



## **O extrato de *Euterpe oleracea* Mart. (açai) reduz o estresse oxidativo em ratos submetidos ao modelo de isquemia e reperfusão hepática**

Euterpe oleracea Mart. (açai) extract reduces oxidative stress in rats submitted to a liver ischemia and reperfusion model

El extracto de Euterpe oleracea Mart. (açai) reduce estrés oxidativo en ratas sometidas a un modelo de isquemia hepática y reperfusión

Paulo Cesar Lobato Magalhães<sup>1</sup>, Mariana dos Santos Guimarães<sup>1</sup>, Cristian dos Santos Pereira<sup>1</sup>, Hofman Eduardo da Cruz<sup>1</sup>, Mayara de Andrade Moratto<sup>1</sup>, Edson Yuzur Yasojima<sup>1</sup>, Sandro Percário<sup>1</sup>, Everton Luiz Pompeu Varela<sup>1</sup>.

### **RESUMO**

**Objetivo:** Investigar o efeito da suplementação nutricional com açai no modelo experimental de IR hepática em ratos. **Métodos:** 15 ratos machos foram divididos em três grupos: Sham: não tratados, sem indução de IR; IR: não tratados, submetidos à IR hepática; AÇAÍ+IR: tratados com extrato de açai 500 mg/kg e submetidos à IR. Foram 15 dias de tratamento. No 16º dia, os animais passaram por 30 minutos de isquemia e 24 horas de reperfusão. No 17º dia, os fígados foram coletados para analisar os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutathione (GSH), ácido úrico (AU) e capacidade antioxidante equivalente ao trolox pela inibição dos radicais ABTS•+ (CA-ABTS) e DPPH• (CA-DPPH). **Resultados:** Nossos resultados demonstraram que o tratamento com extrato de açai diminuiu a concentração de TBARS e GSH em relação ao grupo Sham e IR. O AU aumentou significativamente no grupo IR, mas sem alteração significativa no AÇAÍ+IR. Os níveis de CA-ABTS e CA-DPPH do grupo AÇAÍ+IR aumentaram significativamente em relação aos grupos Sham e IR. **Conclusão:** O açai foi capaz de atenuar o estresse oxidativo e aumentar a capacidade antioxidante observada no modelo de IR hepática, destacando seu potencial na prevenção de danos teciduais relacionados à IR hepática.

**Palavras-chave:** Açai, Antioxidante, Isquemia, Produto natural, Reperfusão.

### **ABSTRACT**

**Objective:** Investigating the effect of nutritional supplementation with açai in an experimental model of hepatic IR in rats. **Methods:** 15 male rats were divided into three groups: Sham: untreated, no IR induction; IR: untreated, subjected to hepatic IR; AÇAÍ+IR: treated with açai extract 500 mg/kg and subjected to IR. There were 15 days of treatment. On the 16th day, the animals underwent 30 minutes of ischemia and 24 hours of reperfusion. On the 17th day, the livers were collected to analyze the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), glutathione (GSH), uric acid (UA) and antioxidant capacity equivalent to trolox by inhibiting ABTS•+ (CA-ABTS) and DPPH• radicals (CA-DPPH). **Results:** Our results showed that treatment with açai extract decreased the concentration of TBARS and GSH compared to the Sham and IR groups. UA increased significantly in the IR group, but with no significant change in AÇAÍ+IR. CA-ABTS and

<sup>1</sup> Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Belém - PA.

CA-DPPH levels in the AÇAÍ+IR group increased significantly compared to the Sham and IR groups. **Conclusion:** Açai was able to attenuate oxidative stress and increase the antioxidant capacity observed in the hepatic IR model, highlighting its potential for preventing tissue damage related to hepatic IR.

