



RENORBIO

Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

Maria do Carmo Lacerda Barbosa

**EFEITO DO ÓLEO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata*) NA
MICROCIRCULAÇÃO:** estudo experimental e avaliação
clínica em famílias de quilombolas quebradeiras de coco.



São Luís
2012

MARIA DO CARMO LACERDA BARBOSA

EFEITO DO ÓLEO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata*) NA MICROCIRCULAÇÃO:
estudo experimental e avaliação clínica em famílias de quilombolas quebradeiras de
coco.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

Co- Orientadora: Prof. Dra. Eliete Bouskela

São Luís-MA
2012

Barbosa, Maria do Carmo Lacerda.

Efeito do óleo de babaçu (*Orbignya phalerata*) na microcirculação: estudo experimental e avaliação clínica em famílias de quilombolas quebraqueiras de coco / Maria do Carmo Lacerda Barbosa - 2012.

109 f.

Orientador: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento
Co-Orientadora: Profa. Dra. Eliete Bouskela

Tese (Doutorado) - Rede Nordeste de Biotecnologia- Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, 2012.

1. Babaçu 2. *Orbignya phalerata* 3. Microcirculação 4. Afrodescendentes I. Nascimento, Maria do Desterro Soares Brandão (orient.). Bouskela, Eliete (co-orient.). III. Título.

CDU:634.616:612.17

MARIA DO CARMO LACERDA BARBOSA

EFEITO DO ÓLEO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata*) NA MICROCIRCULAÇÃO: estudo experimental e avaliação clínica em famílias de quilombolas quebradeiras de coco.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de doutor em Biotecnologia-Área de Concentração em Biotecnologia em Saúde.

Aprovada em / /2012

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento
UFMA- (Orientadora)

Profa. Dra. Eliete Bouskela
UFMA - (Co-Orientadora)

Prof. Dr. Anderson Pinto Almeida
(Examinador)

Prof. Dr. Márcio Moyses Oliveira
(Examinador)

Sonia Maria de Farias Freire
(Examinador)

Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal Mesquita
(Examinador)

“Todas as coisas, na primeira tentativa, são difíceis de serem manuseadas. O arco é difícil para esticar, a alabarda é difícil de empunhar. Quando você se acostuma com a arma, torna-se fácil manuseá-la.”

The Book of Five Rings

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu esposo José Nicodemo Barbosa pelo grande incentivo emocional, espiritual e financeiro durante todas as fases do meu doutoramento. Incentivos estes, sem os quais, esta importante etapa da minha vida acadêmica não seria possível.

AGRADECIMENTOS

A Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) pela oportunidade ímpar para desenvolvimento de pesquisas e intercâmbio científico entre universidades do nordeste, em especial ao ponto focal do Maranhão sob a coordenação do prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges.

A Fundação de Apoio a Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro na execução deste Projeto.

A Pró-reitora de Extensão da Universidade Federal do Maranhão – PROEX que possibilitou a atividade conjunta de pesquisa e extensão nas comunidades quilombolas de Codó-MA com a concessão de bolsas aos alunos de graduação.

Ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde e ao Departamento de Morfologia pelo apoio durante todo o período do doutorado.

A minha orientadora profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento pelo seu papel fundamental na concepção e desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

A profa. Dra. Eliete Bouskela, minha co-orientadora, e a toda sua equipe do Laboratório Bio Vasc – UERJ, em especial Fátima Cyrino e Graça Souza que carinhosamente nos acolheram no momento mais difícil do desenvolvimento da nossa pesquisa, possibilitando a concretização final deste projeto.

A Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa e suas alunas de iniciação científica, em especial Débora Santos pela imprescindível colaboração.

As comunidades quilombolas de Codó por nos permitir a realização desta pesquisa e pela carinhosa acolhida de nossa equipe. O nosso muito obrigado.

A Secretaria de Saúde de Codó pelo apoio logístico e autorização para a realização dos exames de laboratório pelo Posto de Atendimento Médico-PAM daquele Município.

A bibliotecária Madalena Costa do UDI Hospital, aos meus alunos da iniciação científica e extensão, Mirza, Luíz Felipe, Dayane e aos colaboradores Caio, Gustavo Marineli e a amiga Selma pelo empenho neste projeto.

Aos meus filhos Felipe, Marcus e Raphael e ao meu marido Nicodemo pela alegria de tê-los como incentivadores.

E o último, mas não o menos importante, que é Deus, aquele que nos permite a vida e todas as experiências pelas quais precisamos passar.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1	A microcirculação.....	14
2.2	Lipídios e disfunção endotelial.....	16
2.3	Óleos vegetais.....	21
2.4	O óleo de babaçu	23
2.5	A bolsa da bochecha de hamster como modelo experimental.....	28
2.6	Os afrodescendentes quilombolas.....	30
3	OBJETIVOS	32
4	CAPÍTULO I (EFFECTS OF BABASSU NUT OIL ON ISCHEMIA / REPERFUSION-INDUCED LEUKOCYTE ADHESION AND MACROMOLECULAR LEAKAGE IN THE MICROCIRCULATION: OBSERVATION IN THE HAMSTER CHEEK POUCH).....	33
5	CAPÍTULO II (DYSLIPIDEMIA AND CARDIOVASCULAR RISK IN AFRODESCENDENTS: A STUDY IN QUILOMBOLA COMMUNITIES OF MARANHÃO, BRAZIL)	47
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
	REFERÊNCIAS	67
	APÊNDICE A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO...	76
	APÊNDEICE B : PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	78
	ANEXO A: QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO-DEMOGRÁFICO E DE AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA.....	83
	ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	86
	ANEXO C – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS	87
	ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO (LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE)	88
	ANEXO E – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO (BMC PUBLIC HEALTH).....	97

BARBOSA, Maria do Carmo Lacerda. **Efeito do óleo de babaçu (*Orbignya phalerata*) na microcirculação: estudo experimental e avaliação clínica em famílias de quilombolas quebradeiras de coco.** 2012. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

RESUMO

O babaçu é o nome genérico conferido às palmeiras oleaginosas da família Arecaceae, gênero *Orbignya* e *Attalea*. A espécie *Orbignya phalerata* (*O. phalerata*), o babaçu verdadeiro se encontra densamente distribuído na Amazônia e na Mata Atlântica do estado da Bahia. No Maranhão, cerca de 300 mil famílias de quebradeiras de coco sobrevivem do agroextrativismo do babaçu e utilizam os seus subprodutos na alimentação. As amêndoas do babaçu apresentam elevado teor de lipídios, sendo consideradas de alto potencial para produção de óleo vegetal. O óleo não refinado apresenta em sua composição além de triglicerídeos, os chamados “componentes menores” que são fosfolipídios, pigmentos, esteróis, tocoferóis, traços de algumas outras substâncias e metais. No Brasil, pouco se conhece sobre os efeitos do óleo de babaçu na saúde humana e seus efeitos na microcirculação. O capítulo I teve como objetivo avaliar os efeitos do óleo de babaçu sobre a permeabilidade microvascular e a interação leucócito-endotélio induzida pela isquemia-reperfusão (I/R), utilizando a bolsa da bochecha de hamster como modelo experimental. Os resultados mostraram que os valores do extravasamento de macromoléculas após lesão (I/R) foi significativamente menor nos animais tratados com óleo de babaçu não refinado nas doses de 0,6 ml (BO-6) e 0,18ml(BO-18) do que no controle tratado com óleo mineral (MO) ($P<0.001$). O aumento da permeabilidade induzida pela histamina foi significativamente menos pronunciado no grupo BO do que no MO. Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à adesividade leucocitária, concentração de fator de necrose tumoral (TNF), interleucina (IL)1 e 6. O capítulo II avaliou os fatores de risco associados à ocorrência de dislipidemia em famílias de quilombolas quebradeiras de coco pertencentes a comunidades do município de Codó-Maranhão. Trata-se de um estudo transversal em que se analisaram os fatores de risco associados à dislipidemia, síndrome metabólica (SM) e o risco de morte por eventos cardiovasculares de acordo com o score de Framingham. Razões de prevalência e intervalos de confiança de 95% foram estimados pela regressão de Poisson. O estudo mostrou alta prevalência de dislipidemia (72,28%) e de hipertensão arterial sistêmica (43,07%). Houve predomínio de hipertrigliceridemia isolada (38,61%) com valores de HDLc (high density Lipoprotein, colesterol) LDLc (low density Lipoprotein, colesterol) normais na maioria dos indivíduos. A prevalência de SM e de risco de morte por eventos cardiovasculares de acordo com o score de Framingham foi baixa nesta população. Não houve significância estatística entre dislipidemia e hipertensão, tabagismo e escolaridade. Apesar da prevalência elevada de hipertrigliceridemia isolada, a baixa frequência de outros fatores de risco associados à dislipidemia determinou baixa prevalência de SM e de risco cardiovascular pelo score de Framingham nas comunidades quilombolas de Codó-MA.

Palavras-chave: Babaçu, *Orbignya phalerata*, microcirculação, afrodescendentes.

BARBOSA, Maria do Carmo Lacerda. **Effects of babassu nut oil (*Orbignya phalerata*) on ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion and macromolecular leakage in the microcirculation: observation in the hamster cheek pouch.** 2012. Thesis (PhD in Biotechnology). Northeast Biotechnology Network Graduate Program in Biotechnology - Federal University of Maranhão, São Luís, 2012.

ABSTRACT

Babassu is the popular name given to the oilseeds palms that belongs to the Arecaceae Family, *Orbignya* and *Attalea* gender. The *Orbignya phalerata* (*O. phalerata*) species, the genuine babassu, is densely distributed in the Amazon region and Atlantic Forest from Bahia State in Brazil. In Maranhão State, about 300 thousand coconut breakers survive through the agroextractivism of babassu and use their byproducts in their feeding. The kernels of babassu have high lipid content and is considered as high potential for vegetable oil production. The unrefined oil has in its composition as well as triglycerides, the so called "minor components" which are phospholipids, pigments, sterols, tocopherols and trace of some substances and metals. In Brazil, little is known about the effects of babassu oil for human health and its effects on microcirculation. The chapter I had the objective to evaluate the effects of babassu oil on microvascular permeability and leukocyte-endothelial interactions induced by ischemia/reperfusion(I/R) using the hamster cheek pouch microcirculation as experimental model. The results showed that the mean value of I/R-induced microvascular leakage, determined during reperfusion, was significantly lower in the BO-6 and BO-18 groups than in the MO one ($P < 0.001$). In addition, histamine-induced increase of microvascular permeability was significantly less pronounced in BO groups compared to MO one. No significant differences among groups in terms of leukocyte adhesion, concentrations of tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and interleukin 6 were found. The experimental study showed that unrefined babassu oil reduced microvascular leakage and protected against histamine-induced effects in postcapillary venules and highlights that these oil might be secure sources of food energy. The Chapter II analysed the risk factors associated to dyslipidemia, metabolic syndrome (MS) and Framingham score in quilombolas coconut breaker's families that belong to rural communities of Maranhão State. It is a cross-sectional study conducted in Quilombolas communities of Codó-MA, Brazil. Cardiovascular risk factors associated to dyslipidemia, metabolic syndrome (MS) and Framingham score were analysed. Prevalence ratios and 95% confidence intervals were estimated using Poisson regression. The study showed high prevalence of dyslipidemia (72.28%) and hypertension (43.07%). There was a predominance of isolated hypertriglyceridemia (38.61%) with normal levels of HDLc (high density Lipoprotein, cholesterol) LDLc (low density Lipoprotein, cholesterol) in most individuals. The prevalence of metabolic syndrome and risk of death from cardiovascular events according to the Framingham score was low in this population. There was no statistical significance between dyslipidemia and hypertension, smoking and education. The study of the population showed that although there was a high prevalence of isolated hypertriglyceridemia, the low frequency of other risk factors associated with dyslipidemia determined low frequency of MS and cardiovascular risk by Framingham score in Quilombolas communities of Codó-MA.

Palavras-chave: Babassu, *Orbignya phalerata*, microcirculation, African continental ancestry group.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1	Números para a ocorrência, produtividade média e produção do Babaçu no Brasil	24
Tabela 2	Ocorrência, produtividade média e produção do Babaçu em 1980 e 2000, nas regiões ecológicas do Maranhão	24
Tabela 3	Características físico-químicas do óleo de bruto de babaçu	26
Figura 1	A Palmeira do Babaçu.....	25
Figura 2	O fruto do Babaçu com exposição das amêndoas	25
Figura 3	Preparação da bolsa da bochecha de hamster para visualização em microscopia intravital	29
Figura 4	Avaliação da permeabilidade microvascular antes da I/R	30
Figura 5	Avaliação da permeabilidade microvascular após a I/R	30

LISTA DE ABREVIATURAS

BO	babassu oil (óleo de babaçu)
CK	Creatinoquinase
FITC	Fluoresceína Isotiocianato
HDLc	High density lipoprotein cholesterol (colesterol-lipoproteína de alta densidade)
I/R	isquemia/reperfusão
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL	Interleucina
LDLc	Low density lipoprotein cholesterol (colesterol-lipoproteína de baixa densidade)
MO	Mineral oil (óleo mineral)
MUFAS	Monounsaturated fatty acids (ácidos graxos monoinsaturados)
NaOH	Hidróxido de sódio
O phalerata	<i>Orbignya phalerata</i>
PUFAS	Polyunsaturated fatty acids (ácidos graxos polinsaturados)
SM	Síndrome Metabólica
TNF	Tumor Necrose Factor (Fator de Necrose Tumoral)
v/m	volume/massa
25 (OH) D	25 hidroxivitamina D

1 INTRODUÇÃO

A Palmeira do coco babaçu é de origem brasileira, encontrada na região Amazônica e na Mata Atlântica do estado da Bahia. É uma planta típica e de crescimento espontâneo da região de transição entre o Cerrado, a Mata Amazônica e o Semi-Árido nordestino brasileiro (EMBRAPA, 1984).

Babaçu é o nome genérico conferido às palmeiras oleaginosas pertencentes à família das Palmáceas Arecaceae e integrantes dos gêneros *Orbignya* e *Attalea*. O primeiro gênero inclui espécies predominantemente nativas da região norte e nordeste do Brasil (Maranhão, Piauí, Pará e Tocantins quais sejam: *Orbignya phalerata* Mart. (babaçu verdadeiro), *Orbignya eichleri* Drude (piaçava), *Orbignya teixeirana* Bondar (perinão) e *Orbignya microcarpa* Mart.. O segundo gênero pertence às espécies encontradas nos estados de Goiás, Minas Gerais e Bahia: *Attalea oleifera* Barb. Rodr. (catolé-de-Pernambuco) e *Attalea pindobassu* Bondar (Pindobaçu) (ZYLBERSZTAJN, et al 2000). Apesar de existirem várias publicações, a Taxonomia da palmeira do babaçu permanece confusa (PINHEIRO, 2011; PINTAUDE, 2008).

A espécie *Orbignya phalerata* é a de maior distribuição, de maior variação morfológica e de maior importância econômica. Em 2005, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foram coletados no país 119.031 toneladas de babaçu, e o Maranhão, principal produtor nacional, respondeu por 93,9% desse total. No ranking dos dez maiores municípios produtores de babaçu, todos são maranhenses: Vargem Grande, Pedreiras, Poção de Pedras, Bacabal, Chapadinha, Codó, Bom Lugar, São Luiz Gonzaga do Maranhão, Cajari e Coroatá. Em conjunto, eles detiveram 33,9% da produção nacional (IBGE, 2006).

A palmeira produz cocos dispostos em cachos. Os frutos são constituídos de epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoas (LIMA et al., 2006). O epicarpo representa 15% do fruto e é formado por fibras resistentes usadas principalmente na fabricação de escovas e tapetes. O mesocarpo constitui cerca de 20% do fruto e contém 20 a 25% de amido. É muito usado na elaboração de alimentos como farinhas e uma bebida semelhante a chocolate. O endocarpo representa 60% do côco, fornecendo matéria prima para a fabricação de isolantes e para a produção de álcool metílico, ácido acético, alcatrão e carvão. As amêndoas se encontram

inseridas no interior do endocarpo e constituem aproximadamente 6% do côco (ALBIERO et al., 2007).

O óleo do coco babaçu possui ampla diversidade de ácidos graxos, como caprílico (4%), cáprico (5%), esteárico (7%), oléico (17%), linoléico (5%) ácido láurico (45%), mirístico (18%) e palmítico (10%) (OLIVEIRA A.; GIOIELLE, OLIVEIRA, M., 1999).

As principais fontes de gorduras láuricas no mundo são os óleos de coco e palmiste, cujos principais produtores são as Filipinas e Malásia. No Brasil, além destes, existe o óleo de babaçu (HERRMANN, 2001).

O esmagamento do coco babaçu produz dois tipos de óleos, um para fins comestíveis e outro para fins industriais (óleo láurico). O mercado brasileiro de gorduras láuricos constitui-se atualmente no principal mercado do óleo de babaçu. Por outro lado, as indústrias dos segmentos de higiene, limpeza e cosméticos absorvem cerca de 35 mil toneladas anuais do óleo de babaçu bruto (HERRMANN et al., 2001; MACHADO; CHAVES; ANTONIASSI, 2006).

A utilização do óleo de babaçu na indústria alimentícia tem sofrido declínio constante em virtude de duas razões: a substituição por óleos mais acessíveis e a tendência dos consumidores por optarem por óleos e gorduras não saturadas (AFONSO, 2009). O óleo de soja é um dos principais concorrentes do óleo de babaçu no mercado de óleos comestíveis. O mercado brasileiro para óleo de babaçu comestível é estimado em 5,5 mil toneladas/ano, predominantemente para o mercado nordestino. Além deste, existe um mercado informal caracterizado pelo auto-consumo por famílias de baixa renda nas regiões de ocorrência das palmeiras (HERRMANN et al., 2001; FIGUEIREDO, 2005).

No Maranhão, cerca de 300 mil mulheres quebradeiras de coco sobrevivem do extrativismo do babaçu e fazem uso de seus componentes habitualmente como um produto complementar na alimentação de suas famílias. Assim, os subprodutos do mesocarpo, o leite e o óleo do côco babaçu extraídos das amêndoas são utilizados em sua alimentação (ASSEMA, 2001; SOLER; VITALI; MUTO, 2007).

Considerando-se a inexistência de estudos que demonstrem os riscos ou benefícios do consumo humano do óleo de babaçu, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que demonstrem os seus efeitos sobre a microcirculação, contribuindo assim para adequação de normas que orientem o consumo deste produto com segurança na alimentação.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A microcirculação

A microcirculação é constituída por uma rica rede de vasos sanguíneos cujo diâmetro é inferior a 100 µm. De acordo com a sua estrutura e função, esses pequenos vasos são classificados em arteríolas, vênulas, capilares e microlinfáticos. São responsáveis por funções indispensáveis ao propósito da circulação sanguínea que são o intercâmbio de nutrientes entre o tecido e o sangue circulante (CARVALHO et al., 2001; CORSTIAN, 2008).

As arteríolas se originam a partir de ramificações das artérias e em decorrência da sua riqueza em musculatura lisa são denominados de vasos de resistência. Na sua porção terminal, origem dos capilares, existe o esfíncter pré-capilar que realiza o controle do fluxo sanguíneo para a intimidade dos tecidos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Os capilares são constituídos de uma única camada de células endoteliais sendo, portanto uma parede permeável. São circundados por uma membrana basal, com ausência de musculatura lisa. Contudo, a maior permeabilidade é verificada nas vênulas pós-capilares. Os capilares confluem para formar as vênulas pós-capilares com estrutura semelhante aos capilares, porém com menor diâmetro (9-16 µm). O sangue então é drenado para as vênulas, denominadas de vasos de capacidade, e em seguida para as veias, retornando para a circulação sistêmica (INCE, 2005).

O estudo da microcirculação *in vivo* permite não somente a compreensão dos mecanismos que regulam o fluxo sanguíneo como também a influencia de diversas macromoléculas e micronutrientes no leito vascular. Vários parâmetros são usados com este objetivo: reatividade microvascular (variação de diâmetro e/ou fluxo de sangue), permeabilidade a macromoléculas, adesão e rolamento de leucócitos (SVENSKÖ, 1990).

A reatividade microvascular permite avaliar o diâmetro vascular em resposta a diferentes substâncias vasoativas ou à variação do volume de sangue circulante. A permeabilidade a macromoléculas pode ser avaliada através da indução por substâncias edemogênicas ou por lesão I/R (SVENSKÖ, 1990; BOUSKELA; GRAMPP, 1992).

As trocas que se processam através dos capilares e vênulas pós-capilares obedecem às propriedades físicas da membrana vascular e principalmente pelo desequilíbrio entre as pressões osmóticas e hidrostáticas que compõe a lei de Frank Starling (HELMKE, 2005). Por outro lado a exsudação de proteínas plasmáticas e outras macromoléculas ocorrem através das junções intercelulares do endotélio, exclusivamente nas vênulas pós-capilares, não sendo observada em arteríolas, capilares ou vênulas (ADAMS; ALITALO, 2007). Essas junções são responsivas a substâncias vasoativas contraindo-se e promovendo a separação das células endoteliais, consequentemente permitindo a passagem de macromoléculas do leito vascular para o meio extracelular. Este processo é reversível e dependente da ação do cálcio sobre os filamentos contráteis de actina e miosina intracelulares (SVENJÖ, 1990).

Inúmeras são as causas de lesão celular que determinam processo inflamatório: privação de oxigênio, agentes físicos, agentes químicos e drogas; agentes infecciosos, reações imunológicas, alterações genéticas e desequilíbrios nutricionais. O estado patológico, independentemente da causa, determina aumento da permeabilidade vascular que resulta da interação complexa entre fatores humorais e celulares com consequente vasodilatação, aumento da permeabilidade a macromoléculas e acúmulo de leucócitos no local da lesão; (WAGNER; FRENETTE, 2008).

Vários mediadores químicos estão envolvidos no aumento da permeabilidade em vênulas pós-capilares: histamina, bradicinina, leucotrienos, fator de adesão plaquetária e radicais livres (HARRISON; CAI, 2003).

A adesão leucócito-endotélio é determinada por uma série de outros fatores que inclui a expressão de moléculas de adesão, produto de ativação leucocitária (superóxido), de células endoteliais (óxido nítrico) e de mecanismos físicos resultante das pressões exercidas pelo sangue na parede do vaso sanguíneo (CARVALHO et al., 2001; SULLIVAN; SAREMBOCK; LINDEN, 2000).

O endotélio exerce um papel importante na função da microcirculação, regulando o tônus vascular e o fluxo sanguíneo, procurando manter a homeostase, através da produção de uma série de mediadores bioquímicos vasodilatadores como o óxido nítrico (NO), fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), Prostaglandina F₂ (PGF₂) e agentes vasoconstritores como a angiotensina II, endotelina, tromboxano A₂(TxA₂). Tais substâncias atuam de forma parácrina,

contraindo ou dilatando o leito vascular de acordo com os estímulos do meio interno (GOTO et al., 2003; VANHOUTE et al., 2009).

A lesão ou ativação das células endoteliais promove, secundariamente, o desequilíbrio das funções regulatórias deste tecido. Assim uma redução na disponibilidade vascular de óxido nítrico determina um prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio, aumento na agregação de plaquetas e da adesão de leucócitos e influencia na proliferação de células musculares lisas. A inativação do NO endotelial por radicais livres derivados do oxigênio pode ser um importante fator na disfunção do endotélio (ALLEN et al., 2006).

Estudos sugerem que a Vitamina C (HEIRTZER, HANJORG, MUNZEL, 1996; BLOCK G. et al., 2009) e os Tocoferóis, presentes nos óleos vegetais, são potentes agentes antioxidantes (AZZI et al., 1998). Garcia- Baiolo et al., (2012) encontrou uma relação inversa entre níveis séricos de α -tocoferol e as concentrações de TNF- γ , não havendo a mesma correlação entre o ácido ascórbico e a 25(OH) D.

2.2 Lipídios e disfunção endotelial

Numerosos estudos têm demonstrado que fatores de risco para aterosclerose predispõem a disfunção endotelial e especial atenção tem sido considerada em relação aos efeitos dos níveis de gordura na dieta de pacientes que sofrem de doenças crônicas, principalmente no que refere aos fatores de risco cardiovascular, como a hipertensão, diabetes mellitus, hipercolesterolemia e mais recentemente a obesidade, os quais estão associados à disfunção endotelial (WILLIAM et.al., 1996; VOGEL, CORRETI; GELMAN, 1998; AL SWAIDI, et al., 2001; YANG et.al.,2007).

No entanto, têm sido observados comportamentos diferentes entre os ácidos graxos. Os ácidos graxos saturados como o ácido láurico promovem hipercolesterolemia; os monoinsaturados (MUFAS) como o ácido oleico não influenciam nos níveis de colesterol e os polinsaturados (PUFAS) reduzem os níveis de séricos de LDL colesterol (FUENTES, 1998).

