EAB atuou como agente hipolipemiante.

O tratamento com EAB em animais com tumor de Ehrlich mostra que esse extrato deve ser evitado por pacientes que apresentem etiologia semelhante ao tumor aqui estudado tendo em vista que o extrato apresenta efeito estimulador do crescimento tumoral. Por outro lado, o importante efeito hipolipemiante do extrato deve ser melhor investigado.

6 CONCLUSÕES

Os resultados permitiram concluir que:

- O tratamento com EAB apresentou efeito hipolipemiante ao reduzir a concentração sérica de colesterol total e das frações HDL, LDL em animais adultos e idosos com tumor de Ehrlich o que pode estar também relacionado ao aumento de células tumorais e a sua maior invasividade;
- O tratamento com EAB durante 30 dias aumentou a concentração de triglicérides independentemente da idade dos animais.
- Os valores de VLDL foram maiores do que o controle, de forma tempo dependente.
- O EAB não deve ser usado por pessoas com tumores de etiologia semelhante ao tumor ascítico de Ehrlich, pois o extrato, além de aumentar a proliferação de células tumorais, afeta vários parâmetros bioquímicos do sangue.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, F. High carbohydrate diets, triglyceride-rich lipoproteins, and coronary heart disease risk. **Am J. Cardiol.**,85: 45-48, 2000.
- ANDERSON, A. B. People and the Palm Forest. Biology and utilization of babassu forest in Maranhão, Brazil. University of Florida, **Botany**, 156, 1993.
- ANDERSON, A. B.; BALICK, M. J. Taxonomy of babassu complex (*Orbigyna* ssp. (PALMAE). **System. Bot**, **13**: 32-50, 1988.
- AUSTIN, M.A.; HOKANSON, J.E.; EDWARDS, K.L. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. **Am J Cardiol.**, **81**: 7B-12B, 1998.
- AZEVEDO, A.P.S. **Modulação da resposta inflamatória pelo mesocarpo de babaçu**. 2004. 54 p. (Dissertação de Mestrado de Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA.
- BADALOO, A., BOYNE, M., REID, M.; PERSAUD, C.; FORRESTER, T., MILLWARD, D.J.; JACKSON, A.A. Dietary protein, growth and urea kinetics in severely malnourished children and during recovery. **J Nutr.**, **129**: 969- 79, 1999.
- BALICK, M.J. As palmeiras economicamente importantes do Maranhão In: Prance, G.T. **Manual de Botânica Econômica do Maranhão**. São Luís, MA. Gráfica Universitária da Universidade Federal do Maranhão, 1988. p. 199-206.
- BARROQUEIRO, E.S.B. **Efeito de babaçu sobre a população de anticorpos auto-reativos**. 2001; 65 p. (Dissertação de Mestrado de Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA.
- BARROQUEIRO, E. S. B; CHAGAS, A.P; NASCIMENTO, F.R.F.; GUERRA, R.N.M. B cell, macrophage activation and the diabetogenic effect of babassu mesocarp. **Rev. Bras. Med. Trop.** , **34**: 72 - 78, 2001.
- BRENNEMAN, D. E; McGEE, R.; SPECTOR, A. A. Cholesterol Metabolism in the Ehrlich Ascites Tumor. **Cancer Res.** **34**: 2605-2611, 1974
- CAMPBELL, N. Colesterol: amigo ou inimigo? **Wise Traditions**, **8**: 20-26. 3, 2007.
- CARLOS, I.Z.; LOPES, F.C.M; BENZATTI, F.P; CARLI, C.B.A; MARQUES, M.F; JORDÃO JUNIOR, C.M; RINALDO, D; CALVO, T. R; SANTOS, L.C; VILEGAS, W. Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) na resposta imune. **Rev Bras Farmacogn.**, **15**: 44-45, 2005.

- CARVALHO FILHO, C. J. **Influência das dietas ricas em carboidrato sobre a produção de anticorpos auto-reativos em camundongos**. 2003. 65 p. (Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA.
- CHAPMAN, D. Phase transitions and fluidity characteristics of lipids and cell membranes. **Q. Rev. Biophys**, **8**: 185 - 235, 1975.
- COCKERILL, G. High density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, **15**: 1987-1994, 1995.
- COOPER, J.E. Ethics and laboratory animals. **Vet Rec**; **166**: 594-595, 1985.
- CULLEN, P. Evidence that triglycerides are an independent coronary heart disease risk factor. **Am J Cardiol.**, **86**: 943-949, 2000.
- FERREIRA, S. **Efeito do mesocarpo de babaçu sobre a formação de granuloma e migração celular**, 19 p., 2004 (Monografia de Graduação - Ciências Biológicas). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA.
- FRANCESCHINI, G. Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. **Am J Cardiol.**, **88**: 9-13, 2001.
- FUNG, K. P; LAM, W. P; WEN, H. L; CHOY, Y. M; LEE, C.Y. Effect of hyperthermia on growth of Ehrlich ascites tumor cells. **Cancer Biochem. Biophys.**, **10**: 117 - 124, 1988.
- GAITAN, E.; COOKSEY, R.C.; LEGAN, J.; DAY, R.H.; INGBAR, S.H.; MEDEIROS-NETO, G. Antithyroid effects in vivo and in vitro of babassu and mandioca: a staple food in goiter areas of Brazil. **Eur. J. Endocrinol.**, **131**: 138-144, 1994.
- GARROS-ROSA, I. Estudo químico qualitativo e quantitativo do resíduo amiláceo do coco babaçu. **Rev. Quim. Ind.**, **647**, 15-18, 1986.
- GOECKLER RIES, L. A.; REICHMAN, M. E.; LEWIS, D.R.; HANKEY, B.F.; EDWARDS, B. K. Cancer survival and incidence from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) program. **Oncologist**, **8**: 541, 2003.
- GUERRA, R. N. M; BRITO, M. R; SOARES, S. M; SILVA, M-N. Produção de anticorpos autoreativos em animais tratados com extrato bruto do mesocarpo de babaçu ou com suas frações. **Anais da XVI Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental**, Caxambu, MG, Brasil. Resumo: 154, 1998.