**Keywords:** Açai, Antioxidant, Ischemia, Natural product, Reperfusion.

## RESUMEN

**Objetivo:** Investigación del efecto de la suplementación nutricional con açai en un modelo experimental de IR hepática en ratas. **Métodos:** Se dividieron 15 ratas macho en tres grupos: Sham: no tratadas, sin inducción de IR; IR: no tratadas, sometidas a IR hepática; AÇAÍ+IR: tratadas con extracto de açai 500 mg/kg y sometidas a IR. El tratamiento duró 15 días. El día 16, los animales fueron sometidos a 30 minutos de isquemia y 24 horas de reperusión. El día 17, se recogieron los hígados para analizar los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutatión (GSH), ácido úrico (UA) y capacidad antioxidante equivalente a trolox mediante la inhibición de los radicales ABTS-+ (CA-ABTS) y DPPH- (CA-DPPH). **Resultados:** Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con extracto de açai disminuyó la concentración de TBARS y GSH en comparación con los grupos Sham e IR. UA aumentó significativamente en el grupo IR, pero sin cambios significativos en AÇAÍ+IR. Los niveles de CA-ABTS y CA-DPPH en el grupo AÇAÍ+IR aumentaron significativamente en comparación con los grupos Sham e IR. **Conclusión:** El açai fue capaz de atenuar el estrés oxidativo y aumentar la capacidad antioxidante observada en el modelo de IR hepática, destacando su potencial para prevenir el daño tisular relacionado con la IR hepática.

**Palabras clave:** Açai, Antioxidante, Isquemia, Producto natural, Reperusión.

## INTRODUÇÃO

A lesão por isquemia e reperusão (IR) é um processo fisiológico caracterizado pela interrupção temporária do fluxo sanguíneo para um tecido ou órgão, seguido pelo seu restabelecimento. Este evento é frequentemente acompanhado de danos celulares irreversíveis, desencadeados pela hipóxia e subsequente reoxigenação do tecido afetado (KOÇ A, et al., 2023). Durante a isquemia, a falta de oxigênio nas células leva à acumulação de metabolitos, gerando alterações estruturais e funcionais, como congestão e apoptose, podendo resultar em necrose (NAKAZATO PCG, et al., 2018).

Entretanto, o restabelecimento do fluxo sanguíneo durante a reperusão também contribui para o agravamento da lesão, uma vez que o oxigênio reintroduzido gera espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON), as quais desempenham um papel central no desenvolvimento do estresse oxidativo tecidual. Essas moléculas instáveis podem provocar danos estruturais e funcionais em proteínas, lipídeos e DNA, amplificando a extensão da lesão celular (ZHANG S, et al., 2022).

A lesão hepática resultante do processo IR é um desafio clínico significativo, particularmente em contextos de cirurgias hepáticas complexas, como na oclusão hilar associada à hepatectomia parcial, em procedimentos de transplante hepático e em situações de trauma hepático. Esses quadros podem evoluir para insuficiência hepática, falhas do transplante e, em casos mais graves, levar à falência de múltiplos órgãos (YINZHI D, et al., 2024; WANG L, et al., 2023).

O fígado, sendo o maior órgão sólido do corpo humano, desempenha funções metabólicas e secretoras essenciais, e sua alta demanda de oxigênio para realizar suas funções o torna particularmente vulnerável à isquemia e à hipóxia (SINGH K, et al., 2023). O processo de IR hepática, portanto, pode induzir necrose hepatocelular por meio da formação de ERON, bem como pelo processo de apoptose mediado por citocinas pró-inflamatórias, exacerbando a destruição do parênquima hepático (FERCHICHI H, et al., 2018).

Em resposta a esses danos, diversas abordagens terapêuticas têm sido investigadas para mitigar os efeitos deletérios da IR, com especial ênfase no uso de substâncias bioativas com propriedades antioxidantes, capazes de neutralizar o estresse oxidativo e reduzir o impacto das lesões celulares (FATHI AM, et al., 2023; BAVARSAD K, et al., 2019).