Em relação à proteção cardiovascular, os estudos têm mostrado resultados conflitantes. Shekelle et al. (1981) observaram a relação dos níveis de colesterol com doença cardiovascular (DCV), porém não demonstraram a existência de associação significativa com a prevalência de DCV e ácidos graxos saturados.

Shekelle; Kromhout; Coulander (1984) não encontraram também a associação significativa entre os diferentes ácidos graxos e a incidência de DCV.

Estudo experimental realizado por Pinotti et al.,(2007), sugeriu que dietas suplementadas com ácidos graxos saturados (AGS) e ácidos graxos insaturados (AGI) não alteram a função mecânica do músculo cardíaco. Entretanto, ambas provocaram estresse oxidativo, com aumento do peróxido do lipídio e redução na concentração de superóxido dismutase. A dieta AGI diminuiu a expressão de catalase e a dieta AGS reduziu a quantidade de glutationa peroxidase miocárdica. As duas dietas promoveram discretas alterações morfológicas visualizadas ultra estruturalmente como depósitos de lipídios e lesões de membranas celulares, mas não acarretaram alterações da função mecânica do músculo cardíaco.

O estresse oxidativo é uma característica inerente ao metabolismo aeróbico, podendo ser deletério aos organismos devido à oxidação de biomoléculas, tais como lipídios e proteínas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Várias doenças estão associadas ao estresse oxidativo, entre elas a aterosclerose e diabetes mellitus (HOTAMISLIGIL et al., 2006; BADAWI A. et al., 2010).

Por outro lado, a inevitável produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) levou à evolução de um complexo sistema antioxidante composto por enzimas específicas como a superóxido dismutase (SOD), as catalases e a glutationa peroxidase, além de compostos de baixo peso molecular e também de sistemas de reparo de biomoléculas. O complexo balanço entre a produção de ERO e sua eliminação pelo sistema antioxidante garante a homeostase (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Diversas condições podem causar danos ao endotélio com consequente inativação do óxido nítrico (NO) e deficiência do relaxamento vascular (VAN DER et al., 2000; DEWITT et al., 2001; STRUNK et. al, 2001). Sabe-se que macrófagos e neutrófilos ativados podem gerar simultaneamente altas concentrações de NO e superóxido que reagem entre si formando peróxido nitrito (BECKMAN et al., 1992). Este último reage com resíduos tirosina presentes nas proteínas formando nitrotirosina e/ou se decompõe em várias espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que por sua vez promovem peroxidação lipídica da LDL humana, resultando em aumento da permeabilidade vascular e adesão plaquetária (RADJ et al., 1991; DARLEY-USMAR et al., 1992; LANCASTER, 1996).

O interesse tem crescido em relação aos PUFAS como fator de proteção para eventos cardiovasculares (TURPEIN et al., 1979; BURR et al. 1989; GUALLAR et al. 1995). Estudos experimentais em modelo da microcirculação na bolsa da bochecha de hamsters, utilizando a microscopia intravital, mostraram que animais tratados com óleo de peixe apresentaram uma resposta vasodilatadora com aumento do fluxo sanguíneo na microcirculação e da densidade funcional capilar. O óleo de peixe é rico em PUFAs de cadeia longa do tipo $\omega 3$. A ingestão de $\omega 3$ PUFAs tem sido relacionada com a diminuição da pressão arterial, diminuição da inflamação, melhora da dislipidemia e da função plaquetária e vascular (CONDE et al, 2007; KASÓS et al., 2008).

Atualmente as informações a cerca dos efeitos dos macronutrientes sobre a proteção da falência do miocárdio ainda são muito limitadas. Estudos populacionais mostraram que a incidência de DCV é reduzida em populações que aderem às recomendações dietéticas para hipertensão arterial e enfatizam o baixo consumo de gorduras saturadas e o maior consumo de PUFAS, carboidratos complexos e vegetais (LEVITAN; WOLK; MITTELMAN, 2009a; LEVITAN; WOLK; MITTELMAN, 2009b).

Os efeitos protetores dos ácidos graxos n-3 de cadeia longa sobre o sistema cardiovascular têm sido grandemente estabelecidos, especialmente em populações de países do Mediterrâneo. Estudo realizado na Catalunia mostrou que o consumo de frutos do mar, compostos principalmente de ácidos graxos de cadeia longa parece ter efeito benéfico sobre o sistema cardiovascular (MAYNERIS-PEXACHS, 2010).

Atualmente, a aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica caracterizada pela deposição de colesterol, recrutamento e ativação de monócitos, macrófagos e linfócitos, inflamação e fibrose na parede vascular (GIANNOTTI; LANDMESSER, 2007). Assim a relação entre lipídios e metabolismo do colesterol, citocinas e atividade celular no interior da parede endotelial desempenha uma função importante na aterogênese. Diversas citocinas têm sido implicadas com a disfunção endotelial na aterosclerose como a interleucina 1- β (IL-1 β), interleucina -6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e o fator de necrose tumoral (TNF) (NIEMANN-JONSSON, 2000; KAUL, 2001; KLEIN et al., 2001).

O termo disfunção endotelial se refere a uma série de condições patológicas que incluem alterações das propriedades anticoagulantes e antinflamatórias do

endotélio e prejuízos na modulação do crescimento vascular (GIMBRONE, 1995). No entanto este termo tem sido empregado habitualmente para se referir às alterações da vasodilatação dependente do endotélio causada pela perda da atividade do NO na parede do vascular (WENNMALM, 1994).

O endotélio possui uma função importante na função vascular mediante a produção de uma série de mediadores bioquímicos vasoconstritores e vasodilatadores. Apresenta receptores, proteínas ligantes, transportadores e mecanismos sinalizadores envolvidos na regulação do processo celular, incluindo proliferação, apoptose e migração celular. O óxido nítrico, substância vasodilatadora derivada do endotélio, regula a interação leucócito- endotélio (KUBES; SUZUKI, GRANGER, 1991; ABEYWARDENA; HEAD 2001).

A perda do controle homeostático na microcirculação pode ser deflagrada pelo aumento de certos tipos de ácidos graxos na dieta. Uma das primeiras intervenções dietéticas controladas realizadas para investigar o efeito da gordura da dieta e dos ácidos graxos na modulação desses fatores de risco emergentes associados à inflamação da parede vascular foi realizada por Baer et al., (2004), os quais forneceram evidências de que os ácidos graxos podem modular os marcadores da inflamação. Assim, o estudo sugeriu que em adição aos efeitos da hipercolesterolemia, os ácidos graxos trans e saturados possivelmente exacerbam o risco para doença cardiovascular como resultado dos efeitos sobre moléculas de adesão.

As moléculas de adesão são receptores de membrana que intervêm em diversas funções relacionadas ao tráfego celular, com interação entre células e com a adesão de células à matriz extracelular. Participam em vários outros processos como crescimento, diferenciação, migração e apoptose (BAER et al., 2004).

No caso específico do aparelho cardiovascular, as moléculas de adesão estão relacionadas ao seu desenvolvimento e funcionamento normal quanto patológico. A disfunção e a ativação do endotélio determinam o aumento da expressão superficial dessas moléculas permitindo aos leucócitos invadirem a lâmina íntima vascular e desencadear fenômenos inflamatórios locais, sendo também responsável pela formação da placa de ateroma. Assim, nos últimos anos têm crescido o interesse em se conhecer o papel dessas moléculas nas lesões endoteliais (LIBBY, 2002).

Da mesma forma, outros estudos têm voltado o interesse pelo envolvimento das citocinas pro-inflamatórias nas alterações endoteliais precoces, no

desenvolvimento de danos vasculares e na existência de novos moduladores do metabolismo dos lipídios (LORD, 2002; WANG, 2009).

A função e atividade do endotélio se encontram condicionadas tanto por estímulos humorais ou químicos como por estímulos mecânicos e físicos. Dessa forma a ativação e disfunção do endotélio estão relacionadas a um conjunto de alterações fenotípicas que alteram os mecanismos regulatórios que normalmente operam no endotélio íntegro. A reatividade vascular alterada, o aumento da permeabilidade às proteínas plasmáticas e a adesividade seletiva dos leucócitos mononucleares são exemplos desses mecanismos (BOUSKELA; CYRINO, LEROND, 1999; LIBBY, 2002).

Os lipídios estão entre os macronutrientes mais investigados quanto ao efeito dos componentes da dieta na inflamação, disfunção endotelial e aterogênese. Estudos indicam que a aterogênese tem início na interface entre o colesterol, a secreção de citocinas e a apolipoproteína E na intimidade da parede arterial (VANHOUTE, 2009).

Há evidências que as células endoteliais possuem dois sensores para o colesterol. O primeiro é o Receptor - CK que é sensível ao colesterol extracelular e inicia a via de sinalização responsável pela regulação de genes envolvidos no ciclo celular, morte celular, homeostase do colesterol celular e citocinas, incluindo a IL-6. O segundo é o receptor LxR- α que detecta os oxiesteróis e controla os genes envolvidos na morte celular, homeostase do colesterol celular e IL-8. Assim a presença do colesterol e do LDL modificado resultaria na ativação /desativação transitória dos genes dependentes do Receptor- CK, os quais desencadeariam ciclos repetidos de crescimento associado à apoptose, conduzindo a uma condição onde células apoptóticas deficientes na parede arterial, seriam selecionadas resultando no seu acúmulo e formação oligoclonal da placa aterosclerótica (HARDARDOTTIR, 1994; NIEMANN-JONSSON, et al, 2000; KLEIN et al. 2001; KAUL, 2001).

Durante todo o evento aterogênico, os lipídios no LDL são quimicamente modificados e oxidados. O LDL oxidado estimula a sinalização, através da ativação das células endoteliais, que liberam citocinas e recrutam monócitos para o interior da parede endotelial. Nesta região, os monócitos diferenciam-se em macrófagos e internalizam o LDL modificado. O acúmulo de LDL no interior do macrófago

transforma-o em “células espumosas” que a seguir morrem e formam a placa aterosclerótica (KAUL, 2001).

2.3 Óleos Vegetais

A produção anual de óleos vegetais no Brasil é de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas, existindo um consumo doméstico de cerca de 2,5 milhões de toneladas/ano. O óleo de soja participa com 95% do consumo total e os 5% restantes correspondem aos óleos de algodão, amendoim, caroço de palma, ricínio, girassol, milho, canola, palma e gordura de babaçu (HAUMAN, BARRERA-ARELLANO; WAGNER, 1995).

De acordo com Oliveira et al., (1996) a flora brasileira ainda possui grande potencial lipídico como licuri, oiticica, ucuuba, pequi, cupuaçu e baguaçu.

Os óleos vegetais apresentam em sua composição, predominantemente, triacilgliceróis, ricos em ácidos graxos polinsaturados, além de pequenas quantidades de mono e diacilgliceróis e ácidos graxos livres formados durante o processamento. Contém ainda os denominados “componentes lipídicos menores” esteróis, tocoferóis, tocotrienóis, compostos fenólicos, pigmentos (carotenoides e clorofilas) e metais de transição como ferro e cobre (CHAIYASIT et al., 2007).

Entre estes componentes menores, destacam-se os fitoesteróis e os tocoferóis, os quais têm sido alvo de grande interesse mundial devido à potente atividade antioxidante (CARVALHO; MIRANDA; PEREIRA, 2006).

Os óleos vegetais são a principal fonte de tocóis da alimentação, sendo os tocoferóis a principal forma encontrada na maioria dos óleos. Existem na natureza quatro formas tocoferóis e tocotrienóis (α , β , γ , δ). O α e o γ tocoferóis são os mais encontrados na maioria dos óleos vegetais, mas a forma α é a mais estudada devido à sua elevada atividade biológica como vitamina E (SALDEEN, K; SALDEEN, T, 2005; SANCHEZ et al., 2007).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas que também apresentam atividade antioxidante (BALASUNDRAM; SUNDRAM, SUNDRAM, 2005). Fazem parte desta classe de ácidos fenólicos os ácidos cafeico, vanílico, p-cumarínico, siríngico, p-hidroxibenzóicos, além de oleuropeína, 3-hidroxifenil-etanol e 3-4 diidroxifeniletanol (SALDEEN, K; SALDEEN, T, 2005; ROSSI; ALMPRESE; RATTI, 2007).

No entanto, o processo de refinamento a que são submetidos os óleos vegetais reduz as concentrações destes compostos (SZYD, 2008). Uma exceção é o azeite de oliva extra-virgem que é rico em fenólicos e o óleo de palma (MORETTO; FETT, 1998) por não serem submetidos ao processo de refino para consumo.

O azeite de oliva apresenta no mínimo trinta compostos fenólicos conhecidos que apresentam atividade antioxidante (GORINSTEIN et al., 2003; DEL CARLO, 2004). Segundo Luz et al., (2011) as propriedades físico-químicas do óleo bruto conferem um grande valor econômico a estes produtos.

Os antioxidantes naturais de óleos vegetais são considerados substâncias importantes na prevenção de doenças crônicas, pois são capazes de proteger os sistemas biológicos contra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RAMADAN; MOERSEL, 2006; SZYDOWSKA-CZERNIAK, 2008).

Os esteróis são um grupo importante de compostos presentes nas membranas celulares de plantas e animais. Os esteróis das plantas (fitoesteróis) mais comuns são β -sitosterol, campesterol e estigmasterol que apresentam propriedades relacionadas à diminuição do colesterol sérico (KOCHAR, 1983). No entanto, o exato mecanismo desta redução ainda não está bem compreendido, mas parece ser pela inibição da captação do colesterol alimentar e biliar ao nível do intestino delgado para formação de micelas mistas (LING, JONES, 1995). São considerados e utilizados como alimentos funcionais e são ingredientes importantes de óleos comestíveis (ST-ONGE et al., 2003).

Estudos *in vitro* mostraram que os fitoesteróis podem ser encontrados dispersos em misturas de micelas, deslocando assim fragmentos de colesterol livre, diminuindo a sua disponibilidade e reduzindo a absorção pela borda em escova do enterócito apical (NORMEN et al., 2000; NISSINEN et al., 2002; RICHELLE et al., 2004).

Amiot et al. 2011, mostraram que a adição de fitoesteróis esterificados às refeições não altera a hidrólise de gorduras no duodeno e nem a liberação de quilomicrons, mas diminui especificamente o colesterol livre disponível para a absorção e subsequente rescreção em quilomicrons em indivíduos saudáveis.

Os tocoferóis são reconhecidos como os mais efetivos antioxidantes presentes nos lipídios de origem vegetal (LESTER; STEFAN; GERALD, 2001). No entanto, apesar do corpo humano absorver todas as formas de vitamina E, mantém incorporado nas membranas celulares apenas o α -tocoferol, nas quais previne

efetivamente a peroxidação dos lipídios. Também já foi reconhecido o papel dos tocoferóis na sinalização celular, especialmente na proteína quinase C (SERBINOVA et al., 1991; AZZI et al., 1998; IOM, 2000).

Estudo experimental mostrou que a infusão endovenosa de α -tocoferol exerceu efeito protetor em lesão I/R do músculo solear, promovido por clampeamento da aorta infra-renal, quando avaliado sob a perspectiva bioquímica. Nos grupos de animais tratados com α -tocoferol não foi observado diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de cálcio, lactato desidrogenase e nos resultados da gasometria quando comparados com o grupo controle. Não foram observadas também inflamação e necrose neste músculo (SILVA et.al, 2005).

Em relação à composição lipídica, o ácido oleico, especialmente aquele obtido por métodos de prensagem da oliva, tem demonstrado efeito protetor sobre o sistema cardiovascular e em doenças inflamatórias do sistema musculoesquelético em vários trabalhos internacionais (FITÓ et al., 2007; BERBERT et al., 2005). Há também evidências que dietas ricas em ácidos graxos não saturados com o linoleico e oleico podem diminuir o risco de tromboembolismo pela substituição do ácido araquidônico na membrana fosfolipídica das plaquetas, reduzindo *in vitro* a produção de tromboxane A₂ [TXA2] e a agregação plaquetária. (KRIS-ETHERTON; MUSTAD; DERR, 1993).

Atualmente, tem sido atribuído o valor do óleo de oliva como um produto saudável, não somente pela sua composição lipídica, mas principalmente pela presença de uma grande quantidade de “componentes menores”, incluindo os biofenóis, alguns triterpenos, fitoesteróis, esqualenos e tocoferóis com atividades antioxidantes (LERCKER, 2003).

2.4 O óleo de babaçu

O Babaçu é composto de duas espécies principais, *Orbignya phalerata* Mart e *Orbignya oleifera* Burret. A primeira, *O. phalerata*, o Babaçu do Maranhão é considerado o verdadeiro Babaçu (ZYLBERSZTAJN, 2000). Cerca de 60% da área coberta pelo babaçu ocorre no estado do Maranhão (Tabela 1), sendo a região dos Cocais a de maior extensão e maior produtividade (MIC/STI, 1982). (Tabela 2).

Tabela 1. Números para a ocorrência, produtividade média e produção do Babaçu no Brasil.

Estado	Ocorrência (há)	Prod. Média (kg/ha)	Prod. Anual (tons)
Maranhão	10.303.503	1.689	7.796.000
Piauí	1.977.600	1.245	626.000
Goiás	2.970.900	2.921	3.324.000
Mato Grosso	3.184.156	1.135	695.000
Brasil (total)	18.436.159	1.748	12.441.000

Fonte: adaptação a partir de MIC/STI (1982) in: Pinheiro 2011.

Tabela 2. Ocorrência, produtividade média e produção do Babaçu em 1980 e 2000, nas regiões ecológicas do Maranhão.

Região ecológica	Área coberta em 1980 (ha)	Produtividade média em 1980 (kg/ha)	Produção em 1980 (ton)	Área coberta ¹ 2000 (ha)	Produção 2000 (ton)
Baixada	732.500	1.294,3	948.075	622.625	805.864
Cerrado	1.378.500	1.235,3	1.702.861	1.171.725	1.447.432
Cocais	1.841.500	2.148,9	3.957.199	1.565.275	3.363.619
Pré-Amazônia	98.850	935,1	92.435	84.023	78.569
Imperatriz	260.350	1.440,0	375.945	221.298	319.554
Planalto	146.559	1.696,1	248.579	124.575	211.292
Chapadões	217.200	2.293,3	498.105	184.260	423.389
Não classificado	47.300	1.689,1	79.894	40.205	67.910
TOTAL	4.722.759	1.673,4	7.903.093	4.014.345	6.717.629

¹Presume média de 20% de desmatamento entre 1980 e 2000 e 5% de utilização de amêndoas para fins comestíveis. Fonte: adaptação a partir de dados do IBGE (1997) e MIC/STI (1982) in: Pinheiro 2011.

O nome babaçu tem origem do Tupi-Guarani que significa: (ba=fruto; açu=grande). É uma palmeira com o diâmetro do estipe variando de 20 a 50 cm e atingindo acima de 30 m de altura. A coroa contém 10-25 folhas eretas com folíolos arqueados. A floração ocorre no período de janeiro a junho e a frutificação nove

meses após a floração, habitualmente em agosto do ano seguinte, mantendo-se por vários meses (Figura 1). (PINHEIRO, 2011).

Os frutos variam da forma elíptica à oblonga e medem de 6 a 13 cm de comprimento por 4 a 10 cm de largura, pesando de 40 a 440 g (peso seco). É constituído por uma parte externa fibrosa denominada de epicarpo, uma intermediária comestível, o mesocarpo e uma interna, rígida, contendo de 3 a 6 sementes de forma oval a elíptica que são as amêndoas (Figura 2). (MIRANDA, 2001).



Figura 1. A Palmeira do babaçu.
Fonte: Google Imagens



Figura 2. O fruto do babaçu com exposição das Amêndoas
Fonte: Google Imagens

As amêndoas do babaçu apresentam alto teor de lipídios, sendo por esta razão consideradas de alto potencial para produção de óleo vegetal (BIBIRVIT, 2006).

O óleo não refinado apresenta em sua composição além de triglicerídeos, os chamados “componentes menores” que são fosfolipídios, pigmentos, esteróis e tocoferóis e traços de algumas outras substâncias e metais (HOFFMAN, 1989). Contudo, quando o óleo bruto é submetido a processo de refino este perde importantes componentes não lipídicos como acontece na maioria dos óleos e gorduras destinadas ao consumo humano. A finalidade do refino é a melhora da aparência, odor e sabor através da remoção destes componentes que incluem várias etapas como degomagem neutralização, clarificação e desodorização (ALMEIDA et. al., 1994).

O estudo físico químico do óleo bruto de babaçu (*Orbignya phalerata* Mart), gerado pela primeira etapa do refino-degomagem, encontra-se descrito na tabela 3 (LUZ et al., 2011).

Tabela 3- Características físico-químicas do óleo de bruto de babaçu.

Características físico-químicas	Óleo bruto de babaçu (OLEAMA)	CODEX STAND 210 1999	OLIVEIRA et al., 2007
Índice de acidez (mg KOH/g)	3,75 ± 0,05	Max. 5%	3,31 – 3,38
Índice de peróxido (meq 02/kg)	0,40 ± 0,03	-	0,0
Umidade (%)	0,17 ± 0,05	-	-
Índice de iodo (Wijs)	17,03 ± 0,05	10-18	-
Índice de saponificação (mg KOH/g)	189,8 ± 0,01	245-246	164 – 252
Densidade relativa a 25º C (g/mL)	0,914 ± 0,33	0,914-0,917	0,918 – 0,924

Fonte: adaptação de Luz et al. 2011. Cad. Pesq., São Luís, v.18, n.3, set/dez. 2011

Os resultados encontrados neste estudo para o índice de acidez, índice de iodo e a densidade relativa estavam dentro do intervalo encontrado na literatura, com exceção do índice de saponificação que ficou um pouco abaixo do esperado. (LUZ et al., 2011).

Oliveira et al., (2007) haviam encontrado resultados semelhantes, o que foi atribuído ao chamado “efeito matriz”, pois geralmente o índice de saponificação nos

óleos vegetais pode ser influenciado por fatores referentes à origem e à forma de cultivo da oleaginosa, tais como tipo de solo, clima e período de frutificação que poderiam ser determinantes das diferenças e da constituição dos frutos, além do tempo que o óleo é submetido ao processo de saponificação.

Santos et al., (2010) determinaram a quantidade de ácido graxos livres, expressando-os em acidez em solução normal NaOH v/m e índice de acidez em g de ácido láurico/oleico, %, p/p, presente no óleo de babaçu. A espécie *O. phalerata*, oriundo do município de Codó-MA apresentou um índice de acidez de 0,3457 que está dentro da faixa recomendada pelo Codex Alimentarius (2003), o qual estabelece o máximo de 5,0% g de ácido oleico/100g. A determinação da acidez pode fornecer um dado importante no estado de conservação do óleo.

Os óleos vegetais são importantes como produtos complementares na alimentação, mas também para a aplicação industrial na produção de biodiesel, na farmacêutica, cosmética entre outras. Outras espécies do gênero Arecaceae, têm sido estudadas para avaliar o seu potencial comercial (FERREIRA; FAZA; HYARIC, 2012).

Em algumas áreas de ocorrência da palmeira do babaçu, indústrias de óleo de fabricação doméstica vêm surgindo, usando pequenos extratores de óleo motorizados, sendo a qualidade deste óleo para fins comestíveis considerado de melhor qualidade que o óleo industrial devido ao menor ranço deixado pelas amêndoas logo após a extração do fruto (PINHEIRO, 2011).

As amêndoas podem também ser piladas, misturadas com água e filtradas para produzir o leite de coco que é usado para o preparo de alimentos, ingerido puro ou misturado com o café (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2000). O leite das amêndoas verdes, menos gordurosas, também é por vezes usado no mingau de bebês (Pinheiro, 2011).

A preocupação com a valorização do Babaçu e a preservação da sua palmeira tem sido uma luta de diferentes setores da comunidade científica, pois dele dependem a sobrevivência de inúmeras comunidades rurais nas regiões norte e nordeste. Apesar do elevado potencial de mercado vários fatores tem dificultado a sua valorização entre eles a prática extrativista como atividade de subsistência (HERRMANN, 2001).

2.5 A Bolsa da bochecha de hamster como modelo experimental

O modelo experimental da bolsa da bochecha de hamsters (*Mesocricetus auratus*) é considerado o modelo ideal para pesquisa em microcirculação. Em virtude da transparência do tecido epitelial e da rica vascularização, é utilizada como modelo para estudos de angiogênese, bioquímica das reações inflamatórias e alérgicas, assim como para avaliações da dinâmica circulatória da microvasculatura *in vivo* (WOLF; HUBLER, 1975; RAUD et al., 1989; SVENSJO; BOUSKELA, 1998).