- GUERRA, R.N.M; BARROQUEIRO, E.S.B; CHAGAS, A. P. Increase of self-antibodies and glucose levels in mice treated with babassu (*Orbignya phalerata*, Palmae). **Scand. J. Immunol.**, **54**: 66, 2001.
- HAEFFNER, E. W; HOFFMANN, C. J. K; STOEHR, M; SCHERF, H. Cholesterol-induced growth stimulation, cell aggregation, and membrane properties of ascites tumor cells in culture. **Cancer Res**, **44**: 2668-2676, 1984
- HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18° ed. São Paulo: Manole, 1998.
- HOSNE, R. S. Tumor hepático experimental (VX-2) em coelho. Implantação do modelo no Brasil. **Acta Cirurg. Bras.**, **17**: 208, 2002.
- KLEIN, G; KLEIN, E. The transformation of a solid transplantable mouse tumor into an "ascite tumor". **Cancer Res.**, **11**: 466 - 469, 1951.
- LADBROOKE, B. D; WILLIAMS, R. M; CHAPMAN, D. Studies on lecithin-cholesterol-water interactions by differential scanning calorimetry and X-ray diffraction **Biochim. Biophys. Acta**, **150**: 333-340, 1968.
- LIBBY, P. Managing the risk of atherosclerosis: the role of highdensity lipoprotein. **Am J Cardiol.**, **88**: 3N-8N, 2001.
- NAKAYA, N. Hypertriglyceridemia as a cause de atherosclerosis. **Nipann Rinsha**, **60**: 860-867, 2002.
- NASCIMENTO, F.R.F; BARROQUEIRO, E.S.B; AZEVEDO, A.P.S; FERREIRA, S.C.P; SILVA, L.A; MACIEL, M.C.G; RODRIGUEZ, D; GUERRA, R.N.M. Macrophage activation by *Orbignya phalerata* (babassu). **J. Ethnopharmacol**, **103**: 53-8, 2006.
- PINHEIRO, M.T. **Efeito do mesocarpo de babaçu em camundongos jovens, adultos e idosos com tumor de Ehrlich**. 2005, 31p. Monografia. (Graduação em Farmácia - Bioquímica) Universidade Federal do Maranhão.
- PINHEIRO, C.U.B; FRAZÃO, J. M. F. F. Integral Processing Babassu palm (*Orbignya phalerata*, Aracaceae) Fruits: Village Level Production in Maranhão, Brazil. **Economic Botany**, **49**: 31-39, 1995.
- PINHEIRO, M. T.; GUEDELHA, N. N. D.; CHAGAS, A. P. Babassu effect on young and old mice with Ehrlich ascitic tumor. In: Annals of XXIX Meeting of Brazilian Society of Immunology. .Ouro Preto. MG. **Resumo**: 86, 2004.

- PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. v. 1, Rio de Janeiro: Imprensa nacional, 1984. 747 p.
- RAMACHANDRAN, C. K. SANDERS,K; MELNYKOVYCH, G. Enhancement in the Adhesion of Tumor Cells to Endothelial Cells by Decreased Cholesterol Synthesis. **CANCER Res**; **46**: 2520-2525, 1986.
- RAPP, R.J. Hypertriglyceridemia: a review beyond low-density lipoprotein. **Cardiol Rev**, **10**: 163-72, 2002.
- RAVEL,R **Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- RÊGO, T. J. A. **Fitogeografia da plantas medicinais no Maranhão**. EDUFMA, São Luís, MA, 1995.
- ROSENTHAL, F.R.T. O amido do coco de babaçu, algumas propriedades dos grânulos e das pastas. **Rev. Bras. Tecnol.**, **6**: 29 - 33, 1975.
- SACKS, F.M. The relative role of low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in coronary artery disease: evidence from large-scale statin and fibrate trials. **Am J Cardiol.**, **88**: 14N-8N, 2007.
- SIGIURA K. Tumor transplantation. In: GRAY, W. I. **Methods of animal experimentation**. New York: Academic Press. v. 2, p. 171-222, 1965.
- SPOSIT, A.C. Triglyceride and lipoprotein (a) are markers of coronary artery disease severity among postmenopausalwomen. **Maturitas**, **39**: 203-208, 2001.
- SPRECHER, D.L. Triglycerides as a risk factor for coronary artery
- SILVA, T. A. **Efeito de dietas hiperglicídicas sobre o desenvolvimento de diabetes em camundongos**. 2007, 43 p. (Monografia de graduação em Nutrição) – Universidade Federal do Maranhão.
- VILELA, A. L. M.. **Avaliação dos efeitos antioxidantes e fitoterápicos dos extratos de polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**, Brasília: UnB, 2006. [Tese de Mestrado].
- WYNGAARDEN, J.B; SMITH, L.H. **Cecil Tratado de Medicina Interna**, 18. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

WOLFE, R.R; GOODENOUGH, R.D; BURKE, J.F; WOLFE, M. H. Response of protein and urea kinetics in burn patients to different levels of protein intake. **Ann Surg.**, **197**: 163-171, 1983.

XIE, S; COHEN, D; LINDA, H. Chen Effects of fish oil on cytokines and immune functions of mice with murine AIDS. **J. Lipid Res.**, **39**: 1677- 1687, 1999.