Nesse contexto, o extrato de *Euterpe oleracea* Mart., conhecido popularmente como açaí, surge como uma potencial estratégia terapêutica. Este fruto amazônico é amplamente reconhecido por suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e neuroprotetora (IMPELLIZZERI D, et al., 2022; SIRACUSA R, et al., 2022). O açaí é uma excelente fonte de compostos bioativos, incluindo antocianinas, flavonoides, lipídeos, fibras e proteínas, os quais contribuem para suas propriedades antioxidantes e ajudam a neutralizar os efeitos do estresse oxidativo, incluindo a eliminação de ERON como o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) (FLOR-UNDA O, et al., 2024; LEÃO DP, et al., 2021).

Estudos experimentais prévios demonstraram que a suplementação com o açaí pode reduzir os danos oxidativos em modelo de IR cerebral e miocárdica, sugerindo um potencial terapêutico relevante (TEIXEIRALL, et al., 2023; ALEGRE P, et al., 2019). No entanto, o uso do extrato de açaí como intervenção terapêutica específica para a IR hepática ainda é escasso e precisa de maior investigação.

Diante disso, este trabalho se propõe a preencher essa lacuna, investigando se o extrato de açaí pode reduzir o desenvolvimento do estresse oxidativo em um modelo de isquemia e reperfusão hepática em ratos.

## MÉTODOS

Foram utilizados 15 ratos machos da espécie *Rattus Novergicus*, linhagem Wistar, adultos, com idade entre 6 a 8 semanas, peso variando entre 270g a 350g. Os animais foram provenientes do Biotério Central do Instituto Evandro Chagas, localizado em Ananindeua, Pará, Brasil. Antes da realização de qualquer procedimento experimental, os animais passaram por um período de aclimação de 15 dias no Laboratório de Cirurgia Experimental (LCE), do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade do Estado do Pará (UEPA). Durante este período e após os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada de 24 ± 2°C, ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes das 7h às 19h), e tiveram acesso livre a ração padrão e água filtrada.

O projeto experimental do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da UEPA (CEUA/UEPA), sob o número de registro 04/2022, e todas as práticas experimentais seguiram rigorosamente as normas de ética estabelecidas pela Sociedade Brasileira da Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL), assegurando o bem-estar dos animais durante todas as fases do experimento. O manejo e cuidados com os animais foram realizados de acordo com as diretrizes preconizadas para a experimentação animal, garantindo a minimização de desconfortos e sofrimento.

### Obtenção do extrato da polpa de açaí

As amostras de açaí utilizadas neste estudo foram coletadas em Barcarena-PA, município localizado nas proximidades de Belém, na Amazônia Oriental Brasileira. Um total de 10 kg de frutos foi recolhido no estágio de maturação plena, o que garantiu a maior concentração de antocianinas, compostos bioativos de interesse antioxidante (FLOR-UNDAO, et al., 2024). Imediatamente após a coleta, os frutos foram transportados para o laboratório, onde o extrato foi preparado conforme o proposto por (POMPEU DR, et al., 2009).

### Administração do extrato de açaí

O extrato de polpa de açaí foi administrado aos animais por meio da técnica de gavagem, um método comum para aplicação oral de soluções experimentais, alimentos líquidos ou medicamentos diretamente no estômago. O extrato foi administrado diariamente, uma vez por dia, durante um período de 15 dias, nas concentrações de 500 mg/kg (EL MORSY EM, et al., 2015). Durante todo o período de administração do extrato, os animais mantiveram acesso *ad libitum* à ração e água.