A bolsa da bochecha dos hamsters são sacos membranosos formados por invaginações bilaterais da mucosa oral, reversíveis, transparentes que se prolongam do tecido celular subcutâneo até a região dos ombros. Na região próxima à inserção oral, a parede da bolsa é revestida por fibras musculares longitudinais e por um longo músculo retrator. Toda a estrutura é irrigada por ramos da artéria carótida externa e não apresenta vasos linfáticos, exceto nas fibras de inserção do músculo retrator (Figura 4) (GOLDENBERG; STEINBORN, 1970; BARKER; BILLINGHAM, 1971).

Este modelo apresenta inúmeras vantagens que podem ser enumeradas: 1. Permitir fácil acesso à preparação da estrutura de forma relativamente não traumática e possibilitando a visualização do mesmo campo inúmeras vezes através de microscopia de baixa magnificação; 2. A bolsa é ricamente vascularizada e todos os tipos de microvasos podem ser vistos no campo microscópico, tornando possíveis estudos comparativos de vários segmentos microvasculares; 3. A nitidez e as propriedades ópticas da bolsa são boas quando comparadas com outros tecidos densamente vascularizados; 4. A bolsa possui tanto leito microvascular cutâneo e esquelético, sendo de uso particular para estudos comparativos (HOCHMAN et al., 2004).

Este modelo experimental foi descrito pela primeira vez em 1947, como uma janela natural para estudos da microcirculação (FULTON; JACKSON; LUTZ, 1947). Em 1973 foi descrito sob o aspecto fisiológico por Duling, aperfeiçoado por Svensjö e colaboradores em 1978 e utilizado em pesquisa farmacológica por Svensjö em 1990 (DULLING, 1973; SVEN SJÖ, 1990).

O modelo da bolsa da bochecha de hamster, acima descrito, possibilitou o estudo da permeabilidade microvascular a macromoléculas, em microscopia

intravital. Neste, o animal é anestesiado, a bolsa da bochecha é evertida e preparada para a dissecção (Figura 3). A seguir é mantida em superperfusão com uma solução eletrolítica tamponada, pH=7.35 a 37°C e sob uma PO₂<4kPa (<30mmHg). Um marcador para macromolécula, dextrana marcada com isocianato de fluoresceína (FITC-dextrana) é usado para avaliar a permeabilidade microvascular. Os locais de permeabilidade a macromoléculas são indicados pelo extravasamento deste marcador. Extravasamento deste traçador na microcirculação ocorre somente nas vênulas pós-capilares e é usado para quantificação da permeabilidade durante a observação em microscopia intravital.



Figura 3. Preparação da bolsa da bochecha de hamster para visualização em microscopia intravital.
Fonte: Foto cedida pelo Laboratório de Pesquisa Clínica e Experimental em Microcirculação – Bio Vasc-UERJ.

Este modelo permitiu o estudo da dinâmica de transporte de macromoléculas na microcirculação e sua relação com outros parâmetros como o diâmetro do vaso e o fluxo sanguíneo. É considerado útil no estudo das respostas inflamatórias e imunológicas na microcirculação e na resposta farmacológica dos pequenos vasos a macromoléculas (SVENJÖ, 1990) (Figuras 4 e 5).

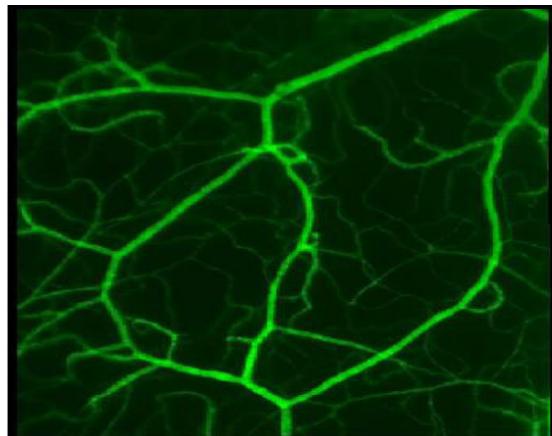


Figura 4. Avaliação da permeabilidade microvascular antes da I/R.

Fonte: Foto cedida pelo Laboratório de Pesquisa Clínica e Experimentais em Microcirculação – Bio Vasc-UERJ.

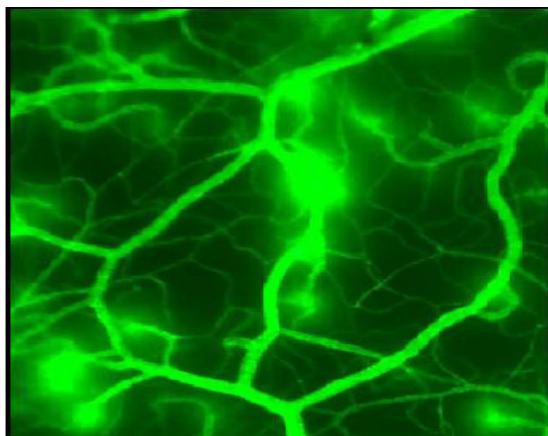


Figura 5. Avaliação da permeabilidade microvascular após a I/R.

Fonte: Foto cedida pelo Laboratório de Pesquisa Clínica e Experimentais em Microcirculação – Bio Vasc-UERJ.

2.6. Os afrodescendentes- Quilombolas

Quilombolas são descendentes de africanos escravizados que ao longo do tempo têm preservado as suas tradições (FUNDAÇÃO PALMARES, 2010). Vivem em pequenas comunidades rurais, distribuídas em várias regiões do Brasil, apresentando um grau de isolamento geográfico relativo e, enfrentando dificuldade de acesso à saúde, educação e alimentação (SILVA et al., 2008).

Segundo a Fundação Cultural Palmares, existem 3.524 comunidades quilombolas no Brasil. No Maranhão existe a terceira maior população negra do Brasil e estima-se que existam 527 comunidades concentradas principalmente nas regiões da Baixada Ocidental, Baixada Oriental, Munin, Itapecuru, Mearim, Gurupi e Baixo Parnaíba (COMISSÃO PRÓ-ÍNDIO DE SÃO PAULO).

Ao leste maranhense, a exatos 290 quilômetros da capital, está o município de Codó, o quarto município mais importante do Estado do Maranhão (IBGE, 2010) e pertencente à denominada região dos cocais, a de maior produtividade do coco babaçu (MIC/STI, 1982).

Neste município encontram-se várias comunidades quilombolas reconhecidas pela Fundação Palmares (COMISSÃO PRÓ-ÍNDIO DE SÃO PAULO), entre as quais, a maior delas que é a de Santo Antônio dos Pretos com 2.139 hectares, distando cerca de 36 quilômetros do município de Codó e situando-se às margens do rio Codozinho, afluente do rio Itapecuru (IBGE, 2008).

A vegetação predominante nesses quilombos é a palmeira do babaçu, da qual depende a sobrevivência dessa população de afrodescendentes (ALMEIDA, 2000). O leite e o óleo de babaçu extraídos das amêndoas é parte importante da sua alimentação (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2000; PINHEIRO, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

Analisar o efeito da dieta rica em lipídios do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) sobre a microcirculação e estimar a prevalência dislipidemia e risco cardiovascular na população quilombola quebradeira de coco de Codó-MA.

3.2 Objetivos Específicos

CAPÍTULO I

- Avaliar a permeabilidade e a adesividade da parede vascular a macromoléculas em hamsters tratados com óleo de coco babaçu.
- Analisar em modelo animal o potencial pro-inflamatório do óleo de babaçu pela determinação dos marcadores bioquímicos.

CAPÍTULO II

- Avaliar os fatores associados à ocorrência de dislipidemia e risco cardiovascular em uma população quilombola rural do município de Codó-MA.

4 CAPÍTULO I

EFFECTS OF BABASSU NUT OIL ON ISCHEMIA/REPERFUSION-INDUCED LEUKOCYTE ADHESION AND MACROMOLECULAR LEAKAGE IN THE MICROCIRCULATION: OBSERVATION IN THE HAMSTER CHEEK POUCH

(Artigo publicado pelo periódico: "Lipids in Health and Disease"

(ISSN 1476-511X) B1 em Biotecnologia)

FATOR DE IMPACTO 2.17

Maria do Carmo L. Barbosa^{1*}

*corresponding author

Email: carminha13032009@hotmail.com

Eliete Bouskela²

Email: eliete_bouskela@yahoo.com.br

Fátima Z.G.A.Cyrino²

Email: fzcyrino@ibest.com.br

Ana Paula S.Azevedo¹

Email: apsazevedo@yahoo.com.br

Maria Célia P. Costa³

Email: celiacosta@prof.elo.com.br

Maria das Graças C. de Souza²

Email: mgcsouza@gmail.com.br

Debora S. Santos³

debora.sqmc@live.com.br

Felipe L. Barbosa¹

Email: fl_barbosa@hotmail.com

Luiz Felipe A. Guerra¹

Email: l.felipeguerra@hotmail.com

Maria do Desterro S.B. Nascimento¹

Email: cnsd_ma@uol.com.br

¹ Laboratory of Basic and Applied Immunology and Laboratory of Imunophisiology, Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, Bacanga Campus, Av. dos Portugueses s/n, Bloco 3, sala 3A, 65085-580, São Luís, MA, Brazil

² Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BioVasc), Reitor Haroldo Lisboa da Cunha Complex, Rio de Janeiro State University, Rua São Francisco Xavier, 524, Ground Floor, 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

³ Laboratory of Macromolecular and Natural Products, Department of Chemistry and Biology, Maranhão State University, Center of Education, Exact Sciences, and Natural Sciences, Paulo VI Campus, Caixa Postal 09,65055-970,São Luís, MA, Brazil

Abstract

Background: The babassu palm tree is native to Brazil and is most densely distributed in the Cocais region of the state of Maranhão, in northeastern Brazil. In addition to the industrial use of refined babassu oil, the milk, the unrefined oil and the nuts *in natura* are used by families from several communities of African descendants as one of the principal sources of food energy. The objective of this study was to evaluate the effects of babassu oil on microvascular permeability and leukocyte-endothelial interactions induced by ischemia/reperfusion using the hamster cheek pouch microcirculation as experimental model.

Methods: Twice a day for 14 days, male hamsters received unrefined babassu oil (0.02 ml/dose [BO-2 group], 0.06 ml/dose [BO-6 group], 0.18 ml/dose [BO-18 group]) or mineral oil (0.18 ml/dose [MO group]). Observations were made in the cheek pouch and macromolecular permeability increase induced by ischemia/reperfusion (I/R) or topical application of histamine, as well as leukocyte-endothelial interaction after I/R were evaluated.

Results: The mean value of I/R-induced microvascular leakage, determined during reperfusion, was significantly lower in the BO-6 and BO-18 groups than in the MO one ($P < 0.001$). In addition, histamine-induced increase of microvascular permeability was significantly less pronounced in BO groups compared to MO one. No significant differences among groups in terms of leukocyte adhesion, concentrations of tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and interleukin 6 were found.

Conclusions: Our findings suggest that unrefined babassu oil reduced microvascular leakage and protected against histamine-induced effects in postcapillary venules and highlights that these almost unexploited nut and its oil might be secure sources of food energy.

Keywords: *Orbignya phalerata*, Arecaceae, Babassu oil, Ischemia/reperfusion, vascular permeability.

1. Background

The babassu palm tree is native to Brazil and is found in the deciduous forests of eastern Amazonia, especially in the state of Maranhão. The predominant species is *Orbignya phalerata* Mart. (Arecaceae), which has been widely studied [1-3]. Although the genus *Orbignya* is found in other countries of the Americas, the concentration of these species is believed to be highest in the Cocais region of Maranhão [4, 5].

Babassu oil extracted from the nut is very rich in triacylglycerols, small amounts of free fatty acids, phospholipids, pigments, sterols and tocopherols [6]. There is a wide variety of fatty acids including lauric acid (44%), oleic acid (17%), myristic acid (17%), palmitic acid (8%), capric acid (6%), caprylic acid (5%), stearic acid (4.5%), and linoleic acid (2%) [7, 8].

Each fruit contains 3 to 6 nuts that are collected manually in a traditional home subsistence system [9]. In addition to its industrial use as refined edible oil [10], the milk and the unrefined oil of the babassu nut are used for cooking by families from several communities of

African descendants as one of the principal sources of food energy. Nuts are also eaten *in natura* [9, 11].

Nowadays plant seeds constitute new oil sources and there is a worldwide interest for exploitation from natural resources. Unlike other edible oils, little is known about the possible damages or benefits of the dietary use of the babassu nut and its products for human health. On the other hand, fish oil and olive oil have been reported to protect against cardiovascular disease [12, 13] and to improve clinical indicators of disease activity in rheumatoid arthritis patients [14].

The reputation of olive oil as a healthy product is more likely due to the presence of numerous minor elements contained in it like biophenols, some triterpene alcohols, phytosterols, squalene and tocopherols [15, 16].

Phytosterols and tocopherols are also present in babassu oil [6]. Plant sterols are natural dietary components fundamental for cell membranes in both plants and animals with serum-lowering properties [17]. Tocopherols are considered to be the most effective lipid phase natural antioxidant which plays an important role in cellular signaling, especially in relation to protein kinase C [18].

In the present study, we used the hamster cheek pouch preparation in order to evaluate, for the first time, effects that unrefined babassu oil has on ischemia/reperfusion induced microvascular permeability and leukocyte-endothelial interactions.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

We used 39 male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*; Paulínea, São Paulo, Brazil), weighing 122–146 g, at 7–10 weeks of age. Animals were housed in a temperature- and humidity-controlled environment, on a 12/12-h light/dark cycle, with *ad libitum* access to water and autoclaved standard rodent chow (Nuvital; Nuvilab, Curitiba, Brazil), at the State University of Rio de Janeiro, Laboratory of Clinical and Experimental Research in Vascular Biology, Rio de Janeiro, Brazil.

Hamsters were divided into four groups of animals ($n = 9/\text{group}$), treated twice a day for 14 days, either with mineral oil — 0.18 ml/dose (MO group) — or with unrefined babassu oil — 0.02 ml/dose (BO-2 group), 0.06 ml/dose (BO-6 group); and 0.18 ml/dose (BO-18 group). Those four groups were further subdivided: 6 animals from each group were used for analysis of permeability and leukocyte adhesion; and 3 others from each group were used to

determine levels of interleukin (IL)-1, IL-6, and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). Another group of untreated animals (receiving neither mineral oil nor babassu oil, $n = 3$) was created as an additional control for the determination of cytokine levels. Sterile mineral oil was used as negative control because it is considered safe [19] and it has reduced absorption in the gastrointestinal tract [20].

All procedures were approved by the State University of Rio de Janeiro Committee for Animal Experimentation (Protocol no. 215/2007) and were conducted in accordance with international standards for biomedical research involving animals, as well as with those established by the Brazilian College of Animal Experimentation.

2.2. Obtaining the babassu oil

Kernels were collected from babassu trees in the municipality of Codó, located in the state of Maranhão, and the oil was extracted at the Chemistry Laboratory of Maranhão State University, in the city of São Luís. We have performed continuous extraction using a Soxhlet extractor (Foss Tecator Soxtec HT 6; Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) and a heater (Tecnal, Piracicaba, Brazil) that had been preheated in an incubator for 60 min at 150°C. The solvent used was hexane [21-23].

2.3. Intravital microscopy studies

On the day of the experiment anesthesia was induced by intraperitoneal injection of sodium pentobarbital -0.02ml/100g/body weight (Pentobarbital sodique, Sanofi, Paris, France, 60mg/ml) and maintained with intravenous injection of α -chloralose (2.5% solution) through a femoral vein catheter. To facilitate spontaneous breathing, a tracheal cannula (PE 190, Becton Dickinson, and Sparks, MD, USA) was inserted. Body temperature was maintained at 37°C with a heating pad and monitored with a rectal thermistor. The preparation of the cheek pouch for intravital microscopy has been previously described [24-26]. In brief, the cheek pouch was everted and mounted on a microscope stage. An area of approximately 1 cm² was prepared for intravital microscopy of macromolecular permeability and leukocyte adhesion. The cheek pouch was continuously superfused with warm (36.5°C) HEPES bicarbonate buffered saline solution gassed with 95% N₂5% CO₂ to maintain a pH of 7.4 and low oxygen tension. At 30 min after completion of the preparation phase, each hamster received an intravenous injection (25mg/100g body weight) of fluorescein isothiocyanate (FITC)-labeled dextran molecular weight, 150 000, TdB Consultancy, Uppsala, Sweden) as a macromolecular tracer. Total ischemia was achieved with an inflatable cuff placed around the

neck of the everted pouch [24] maintained for 30 min. Microvascular permeability to large molecules was quantified by counting the number of sites of fluorescent plasma extravasation (leaks), visualized by tracer fluorescence in postcapillary venules [24, 25]. Preparations with less than 10 leak sites 30 min after FITC-labeled dextran injection were accepted for experiments. At 60 min after reperfusion, histamine (5×10^{-6} M) (Sigma, St. Louis, MO, USA) was applied topically for 5 min. The number of leaks was counted at 2, 5, 10 and 15 min after the application of the histamine. The number of leaks at 10 min after reperfusion and 5 min after histamine application were used for statistical calculations.

2.4. Cytokine measurements

Blood samples were collected by cardiac puncture while animals were maintained under anesthesia. The serum was stored (-80°C) to determine levels of IL-1, IL-6, and TNF- α using high-sensitivity ELISA kit (R&D System, Minneapolis, MN, USA), according to the protocol specified by the manufacturer.

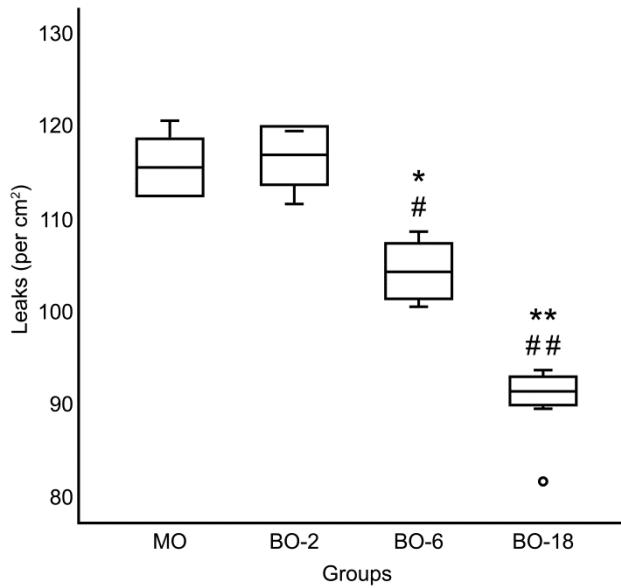
2.5. Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the STATA program, version 9.0 for Windows (Stata Corp, College Station, TX, USA). Data are expressed as mean and standard deviation. In comparisons among groups and among time points, we have used analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test. The homogeneity of variances was assessed by Levene's test. Data were graphed by box-plot. For all statistical tests, values of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

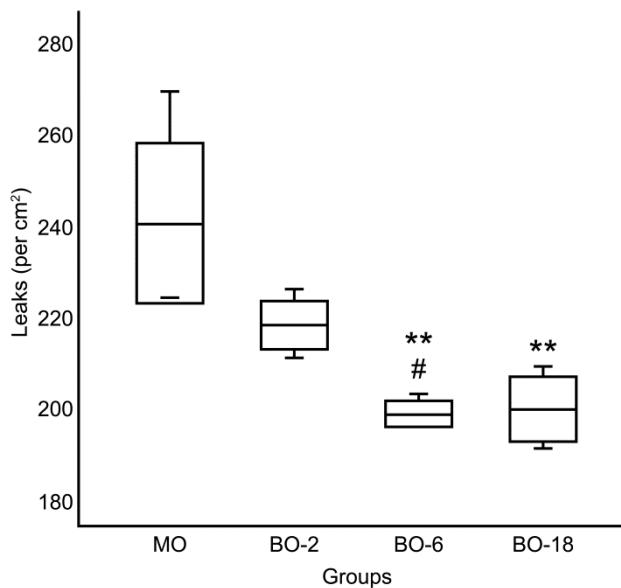
3. Results

3.1. Intravital microscopy studies

Treated hamsters accepted the oral administration of mineral or babassu oils and responded to the ischemia/reperfusion. The number of ischemia-induced microvascular leaks during reperfusion was significantly lower in the BO-6 and BO-18 groups than in the MO and BO-2 groups (Figure 1).



The histamine-induced increase in microvascular permeability was significantly less pronounced in BO-6 and BO-18 groups treated with babassu oil (Figure 2).



3.2. Leukocyte adhesion and Cytokine levels

At both time points evaluated, the degree of leukocyte adhesion was significantly lower in BO-2 group than in BO-18 group ($P < 0.05$).

We found no significant differences among groups in terms of leukocyte adhesion, concentrations of tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and interleukin 6.

4. Discussion

Atherosclerosis is considered to be an inflammatory disease and the endothelium plays a key role in this process [26]. It produces several vasoactive compounds like vasodilators [endothelium-derived relaxing factors (EDRFs)], such as nitric oxide (NO), prostacyclin and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) and vasoconstrictors [endothelium-derived contracting factors (EDCFs)], such as angiotensin II, endothelin, and thromboxane A2/prostaglandin H₂ and superoxide anions/isoprostane [27].

It has been shown that among the major known risk factors related to cardiovascular diseases, eating incorrectly has received special attention [28]. A low fat, hight-fiber diet, rich in dietary antioxidants from fruits, vegetables and whole grains is recommended to help reduce cardiovascular risk in the general population [29]. In this regard, the lipids are the most studied macronutrients concerning on the effects of dietary components on inflammation [30]. The oil extracted from the babassu nut is a complementary part of the diet of several indigenous [31] and babassu-nut breakers communities and is one of the principal sources of food energy [10, 32].

In the present study, despite the presence of saturated fat acid, we have observed that treating male hamsters with unrefined babassu oil decreased ischemia-induced macromolecular leakage in postcapillary venules and protected against histamine-induced increase in microvascular permeability. However the degree of leukocyte adhesion was significantly lower only in the BO-2 group, compared to BO-18 one, data that need further investigations. It is important to emphasize that the histamine effect is not dependent on neutrophil inhibition [33, 34].

Unrefined babassu oil contains minor components such as sterols and tocopherols [6] and oleic acid [7, 8] which have been investigated as responsible for protective effect on the microcirculation.

Previous studies, comparing activities of α -tocopherol and shark cartilage given orally to hamsters have shown that both inhibited macromolecular permeability increase after ischemia/reperfusion but only α -tocopherol was effective in decreasing the macromolecular permeability increase induced by histamine.

Several different studies of I/R-induced plasma leakage in the hamster cheek pouch concluded that at least two reactive oxygen species are involved such as superoxide (O₂) and nitric oxide

(NO). Superoxide dismutase (EC-SOD and CuZn-SOD) inhibited I/R-induced plasma leakage [35] and the nitric oxide synthetase inhibitor L-NA inhibited I/R-induced plasma leakage and leucocyte adherence to post capillary venules [36].

Vitamin E is considered the most important lipid-soluble antioxidant and lipid-rich plant products and vegetables are the main natural sources of it [37]. Humans absorb all forms of vitamin E, but the body maintains only α -tocopherol [38], incorporated into cellular membranes in which it effectively inhibits lipid peroxidation [39].

Other compounds present in the babassu oil are phytosterols [6], related to cholesterol-lowering properties of some oils from natural plant sources, but the exact mechanisms is not fully understood [40].

The babassu nut is an important source of lauric acid but it has 17% of oleic acid. Baer and co-workers demonstrated that ingestion of 8% oleic acid could inhibit the inflammatory process [41]. Whether or not the oleic acid plays a role in the protective effect observed in our experiments needs further investigation. Olive oil contains large amounts of oleic acid which is a ω -9 monounsaturated fatty acid converted to eicosatrienoic (ETA). ETA is converted to Leukotriene A₃ (LTA₃), which is a potent inhibitor of leukotriene B₄ synthesis [42].

Given the limitations of our study and the fact that, to our knowledge, this is the first study to investigate effects of babassu oil in a model of ischemia-reperfusion injury, further studies will also be needed in order to corroborate our data and to justify the use of babassu oil as a source of food energy.