### Organização dos grupos

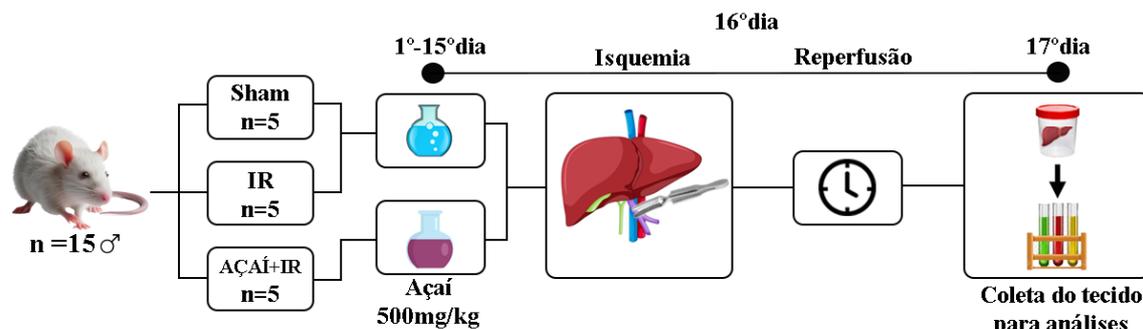
Foram utilizados 15 ratos Wistar, distribuídos randomicamente em três grupos experimentais (**Figura 1**), com 5 animais em cada grupo, conforme descrito a seguir:

**Sham (n=5):** Grupo de animais que foi administrado água, por gavagem, sem a realização do clampeamento do pedículo hepático, de forma a não induzir o modelo de IR hepática.

**IR(n=5):** Grupo de animais que receberam água por gavagem e foram submetidos à laparotomia, seguida do clampeamento do pedículo hepático, induzindo o modelo de IR hepática.

**AÇAÍ+IR (n=5):** Grupo que recebeu o extrato de açaí na concentração de 500 mg/kg, por meio de gavagem, durante 15 dias consecutivos e foram submetidos ao protocolo de indução de IR hepática, com laparotomia e clampeamento do pedículo hepático.

**Figura 1-** Representação esquemática do cronograma experimental. Ratos Wistar foram pré-tratados, ou não, com extrato de açaí, administrado diariamente durante 15 dias consecutivos. No 16º dia, foi realizado o clampeamento do pedículo hepático para induzir isquemia hepática por 30 minutos, seguido da remoção do clamp e estabelecimento da reperfusão durante 24 horas. No 17º dia, foram coletadas amostras de tecido hepático para as análises bioquímicas: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, ácido úrico, glutatona e capacidade antioxidante equivalente ao trolox pela inibição dos radicais ABTS<sup>•+</sup> e DPPH<sup>•</sup>. Sham: animais não tratados, sem indução de IR hepática; IR: animais não tratados, submetidos à IR hepática; AÇAÍ+IR: animais tratados com extrato de açaí 500 mg/kg e submetidos à IR hepática.



CEUA/UEPA n°04/2022

**Fonte:** Magalhães PCL, et al., 2025.

## Experimento

Após o período de 15 dias de gavagem, no 16º dia os animais foram pesados em balança de precisão. Posteriormente, a anestesia foi induzida via administração intraperitoneal de cloridrato de quetamina (80mg/ml) na dose de 1,6 mL a 5% por quilo de peso corporal, cloridrato de xilazina (8mg/kg) na dose de 7,5 mL a 2% por quilo de peso corporal, e 0,03 mg/kg de fentanil por quilo de peso corporal. Em seguida, a perda de consciência e a ausência de reflexo caudal foram verificados por meio de pinçamento caudal, podálico, interdigital e das vibrissas, confirmando o estado anestésico adequado antes do procedimento cirúrgico. Para garantir controle analgésico contínuo, foram realizados repique de fentanil a cada 30 minutos após a dose inicial, independente do animal apresentar sinais de dor.

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal horizontal, com as patas fixadas à prancha operatória. Realizou-se a epilação da parede abdominal seguida de antissepsia com solução alcoólica de clorexidina, sendo posteriormente colocados campos operatórios estéreis. Posteriormente, o modelo experimental foi conduzido de acordo com o Manual de Isquemia e Reperfusão (BRITO MVH, et al., 2016), iniciando com a laparotomia mediana na pele, seguida pela divulsão do tecido subcutâneo e abertura da cavidade peritoneal. Foi realizada a confecção de uma prega nos tecidos abdominais com o auxílio de pinças para ampliar a visualização da cavidade peritoneal e das alças intestinais. Após a abertura da cavidade peritoneal, as vísceras abdominais e os lobos do fígado foram afastados, permitindo a identificação do pedículo hepático. Foi então introduzido um clamp microvascular atraumático, envolvendo a artéria hepática, a veia porta e o ducto biliar. O pedículo hepático foi clampeado por 30 minutos, período durante o qual a isquemia foi induzida. Após esse intervalo, o clamp foi removido para iniciar o processo de reperfusão, que durou 24 horas, segundo o modelo de (ARAÚJO JÚNIOR FA, et al., 2005).

Ao final do período de reperusão, foi realizado o fechamento da cavidade abdominal por sutura, seguido da aplicação de curativos à base de gaze e esparadrapos. A analgesia foi complementada com a administração intraperitoneal de 1,25 mg/kg Tramal® 30 minutos após a primeira dose de fentanil e novamente doze horas após a indução da isquemia, conforme descrito por Lopopolo M, et al. (2013). Os animais foram então acondicionados em gaiolas plásticas individuais no LCE/UEPA, com acesso *ad libitum* a água e ração. No 17º dia, as amostras de tecido hepático foram coletadas para análises bioquímicas.

### **Análises bioquímicas**

Para a realização das análises bioquímicas, parte do tecido hepático foi isolado e cuidadosamente lavado em solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em seguida, as amostras foram pesadas e homogeneizadas com PBS na proporção 1:10 (m:v). A disrupção ultrassônica foi então aplicada utilizando um Sonicador ultrassônico (DES500) para garantir a completa homogeneização do tecido. Após esse processo, o material homogêneo foi transferido para microtubos tipo Eppendorf (2mL) e armazenado a -20°C até a realização das dosagens bioquímicas.

### **Dosagem das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico**

O método foi realizado de acordo com fundamentos propostos por Kohn HI e Liversedge M(1944), com base nas condições químicas da reação descritas (PERCÁRIO S, et al., 1994). Este método avalia a peroxidação lipídica, servindo com um indicador de estresse oxidativo. A reação baseia-se na interação do ácido tiobarbitúrico (TBA; 4,6-dihydroxypyrimidine-2-thiol, Sigma-Aldrich, T5500, São Paulo/SP) com os produtos da peroxidação lipídica, como o molondialdeído (MDA), em pH ácido (2,5) e a uma temperatura elevada (94°C), resultando na formação de cromógenos com absorvância a 535 nm.

Inicialmente 0,5 mL da amostra ou padrão foram misturados a 1 mL da solução de TBA (10 mM). A solução então incubada em banho-maria a 94°C por 60 minutos. Após esse período, adicionaram-se 4 mL de álcool n-butílico, e a solução foi agitada em agitador tipo vórtex. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para uma cubeta, e a absorvância foi medida em espectrofotometria a 535 nm (Espectrofotômetro 800XI; Femto; São Paulo/SP).

Uma curva padrão foi realizada utilizando 1,1,3,3, tetrahidroxipropano (padrão MDA, 20 µM, Sigma-Aldrich, 108383, São Paulo/SP) em triplicata. A equação da reta obtida ( $y = 0,1419x - 0,0037$ ), onde y representa a absorvância e x a concentração, apresentou um coeficiente de correlação ( $R^2$ ) de 0,9999. A concentração de TBARS nas amostras foi determinada a partir dessa equação de calibração.

### **Dosagem de ácido úrico**

O procedimento foi realizado utilizando o Kit Ácido Úrico liquiform (Labtest). A técnica baseia-se na oxidação do ácido úrico pela uricase, produzindo alantoina e  $H_2O_2$ . O  $H_2O_2$ , na presença da peroxidase, reage com o ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno sul-fonato (DHBS) e a 4-aminoantipirina, formando o cromogênio antipirilquinonimina. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração de ácido úrico na amostra.