Conclusions

Unrefined babassu oil given orally to male hamsters decreased ischemia-induced macromolecular leakage in postcapillary venules, and protected against a histamine-induced increase in microvascular permeability. Our results suggest that this almost unexploited nut and its oil might be secure sources of food energy.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

MCLB conceived drafting, performed experimental work, interpretation and discussion of the results and wrote the paper. FZGA, MGCS participate of the experimental work analysis and

interpretation. DSS, FLB, LFAG, MCPS, APSA participate in the acquisition of data, conception and interpretation. EB, MDSBN, participate in the conceiving drafting, orientation and revision the manuscript critically for important intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

Authors' informations

1. Maria do Carmo Lacerda Barbosa, professor and researcher of the Federal University of Maranhão, Brazil, Master of Science in physiology and completing a doctoral thesis by the Biotechnology Network of Northeastern Brazil. She studies the health of black communities "Quilombolas" and babassu nut in the diet of these communities.
2. Eliete Bouskela professor and researcher, director of the Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BioVasc), of the Rio de Janeiro State University, Brazil. Fellow by the National Research Council (CNPq). She develops researcher concerning on regulation of microvascular reactivity in obesity, insulin resistance, septic shock, hemorrhagic stroke and cardiovascular risk detection using non-invasive methods.
3. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento professor and researcher, chief of the Laboratory of Basic and Applied Immunology of the Federal University of Maranhão, Brazil. She also studies the health of black communities "Quilombolas" and babassu nut in the diet of these communities.
4. Fátima Z.G.A.Cyrino, biomedical and researcher of the Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BioVasc), of the Rio de Janeiro State University, Brazil. She develops the same research line of Dr. Eliete Bouskela.
5. Ana Paula S.Azevedo, professor and researcher at the Laboratory of Imunophisiology of the Federal University of Maranhão, Brazil. She studies the Ethnopharmacology of regional plants, especially the babassu palm trees.
6. Maria Célia P. Costa, professor and researcher, PhD in Chemistry, chief of the Laboratory of Macromolecular and Natural Products, Department of Chemistry and Biology, Maranhão State University, Brazil.
7. Maria das Graças C. de Souza, biologist and researcher the Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BioVasc), of the Rio de Janeiro State University, Brazil. She develops the same research line of Dr. Eliete Bouskela.

8. Debora S. Santos, Chemistry and research fellow of the Laboratory of Macromolecular and Natural Products, Department of Chemistry and Biology, Maranhão State University, Brazil.
9. Felipe L. Barbosa and Luiz Felipe A. Guerra, undergraduate researchers participants by FAPEMA- Foundation for the Support of Research and Technological Development in the State of Maranhão.

Acknowledgments

This work was conducted as part of the doctoral dissertation of the first author under the auspices of the Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO, Biotechnology Network of Northeastern Brazil). Financial support was provided by the Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico do Maranhão(FAPEMA, Foundation for the Support of Research and Technological Development in the State of Maranhão; Universal Mandate no. 04/2010). Logistical support was provided by the Municipal Health Department of Codó, Brazil.

References

1. Companhia de Pesquisa e Aproveitamento de Recursos Naturais-Instituto Estadual do Babaçu-COPENAT: **Mapeamento das ocorrências e prospecção do potencial atual do babaçu no Maranhão.** São Luís: INEB; 1981
2. Ministério da Indústria e Comércio/Secretaria de Tecnologia Industrial-MIC/STI: **Mapeamento e Levantamento do Potencial das Ocorrências dos Babaçuais no Maranhão, Piauí, Mato Grosso e Goiás.** Brasília: MIC/STI; 1982
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE: **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura.** [<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pevs/2010/default.shtml>]
4. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA: **Babaçu, Programa Nacional de Pesquisa.** <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/51263/1/Doc2.pdf>
5. Coelho ST, Silva OC, Consiglio M, Pisetta M, Monteiro MBCA: **Panorama do Potencial de Biomassa no Brasil.** [http://www.aneel.gov.br/biblioteca/downloads/livros/panorama_biomassa.pdf]

6. Hoffman G: **The chemistry and technology of edible oils and fats and their hight fat products.** San Diego CA: Academic Press; 1989.
7. Machado GC, Chaves JBP, Antoniassi R: **Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu.** *Rev Ceres* 2006, **53**:463-470.
8. Lima JR, Silva RB, Silva, CCM, Santos LSS, Jr Santos, JR, Moura EM, Moura CVR: **Biodiesel de babaçu (*Orbignya sp.*) obtido por via etanólica.** *Química Nova* 2007, **30**: 600-603.
9. Pinheiro CUB: *Palmeiras do Maranhão: onde canta o sabiá.* 1st ed. São Luís: Aquarela; 2011.
10. Herrmann I, Nassar AM, Marino, MKM, Nunes R: Coordenação do SAG do Babaçu: **Exploração racional possível?** Ribeirão Preto, Brasil: Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2001.
Available at: <http://www.fearp.usp.br/egna/resumos/Herrmann.pdf>.
11. Almeida AWB: **Economia do babaçu: Levantamento preliminar de dados.** 2nd ed. São Luís: MIQCB/Balaios Typografia; 2001.
12. Conde CMS, Cyrino FZGA, Bottino DA, Gardette J, Bouskela E: **Longchain n-3 polyunsaturated fatty acids and microvascular reactivity: observation in the hamster cheek pouch.** *Microvasc Res* 2007, **73**:237–247.
13. Fitó M, Cladellas M, de la Torre R, Martí J, Muñoz D, Schröder H, Alcántara M, Pujadas-Bastardes M, Marrugat J, López-Sabater MC, Bruguera J, Covas MI, SOLOS Investigators: **Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial.** *Eur J Clin Nutri* 2007, **62**:570–574.
14. Berbert AA, Kondo CRM, Almendra CL, Dichi I: **Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid.** *Nutrition* 2005, **21**:131-136.
15. Lercker G: **I componenti minori delle sostanza grassa.** In: **proceedings of IV Congresso Nazionale Acidi Grassi Polinsaturi Omega, CLA e Antiossidanti. Progr Nutri** 2003, **5**:93-115.
16. Amelio M: **Chemical –physical characteristic of olive oil.** *Organizzazione Nazionale Assaggiatoriolio di olive – ANAOO;* 2003: 1-26.
17. Kochar SP: **Influence of processing on sterols of edible vegetables oils.** *Prog Lipid Res* 1983, **22**:161-188.

18. Azzi A, Aratri E, Boscoboinik D, Clement S, Ozer NK, Ricciarelli R, Spycher S: **Molecular basis of alpha-tocopherol control of smooth muscle cell proliferation.** *Biofactors* 1998, **7**:3-14.
19. FDA- U.S FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. CFR-Code of Federal Regulation, title 21 volume 3. Revised as of April 1, 2012. [www.accessdata.fda.gov]
20. FISPQ-BR – FICHA DE INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO. MANTECORP Julho/06.
21. Lameira CP, Coelho GLV, Mothe CG: **Extração de lipídeos da amêndoа de castanha de caju com CO₂ supercrítico.** *Ciênc Tecnol Aliment* 1997, 405–407.
22. Instituto Adolfo Lutz: **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, vol. 1, 3rd. ed. São Paulo: IMESP; 2005.
23. Brum AAS, Arruda LF, Regitano d'Arce MAB: **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal.** *Química Nova* 2009, **32**:849-854.
24. Persson NH, Erlansson M, Svensjö E, Takolander R, Bergqvist D: **The hamster cheek pouch-an experimental model to study postischemic macromolecular permeability.** *Int J Microcirc Clin Exp* 1985, **4**:257-263.
25. Erlansson M, Bergqvist D, Persson NH, Svensjö E: **Modification of postischemic increase of microvascular permeability in the hamster by iloprost.** *Prostaglandins* 1991, **4**:157-168.
26. Ross R: **Atherosclerosis –an inflammatory disease.** *NEJM* 1999, **340**:115-126.
27. Abeywardena MY, Head RJ: **Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function.** *Cardiovasc Res* 2001, **52**:361-71.
28. THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III) FINAL REPORT. *Circulation* 2002, **106**:3143-421.
29. Tribble DE: **Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and beta-carotene.** *Circulation* 1999, **99**:591–5.
30. Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso Gl, Marfella R, Giugliano D, Italy N: **Postprandial endothelial activation in healthy subjects an in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals.** *JACC* 2002; **39**: 1145-50.
31. Sol Elizabeth GP, Márlia CF, Pascale R, Claudia LLG: **Conhecimento e usos do babaçu (Attalea speciosa Mart. e Attalea eichleri (Drude) A. J. Hend.) entre os**

Mebêngôkre-Kayapó da Terra Indígena Las Casas, estado do Pará, Brasil. *Acta Bot Bras* 2012, **26**:295-308.

32. Barbosa VO: **Na terra das palmeiras: gênero, trabalho e identidades no universo de quebradeiras de coco babaçu no Maranhão.** Programa de Pós-Graduação em Estudos Étnicos. [Program in Ethnic Studies]. Universidade Federal da Bahia, 2007.
[http://www.posafro.ufba.br/_ARQ/dissertacao_viviane_barbosa.pdf.]
33. Fontanele JB, Araujo GB, de Alaencar JW, Viana GS: **The analgesic, and anti-inflammatory effects of shark cartilage are due to a peptide molecule and are nitric (NO) system dependent.** *Biol Pharm Bull* 1997, **20**:1151-1154.
34. Criado PR, Criado RFJ, Maruta CW, Filho CAM: **Histamina, receptores de histamina e anti-histamínicos: novos conceitos.** *An Bras Dermatol*, 2010, **85**:195-210
35. Erlansson M, Bergqvist D, Marklund SL, Persson NH, Svenjö E: **Superoxide dismutase as an inhibitor of post-ischemic microvascular permeability increase in the hamster.** *Free Radical Biol Med* 1990, **9**:59-65
36. Simões C, Svenjö E, Bouskela E: **Effects of L-NA, and sodium nitroprusside on ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion, and macromolecular leakage in hamster cheek pouch venules.** *Microvasc Res* 2001, **62**:128-135.
37. Lester P, Stefan UW, Gerald R: Symposium: **Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling.** *J. Nutr* 2001, **2**: 369S-373S
38. **International Institute of Medicine Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intake of Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids.** Washington, DC: National Academy Press; 2000:58-72
39. Serbinova E, Kagan V, Han D, Parker L: **Free radicals recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol.** *Free Radic Biol Med* 1991, **10**:263-275.
40. Ling WH, Jones PJH: **Minireview dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects.** *Life Sci* 1995, **57**:195-206
41. Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP: **Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study.** *Am J Clin Nutr* 2004, **79**: 969-973.
42. James MJ, Gibson RA, Neuman MA, Cleland LG: **Effect of dietary supplementation with n-9 eicosatrienoic acid on leukotriene B₄ synthesis in rats: a novel approach to inhibition synthesis.** *J Exp Med* 1993, **6**:2261-2265.

Figure Legends

Figure 1. Ischemia-induced vascular leakage (leaks/cm^2), at 10 min after the onset of reperfusion, in groups of hamsters treated twice a day for 14 days with 0.18 ml of mineral oil (MO), 0.02 ml (BO-2), 0.06 ml (BO-6) or 0.18 ml (BO-18) of unrefined babassu oil. The lines represent the mean (center line) and the standard deviation (top and bottom line). The whiskers represent the maximum and minimum values. Analysis of variance ANOVA and Tukey's post hoc test: * $P<0.01$, ** $P<0.001$ compared with MO and # $P<0.01$ ## $P<0.001$ compared with BO-2.

Figure 2. Ischemia-induced vascular leakage (leaks/cm^2), at 5 min after histamine application, in groups of hamsters treated twice a day for 14 days with the following: 0.18 ml of mineral oil (MO); 0.02 ml (BO-2); 0.06 ml (BO-6) or 0.18 ml of unrefined babassu oil (BO-18). The lines represent the mean (center line) and the standard deviation (top and bottom line). The whiskers represent the maximum and minimum values. Analysis of variance ANOVA and Tukey's post hoc tests: ** $P<0.001$ compared with MO and # $P<0.01$ compared with BO-2

5 CAPÍTULO II

DYSLIPIDEMIA AND CARDIOVASCULAR RISK IN AFRODESCENDENTS: A STUDY IN QUILOMBOLA COMMUNITIES OF MARANHÃO, BRAZIL

Artigo submetido ao periódico: " BMC PUBLIC HEALTH"

(ISSN 1471-2458) B1 em Biotecnologia)

FATOR DE IMPACTO 2.0

Maria do Carmo Lacerda Barbosa^{*}, José Bonifácio Barbosa, Luiz Felipe Alves Guerra, Mirza Ferreira Lima Barbosa, Felipe Lacerda Barbosa, Raphael Lacerda Barbosa, Dayane Lima Guida, Maylla Luanna Barbosa Martins, Eliete Bouskela, and Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

¹Federal University of Maranhão (Universidade Federal do Maranhão, UFMA) (Northeast Biotechnology Network Graduate Program in Biotechnology – Programa de Pós-Graduação Rede Nordeste de Biotecnologia, RENORBIO). Portuguese Av. s/n Campus UFMA, São Luís-MA- CEP 65085-580. Phone: (98) 33018718.

² Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BioVasc), Reitor Haroldo Lisboa da Cunha Complex, Rio de Janeiro State University, Rua São Francisco Xavier, 524, Ground Floor, 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

*Corresponding author

Email addresses:

Maria do Carmo Lacerda Barbosa^{1*}

Email: carminha13032009@hotmail.com, carminha@elo.com.br

José Bonifácio Barbosa¹

Email: josebbarbosa@uol.com.br

Luiz Felipe Alves Guerra¹:

Email: l.felipeguerra@hotmail.com

Mirza Ferreira Lima Barbosa¹:

Email: mirzaflima@hotmail.com

Felipe Lacerda Barbosa¹

Email: f_l_barbosa@hotmail.com

Raphael Lacerda Barbosa¹

Email: raphael_lacerda.b@hotmail.com

Dayane Lima Guida¹
Email: dayaneguida@yahoo.com.br

Maylla Luanna Barbosa Martins¹
Email: maylla_martins@yahoo.com.br

Eliete Bouskela²
Email: eliete_bouskela@yahoo.com.br

Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento¹
Email: cnsd_ma@uol.com.br

Abstract

Background: Little is known regarding the prevalence of cardiovascular risk factors in individuals of African descent in the rural communities of Brazil. The aim of this study is to evaluate the prevalence of cardiovascular risk factors associated with dyslipidemia in the quilombola communities (afro-descendants) within Maranhão, Brazil. **Methods:** A cross-sectional study was performed between February 2010 and November 2011. A total of 202 individuals belonging to the quilombola communities of Codó, Maranhão were assessed. The lipid profile, blood glucose, blood pressure, weight, height, abdominal circumference, and sociodemographic status of the participants were analyzed. The risk factors associated with dyslipidemia and metabolic syndrome (MS) and the mortality rate associated with cardiovascular events based on the Framingham score were evaluated. The prevalence ratios and 95% confidence intervals were estimated using the Poisson regression. **Results:** The results showed a high prevalence of dyslipidemia (72.28%) and systemic arterial hypertension (43.07%). Isolated hypertriglyceridemia (38.61%) with normal high-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol was present in most individuals. Furthermore, the prevalence of MS and the mortality rate associated with cardiovascular events were low in this population. Dyslipidemia was not significantly associated with hypertension, smoking or education. **Conclusions:** Isolated hypertriglyceridemia was highly prevalent. The lower frequency of the other risk factors for dyslipidemia was associated with a lower prevalence of MS and cardiovascular events in the quilombola communities of Codó, Maranhão.

Keywords: Dyslipidemia, Cardiovascular risk, Afro-descendants, Brazil

Background

Quilombolas are descendants of enslaved Africans who have preserved their traditions over time [1]. These traditions include kinship practices; culinary tradition; religiosity; artistic expression; and political, economic, and social organization [2]. According to the Black Culture Center (Centro de Cultura Negra), there are 527 quilombola communities in the state of Maranhão. These communities are concentrated mainly in the regions of Baixada Ocidental, Baixada Oriental, Munin, Itapecuru, Mearim, Gurupi, and Baixo Parnaíba [3].

In the secular domain, the quilombola communities survive through the agroextractivism of babassu and raising animals[4]. Milk and the babassu oil extracted from palm seeds are part of their diet [5-7]. The communities are impoverished and face challenges in accessing health and education services [8]. These conditions threaten the survival of this population.

Excess weight and dyslipidemia are well-established risk factors for developing cardiovascular disease (CVD)[9,10]. Coronary artery disease (CAD) is associated with increased serum concentrations of total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c). CAD is also associated with reduced serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) concentrations[11,12].

Recent changes in the lifestyle and diet of the quilombola communities have increased the risk of such diseases as arterial hypertension, obesity, and dyslipidemia [13].

Because these rural communities have unique characteristics, it is important to obtain specific information regarding their genetic and environmental predisposition to cardiovascular risk factors. Therefore, the purpose of the present study was to evaluate the factors associated with dyslipidemia in a rural quilombola population in the state of Maranhão.

Methods

A cross-sectional study was conducted. The study was approved by the research ethics committee of the University Hospital of the Federal University of Maranhão (Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão; UFMA), opinion no. 403/09. We evaluated individuals who participated in the UFMA Outreach Project from February 2010 to November 2011. The project was named “Promotion and Prevention in Health: Comprehensive Care for the Quilombo Communities of Codó-MA.” It was implemented in the communities of Santo Antônio dos Pretos, Mocorongo, and Cipoal dos Pretos, located approximately 330 km from São Luis, the capital of Maranhão. All individuals who were

examined at the health clinic were included in the study. The sample consisted of 202 individuals over the age of 20 years. All individuals were given an informed consent form, and signatures and fingerprints were obtained for consent to participate in the study. Clinical and anthropometric evaluation data and blood biochemical analyses were examined. The name, gender, age, skin color, education, personal medical history, smoking, alcohol use, blood pressure, abdominal circumference, weight, body mass index (BMI), fasting blood sugar, triglycerides (TG), TC, HDL-c, and LDL-c of each participant were recorded.

The blood collection and normalization parameters were performed according to the norms of the IV Guidelines on Dyslipidemia [10]. The biochemical analyses were performed using ADVIA 1650 equipment. The LDL-c concentrations were calculated using the Friedewald formula [10].

The dependent variable was the lipid profile of the participants. The participants were categorized into two groups: the first group consisted of individuals with dyslipidemia, and the second group consisted of individuals with normal lipid profiles. The independent and categorical variables included age (<30, 30–39, 40–49, 50–59, 60–69, 70–79, or >80 years), gender (male and female), education in years of study (illiterate, up to 5 years, up to 9 years, or more than 9 years), alcohol use (yes or no), smoking status (nonsmoker, ex-smoker, or smoker), hypertension (yes or no), BMI (low weight, normal weight, overweight, or obese), waist circumference (normal or altered), and fasting blood sugar (normal or altered).

Individuals who reported alcohol consumption, regardless of the type of alcohol and the amount, were recorded as being positive for alcohol use. Individuals who reported smoking were recorded as being positive for cigarette use regardless of the amount used during the research period. Passive smokers were not considered to be smokers.

Blood pressure was measured according to the VI Brazilian Guidelines on Hypertension [14]. Individuals who used antihypertension medications and individuals with a systolic blood pressure ≥ 140 mmHg and/or a diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg were considered to have hypertension.

A portable, platform-style, Plenna digital scale with a 150-kg capacity was used to measure body weight. All participants were weighed on an empty stomach and wearing only underwear. A portable Alturaexata stadiometer with a scale from 0 to 220 cm and divisions of 0.1 cm was used to measure height. All participants were barefoot during the measurement.

The BMI (weight/height²) was calculated according to the World Health Organization recommendations for evaluating nutritional status [15]. The participants were categorized as

follows: low weight (BMI less than 18.5 kg/m^2), normal weight (BMI between 18.5 kg/m^2 and 24.9 kg/m^2), overweight (BMI between 25 kg/m^2 and 29.9 kg/m^2) and obese (BMI greater than 30 kg/m^2) [16].

The abdominal circumference, which reflects visceral fat, was measured using the median point between the outer side of the final rib and the iliac crest as references. The circumference was measured using an inelastic measuring tape. The measurement was taken with the participant in an upright standing position, chest uncovered, at the end of exhalation [17]. The men were considered to be at risk when the abdominal circumference was $\geq 90 \text{ cm}$, and the women were considered to be at risk when the circumference was $\geq 80 \text{ cm}$. These cutoff values were proposed for the people of South America by the International Diabetes Federation (IDF) [18]. A Cescorf inelastic measuring tape was used to measure the circumference. The tape could measure up to 150 cm. The fasting blood sugar was considered to be altered when it was $\geq 100 \text{ mg/dL}$ [18].

Metabolic syndrome (MS) was diagnosed based on the guidelines from the National Institute of Health in the National Cholesterol Education Program, the Adult Treatment Panel III report and the IDF. Abdominal circumference, TG, HDL-c, blood pressure, and fasting blood sugar were considered to be risk factors [10]. The IDF criteria were adopted in the present study.

The statistical analyses were performed using Stata/SE 9.0 for Windows (Stata Corporation, College Station, Texas, USA). The χ^2 test was employed to analyze the relationship between two categorical variables. If the resulting p value was <0.05 , we subsequently applied a partitioning χ^2 test. The coefficient of correlation was categorized as being weak if it was between 0.1 and 0.3, moderate if it was between 0.31 and 0.6, and strong if it was greater than 0.61. The t-test for independent samples was used to compare the numerical variables between groups. The Poisson Regression model [19] was used for the multivariate analysis. In this analysis, all the independent variables that were associated with the dependent variable ($p < 0.20$) in the univariate model were considered in the multivariate model. The Poisson regression was performed using the stepwise with backward elimination technique. In the final adjusted model, a value of $p < 0.05$ and a confidence interval of 95% were considered significant.

Results

First, we analyzed the sociodemographic characteristics and life habits of the sample. Of the 202 participants, 119 (58.91%) were female, and 83 (41.09%) were male. The

participants had an average age of 51.14 years. Individuals with no education were predominant within our sample (79.70%). Many had a history of smoking (52.48%) and consumed alcoholic beverages (59.20%). According to our data, 72.86% belonged to the quilombola community of Santo Antonio dos Pretos; 16.83%, the community of Cipoal dos Pretos; and 10.89%, the community of Mocorongo.

The anthropometric evaluation showed that 48.02% of the participants were of normal weight. In addition, 34.65% were overweight, and 12.87% were obese. The analyses also revealed that 55.94% of the participants had increased abdominal circumference. Hypertension (43.07%) and dyslipidemia (72.28%) were highly prevalent in the sample. However, only 17.33% exhibited hyperglycemia.

The lipid profiles of the participants are shown in Figure 1. Individuals with dyslipidemia had a high prevalence of isolated hypertriglyceridemia (38.61%). The mean values of the lipid measures were as follows: TG, 163 ± 60 ; TC, 206 ± 0.5 ; HDL-c, 50.64 ± 11.16 ; LDL-c, 121.67 ± 49 ; VLDL-c, 33.06 ± 14.75 ; TG/HDL-c, 3.35 ± 1.55 ; and TC/HDL-c, 4.21 ± 1.10 . The serum concentrations of HDL-c and LDL-c were normal in most individuals (73.27% and 85.64%, respectively).

Most individuals (73.76%) did not meet the IDF criteria for MS.

Table 1 shows the nonadjusted results of the association between sociodemographic factors and lifestyle with dyslipidemia. Table 2 shows the nonadjusted results of the association between the physiological factors and the presence of dyslipidemia. These results demonstrate that the risk of having dyslipidemia was greater among the individuals who smoked (21%), had hypertension (25%), and had MS (55%) compared with individuals without these risk factors.

Table 3 shows the adjusted results of the association between the socioeconomic, lifestyle, and physiological factors with the presence of dyslipidemia. The results show a significant association between MS and dyslipidemia (relative risk (RR) = 1.55; confidence interval (CI) 1.10-1.28). Dyslipidemia was not significantly associated with hypertension, smoking, or education.

The association between the presence of MS and the socioeconomic and lifestyle factors (Table 4) was also analyzed. In the adjusted analysis, men had a lower risk of MS, and advanced age was associated with a higher risk of this syndrome (Table 5). In these communities, the majority of the individuals had a low risk of myocardial infarction and death within 10 years, according to the Framingham assessments (Figure 2).

Discussion

The present study evaluated the factors associated with dyslipidemia and cardiovascular risk in the quilombola communities of Codó in the state of Maranhão. The representation of the study sample reinforces the internal validity of the study. Our sample comprised 202 individuals from small black communities (161 registered families). The community of Santo Antonio dos Pretos is the largest expansion in terms of area and number of families [1,3]. Thus, the general applicability of the results for the quilombola population in the studied municipality is also ensured. The current study is relevant because it describes a population of Brazilian afro-descendants with a rural and homogenous lifestyle.

One of the main risk factors for CVD is hypercholesterolemia. Hypercholesterolemia is potentiated by obesity, a sedentary lifestyle [20] and other factors such as smoking, hypertension, poor eating habits, and family history [10]. Hypertriglyceridemia levels are correlated with the formation of LDL-c, which increases the risk of atherosclerosis [10, 21]. The TC/HDL-c levels were also associated with the number of affected vessels in CAD. The measurements differed between individuals with two-vessel and multivessel occlusions and individuals with single-vessel occlusions [22]. This finding reinforces the fact that an imbalance between TC and HDL-c plays a significant role in atherogenesis.

In our survey of 202 adults in the quilombola communities of Codó, dyslipidemia was primarily associated with isolated hypertriglyceridemia (mean, 163 ± 60 mg/dl). Dyslipidemia was not associated with an increased prevalence of hyperglycemia or obesity. The serum concentrations of HDL-c and LDL-c were normal in most individuals (73.27% and 85.64%, respectively). There was no significant association between dyslipidemia and hypertension, smoking, and education. Thus, 71.79% of the individuals had a low risk of myocardial infarction and death within 10 years according to the Framingham score. This analysis excluded individuals older than 79 years. According to Lotufo [23], the Framingham score is useful in CVD prevention practices within the clinical and epidemiological contexts. However, it does not take diet, weight, and physical activity into consideration, and this analysis was not considered in our study.

The data presented are in agreement with the data in the literature [24]. Evidence has shown that risk factors for CVD, such as hypertension and smoking, are present in afro-descendants. However, afro-descendants, especially male afro-descendants, did not show a larger difference in mortality as a result of coronary disease. The increase in HDL-c may be protective against cardiovascular risk [24].

It is difficult to compare our data with the prevalence of MS in other afro-descendant communities in Brazil. These studies, particularly lipid profile studies, are scarce. Medeiros [25] is one of the few studies that has examined the remaining quilombola communities in the state of Amapá. They found a low prevalence of MS and fewer independent CVD risk factors among quilombolas when compared to non-quilombolas.

Barbosa et al., in 2010, studied MS in 719 patients at the Outpatient Cardiology Care in the city of São Luís, the capital of the state of Maranhão. They found an elevated prevalence of MS. The prevalence was higher among individuals with low income and advanced age [26]. The sample in the study had a different sociodemographic profile than that in our study. Barbosa et al. [26] evaluated an urban population. In contrast, the quilombola communities reported here are essentially rural. This may explain the difference in the identified prevalence of MS. Lifestyle and eating habits may contribute to these differences.

The data on arterial hypertension in our study did not differ from those in the literature. The presence of systemic hypertension was high. Lopes [27] analyzed hypertension as one of the risk factors for CVD. He showed that several international and Brazilian studies consistently reported a greater prevalence of arterial hypertension in the black population than the white population. Another cross-sectional study was conducted by the Brazilian Surveillance System of Chronic Disease Risk Factors and Protection using a telephone survey approach (Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por inquérito telefônico; VIGITEL) in 2006. The frequency of self-reported arterial hypertension was 21.6%. The frequency increased with age, decreased with education, and was elevated in individuals with dark skin [28].

Thus, the data from different populations contain differences because CVDs have a complex etiology, involving interactions between metabolic, neuroendocrine, and genetic factors [29,30]. The estimates of genetic inheritance of CVD risk factors are high, and there are no differences between worldwide populations [31].

Studies have shown that physical activity is an important protective factor for CVD [32,22]. Physical activity increases adiponectin concentrations in the plasma, which in turn increases insulin sensitivity and decreases the levels of interleukin 6 and tumor necrosis factor- α [34,35]. In quilombola communities, women perform agroextractivism and men are responsible for farming activities. These activities have a high energy demand and require hours of walking.

This study has shown that the afro-descendants of the quilombola communities in the Maranhão countryside displayed a high prevalence of dyslipidemia at the expense of TG and

systemic arterial hypertension. The frequency of other independent risk factors for cardiovascular events was low. An associated low prevalence of MS and cardiovascular risk according to the Framingham score was also identified. Thus, further studies with larger numbers of communities would provide important insights about the influence of lifestyle and eating habits.

Competing interests

The authors declare that there exists no financial competing interest among any of the authors.

Authors' contributions

MCLB conceived of the study, supervised all aspects of its implementation and wrote the manuscript. JBB, RLB, MLBM assisted with the survey, completed the statistical analyses and collaborated with the writing of different versions of the manuscript. LFAG, MFLB, FLB, DLG assisted with the study, with the survey and data analyses. EB, MDSBN participate in the conceiving of the study and assisted it. All authors contributed to conceptualized ideas, interpret findings, and review the drafts of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

This study was financed by the Maranhão Technological Research and Development Foundation (Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico do Maranhão, FAPEMA) announcement no. 04/2010 and by the Office of the Vice-Chancellor of the University of Maranhão (Pro-Reitoria de Extensão da Universidade do Maranhão), announcement no. 16/2010, Protocol SIGPROJ 26920.346.31911.16032011.

This article is part of the Doctoral Thesis of Maria do Carmo Lacerda Barbosa from the Northeast Biotechnology Network (Rede Nordeste de Biotecnologia-UFMA).

References

1. Fundação Palmares (Palmares Foundation): Comunidades Quilombolas [Quilombo communities]. [<http://www.palmares.gov.br>]
2. Reis M: Dimensão sócio cultural [Socio cultural dimension]. In: Revista Palmares [Palmares Magazine]. Edição Especial [Special Edition], 2010, p. 45. [<http://www.palmares.gov.br>]
3. Comissão Pró-Índio de São Paulo (Pro-Indigenous Commission of São Paulo): Comunidades Quilombolas no Brasil. [Quilombo communities in Brazil.]. [<http://www.cpisp.org.br>]
4. Almeida AWB: *Economia do Babaçu: Levantamento Preliminar de Dados* [Economics of Babassu: Preliminary Data Survey.] São Luís/MA: Ed. MIQCB/Balaios Thiphografia; 2000.
5. Ministério do Meio Ambiente (Brasil): Valoração econômica da biodiversidade [Economic value of biodiversity]. Brasília, p.37-38. [<http://www.mma.gov.br>]
6. Clement CR, Lleras PE, Leeuwen J: O potencial das palmeiras tropicais do Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. *Agrociências* 2005, 9:67-71.
7. Pinheiro CUB: *Palmeiras do Maranhão: Onde Canta o Sabiá* [Palm Trees of Maranhão: Where the Thrush Sings.] 1st edition. São Luís: Aquarela; 2011.
8. Mesquita BA: As mulheres agroextrativistas do Babaçu: a pobreza a serviço da preservação do meio ambiente. *Rev Pol Públ* 2008, 12:53-61.
9. Polanczyk CA: Cardiovascular risk factors in Brazil: the next 50 years! *Arq Bras Cardiol* 2005, 84:199-201.
10. Sociedade Brasileira de Cardiologia: IV diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2007, 88(Suppl 1):1-19.
11. Chien KL, Lin HJ, Hsu HC, Chen MF: Lipid-related residual risk and renal function for occurrence and prognosis among patients with first-event acute coronary syndrome and normal LDL cholesterol. *Lipids Health Dis* 2011, 10:215.
12. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation* 2002; 106:3143-3421.

13. Angeli CB: Susceptibilidade genética e outros fatores de risco associados ao sobrepeso e à obesidade em populações afro-descendentes do Vale do Ribeira –SP. *PhD Thesis*. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo; 2008.
14. Sociedade Brasileira de Cardiologia; Sociedade Brasileira de Hipertensão; Sociedade Brasileira de Nefrologia: VI Diretrizes brasileiras de hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 2010, 95(1 Suppl 1):1-51.
15. Holt R: The Food and Agriculture Organization/World Health Organization experts report on diet, nutrition and prevention of chronic diseases. *Diabetes Obes Metab* 2003, 5:354.
16. World Health Organization. Global database on body mass index. Geneva: WHO. [http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html]
17. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R: Body mass index, waist circumference, and health risk. *Arch Intern Med* 2002, 162:2074-2079.
18. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J: Metabolic syndrome- a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006, 23:469-480.
19. Tadano YS, Ugaya CML, Franco AT: Método de regressão de Poisson: metodologia para avaliação do impacto da poluição atmosférica na saúde populacional. *Ambient Soc* 2009, 12:241-255.
20. Bergmann MLA, Bergmann GG, Halpern R, Rech RR, Constanzi CB, Alli LR: Associated factors to total cholesterol: school based study in southern Brazil. *Arq Bras Cardiol* 2011, 97:17-25.
21. Lima JG, Nóbrega LHC, Nóbrega MLC, Bandeira F, Sousa AGP: Dislipidemia pós-prandial como achado precoce em indivíduos com baixo risco cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2002, 46:249-254.
22. Penalva RA, Huoya MO, Correia LCL, Feitosa GS, Ladeia AMT: Perfil lipídico e intensidade de doença aterosclerótica na síndrome coronariana aguda. *Arq Bras Cardiol* 2008, 90:24-30.
23. Lotufo PA: Framingham score for cardiovascular diseases. *Rev Med* 2008, 87:232-237.
24. Zoratti R: A review on ethnic differences in plasma triglycerides and high density lipoprotein cholesterol: Is the lipid pattern the key factor for the low coronary heart disease rate in people of African origin? *Eur J Epidemiol* 1998, 14:9-21.
25. Medeiros ALCL: Síndrome metabólica em idosos quilombolas e não-quilombolas. *Master's Thesis*. Catholic University of Brasilia, Graduate Program in Gerontology; 2009.

26. Barbosa JB, Silva AAM, Barbosa FF, Monteiro Júnior FC, Figueiredo Neto JA, Nina VJS, Ribeiro WG, Figueiredo ED, Melo Filho JX, Costa Chein MB: Síndrome metabólica em ambulatório cardiológico. *Arq Bras Cardiol* 2010, 94:46-54.
27. Lopes AA: Raça e hipertensão arterial. *Hiperativo* 1996, 3:153-172.
28. Ferreira SRG, Moura EC, Malta DC, Sarno F: [Frequency of arterial hypertension and associated factors: Brazil, 2006.] *Rev Saúde Pública* 2009, 43(Suppl 2): 98-106.
29. Oliveira CM, Pereira AC, Andrade M, Soler JM, Krieger JE: Heritable of cardiovascular risk factor in a Brazilian population: Baepend Heart Study. *BMC Med Genet* 2008, 9:32.
30. Kisseebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG: Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, 97:14478-14483.
31. Goldin LR, Camp NJ, Keen KJ, Martin LJ, Moslehi R, Ghosh S, North KE, Wyszynski DF, Blacker D. Analysis of metabolic syndrome phenotypes in Framingham Heart Study families from Genetic Analysis Workshop 13. *Genet Epidemiol* 2003, 25(Suppl 1):S78-89.
32. Fernandes RA, Christofaro DGD, Casonatto J, Codogno JS, Rodrigues E, Cardoso M, Kawaguti S, Zanesco A: Prevalência de dislipidemia em individuos fisicamente ativos durante a infância, adolescência e idade adulta. *Arq Bras Cardiol* 2011, 97:317-323.
33. Nunes Filho JR, Debastiani D, Nunes AD, Peres KG: Prevalence of cardiovascular risk factors in adults living in Luzerna, Santa Catarina, in 2006. *Arq Bras Cardiol* 2007, 89:319-324.
34. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, Fallucca S, Alessi E, Letizia C, Jimenez A, Fallucca F, Pugliese G: Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010, 20:608-617.
35. Carrel AL, McVean JJ, Clark RR, Peterson SE, Eickhoff JC, Allen DB: School-based exercise improves fitness, body composition, insulin sensitivity, and markers of inflammation in non-obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009, 22:409-415.

Figure legends

Figure 1. Classification of the lipid profile of the participants according to the IV Brazilian Guidelines on Dyslipidemia.

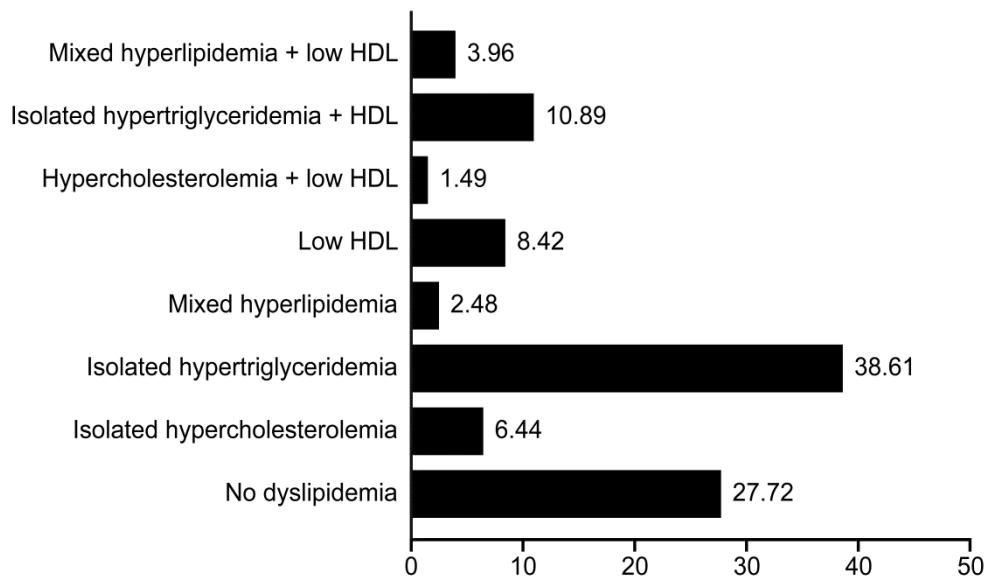


Figure 2. Distribution of the individuals according to the Framingham score.

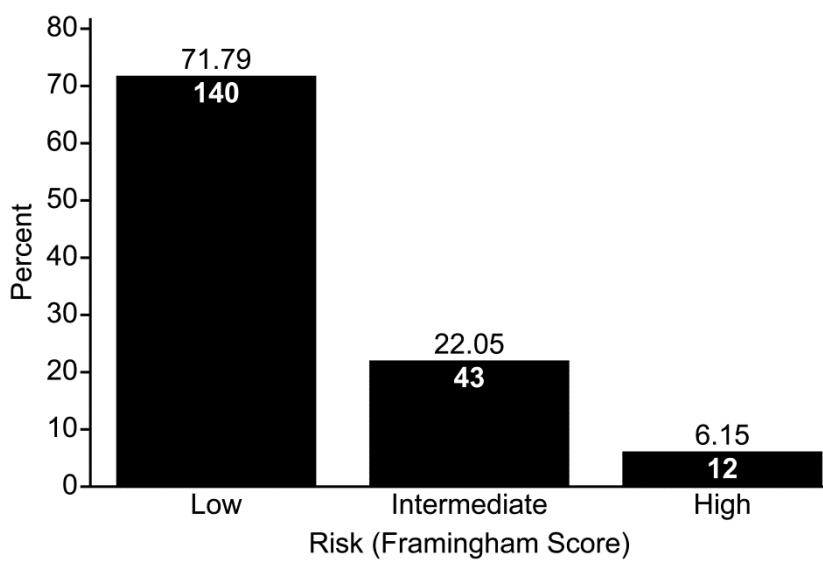


Table 1. Univariate analysis. Sociodemographic and lifestyle factors associated with the presence of dyslipidemia.

Characteristic	Dyslipidemia		
	F (%)	RR (95% CI)	p
Gender			0.52
Female	88 (60.27)	1.00	
Male	58 (39.73)	1.3 (0.79–1.12)	
Age			0.66
20–39 years	31 (21.23)	1.00	
40–49 years	39 (26.71)	1.20 (0.92–1.57)	
50–59 years	32 (21.92)	1.14 (0.86–1.52)	
60–69 years	25 (17.12)	1.16 (0.86–1.55)	
70–79 years	13 (8.90)	1.20 (0.86–1.69)	
>80 years	6 (4.12)	1.35 (0.93–1.86)	
Education			0.05
Up to 5 years of education	14 (9.59)	1.00	
≥ 5 years of education	8 (5.48)	1.10 (0.61–1.97)	
No education	124 (84.93)	1.48 (1.02–2.15)	
Smoking			0.03
Nonsmoker	65 (44.52)	1.00	
Ex-smoker	17 (11.64)	0.89 (0.64–1.24)	
Current smoker	64 (43.84)	1.21 (1.01–1.44)	
Alcohol use			0.36
No	62 (42.76)	1.00	
Yes	83 (57.24)	0.92 (0.77–1.09)	
Community			0.28
Santo Antonio dos Pretos	108 (73.97)	1.00	
Cipoal dos Pretos	26 (17.81)	1.03 (0.83–1.27)	
Mocorongo	12 (8.22)	0.73 (0.49–1.09)	

Table 2. Univariate analysis. Physiological factors associated with the presence of dyslipidemia.

Characteristic	Dyslipidemia		
	Yes f (%)	RR (95% CI)	p
Nutritional status			0.91
Low weight	7 (4.79)	1.00	
Normal weight	69 (47.26)	0.91 (0.63–1.32)	
Overweight	50 (34.25)	0.91 (0.62–1.34)	
Obesity	20 (13.70)	0.98 (0.65–1.48)	
Waist circumference			0.29
Normal	61 (41.78)	1.00	
Altered	65 (58.22)	1.09 (0.91–1.30)	
Glycemia			0.9
Normal	121 (82.88)	1.00	
Altered	25 (17.12)	0.98 (0.78–1.24)	
Hypertension			<0.001
No	75 (51.37)	1.00	
Yes	21 (48.63)	1.25 (1.05–1.47)	
Metabolic syndrome			<0.001
No	94 (64.38)	1.00	
Yes	52 (35.62)	1.55 (1.36–1.76)	

Table 3. Multivariate analysis. Factors associated with the presence of dyslipidemia.

Characteristics	Dyslipidemia		p
	Yes f (%)	Adjusted RR (95% CI)	
Metabolic syndrome			
No	94 (64.38)	1.00	<0.01
Yes	52 (35.62)	1.55 (1.10–2.18)	
Arterial hypertension			
No	75 (51.37)	1.00	0.81
Yes	21 (48.63)	1.04 (0.72–1.51)	
Smoking			
Nonsmoker	65 (44.52)	1.00	0.78
Ex-smoker	17 (11.64)	0.92 (0.54–1.59)	
Current smoker	64 (43.84)	1.20 (0.74–1.71)	
Education			
Incomplete primary education	14 (9.59)	1.00	0.80
Complete/half complete primary education	8 (5.48)	1.11 (0.76–2.47)	
No education	124 (84.93)	1.33 (0.76–2.34)	

Table 4. Univariate analysis. Sociodemographic and lifestyle factors associated with the presence of metabolic syndrome.

Characteristic	Metabolic Syndrome		RR (95% CI)	p
	No f (%)	Yes f (%)		
Sex				0.003
Female	78 (52.35)	41 (77.36)	1.00	
Male	71 (47.65)	12 (22.64)	0.42 (0.23–0.74)	
Age				<0.001
20–39 years	45 (30.61)	4 (7.27)	1.00	
40–49 years	35 (23.81)	*16 (29.09)	3.60 (1.28–10.12)	
50–59 years	32 (21.77)	12 (21.82)	3.34 (1.15–9.62)	
60–69 years	24 (16.33)	10 (18.18)	3.24 (1.08–9.70)	
70–79 years	9 (6.12)	*8 (14.55)	5.76 (1.98–16.78)	
>80 years	2 (1.36)	*5 (9.09)	8.75 (3.05–25.06)	
Education				0.12
Incomplete Primary Education	22 (14.77)	5 (9.43)	1.00	
Complete/Half complete Primary education	13 (8.72)	1 (1.89)	0.38 (0.49–3.00)	
No education	114 (76.51)	47 (88.68)	1.57 (0.68–3.61)	
Smoking				0.63
Nonsmoker	68 (45.64)	28 (52.83)	1.00	
Ex-smoker	22 (14.76)	6 (11.32)	0.73 (0.33–1.59)	
Current smoker	59 (39.60)	19 (35.85)	0.83 (0.50–1.37)	
Alcohol use				0.01
No	53 (35.81)	29 (54.72)	1.00	
Yes	95 (64.19)	24 (54.28)	0.57 (0.35–0.90)	

χ^2 test; * partitioning χ^2 test. The age categories are significantly different.

Table 5. Multivariate analysis. Factors associated with the presence of metabolic syndrome.

Characteristics	Nonadjusted RR (95% CI)	Adjusted RR (95% CI)	p
Gender			0.001
Female	1.00		
Male	0.42 (0.23–0.74)	0.32 (0.16–0.63)	
Alcohol use			0.63
No	29 (54.72)	1.00	
Yes	24 (54.28)	0.86 (0.47–1.57)	
Age			<0.001
20–39 years	1.00		
40–49 years	3.60 (1.28–10.12)	3.91 (1.29–11.81)	
50–59 years	3.34 (1.15–9.62)	4.10 (1.31–12.78)	
60–69 years	3.24 (1.08–9.70)	3.98 (1.22–12.99)	
70–79 years	5.76 (1.98–16.78)	6.87 (2.06–22.91)	
>80 years	8.75 (3.05–25.06)	13.76 (3.62–52.27)	

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A palmeira do babaçu possibilita renda para a camada mais pobre da população amazônica e o seu principal produto é o óleo de babaçu. As décadas de 60 a 80 constituíram-se no auge da economia babaçueira, mas a partir da década de 90, com a abertura das importações e da globalização da economia mundial, o mercado do óleo de babaçu entrou em declínio.

Atualmente o óleo de soja é o principal concorrente do óleo de babaçu no mercado de óleos comestíveis. O mercado formal do óleo de babaçu é estimado em 5,5 toneladas/ano, especialmente para o mercado nordestino, mas é muito utilizado para o auto-consumo de comunidades rurais de quebradeiras de coco como fonte de energia alimentar.

Apesar da sua importância extraordinária, pouco se sabe sobre os efeitos do consumo deste óleo para a saúde humana. No entanto, por ser um óleo vegetal, apresenta outros compostos que, por seus efeitos antioxidantes, pode ser explorado como uma fonte segura de energia alimentar, para atletas e especialmente para populações pobres que vivem em condições de insegurança alimentar.

Desta forma, os resultados obtidos no presente trabalho possibilitaram o desenvolvimento de um projeto de patente, em andamento, de um produto derivado do óleo de babaçu. Além disso, um banco de dados adicional com informações sobre a saúde da população quilombola, seu perfil nutricional e socioeconômico encontra-se em análise para novas publicações. As características peculiares de estilo de vida, etnia e localização geográfica dessa população poderá fornecer dados importantes para pesquisas na área de genética humana, nutrogenoma e de bioproductos.

REFERÊNCIAS

- ABEYWARDENA, M.Y.; HEAD, R. J. Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function. **Cardiovasc Res**, n.52, p361-71, 2001.
- ADAMS, R.H.; ALITALO, K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 8, p. 464-478, 2007.
- AFONSO, S.R; HUMBERTO, A. Mercado dos Produtos Florestais não Madeireiros do Cerrado Brasileiro. **Ciência Florestal**, v.10, n.3, p. 315-326, 2009.
- AL SWAIDI, J. et al. Obesity is independently associated with coronary endothelial dysfunction in patients with normal or mildly diseased coronary arteries. **JACC**. v.37, n.6, p. 1523-8, 2001.
- ALBIERO, D. et al. Proposta de uma máquina para colheita mecanizada de babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) para a agricultura familiar. **Acta Amaz.**, v. 37, n.3, p. 337-346, 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br/scielo>>.
- ALLEN J.D, et al. Total nitrogen oxide following exercise testing reflects endothelial function and discriminates health status. **Free Rad Biol Med**, v.41, n.5 p.740-7, 2006.
- ALMEIDA et al. O. Avaliação do destilado da desodorização do óleo de soja para a extração da vitamina E. **Arq Biol Tecnol**, v. 37, n. 4, p. 1003-1011,1994.
- AMIOT, M.J. et al. Phytosterol ester processing in the small intestine: impact on cholesterol availability for absorption and chylomicron cholesterol incorporation in healthy humans. **J Lipid Res.**, v. 52, p. 1256-1264, 2011. available online at <http://www.jlr.org>
- ASSOCIAÇÃO EM ÁREAS DE ASSENTAMENTO NO ESTADO DO MARANHÃO-ASSEMA. **Economia do babaçu: levantamento preliminar de dados**. 2. ed. São Luís-MA:MIQCB/Balaios Thiphografia, 2001.
- AZZI A. et al. Molecular basis of alpha-tocopherol control of smooth muscle cell proliferation. **Biofactors**, n.7, p. 3-14, 1998.
- BADAWI A. et al. Type 2 diabetes mellitus and inflammation: prospective for biomarkers of risk and nutritional intervention. Diabetes, metabolic syndrome and obesity. **Targets Ther**, n.3, p.173-86, 2010
- BAER, D. J. et al. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. **Am J Clin Nutr**, USA, n.79, p. 969-73, 2004.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chem.**, v. 99, p.191-203, 2006. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.042.

BARKER C.F; BILLINGHAM F.R.S. The lymphatic status of hamster cheek pouch tissue in relation to its properties as a graft and a graft site. **J Exp Med**, n. 133, p. 620-39, 1971.

BECKMAN, J.S. al. Extensive nitration of phenolics by peroxinitrite. **Arch Biochem Biophys**, v. 288, p. 438-44, 1992.