Para realização do ensaio, 0,02 mL da amostra ou padrão foram misturados em 1 mL do reagente de trabalho de ácido úrico, composto por 4-aminoantipirina, peroxidase, azida sódica, DHBS e uricase. Depois, a solução foi incubada em banho-maria a 37°C durante 5 minutos. Em seguida, as absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro 800XI (Femto; São Paulo/SP) em 505 nm. Uma curva padrão foi realizada utilizando Ácido úrico (20mg/dL), em triplicata. A equação da reta obtida foi:  $y = 0,0166x + 0,0012$ , com  $R^2 = 0,9986$ , onde y representa o valor de absorvância e x, o valor de concentração. A partir dessa equação, foi determinada a concentração de AU nas amostras.

### **Dosagem de glutatona**

A glutatona (GSH) foi quantificada de acordo com a metodologia adaptada de Ellman GL(1959). A GSH é um importante antioxidante intracelular, presente nas células animais, que circula no organismo nas formas de tiol reduzida (GSH) e uma forma oxidada (GSSG).

Inicialmente, 50 µL da amostra ou padrão foram transferidos para tubos de ensaio contendo 2,95 mL de solução tampão. Após a mistura, o volume total foi transferido para uma cubeta, e a absorbância foi medida a 412 nm, representando a primeira leitura (T0). Em seguida, foram adicionados 100 µL da solução de 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoato (DTNB), e após 3 minutos, foi realizada a segunda leitura de absorbância (T3). A diferença entre as leituras foi utilizada para determinar a concentração de GSH.

A curva padrão foi realizada em triplicata, e a equação da reta obtida foi:  $y = 0.0037x + 0.0234$ , com  $R^2 = 0,9906$ , onde  $y$  representa a absorbância e  $x$  a concentração. A concentração de GSH nas amostras foi determinada a partir dessa equação de calibração.

### **Capacidade antioxidante equivalente ao trolox**

A capacidade antioxidante das substâncias estudadas foi determinada segundo a sua equivalência ao ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromono-2-carboxílico (Trolox®; Sigma-Aldrich; 23881-3; São Paulo/SP), um potente antioxidante e análogo sintético hidrossolúvel da vitamina E. Os ensaios utilizados para essa determinação foram os de sequestro dos radicais 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) sal de diamônio (ABTS<sup>•+</sup>) e 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH<sup>•</sup>).

### **Capacidade antioxidante pela inibição do radical ABTS<sup>•+</sup> (CA-ABTS)**

Esse método foi realizado de acordo com fundamentos propostos por Miller NJ, et al. (1993), e com condições de reação modificadas por Re R, et al. (1999). O método baseia-se na capacidade das substâncias em eliminar o radical cátion ABTS<sup>•+</sup>, um cromóforo azul-esverdeado com absorção máxima a 734 nm, resultando na formação do produto estável ABTS, que é incolor.

Inicialmente, a solução de ABTS<sup>•+</sup> (2,45 mM) foi preparada a partir da reação entre o ABTS (7 mM; Sigma-Aldrich; A1888; São Paulo/SP) e o persulfato de potássio (140 mM; K2O8S2; Sigma-Aldrich; 216224; São Paulo/SP). Em seguida, foi realizada a leitura inicial (T0) da solução de ABTS<sup>•+</sup> em espectrofotômetro (800XI; Femto; São Paulo/SP) a 734 nm. Depois, 30 µL de amostra ou padrão foram adicionados a solução e, após um tempo de incubação de 5 minutos, foi realizada a leitura final (T5).

Uma curva padrão foi realizada utilizando Trolox (2,5mM; Sigma-Aldrich; 23881-3; São Paulo/SP) em triplicata e, a equação da reta obtida foi:  $y = 0,4324x + 0,0049$ , com  $R^2 = 0,9997$ , onde  $y$  representa o valor de absorbância e  $x$ , o valor de concentração. A partir dessa equação, foi determinada a CA-ABTS nas amostras.