BERBERT A. A. et al. Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid. **Nutrition**, n. 21, p. 131-136, 2005.

BIBIVIRT. **Biblioteca virtual do estudante brasileiro**: babaçu. 2006. Disponível em <<http://bibvirt.future.usp.br/especiais/frutasnobrasil/babaçu.html>>. Acesso em 10 out. 2006.

BLOCK G. et.al. Vitamin C treatment reduces elevated C-reactive protein. **Free Radic Biol Med**, n. 46, p. 70-77, 2009.

BOUSKELA, E.; CYRINO, F.Z.; LEROND L. Leukocyte adhesion after oxidant challenge in hamster cheek pouch microcirculation. **J Vas Res**, USA, n.36, Supl. 11, p. 11-4, 1999.

BOUSKELA, E; GRAMPP, W. Spontaneous vasomotion in hamster cheek pouch arterioles in varying experimental conditions. **Am J Physiol**, v. 262, n.2, p.H478-H485, 1992.

BURR, M.L. et al. Effects of changes in fat, fish and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). **Lancet**, v.2, n. 8666, p.757-761, 1989.

CARVALHO, M.H.C. et al. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, n.1, p. 76-88, 2001.

CHAIYASIT, W. et al. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Crit Rev Food Sci Nutr**. V. 47, N. 299-317, 2007. doi: 10.1080/10408390600754248.

COMISSÃO PRÓ-ÍNDIO DE SÃO PAULO (Pro-Indigenous Commission of São Paulo): **Comunidades Quilombolas no Brasil**. [Quilombo communities in Brazil.]. [<http://www.cpis.org.br>]

CONDE, C. et al. Long chain n-3 polyunsaturated fatty acid and microvascular reactivity: observation in hamster cheek pouch. **Microvasc Res**, v. 73, n..3, p. 237-47, 2007.

CORSTIAN, A. et al. The Microcirculation in Health and Critical Disease. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 51, n. 2, p. 161-170, 2008.

DARLEY-USMAR, V.M. et al. The simultaneous generation of superoxide and nitric oxide can initiate lipid peroxidation in human low density lipoprotein. **Free Radic Res Commun**, v. 17, p. 9-20, 1992.

DEL CARLO, M. et al. Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. **J Agric Food Chem.** v. 52, p. 4072-79, 2004. doi: 10.1021/jf049806z.

DEWITT D.S. et al. Peroxynitrite reduces vasodilatory responses to reduced intravascular pressure, calcitonin gene-related peptide, and cromakalim in isolated middle cerebral arteries. **J Cereb Blood Flow Metab.** n. 21, p. 253-61, 2001.

DULLING, B.R. Preparation and use of the hamster cheek pouch. **Microvasc Res**, n.5, p.423-429, 1973.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA [homepage on the Internet]. Brasília: EMBRAPA [cited 2012 Jul 5]. Departamento de Difusão de Tecnologia, 1984. **Babaçu, Programa Nacional de Pesquisa**. [Adobe Acrobat document, 89 p.] Available at:
<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/51263/1/Doc2.pdf>

FERREIRA, B. S.; FAZA, L. P.; HYARIC, M. L.. A Comparison of the Physicochemical Properties and Fatty Acid Composition of Indaiá (*Attalea dubia*) and Babassu (*Orbignya phalerata*) Oils. **Scient World J**, v. 2012, Article ID 532374, 4 pages, 2012. doi:10.1100/2012/532374

FIGUEIREDO, L. B. **Embates nos babaçuais: o espaço doméstico ao espaço público – lutas das quebradeiras de coco do Maranhão**. 2005.198f. Dissertação (Mestrado em Agriculturas Familiares e Desenvolvimento Sustentável). Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.

FITÓ M. et.al. Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial. **Eur J Clin Nutri**, n. 62, p.570–74, 2007.

FUENTES, J.A.G. Que alimentos convêm ao coração? **Rev Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.7-11, 1998.

FULTON, G.P.; JACKSON, R.G.; LUTZ, B.R. Cinephotomicroscopy of normal blood circulation in the cheek pouch of hamster. **Science**, n.105, p.361-62, 1947.

FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES: Comunidades Quilombolas. Disponível em: http://www.palmares.gov.br/005/00502001.jsp?ttCD_CHAVE=100 . Acesso em: 26 nov. 2010.

GARCIA- BAIOLLO, B. Association between circulating ascorbic acid, alpha-tocopherol, 25-hydroxyvitamin D, and plasma cytokine concentrations in young adults: a cross-sectional study. **Nutrition & Metabolism**, v. 9, p.102, Doi:10.1186/1743-9-102, 2012.

GIANNOTTI, G; LANDMESSER, U. Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. **Hertz**, v. 32, p. 568-572, 2007.

GIMBRONE J.R, M.A. Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. **Am J Cardiol**, n.75, p.67B-70B, 1995.

GOLDENBERG, D.M; STEINBORN, W. Reduced lymphatic drainage from hamster cheek pouch. **Proc Soc Exp Bio Med**, n.135, p. 724-6, 1970.

GORINSTEIN ,S. et al. Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. **J Nutr Biochem**. 2003; 14:154-59. doi: 10.1016/S0955-2863(02)00278-4.

GOTO, C. et al. Effect of different intensities of exercises on endothelium – dependent vasodilatation in humans: role of endothelium –dependent nitric oxide and oxidative stress. **Circulation**. v. 108, n.5, p. 530-5, 2003

GUALLAR, E. et al. A prospective study of plasma fish oil levels and incidence of myocardial infarction in U.S. males physicians. **J Am Coll Cardiol**, v.25, n.2, p.387-394, 1995.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 4. ed. Nova York. Oxford University Press. Inc., 2007

HARDARDOTTIR, I.A.H., et al. Effects of TNF, IL-1, and the combination of both cytokines on cholesterol metabolism in Syrian hamsters. **Lymphokine Cytokine Res**. n.13, p. 161–166, 1994.

HARRISON, D.G.; CAI, H. Endothelial control of vasomotion and nitric oxide production. **Cardiology Clinics**. n. 21, p. 289–302, 2003.

HAUMAN, B.F.; BARRERA-ARELLANO, D.; WAGNER, W. A giant in the soybean industry. **INFORM**, v. 6, n. 8, p. 900-909, 1995.

HEIRTZER, T.; HANJORG, J.; MUNZEL, T. Antioxidant Vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. **Circulation**, n. 94, p.6-9, 1996.

HELMKE, B.P. Molecular control of cytoskeletal mechanics by hemodynamic forces. **Physiology**, v. 20, p. 43-53, 2005.

HERRMANN, I. et al. **Coordenação no SAG do Babaçu: Exploração racional possível?** In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ECONOMIA E GESTÃO DE NEGÓCIOS AGROALIMENTARES, 3., FEARP/USP, 2001.

HOCHMAN, B et.al. Experimental model in hamster (*Mesocricetus auratus*) to study heterologous graft of scars and cutaneous diseases in plastic surgery. **Acta Cir Bras**, v. 19, 2004 [serial online] Special Edition. Available on URL: <http://www.scielo.br/acb>.

HOFFMAN, G: **The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products**. San Diego CA: Academic Press, 1989.

- HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, n.444, p.860-67, 2006
- INCE, C. The microcirculation is the motor of sepsis. **Crit Care**, v. 9, p. S13-S19, 2005.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da Extração Vegetal e Silvicultura 2005**. Rio de Janeiro: IBGE, 2006.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da Extração Vegetal e Silvicultura**. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Primeiros resultados censo 2010**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.
- IOM: **International Institute of Medicine Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intake of Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11^a. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- KASÓS, K. et al. Atherosclerosis Prevention of a fish oil rich diet in Apo-E-/ mice is associated with reduction of endothelial adhesion molecules. **Atherosclerosis**, v. 201, n.2, p. 306-17, 2008.
- KAUL, D. Molecular link between cholesterol, cytokines and atherosclerosis. **Mol. Cell. Biochem.** v. 219, p. 65–71, 2001.
- KLEIN, R. L. et al. Effect of inflammatory cytokines on the metabolism of low-density lipoproteins by human vascular endothelial cells. **Metabolism**, n.50, pg. 99–106, 2001.
- KOCHAR, S.P. Influence of processing on sterols of edible vegetable oils. **Prog Lipid Res**, v. 22, p. 161-188, 1983.
- KRIS-ETHERTON, P.M.; MUSTAD, V.; DERR, J.A. Effects of dietary stearic acid on plasma lipids and thrombosis. **Nutr Today**, v. 28, p. 30-38, 1993.
- KROMHOUT, D., COULANDER, C.L. Diet, prevalence and 10-year mortality from CHD in 871 middle-aged men: The Zutphen study. **American J Epidemiol**, v.119, n.5, p.733-741, 1984.
- KUBES,P.;SUZUKI,M.;GRANGER D.N. Nitric Oxide. An endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proc Natl Acad Sci**, v.88, n.11, p.465-5, 1991.
- LANCASTER, J.J.R. **Nitric Oxide**: principles and actions. Academic Press, Inc, 1996
- LERCKER, G. I. componenti minori delle sostanza grasse. In: proceedings of IV Congresso Nazionale Aciditi Grassi Polinsaturi Omega 3, CLA e Antiossidanti. **Progr. Nutr.** n.5, p. 93-115, 2003.

- LESTER, P.; STEFAN, U.W.; GERALD, R. Symposium: Molar aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signaling. **J. Nutr.**, n. 2: 369S-373S, 2001.
- LEVITAN, E.B; WOLK, A; MITTELMAN, M.A. Consistency with the DASH diet and incidence of heart failure. **Arch Intern Med**, n.169, p. 851–857, 2009.
- LEVITAN, E.B; WOLK, A; MITTELMAN, M.A. Relation of consistency with the dietary approaches to stop hypertension diet and incidence of heart failure in men aged 45 to 79 years. **Am J Cardiol**, n.104, p.1416–1420, 2009.
- LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, n. 420, p. 868-74, 2002.
- LIMA, A. et al. Utilização de Fibras (Epicarpo) de babaçu como matéria-prima alternativa na produção de chapas de madeira aglomerada. **Soc Invest Florestais**, v. 30, n.4, p.645-50, 2006.
- LING W.H; JONES, P.J.H. Minireview dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. **Life Sci**, n.57:195-206, 1995.
- LORD G. Moleculas de adhesion: su papel em la fisiopatologia cardiovascular, **Medicina**, v.64, n.4, p.455-62, 2004.
- LORD, R.; BOBRYSHOV Y. Hallmarks of Atherosclerotic lesion development with special reference to immune inflammatory mechanism. **Cardiovasc Surgery**, v.10, n.4, p.405-14, 2002.
- LUZ, D.A. et al. Studies of physico-chemical crude babassu oil (*Orbignya phalerata* Mart.) and a byproduct of the degumming step of the refining process. **Cad. Pesq.** v.18, n.3, 2011.
- MACHADO, G.; CHAVES, J.; ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Ceres**, v. 53, n. 308, p. 463-70, 2006.
- MAYNERIS-PERXACHS, J. et al. Long-chain n-3 fatty acids and classical cardiovascular disease risk factors among catalan population. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 54-61, 2010.
- MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E COMÉRCIO/SECRETARIA DE TECNOLOGIA INDUSTRIAL- MIC/STI. **Mapeamento do potencial das ocorrências de babaçuais. Estado do Maranhão, Piauí e Goiás**. Brasília, Brasil, 1982.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999**. Aprova o regulamento técnico: “fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais”. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br>.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Valoração econômica da biodiversidade**. Brasília, p.37-38, 2000. [<http://www.mma.gov.br>].
- MIRANDA, I.P.A. et. al. **Frutos de Palmeiras da Amazônia**. IMPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, 2001, p.104-105

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras na indústria de alimentos**, São Paulo, Varela Ed., 1998.

NIEMANN-JONSSON, A. P. et. al. Accumulation of LDL in rat arteries is associated with activation of tumor necrosis factor-alpha expression. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, n.20, p. 2205–2211, 2000.

NISSINEN, M. et al. Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant stanol ester infusion. **Am J Physiol Gastrointest**, v. 282, p. G1009 – G1015, 2002.

NORMEN, L.; DUTTA, P.; LIA, A.; ANDERSSON, H. Soy sterol esters and betasitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. **Am J Clin Nutr**, v. 71, p. 908 – 913, 2000.

OLIVEIRA, A.L.A.; GIOIELLE, L.A; OLIVEIRA, M.N. Hidrólise parcial enzimática da gordura de babaçu. **Cien. Tecnol. Aliment.** v. 19, n.2, 1999. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611999000200021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 30 jan. 2011.

OLIVEIRA, M.N. et al. Potencial lipídico da flora brasileira para a fabricação de bases cosméticas veiculando princípios ativos naturais. In: 10º ENCONTRO BRASILEIRO DE QUÍMICOS COSMÉTICOS, São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia. **Anais**, p. 334-344, 1996.

PINHEIRO, C.U.B. **Palmeiras do Maranhão:** onde canta o sabiá. 1^a. ed. Aquarela, São Luís, 2011.

PINOTTI, M. et al. Influências de dietas ricas em ácidos graxos Saturados e insaturados sobre o miocárdio de ratos. **Arq Bras Cardiol**, v. 88, n. 3, p. 346-53, 2007.

PINTAUDE, J.C. An overview of the taxonomy of Attalea (Arecaceae). **Rev. Peru. Biol.** v.15, supl1, p.055-063, 2008.

RADI, R. et al. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. **Arch Biochem Biophys**, v. 288, p. 481-7, 1991.

RAMADAN, M.F.; MOERSEL, J.T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. **J Food Compost Anal**, v. 19, p. 838-42, 2006. doi: 10.1016/j.jfca.2006.02.013.

RAUD J. et. al. Intravital microscopic model for mast cell-dependent inflammation in the hamster cheek pouch. **Acta Physiol Scand**, n.135, p. 95-105, 1989.

RICHELLE, M. et al. Both free and esterified plant sterols reduce cholesterol absorption and the bioavailability of beta-carotene and alpha-tocopherol in normocholesterolemic humans. **Am J Clin Nutr**, v. 80, p. 171-177, 2004.

- ROSSI, M.; ALMPRESE, C.; RATTI, S. Tocopherols and tocotrienols as free radical scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. **Food Chem.**, v. 102, p. 812-17, 2007. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.016.
- SALDEEN, K.; SALDEEN, T. Importance of tocopherols beyond α -tocopherol: evidence from animal and human studies. **Nutr Res**, v. 25, p. 877-89, 2005. doi: 10.1016/j.nutres.2005.
- SANCHEZ CS, et al. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. **Anal Chim Acta**. n. 593, p.103-7, 2007. doi: 10.1016/j.aca.2007.04.037.
- SANTOS, D.S. et al. Avaliação de ácidos graxos livres presentes no óleo fixo da espécie *Orbignya phalerata* Martius (babaçu) oriunda do município de Codó MA. In: Ciência e Vida, São Luís. **Anais**, 2010.
- SERBINOVA E, KAGAN V, HAN D, PARKER L: Free radicals recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. **Free Radic Biol Med**, v. 10, p. 263-275, 1991.
- SHEKELLE, R.B. et al. Diet, serum cholesterol and death from coronary heart disease. The Western Eletric study. **New Engl J Med**, Boston, v.304, n.2, p.65-70, 1981.
- SILVA, D. O. et al. A rede de causalidade da insegurança alimentar e nutricional de comunidades quilombolas com a construção da rodovia BR-163, Pará, Brasil. **Rev Nutr.**, Campinas, v.21. jul./ ago. 2008.
- SILVA, M.G. et al. Efeitos histológicos e bioquímicos séricos do alfa-tocoferol na lesão de isquemia e reperfusão em membro pélvico de ratos. **Acta Cir Bras**, v. 20, n. 5, p. 375-381, 2005.
- SOLER, M.P.; VITALI, A.A.; MUTO, E.F. Tecnologia de quebra do côco babaçu (*Orbignya speciosa*). **Cien Tecnol Aliment**, v. 27, n. 4, 2007
- ST-ONGE, M.P. et al. Consumption of a functional oil rich in phytosterols and medium-chain triglyceride oil improves plasma lipid profiles in men. **J Nutr**, n. 133, p.1815-1820, 2003.
- STRUNK, V. et al. Selective iNOS inhibition prevents hypotension in septic rats while preserving endothelium-dependent vasodilation. **Anesth Analg**, v. 92, p. 681-7, 2001.
- SULLIVAN, G.W.; SAREMBOCK, I.J.; LINDEN, J. The role of inflammation in vascular diseases. **J Leuc Biol**, n. 67, p. 591-602, 2000.
- SVENSJÖ, E. The hamster cheek pouch as a model in microcirculation research. **Eur Res J**, n. 3: Suppl 12, p.595s-601s, 1990.
- SVENSJO, R.; BOUSKELA, E. Microcirculação na bolsa da bochecha do Hamster. In: Castro e Silva Jr. O, Zucolo S, Beer Jr. A. **Modelos experimentais de pesquisa em cirurgia**. São Paulo, Robe, p. 795-02, 1998.

- SZYDOWSKA-CZERNIAK, A. et al. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. **J Am Oil Chem Soc.** v. 85, p. 141-49, 2008. doi: 10.1007/s11746-007-1178-6.
- TURPEIN, O. et al. Dietary prevention of coronary heart disease: the finnish Mental Hospital study. **Intern J Epidemiol**, London, v. 8, n.2, p.99-117, 1979.
- VAN DER, L. B. et al. Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. **J Exp Med**, v. 192, p. 1731-44, 2000.
- VANHOUTE, P.M. et al. Endothelial dysfunction and vascular disease. **Acta Physiol**, n.196, p. 193-222, 2009.
- VOGEL, R.; CORRETI, M.; GELLMAN, J. Cholesterol, Cholesterol Lowering and endothelium function. **Prog Cardiovasc Dis**, v.1, n.1, p.117-136,1998.
- WAGNER, D.D; FRENETTE, P.S. The vessel wall and its interections. **Blood**, v. 111, n. 11, p. 5271-5281, 2008.
- WANG, S. In vitro fatty acid enrichment of macrophages alters inflammatory response and net cholesterol accumulation. **Br. J. Nutr**, U.K, v. 102, n.4, p.497-501, 2009.
- WENNMALM, A. Endotelial nitric oxide and cardiovascular disease. **J Int Med**, v. 235, p. 317-27, 1994.
- WILLIAM S. et al. Impaired Nitric Oxide-mediated vasodilatation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. **J AM Coll Cardiol.**, Maryland Heights- USA, v. 27, n.3, p. 567-74,1996.
- WOLF, J.E.; HUBLER, W.R. Tumor angiogenic and human skin tumors. **Arch Dermatol**, vol. 111, n.3, p.321-7, 1975.
- YANG, Z. et al. Identification of a novel polymorphism in the 3` UTR of the L-arginine transporter gene SLC 7A1: contribution and of hypertension endothelial dysfunction. **Circulation**. v.115, n. 10, p. 1269-74, 2007.
- ZYLBERSZTAJN, D. et. al. **Reorganização do agronegócio do babaçu no estado do Maranhão**. Relatório técnico. Grupo Pensa-USP, São Paulo. 2000, 120p.

APÊNDICE A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA MODALIDADE: DOUTORADO

EFEITO DA DIETA RICA EM LIPÍDIOS DO ÓLEO DE BABAÇU NA MICROCIRCULAÇÃO: ESTUDO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÃO CLINICA EM FAMÍLIAS DE QUEBRADEIRAS DE COCO QUILOMBOLAS.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), em uma pesquisa: efeito da dieta rica em lipídios do óleo de babaçu na microcirculação: estudo experimental e avaliação clínica em famílias de quebradeiras de coco quilombolas. Esta pesquisa será realizada por professores da Universidade Federal do Maranhão com o objetivo de investigar a presença de doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão, diabetes, câncer entre outras e sua possível relação com dieta rica em lipídios da amêndoia do côco babaçu. Sabemos que é frequente o consumo da amêndoia do côco babaçu nesta região. A amêndoia é rica em gordura e já existe uma comprovada relação da gordura com doenças. No entanto ainda não há pesquisas que investiguem a associação com o consumo deste tipo de gordura vegetal.

Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a Instituição. Você receberá uma cópia deste termo onde há o telefone e endereço do pesquisador (a) principal e do Conselho de Ética do Hospital Universitário, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação antes e durante a pesquisa.

NOME DA PESQUISA: efeito da dieta rica em lipídios do óleo de babaçu na microcirculação: estudo experimental e avaliação clínica em famílias de quebradeiras de coco quilombolas.

OBJETIVOS: Analisar o efeito da dieta rica em lipídios do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) sobre a microcirculação e estimar a prevalência de doenças crônicas na população quilombola quebradeira de côco de Codó-MA, com a finalidade de fornecer informações importantes acerca da utilização segura deste produto vegetal.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Se concordar em participar da pesquisa, você será avaliado por uma equipe médica e de nutricionistas. Estes profissionais examinarão você e aplicarão um questionário com perguntas sobre as suas condições de saúde, doenças existentes na família, especialmente os casos de doenças crônicas como hipertensão, diabetes, e câncer, e seus hábitos de vida e de seus familiares. Logo depois da avaliação serão solicitados exames de sangue, fezes e urina. Estes serão realizados no laboratório do Sistema Único de Saúde do SUS em Codó. A forma de coleta do material é igual a qualquer exame de rotina sem riscos para sua vida, mas pode haver algum desconforto no momento da coleta de sangue na veia.

Os pacientes que apresentarem suspeita de câncer de intestino serão submetidos a exame de colonoscopia. Este exame será realizado no Hospital Universitário por especialistas. É um exame que precisará de preparo adequado como lavagem intestinal e jejum para visualização da parte baixa do intestino. Você tomará medicamentos para ficar relaxado e assim evitar dor ou incômodos durante a realização do mesmo. Informamos que este exame é sempre necessário para descobrir tumores do intestino e isto poderá evitar que um tumor presente se dissemine no seu organismo.

Durante o exame de colonoscopia será feita uma biópsia que consiste na retirada de uma amostra da lesão que será encaminhada para o laboratório para estudos. Os pacientes com lesão de intestino também coletarão sangue para exame de material genético.

A pesquisa não afetará em nada se você estiver fazendo algum outro tratamento, e não lhe causará danos à saúde física ou mental.

RISCOS E DESCONFORTOS: A coleta de sangue e os exames de imagem e colonoscopia poderá lhe causar desconfortos míнимos, como já foi explicado acima, mas você contará sempre com o apoio e supervisão da equipe de pesquisadores.

No entanto, se de alguma forma a pesquisa o prejudicar, você pode entrar em contato com algum dos pesquisadores e “em caso de dúvida, queixa ou denúncia, você poderá entrar em contato como o Comitê de Ética em Pesquisa”, no endereço e telefone que se segue: Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P 65.020-070 São Luis- Maranhão Tel: (98) 222-5508/ Fax: (98) 231-161 e 231-4595.

BENEFÍCIOS: Todas as informações sobre suas reais condições de saúde lhe serão repassadas ao final da sua avaliação. Caso haja alguma alteração nos seus exames você será informado e obterá as orientações necessárias para iniciar o tratamento. A equipe se compromete em dar os encaminhamentos que se fizerem necessários. Os pesquisadores poderão esclarecer a você mais informações sobre a sua doença e tirar quaisquer dúvidas.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Não haverá nenhum gasto com sua participação. Os exames serão totalmente gratuitos, não recebendo nenhuma cobrança pelo que será realizado. Você também não receberá nenhum pagamento com a sua participação.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: Garantimos que suas informações pessoais, tais como nome e RG não serão divulgados, ou seja, ninguém saberá que você está nesta pesquisa a menos que você mesmo forneça tal informação.

Assinatura do Pesquisador Responsável:

PARA QUAISQUER INFORMAÇÕES, VOCÊ PODE SE INFORMAR NOS SEGUINTESENDEREÇOS:

ORIENTADORA / PESQUISADORA:

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

ENDEREÇO: Rua Duque Bacelar, Q-33, N-41, Quintas do Calhau, CEP 65067-510 São Luís-MA

TELEFONE: (98) 3248-0174 / 81117974

ORIENTANDA / PESQUISADORA:

Profa. MSc. Maria do Carmo Lacerda Barbosa

ENDEREÇO: Rua Imperatriz Quadra 13, casa 08, Jd Eldorado- Turu, 65067-320, São Luís-MA

TELEFONE: (98) 3248-0374; 88561014

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

ENDEREÇO: Rua Barão de Itapary, 227, 4º andar, Hospital Univ.o Presidente Dutra, 65020-070

TELEFONE: (98) 2109 -1223

COORDENADOR DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA: Dr. João Inácio Lima de Souza

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO DA PESSOA QUANTO SUJEITO

Eu, _____, RG _____,
CPF _____, declaro ter entendido as explicações do estudo e aceito participar da pesquisa.
Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento.

LOCAL E DATA:

São Luís (MA) ____ / ____ / ____.

NOME E ASSINATURA DO SUJEITO OU RESPONSÁVEL (menor de 21 anos):

(Nome por extenso)

(Assinatura)

São Luís (MA), ____ de _____, 2011

Orientadora: Maria do Desterro Soares
Brandão Nascimento

Doutoranda: Maria do Carmo Lacerda
Barbosa

APÊNDICE B: PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

EFEITO DA DIETA RICA EM LIPÍDIOS DO ÓLEO DE BABAÇU NA MICROCIRCULAÇÃO: ESTUDO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÃO CLINICA EM FAMÍLIAS DE QUEBRADEIRAS DE COCO QUILOMBOLAS.

1. Dados Pessoais

Data da avaliação: ___/___/___

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Data de nascimento: ___/___/___ Grau de instrução: _____

2. DADOS DO EXAME CLINICO:

Sinais Vitais

PRESSÃO ARTERIAL (1ª. medida): _____

PRESSÃO ARTERIAL (2ª. medida): _____

PULSO: _____

FREQUENCIA CARDIACA: _____

3. DOENÇA ATUAL: Sim () Não ()

Em Caso Positivo relatar: _____

4. ANTECEDENTES MORBIDOS PESSOAIS

4.1 Doenças Crônicas

HIV NR Não Sim

Diabetes NR Não Sim

Cardiopatia NR Não Sim

Hipertensão Arterial NR Não Sim

Outras NR Não Sim

Outros (Especificar): _____

5. HÁBITOS DE VIDA

TABAGISMO NR Não Sim

Em caso positivo quantos cigarros por dia:

1-14 15-24 25+

Em caso de Ex-fumantes – anos decorridos

<5a 5-9 0-19a 0anos

ALCOOLISMO NR Não Sim

Em caso positivo- tipo de bebida consumida

Cerveja vinho destilados

Freqüência de consumo

Mensalmente 2 a 4 X / mês 2 a 3X/semana

4 a 5x/semana > 6x/semana

6. ANTECEDENTES MORBIDOS FAMILIARES

Doenças Crônicas

HIV NR Não Sim

Diabetes NR Não Sim

Cardiopatia NR Não Sim

Hipertensão Arterial NR Não Sim

Outras NR Não Sim

Outros (Especificar): _____

HISTÓRIA DE CÂNCER

Câncer prévio

NR Não Sim _____
Especificar

(DD/MM/AAAA)

Pólipos NR Não Sim _____
Especificar

(DD/MM/AAAA)

Adenoma Não Sim _____
Especificar

(DD/MM/AAAA)

Carcinoma Não Sim _____
Especificar

(DD/MM/AAAA)

Mama NR Não Sim _____
Especificar

(DD/MM/AAAA)

Útero NR Não Sim _____
Especificar

(DD/MM/AAAA)

Próstata NR Não Sim _____

(DD/MM/AAAA)

Outros (Especificar): _____

História Familiar de Câncer

NR Não Sim Especificar abaixo

PARENTE	TIPO DE CÂNCER	IDADE DIAG.	IDADE ATUAL	STATUS		
				VIVO		ÓBITO
				VIVO		ÓBITO
				VIVO		ÓBITO

SINTOMAS SUGESTIVOS DE CANCER COLORRETAL

PERDA PONDERAL: SIM NÃO

EM CASO POSITIVO ESTIMAR A MÉDIA DE PERDA PONDERAL EM 1 ANO:

DOR ABDOMINAL CRÔNICA: SIM NÃO

ALTERAÇÃO DO HÁBITO INTESTINAL: SIM NÃO

EM CASO POSITIVO: DIARRÉIAS CONSTIPAÇÃO

ALTERNÂNCIAS CONSTIPAÇÃO/ DIARRÉIA

FEZES MUITO FINAS

SANGRAMENTO RETAL: SIM NÃO

MELENA: SIM NÃO

DOR RETAL: SIM NÃO

MUCO NAS FEZES: SIM NÃO

SINAIS CLÍNICOS SUGESTIVOS DE CCR

PALIDEZ CUTÂNEO-MUCOSA: SIM NÃO

TUMOR ABDOMINAL PALPAVEL: SIM NÃO

EM CASO POSITIVO ESPECIFICAR A LOCALIZAÇÃO DA MASSA TUMORAL:

HIPOCONDRIOS DIREITO HIPOCONDRIOS ESQUERDO

HIPOGÁSTRIO

MESOGATRIO

BAIXO VENTRE FLANCO DIREITO FLANCO ESQUERDO

FOSSA ILIACA DIREITA FOSSA ILIACA ESQUERDA

PRESença DE DOR À PALPAÇÃO: SIM NÃO

TAMANHO MÉDIO DO TUMOR: _____

TUMOR PULSÁTIL: SIM NÃO

OUTRAS DADOS CONSIDERADOS RELEVANTES:

ANEXO A: QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO-DEMOGRÁFICO E DE AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA.

EFEITO DA DIETA RICA EM LIPÍDIOS DO ÓLEO DE BABAÇU NA MICROCIRCULAÇÃO: ESTUDO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÃO CLINICA EM FAMÍLIAS DE QUEBRADEIRAS DE COCO QUILOMBOLAS.

ANTROPOMETRIA E INVESTIGAÇÃO DE CONSUMO ALIMENTAR DAS COMUNIDADES QUILOMBOLAS DO MUNICIPIO DE CODÓ-MA.

Questionário socioeconômico- demográfico e de avaliação antropométrica.

NºQUEST

I. DADOS PESSOAIS		
1. Nome: _____	Data: ___/___/___	DNASC <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
2. Data de Nascimento: ___/___/___	Sexo: Fem. (1) Masc. (2)	SEX <input type="checkbox"/>
II. DADOS DEMOGRÁFICOS ECONOMICOS E SOCIAIS		
3. Total de moradores no domicilio: _____ (número)		TOTMOR <input type="checkbox"/>
4. Tipo de moradia referida: (1) casa de alvenaria (2) casa de taipa e palha (3) casa de taipa e telha		TIPCASA <input type="checkbox"/>
5. Cor da pele referida: (1) branca (3) parda, mulata, morena ou cabocla (5) indígena	(2) preta (4) amarela/ oriental (6) não sabe	COR <input type="checkbox"/>
6. Classificação Econômica Brasil (total de pontos para posse de itens e grau de instrução do chefe de família)		CEB <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

CLASSE ECONÔMICA

POSSE DE ITENS: Circular o quadrado correspondente

Quantidade de itens					
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

POSSE

7. Classificação Econômica Brasil Total de pontos para posse de itens

Grau de instrução do chefe de família (pessoa que tem maior renda)?
 (0) Analfabeto/ Até 3^a. Série Fundamental
 (1) Até 4^a. Série Fundamental
 (2) Fundamental completo
 (4) Médio completo
 (8) Superior completo

GINST

8. Filtro de água: (1) Sim (2) Não, mas a água é tratada, fervida, clorada
 (3) Não tem filtro e não trata água

FILTAG

III. DADOS ANTROPOMÉTRICOS

9. Peso 1: _____ Kg Peso 2: _____ Kg Média: _____ Kg

PesoM

Altura 1: _____ m Altura 2: _____ m Média: _____ m

AltM

IMC: _____

IMC

10. CC 1: _____ cm CC 2: _____ cm CC 3: _____ cm
 Média: _____

CCINT

IV. DADOS ALIMENTARES		
11. Você ingere bebida alcoólica? (1) Sim (2) Não (PULAR PARA 14)		ÁLCOOL <input type="checkbox"/>
12. Com que freqüência você ingere bebida alcoólica? (1) Todos os dias (2) 1 a 2 vezes na semana (3) 3 a 4 vezes na semana (4) Não consome com freqüência		FREQ <input type="checkbox"/> TIPOBEB <input type="checkbox"/>
13. Qual tipo de bebida alcoólica você mais ingere? (1) Cerveja (2) Conhaque (3) Cachaça		FREQ <input type="checkbox"/>
14. Qual a freqüência que você come a amêndoas do coco babaçu? (1) Todos os dias (2) 1 a 2 vezes por semana (3) 3 a 4 vezes por semana (4) nunca		FREQ <input type="checkbox"/>
15. Qual a freqüência que você come o azeite do coco babaçu? (1) Todos os dias (2) 1 a 2 vezes por semana (3) 3 a 4 vezes por semana (4) nunca		FREQ <input type="checkbox"/>
16. Qual a freqüência que você come o leite do coco babaçu? (1) Todos os dias (2) 1 a 2 vezes por semana (3) 3 a 4 vezes por semana (4) nunca		FREQ <input type="checkbox"/>
17. Qual a freqüência que você come a farinha do coco babaçu? (1) Todos os dias (2) 1 a 2 vezes por semana (3) 3 a 4 vezes por semana (4) nunca		

V. INQUÉRITO NUTRICIONAL

Recordatório de 24 horas

Refeição/Hora	Alimentos	Medida caseira	OBS

ANEXO B– PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



**Universidade Federal do Maranhão
Hospital Universitário
Diretoria Adjunta de Ensino, Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa**



Obs. Falta corrigir o tel. do CEP no TCCE

PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Nº 403/09

Registro do CEP: 105/09

Processo Nº: 003255/2009-70

Pesquisador (a) Responsável: Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Equipe executora: Maria do Carmo Lacerda Barbosa

Tipo de pesquisa: Projeto de Pesquisa

Instituição onde será desenvolvido: Hospital Universitário Presidente Dutra

Grupo: III

Situação: APROVADO

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Federal do Maranhão analisou na sessão do dia **21/08/09** o Processo Nº: **003255-2009-70**, referente ao projeto de pesquisa: **"Efeito da dieta rica em lipídeos como fator de risco para o câncer colorretal em famílias de quilombolas quebradeiras de coco no estado do Maranhão: avaliação clínica e estudo experimental"**, tendo como pesquisador (a) responsável: **Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento**, cujo objetivo geral é **"Analizar o efeito da dieta rica em lipídeos provenientes do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) como fator de risco ou proteção para câncer colorretal em famílias de quebradeiras de coco quilombolas"**.

Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta, a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde / MS.

Solicita-se ao (à) pesquisador (a) o envio a este CEP, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final gravado em CD-ROM.

São Luís, 27 de novembro de 2009

João Inácio L. de Souza
Prof. Dr. João Inácio Lima de Souza
 Coordenador do CEP-HUUFMA
Ethica homini habitat est

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
 Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P. 65.020-070 São Luís – Maranhão Tel: (98) 222-5508 / Fax: (98) 231-1161 e 231-4595
 E-mail: cep@huufma.br

ANEXO C – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS.



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCANTARA GOMES



COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS
(CEUA – IBRAG - UERJ)

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº CEUA/059/2010 sobre "Avaliação da ação de fármacos na reatividade vascular, na permeabilidade e na adesão leucocitária microcirculatória da bolsa da bochecha após isquemia induzida em animais normais e diabéticos", sob a responsabilidade de Eliete Bouskela (UERJ), está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ em 15/12/2010. Este certificado expira em 15/12/2014.

Rio de Janeiro, 15 de Dezembro de 2010.

Profa. Patricia Cristina Lisboa

CEUA/IBRAG/UERJ

Professor Adjunta do DCF
Matrícula: 34765-8

Prof. Israel Felzenszwalb

CEUA/IBRAG/UERJ

Israel Felzenszwalb
Diretor
IBRAG - UERJ
Mat. 2887-8

.ass

■ (21) 2587-6488 / 2587-6109 - Fax (21) 2284-9748
biologia@uerj.br

ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Preparing main manuscript text

General guidelines of the journal's style and language are given [below](#).

Overview of manuscript sections for Research Articles

Manuscripts for Research Articles submitted to *Lipids in Health and Disease* should be divided into the following sections (in this order):

- [Title page](#)
- [Abstract](#)
- [Additional non-English language abstract](#)
- [Keywords](#)
- [Background](#)
- [Results and discussion](#)
- [Conclusions](#)
- [Methods](#)
- [List of abbreviations used](#) (if any)
- [Competing interests](#)
- [Authors' contributions](#)
- [Authors' information](#)
- [Acknowledgements](#)
- [Endnotes](#)
- [References](#)
- [Illustrations and figures](#) (if any)
- [Tables and captions](#)
- [Preparing additional files](#)

The **Accession Numbers** of any nucleic acid sequences, protein sequences or atomic coordinates cited in the manuscript should be provided, in square brackets and include the corresponding database name; for example, [EMBL:AB026295, EMBL:AC137000, DDBJ:AE000812, GenBank:U49845, PDB:1BFM, Swiss-Prot:Q96KQ7, PIR:S66116].

The databases for which we can provide direct links are: EMBL Nucleotide Sequence Database ([EMBL](#)), DNA Data Bank of Japan ([DDBJ](#)), GenBank at the NCBI ([GenBank](#)), Protein Data Bank ([PDB](#)), Protein Information Resource ([PIR](#)) and the Swiss-Prot Protein Database ([Swiss-Prot](#)).

You can [download a template](#) (Mac and Windows compatible; Microsoft Word 98/2000) for your article.

For reporting standards please see the information in the [About](#) section.

Title page

The title page should:

- provide the title of the article
- list the full names, institutional addresses and email addresses for all authors
- indicate the corresponding author

Please note:

- the title should include the study design, for example "A versus B in the treatment of C: a randomized controlled trial X is a risk factor for Y: a case control study"
- abbreviations within the title should be avoided

Abstract

The Abstract of the manuscript should not exceed 350 words and must be structured into separate sections: **Background**, the context and purpose of the study; **Methods**, how the study was performed and statistical tests used; **Results**, the main findings; **Conclusions**, brief summary and potential implications. Please minimize the use of abbreviations and do not cite references in the abstract. **Trial registration**, if your research reports the results of a controlled health care intervention, please list your trial registry, along with the unique identifying number (e.g. **Trial registration**: Current Controlled Trials ISRCTN73824458). Please note that there should be no space between the letters and numbers of your trial registration number. We recommend manuscripts that report randomized controlled trials follow the [CONSORT extension for abstracts](#).

Additional non-English language abstract

An additional non-English language abstract can be included within the article. The additional abstract should be placed after the official English language abstract in the submitted manuscript file and should not exceed 350 words. Please ensure you indicate the language of your abstract. We can support the languages listed [here](#). Please ensure you indicate the language of your abstract.

Keywords

Three to ten keywords representing the main content of the article.

Background

The Background section should be written in a way that is accessible to researchers without specialist knowledge in that area and must clearly state - and, if helpful, illustrate - the background to the research and its aims. Reports of clinical research should, where appropriate, include a summary of a search of the literature to indicate why this study was necessary and what it aimed to contribute to the field. The section should end with a brief statement of what is being reported in the article.

Results and discussion

The Results and discussion may be combined into a single section or presented separately. Results of statistical analysis should include, where appropriate, relative and absolute risks or risk reductions, and confidence intervals. The Results and discussion sections may also be broken into subsections with short, informative headings.

Conclusions

This should state clearly the main conclusions of the research and give a clear explanation of their importance and relevance. Summary illustrations may be included.

Methods

The methods section should include the design of the study, the type of materials involved, a clear description of all comparisons, and the type of analysis used, to enable replication.

List of abbreviations

If abbreviations are used in the text they should be defined in the text at first use, and a list of abbreviations can be provided, which should precede the competing interests and authors' contributions.

Competing interests

A competing interest exists when your interpretation of data or presentation of information may be influenced by your personal or financial relationship with other people or organizations. Authors must disclose any financial competing interests; they should also reveal any non-financial competing interests that may cause them embarrassment were they to become public after the publication of the manuscript.

Authors are required to complete a declaration of competing interests. All competing interests that are declared will be listed at the end of published articles. Where an author gives no competing interests, the listing will read 'The author(s) declare that they have no competing interests'.

When completing your declaration, please consider the following questions:

Financial competing interests

- In the past five years have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? Is such an organization financing this manuscript (including the article-processing charge)? If so, please specify.
- Do you hold any stocks or shares in an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? If so, please specify.
- Do you hold or are you currently applying for any patents relating to the content of the manuscript? Have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that holds or has applied for patents relating to the content of the manuscript? If so, please specify.
- Do you have any other financial competing interests? If so, please specify.

Non-financial competing interests

Are there any non-financial competing interests (political, personal, religious, ideological, academic, intellectual, commercial or any other) to declare in relation to this manuscript? If so, please specify.

If you are unsure as to whether you, or one your co-authors, has a competing interest please discuss it with the editorial office.

Authors' contributions

In order to give appropriate credit to each author of a paper, the individual contributions of authors to the manuscript should be specified in this section.

An 'author' is generally considered to be someone who has made substantive intellectual contributions to a published study. To qualify as an author one should 1) have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) have been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and 3) have

given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group, alone, does not justify authorship.

We suggest the following kind of format (please use initials to refer to each author's contribution): AB carried out the molecular genetic studies, participated in the sequence alignment and drafted the manuscript. JY carried out the immunoassays. MT participated in the sequence alignment. ES participated in the design of the study and performed the statistical analysis. FG conceived of the study, and participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support.

Authors' information

You may choose to use this section to include any relevant information about the author(s) that may aid the reader's interpretation of the article, and understand the standpoint of the author(s). This may include details about the authors' qualifications, current positions they hold at institutions or societies, or any other relevant background information. Please refer to authors using their initials. Note this section should not be used to describe any competing interests.

Acknowledgements

Please acknowledge anyone who contributed towards the article by making substantial contributions to conception, design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data, or who was involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content, but who does not meet the criteria for authorship. Please also include the source(s) of funding for each author, and for the manuscript preparation. Authors must describe the role of the funding body, if any, in design, in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. Please also acknowledge anyone who contributed materials essential for the study. If a language editor has made significant revision of the manuscript, we recommend that you acknowledge the editor by name, where possible.

The role of a scientific (medical) writer must be included in the acknowledgements section, including their source(s) of funding. We suggest wording such as 'We thank Jane Doe who provided medical writing services on behalf of XYZ Pharmaceuticals Ltd.'

Authors should obtain permission to acknowledge from all those mentioned in the Acknowledgements section.

Endnotes

Endnotes should be designated within the text using a superscript lowercase letter and all notes (along with their corresponding letter) should be included in the Endnotes section. Please format this section in a paragraph rather than a list.

References

All references, including URLs, must be numbered consecutively, in square brackets, in the order in which they are cited in the text, followed by any in tables or legends. Each reference must have an individual reference number. Please avoid excessive referencing. If automatic numbering systems are used, the reference numbers must be finalized and the bibliography must be fully formatted before submission.

Only articles, datasets and abstracts that have been published or are in press, or are available through public e-print/preprint servers, may be cited; unpublished abstracts, unpublished data and personal communications should not be included in the reference list, but may be included in the text and referred to as "unpublished observations" or "personal communications" giving the names of the involved researchers. Obtaining permission to quote personal communications and unpublished data from the

cited colleagues is the responsibility of the author. Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted. Journal abbreviations follow Index Medicus/MEDLINE. Citations in the reference list should include all named authors, up to the first 30 before adding 'et al.'.

Any *in press* articles cited within the references and necessary for the reviewers' assessment of the manuscript should be made available if requested by the editorial office.

Style files are available for use with popular bibliographic management software:

- [BibTeX](#)
- [EndNote style file](#)
- [Reference Manager](#)
- [Zotero](#)

Examples of the *Lipids in Health and Disease* reference style are shown [below](#). Please ensure that the reference style is followed precisely; if the references are not in the correct style they may have to be retyped and carefully proofread.

All web links and URLs, including links to the authors' own websites, should be given a reference number and included in the reference list rather than within the text of the manuscript. They should be provided in full, including both the title of the site and the URL, in the following format: **The Mouse Tumor Biology Database** [<http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>]. If an author or group of authors can clearly be associated with a web link, such as for weblogs, then they should be included in the reference.

Examples of the Lipids in Health and Disease reference style

Article within a journal

Koonin EV, Altschul SF, Bork P: **BRCA1 protein products: functional motifs.** *Nat Genet* 1996, **13**:266-267.

Article within a journal supplement

Orengo CA, Bray JE, Hubbard T, LoConte L, Sillitoe I: **Analysis and assessment of ab initio three-dimensional prediction, secondary structure, and contacts prediction.** *Proteins* 1999, **43**(Suppl 3):149-170.

In press article

Kharitonov SA, Barnes PJ: **Clinical aspects of exhaled nitric oxide.** *Eur Respir J*, in press.

Published abstract

Zvaipler NJ, Burger JA, Marinova-Mutafchieva L, Taylor P, Maini RN: **Mesenchymal cells, stromal derived factor-1 and rheumatoid arthritis [abstract].** *Arthritis Rheum* 1999, **42**:s250.

Article within conference proceedings

Jones X: **Zeolites and synthetic mechanisms.** In *Proceedings of the First National Conference on Porous Sieves: 27-30 June 1996; Baltimore.* Edited by Smith Y. Stoneham: Butterworth-Heinemann; 1996:16-27.

Book chapter, or article within a book

Schnepf E: **From prey via endosymbiont to plastids: comparative studies in dinoflagellates.** In *Origins of Plastids. Volume 2.* 2nd edition. Edited by Lewin RA. New York: Chapman and Hall; 1993:53-76.

Whole issue of journal

Ponder B, Johnston S, Chodosh L (Eds): **Innovative oncology.** In *Breast Cancer Res* 1998, **10**:1-72.

Whole conference proceedings

Smith Y (Ed): *Proceedings of the First National Conference on Porous Sieves: 27-30 June 1996; Baltimore.* Stoneham: Butterworth-Heinemann; 1996.

Complete book

Margulis L: *Origin of Eukaryotic Cells*. New Haven: Yale University Press; 1970.

Monograph or book in a series

Hunninghake GW, Gadek JE: **The alveolar macrophage**. In *Cultured Human Cells and Tissues*. Edited by Harris TJR. New York: Academic Press; 1995:54-56. [Stoner G (Series Editor): *Methods and Perspectives in Cell Biology*, vol 1.]

Book with institutional author

Advisory Committee on Genetic Modification: *Annual Report*. London; 1999.

PhD thesis

Kohavi R: **Wrappers for performance enhancement and oblivious decision graphs**. *PhD thesis*. Stanford University, Computer Science Department; 1995.

Link / URL

The Mouse Tumor Biology Database [<http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>]

Link / URL with author(s)

Neylon C: Open Research Computation: an ordinary journal with extraordinary aims.
[http://blogs.openaccesscentral.com/bmcblog/entry/open_research_computation_an_ordinary]

Dataset with persistent identifier

Zheng, L-Y; Guo, X-S; He, B; Sun, L-J; Peng, Y; Dong, S-S; Liu, T-F; Jiang, S; Ramachandran, S; Liu, C-M; Jing, H-C (2011): Genome data from sweet and grain sorghum (*Sorghum bicolor*). *GigaScience*. <http://dx.doi.org/10.5524/100012>.

Preparing illustrations and figures

Illustrations should be provided as separate files, not embedded in the text file. Each figure should include a single illustration and should fit on a single page in portrait format. If a figure consists of separate parts, it is important that a single composite illustration file be submitted which contains all parts of the figure. There is no charge for the use of color figures.

Please read our [figure preparation guidelines](#) for detailed instructions on maximising the quality of your figures.

Formats

The following file formats can be accepted:

- PDF (preferred format for diagrams)
- DOCX/DOC (single page only)
- PPTX/PPT (single slide only)
- EPS
- PNG (preferred format for photos or images)
- TIFF
- JPEG
- BMP

Figure legends

The legends should be included in the main manuscript text file at the end of the document, rather than being a part of the figure file. For each figure, the following information should be provided: Figure number (in sequence, using Arabic numerals - i.e. Figure 1, 2, 3 etc); short title of figure (maximum 15 words); detailed legend, up to 300 words.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures or tables that have previously been published elsewhere.

Preparing a personal cover page

If you wish to do so, you may submit an image which, in the event of publication, will be used to create a cover page for the PDF version of your article. The cover page will also display the journal logo, article title and citation details. The image may either be a figure from your manuscript or another relevant image. You must have permission from the copyright to reproduce the image. Images that do not meet our requirements will not be used.

Images must be 300dpi and 155mm square (1831 x 1831 pixels for a raster image).

Allowable formats - EPS, PDF (for line drawings), PNG, TIFF (for photographs and screen dumps), JPEG, BMP, DOC, PPT, CDX, TGF (ISIS/Draw).

Preparing tables

Each table should be numbered and cited in sequence using Arabic numerals (i.e. Table 1, 2, 3 etc.). Tables should also have a title (above the table) that summarizes the whole table; it should be no longer than 15 words. Detailed legends may then follow, but they should be concise. Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

Smaller tables considered to be integral to the manuscript can be pasted into the end of the document text file, in A4 portrait or landscape format. These will be typeset and displayed in the final published form of the article. Such tables should be formatted using the 'Table object' in a word processing program to ensure that columns of data are kept aligned when the file is sent electronically for review; this will not always be the case if columns are generated by simply using tabs to separate text. Columns and rows of data should be made visibly distinct by ensuring that the borders of each cell display as black lines. Commas should not be used to indicate numerical values. Color and shading may not be used; parts of the table can be highlighted using symbols or bold text, the meaning of which should be explained in a table legend. Tables should not be embedded as figures or spreadsheet files.

Larger datasets or tables too wide for a landscape page can be uploaded separately as additional files. Additional files will not be displayed in the final, laid-out PDF of the article, but a link will be provided to the files as supplied by the author.

Tabular data provided as additional files can be uploaded as an Excel spreadsheet (.xls) or comma separated values (.csv). As with all files, please use the standard file extensions.

Preparing additional files

Although *Lipids in Health and Disease* does not restrict the length and quantity of data included in an article, we encourage authors to provide datasets, tables, movies, or other information as additional files.

Please note: All Additional files **will be published** along with the article. Do not include files such as patient consent forms, certificates of language editing, or revised versions of the main manuscript document with tracked changes. Such files should be sent by email to undurti@lipidworld.com, quoting the Manuscript ID number.

Results that would otherwise be indicated as "data not shown" can and should be included as additional files. Since many weblinks and URLs rapidly become broken, *Lipids in Health and Disease* requires that supporting data are included as additional files, or deposited in a recognized repository. Please do not link to data on a personal/departmental website. The maximum file size for additional files is 20 MB each, and files will be virus-scanned on submission.

Additional files can be in any format, and will be downloadable from the final published article as supplied by the author. We encourage authors to use formats which facilitate reuse. e.g. We recommend CSV rather than PDF for tabular data.

Certain supported files formats are recognized and can be displayed to the user in the browser. These include most movie formats (for users with the Quicktime plugin), mini-websites prepared according to our guidelines, chemical structure files (MOL, PDB), geographic data files (KML).

If additional material is provided, please list the following information in a separate section of the manuscript text:

- File name (e.g. Additional file 1)
- File format including the correct file extension for example .pdf, .xls, .txt, .pptx (including name and a URL of an appropriate viewer if format is unusual)
- Title of data
- Description of data

Additional files should be named "Additional file 1" and so on and should be referenced explicitly by file name within the body of the article, e.g. 'An additional movie file shows this in more detail [see Additional file 1]'.

Additional file formats

Ideally, file formats for additional files should not be platform-specific, and should be viewable using free or widely available tools. The following are examples of suitable formats.

- Additional documentation
 - PDF (Adobe Acrobat)
- Animations
 - SWF (Shockwave Flash)
- Movies
 - MP4 (MPEG 4)
 - MOV (Quicktime)
- Tabular data
 - XLS, XLSX (Excel Spreadsheet)
 - CSV (Comma separated values)

As with figure files, files should be given the standard file extensions.

Mini-websites

Small self-contained websites can be submitted as additional files, in such a way that they will be browsable from within the full text HTML version of the article. In order to do this, please follow these instructions:

1. Create a folder containing a starting file called index.html (or index.htm) in the root.
2. Put all files necessary for viewing the mini-website within the folder, or sub-folders.
3. Ensure that all links are relative (ie "images/picture.jpg" rather than "/images/picture.jpg" or "http://yourdomain.net/images/picture.jpg" or "C:\Documents and Settings\username\My Documents\mini-website\images\picture.jpg") and no link is longer than 255 characters.
4. Access the index.html file and browse around the mini-website, to ensure that the most commonly used browsers (Internet Explorer and Firefox) are able to view all parts of the mini-website without problems, it is ideal to check this on a different machine.
5. Compress the folder into a ZIP, check the file size is under 20 MB, ensure that index.html is in the root of the ZIP, and that the file has .zip extension, then submit as an additional file with your article.

Style and language

General

Currently, *Lipids in Health and Disease* can only accept manuscripts written in English. Spelling should be US English or British English, but not a mixture.

There is no explicit limit on the length of articles submitted, but authors are encouraged to be concise. There is also no restriction on the number of figures, tables or additional files that can be included with each article online. Figures and tables should be numbered in the order in which they are referred to in the text. Authors should include all relevant supporting data with each article.

Lipids in Health and Disease will not edit submitted manuscripts for style or language; reviewers may advise rejection of a manuscript if it is compromised by grammatical errors. Authors are advised to write clearly and simply, and to have their article checked by colleagues before submission. In-house copyediting will be minimal. Non-native speakers of English may choose to make use of a copyediting service.

Help and advice on scientific writing

The abstract is one of the most important parts of a manuscript. For guidance, please visit our page on [Writing titles and abstracts for scientific articles](#).

Tim Albert has produced for BioMed Central a [list of tips](#) for writing a scientific manuscript. [American Scientist](#) also provides a list of resources for science writing.

Abbreviations

Abbreviations should be used as sparingly as possible. They should be defined when first used and a list of abbreviations can be provided following the main manuscript text.

Typography

- Please use double line spacing.
- Type the text unjustified, without hyphenating words at line breaks.
- Use hard returns only to end headings and paragraphs, not to rearrange lines.
- Capitalize only the first word, and proper nouns, in the title.
- All pages should be numbered.
- Use the *Lipids in Health and Disease* [reference format](#).
- Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted.
- Please do not format the text in multiple columns.
- Greek and other special characters may be included. If you are unable to reproduce a particular special character, please type out the name of the symbol in full. **Please ensure that all special characters used are embedded in the text, otherwise they will be lost during conversion to PDF.**

Units

SI units should be used throughout (liter and molar are permitted, however).

ANEXO E – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

BMC PUBLIC HEALTH NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Preparing main manuscript text

General guidelines of the journal's style and language are given [below](#).

Overview of manuscript sections for Research articles

Manuscripts for Research articles submitted to *BMC Public Health* should be divided into the following sections (in this order):

- [Title page](#)
- [Abstract](#)
- [Keywords](#)
- [Background](#)
- [Methods](#)
- [Results and discussion](#)
- [Conclusions](#)
- [List of abbreviations used](#) (if any)
- [Competing interests](#)
- [Authors' contributions](#)
- [Authors' information](#)
- [Acknowledgements](#)
- [Endnotes](#)
- [References](#)
- [Illustrations and figures](#) (if any)
- [Tables and captions](#)
- [Preparing additional files](#)

The **Accession Numbers** of any nucleic acid sequences, protein sequences or atomic coordinates cited in the manuscript should be provided, in square brackets and include the corresponding database name; for example, [EMBL:AB026295, EMBL:AC137000, DDBJ:AE000812, GenBank:U49845, PDB:1BFM, Swiss-Prot:Q96KQ7, PIR:S66116].

The databases for which we can provide direct links are: EMBL Nucleotide Sequence Database ([EMBL](#)), DNA Data Bank of Japan ([DDBJ](#)), GenBank at the NCBI ([GenBank](#)), Protein Data Bank ([PDB](#)), Protein Information Resource ([PIR](#)) and the Swiss-Prot Protein Database ([Swiss-Prot](#)).

You can [download a template](#) (Mac and Windows compatible; Microsoft Word 98/2000) for your article.

For reporting standards please see the information in the [About](#) section.

Title page

The title page should:

- provide the title of the article
- list the full names, institutional addresses and email addresses for all authors
- indicate the corresponding author

Please note:

- the title should include the study design, for example "A versus B in the treatment of C: a randomized controlled trial X is a risk factor for Y: a case control study"
- abbreviations within the title should be avoided

Abstract

The Abstract of the manuscript should not exceed 350 words and must be structured into separate sections: **Background**, the context and purpose of the study; **Methods**, how the study was performed and statistical tests used; **Results**, the main findings; **Conclusions**, brief summary and potential implications. Please minimize the use of abbreviations and do not cite references in the abstract. **Trial registration**, if your research article reports the results of a controlled health care intervention, please list your trial registry, along with the unique identifying number (e.g. **Trial registration**: Current Controlled Trials ISRCTN73824458). Please note that there should be no space between the letters and numbers of your trial registration number. We recommend manuscripts that report randomized controlled trials follow the [CONSORT extension for abstracts](#).

Keywords

Three to ten keywords representing the main content of the article.

Background

The Background section should be written in a way that is accessible to researchers without specialist knowledge in that area and must clearly state - and, if helpful, illustrate - the background to the research and its aims. Reports of clinical research should, where appropriate, include a summary of a search of the literature to indicate why this study was necessary and what it aimed to contribute to the field. The section should end with a brief statement of what is being reported in the article.

Methods

The methods section should include the design of the study, the setting, the type of participants or materials involved, a clear description of all interventions and comparisons, and the type of analysis used, including a power calculation if appropriate. Generic drug names should generally be used. When proprietary brands are used in research, include the brand names in parentheses in the Methods section.

For studies involving human participants a statement detailing ethical approval and consent should be included in the methods section. For further details of the journal's editorial policies and ethical guidelines see ['About this journal'](#).

For further details of the journal's data-release policy, see the policy section in ['About this journal'](#).

Results and discussion

The Results and discussion may be combined into a single section or presented separately. Results of statistical analysis should include, where appropriate, relative and absolute risks or risk reductions, and confidence intervals. The Results and discussion sections may also be broken into subsections with short, informative headings.

Conclusions

This should state clearly the main conclusions of the research and give a clear explanation of their importance and relevance. Summary illustrations may be included.

List of abbreviations

If abbreviations are used in the text they should be defined in the text at first use, and a list of abbreviations can be provided, which should precede the competing interests and authors' contributions.

Competing interests

A competing interest exists when your interpretation of data or presentation of information may be influenced by your personal or financial relationship with other people or organizations. Authors must disclose any financial competing interests; they should also reveal any non-financial competing interests that may cause them embarrassment were they to become public after the publication of the manuscript.

Authors are required to complete a declaration of competing interests. All competing interests that are declared will be listed at the end of published articles. Where an author gives no competing interests, the listing will read 'The author(s) declare that they have no competing interests'.

When completing your declaration, please consider the following questions:

Financial competing interests

- In the past five years have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? Is such an organization financing this manuscript (including the article-processing charge)? If so, please specify.
- Do you hold any stocks or shares in an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? If so, please specify.
- Do you hold or are you currently applying for any patents relating to the content of the manuscript? Have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that holds or has applied for patents relating to the content of the manuscript? If so, please specify.
- Do you have any other financial competing interests? If so, please specify.

Non-financial competing interests

Are there any non-financial competing interests (political, personal, religious, ideological, academic, intellectual, commercial or any other) to declare in relation to this manuscript? If so, please specify.

If you are unsure as to whether you, or one your co-authors, has a competing interest please discuss it with the editorial office.

Authors' contributions

In order to give appropriate credit to each author of a paper, the individual contributions of authors to the manuscript should be specified in this section.

An 'author' is generally considered to be someone who has made substantive intellectual contributions to a published study. To qualify as an author one should 1) have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) have been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and 3) have given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group, alone, does not justify authorship.

We suggest the following kind of format (please use initials to refer to each author's contribution): AB carried out the molecular genetic studies, participated in the sequence alignment and drafted the manuscript. JY carried out the immunoassays. MT participated in the sequence alignment. ES participated in the design of the study and performed the statistical analysis. FG conceived of the study, and participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support.

Authors' information

You may choose to use this section to include any relevant information about the author(s) that may aid the reader's interpretation of the article, and understand the standpoint of the author(s). This may include details about the authors' qualifications, current positions they hold at institutions or societies, or any other relevant background information. Please refer to authors using their initials. Note this section should not be used to describe any competing interests.

Acknowledgements

Please acknowledge anyone who contributed towards the article by making substantial contributions to conception, design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data, or who was involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content, but who does not meet the criteria for authorship. Please also include the source(s) of funding for each author, and for the manuscript preparation. Authors must describe the role of the funding body, if any, in design, in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. Please also acknowledge anyone who contributed materials essential for the study. If a language editor has made significant revision of the manuscript, we recommend that you acknowledge the editor by name, where possible.

The role of a scientific (medical) writer must be included in the acknowledgements section, including their source(s) of funding. We suggest wording such as 'We thank Jane Doe who provided medical writing services on behalf of XYZ Pharmaceuticals Ltd.'

Authors should obtain permission to acknowledge from all those mentioned in the Acknowledgements section.

Endnotes

Endnotes should be designated within the text using a superscript lowercase letter and all notes (along with their corresponding letter) should be included in the Endnotes section. Please format this section in a paragraph rather than a list.

References

All references, including URLs, must be numbered consecutively, in square brackets, in the order in which they are cited in the text, followed by any in tables or legends. Each reference must have an individual reference number. Please avoid excessive referencing. If automatic numbering systems are used, the reference numbers must be finalized and the bibliography must be fully formatted before submission.

Only articles, datasets and abstracts that have been published or are in press, or are available through public e-print/preprint servers, may be cited; unpublished abstracts, unpublished data and personal communications should not be included in the reference list, but may be included in the text and referred to as "unpublished observations" or "personal communications" giving the names of the involved researchers. Obtaining permission to quote personal communications and unpublished data from the cited colleagues is the responsibility of the author. Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted. Journal abbreviations follow Index Medicus/MEDLINE. Citations in the reference list should include all named authors, up to the first 30 before adding 'et al.'.

Any *in press* articles cited within the references and necessary for the reviewers' assessment of the manuscript should be made available if requested by the editorial office.

Style files are available for use with popular bibliographic management software:

- [BibTeX](#)
- [EndNote style file](#)
- [Reference Manager](#)
- [Zotero](#)

Examples of the *BMC Public Health* reference style are shown [below](#). Please ensure that the reference style is followed precisely; if the references are not in the correct style they may have to be retyped and carefully proofread.

All web links and URLs, including links to the authors' own websites, should be given a reference number and included in the reference list rather than within the text of the manuscript. They should be provided in full, including both the title of the site and the URL, in the following format: **The Mouse Tumor Biology Database** [<http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>]. If an author or group of authors can clearly be associated with a web link, such as for weblogs, then they should be included in the reference.

Examples of the *BMC Public Health* reference style

Article within a journal

Koonin EV, Altschul SF, Bork P: **BRCA1 protein products: functional motifs.** *Nat Genet* 1996, **13**:266-267.

Article within a journal supplement

Orengo CA, Bray JE, Hubbard T, LoConte L, Sillitoe I: **Analysis and assessment of ab initio three-dimensional prediction, secondary structure, and contacts prediction.** *Proteins* 1999, **43**(Suppl 3):149-170.

In press article

Kharitonov SA, Barnes PJ: **Clinical aspects of exhaled nitric oxide.** *Eur Respir J*, in press.

Published abstract

Zvaifler NJ, Burger JA, Marinova-Mutafchieva L, Taylor P, Maini RN: **Mesenchymal cells, stromal derived factor-1 and rheumatoid arthritis [abstract]**. *Arthritis Rheum* 1999, **42**:s250.

Article within conference proceedings

Jones X: **Zeolites and synthetic mechanisms**. In *Proceedings of the First National Conference on Porous Sieves: 27-30 June 1996; Baltimore*. Edited by Smith Y. Stoneham: Butterworth-Heinemann; 1996:16-27.

Book chapter, or article within a book

Schnepf E: **From prey via endosymbiont to plastids: comparative studies in dinoflagellates**. In *Origins of Plastids. Volume 2*. 2nd edition. Edited by Lewin RA. New York: Chapman and Hall; 1993:53-76.

Whole issue of journal

Ponder B, Johnston S, Chodosh L (Eds): **Innovative oncology**. In *Breast Cancer Res* 1998, **10**:1-72.

Whole conference proceedings

Smith Y (Ed): *Proceedings of the First National Conference on Porous Sieves: 27-30 June 1996; Baltimore*. Stoneham: Butterworth-Heinemann; 1996.

Complete book

Margulis L: *Origin of Eukaryotic Cells*. New Haven: Yale University Press; 1970.

Monograph or book in a series

Hunninghake GW, Gadek JE: **The alveolar macrophage**. In *Cultured Human Cells and Tissues*. Edited by Harris TJR. New York: Academic Press; 1995:54-56. [Stoner G (Series Editor): *Methods and Perspectives in Cell Biology*, vol 1.]

Book with institutional author

Advisory Committee on Genetic Modification: *Annual Report*. London; 1999.

PhD thesis

Kohavi R: **Wrappers for performance enhancement and oblivious decision graphs**. *PhD thesis*. Stanford University, Computer Science Department; 1995.

Link / URL

The Mouse Tumor Biology Database [<http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>]

Link / URL with author(s)

Neylon C: Open Research Computation: an ordinary journal with extraordinary aims. [http://blogs.openaccesscentral.com/blogs/bmcblog/entry/open_research_computation_an_ordinary]

Dataset with persistent identifier

Zheng, L-Y; Guo, X-S; He, B; Sun, L-J; Peng, Y; Dong, S-S; Liu, T-F; Jiang, S; Ramachandran, S; Liu, C-M; Jing, H-C (2011): Genome data from sweet and grain sorghum (*Sorghum bicolor*). *GigaScience*. <http://dx.doi.org/10.5524/100012>.

Preparing illustrations and figures

Illustrations should be provided as separate files, not embedded in the text file. Each figure should include a single illustration and should fit on a single page in portrait format. If a figure consists of

separate parts, it is important that a single composite illustration file be submitted which contains all parts of the figure. There is no charge for the use of color figures.

Please read our [figure preparation guidelines](#) for detailed instructions on maximising the quality of your figures.

Formats

The following file formats can be accepted:

- PDF (preferred format for diagrams)
- DOCX/DOC (single page only)
- PPTX/PPT (single slide only)
- EPS
- PNG (preferred format for photos or images)
- TIFF
- JPEG
- BMP

Figure legends

The legends should be included in the main manuscript text file at the end of the document, rather than being a part of the figure file. For each figure, the following information should be provided: Figure number (in sequence, using Arabic numerals - i.e. Figure 1, 2, 3 etc); short title of figure (maximum 15 words); detailed legend, up to 300 words.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures or tables that have previously been published elsewhere.

Preparing a personal cover page

If you wish to do so, you may submit an image which, in the event of publication, will be used to create a cover page for the PDF version of your article. The cover page will also display the journal logo, article title and citation details. The image may either be a figure from your manuscript or another relevant image. You must have permission from the copyright to reproduce the image. Images that do not meet our requirements will not be used.

Images must be 300dpi and 155mm square (1831 x 1831 pixels for a raster image).

Allowable formats - EPS, PDF (for line drawings), PNG, TIFF (for photographs and screen dumps), JPEG, BMP, DOC, PPT, CDX, TGF (ISIS/Draw).

Preparing tables

Each table should be numbered and cited in sequence using Arabic numerals (i.e. Table 1, 2, 3 etc.). Tables should also have a title (above the table) that summarizes the whole table; it should be no longer than 15 words. Detailed legends may then follow, but they should be concise. Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

Smaller tables considered to be integral to the manuscript can be pasted into the end of the document text file, in A4 portrait or landscape format. These will be typeset and displayed in the final published

form of the article. Such tables should be formatted using the 'Table object' in a word processing program to ensure that columns of data are kept aligned when the file is sent electronically for review; this will not always be the case if columns are generated by simply using tabs to separate text. Columns and rows of data should be made visibly distinct by ensuring that the borders of each cell display as black lines. Commas should not be used to indicate numerical values. Color and shading may not be used; parts of the table can be highlighted using symbols or bold text, the meaning of which should be explained in a table legend. Tables should not be embedded as figures or spreadsheet files.

Larger datasets or tables too wide for a portrait page can be uploaded separately as additional files. Additional files will not be displayed in the final, laid-out PDF of the article, but a link will be provided to the files as supplied by the author.

Tabular data provided as additional files can be uploaded as an Excel spreadsheet (.xls) or comma separated values (.csv). As with all files, please use the standard file extensions.

Preparing additional files

Although *BMC Public Health* does not restrict the length and quantity of data included in an article, we encourage authors to provide datasets, tables, movies, or other information as additional files.

Please note: All Additional files **will be published** along with the article. Do not include files such as patient consent forms, certificates of language editing, or revised versions of the main manuscript document with tracked changes. Such files should be sent by email to editorial@biomedcentral.com, quoting the Manuscript ID number.

Results that would otherwise be indicated as "data not shown" can and should be included as additional files. Since many weblinks and URLs rapidly become broken, *BMC Public Health* requires that supporting data are included as additional files, or deposited in a recognized repository. Please do not link to data on a personal/departmental website. The maximum file size for additional files is 20 MB each, and files will be virus-scanned on submission.

Additional files can be in any format, and will be downloadable from the final published article as supplied by the author. We encourage authors to use formats which facilitate reuse. e.g. We recommend CSV rather than PDF for tabular data.

Certain supported files formats are recognized and can be displayed to the user in the browser. These include most movie formats (for users with the Quicktime plugin), mini-websites prepared according to our guidelines, chemical structure files (MOL, PDB), geographic data files (KML).

If additional material is provided, please list the following information in a separate section of the manuscript text:

- File name (e.g. Additional file 1)
- File format including the correct file extension for example .pdf, .xls, .txt, .pptx (including name and a URL of an appropriate viewer if format is unusual)
- Title of data
- Description of data

Additional files should be named "Additional file 1" and so on and should be referenced explicitly by file name within the body of the article, e.g. 'An additional movie file shows this in more detail [see Additional file 1]'.

Additional file formats

Ideally, file formats for additional files should not be platform-specific, and should be viewable using free or widely available tools. The following are examples of suitable formats.

- Additional documentation
 - PDF (Adobe Acrobat)
- Animations
 - SWF (Shockwave Flash)
- Movies
 - MP4 (MPEG 4)
 - MOV (Quicktime)
- Tabular data
 - XLS, XLSX (Excel Spreadsheet)
 - CSV (Comma separated values)

As with figure files, files should be given the standard file extensions.

Mini-websites

Small self-contained websites can be submitted as additional files, in such a way that they will be browsable from within the full text HTML version of the article. In order to do this, please follow these instructions:

1. Create a folder containing a starting file called index.html (or index.htm) in the root.
2. Put all files necessary for viewing the mini-website within the folder, or sub-folders.
3. Ensure that all links are relative (ie "images/picture.jpg" rather than "/images/picture.jpg" or "http://yourdomain.net/images/picture.jpg" or "C:\Documents and Settings\username\My Documents\mini-website\images\picture.jpg") and no link is longer than 255 characters.
4. Access the index.html file and browse around the mini-website, to ensure that the most commonly used browsers (Internet Explorer and Firefox) are able to view all parts of the mini-website without problems, it is ideal to check this on a different machine.
5. Compress the folder into a ZIP, check the file size is under 20 MB, ensure that index.html is in the root of the ZIP, and that the file has .zip extension, then submit as an additional file with your article.

Style and language

General

Currently, *BMC Public Health* can only accept manuscripts written in English. Spelling should be US English or British English, but not a mixture.

There is no explicit limit on the length of articles submitted, but authors are encouraged to be concise. There is also no restriction on the number of figures, tables or additional files that can be included with each article online. Figures and tables should be numbered in the order in which they are referred to in the text. Authors should include all relevant supporting data with each article.

BMC Public Health will not edit submitted manuscripts for style or language; reviewers may advise rejection of a manuscript if it is compromised by grammatical errors. Authors are advised to write clearly and simply, and to have their article checked by colleagues before submission. In-house copyediting will be minimal. Non-native speakers of English may choose to make use of a copyediting service.

Language editing

For authors who wish to have the language in their manuscript edited by a native-English speaker with scientific expertise, BioMed Central recommends [Edanz](#). BioMed Central has arranged a 10% discount to

the fee charged to BioMed Central authors by Edanz. Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication. Please contact [Edanz](#) directly to make arrangements for editing, and for pricing and payment details.

Help and advice on scientific writing

The abstract is one of the most important parts of a manuscript. For guidance, please visit our page on [Writing titles and abstracts for scientific articles](#).

Tim Albert has produced for BioMed Central a [list of tips](#) for writing a scientific manuscript. [American Scientist](#) also provides a list of resources for science writing. For more detailed guidance on preparing a manuscript and writing in English, please visit the [BioMed Central author academy](#).

Abbreviations

Abbreviations should be used as sparingly as possible. They should be defined when first used and a list of abbreviations can be provided following the main manuscript text.

Typography

- Please use double line spacing.
- Type the text unjustified, without hyphenating words at line breaks.
- Use hard returns only to end headings and paragraphs, not to rearrange lines.
- Capitalize only the first word, and proper nouns, in the title.
- All pages should be numbered.
- Use the *BMC Public Health*[reference format](#).
- Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted.
- Please do not format the text in multiple columns.
- Greek and other special characters may be included. If you are unable to reproduce a particular special character, please type out the name of the symbol in full. **Please ensure that all special characters used are embedded in the text, otherwise they will be lost during conversion to PDF.**

Units

SI units should be used throughout (liter and molar are permitted, however).