### **Capacidade antioxidante pela inibição do radical DPPH<sup>•</sup> (CA-DPPH)**

O teste foi realizado de acordo com método proposto por Blois MS(1958), adaptado para a avaliação da capacidade antioxidante total de substâncias, sintéticas ou naturais, em eliminar o radical DPPH<sup>•</sup> (Sigma-Aldrich; D9132; São Paulo/SP). O DPPH<sup>•</sup> é um cromóforo de cor violeta com absorção a 517 nm, e a sua reação com antioxidantes resulta na formação do produto hidrogenado DPPH, que é amarelo ou incolor.

Primeiramente, a solução de DPPH<sup>•</sup> (0,1 mM) foi preparada a partir da reação entre o DPPH (394,32 g/mol; Sigma-Aldrich; A1888; São Paulo/SP) e álcool etílico (P.A.; C2H6O; Sigma-Aldrich; 216224; São Paulo/SP). Depois, foi realizada a leitura da solução de DPPH<sup>•</sup> em espectrofotômetro 800XI (Femto; São Paulo/SP) a 517 nm. Em seguida, foram misturados 50 µL da amostra ou padrão em 950 µL da solução de DPPH<sup>•</sup>; a mistura foi incubada em banho-maria a 30°C por 30 minutos. Após esse período foi realizado a segunda leitura.

A curva padrão foi realizada utilizando Trolox (2,5mM) em triplicata e, a equação da reta obtida foi:  $y = 0,2041x - 0,0031$ , com  $R^2 = 0,9973$ , onde  $y$  representa o valor de absorbância e  $x$ , o valor de concentração. A partir dessa equação da reta, foi determinada a CA-DPPH nas amostras.

### **Análise estatística**

Para cada parâmetro analisado, foi realizada a análise de possíveis pontos discrepantes (outliers) através do cálculo do intervalo interquartil, que corresponde à diferença entre o terceiro quartil (Q3) e o

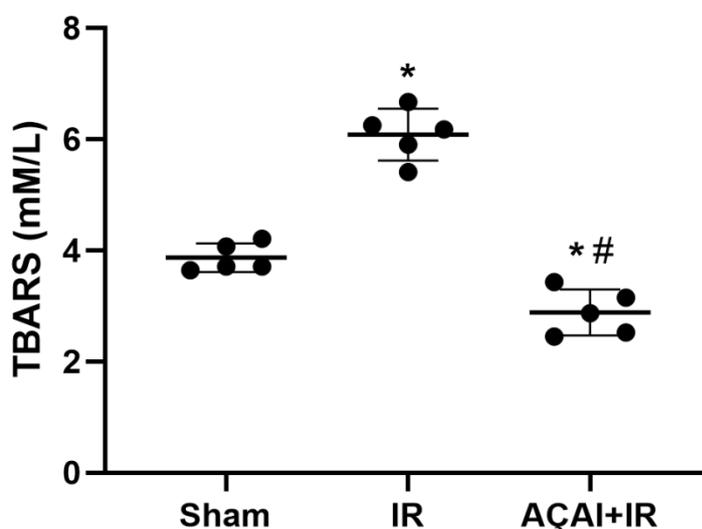
primeiro quartil (Q1), denominado de  $d_j$ . Foram considerados pontos discrepantes aqueles valores menores que  $Q1 - 3/2d_j$  ou maiores que  $Q3 + 3/2d_j$ , os quais foram excluídos dos cálculos estatísticos. Após a análise de outliers, a avaliação da normalidade foi realizada pelo teste de Levene. Para das variáveis com distribuição homogeneia (homo-cedástica), foi aplicado o teste de Análise Variância (ANOVA). Para as variáveis com distribuição heterogênea (hetero-cedástica), foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Quando diferenças significantes foram identificadas, as comparações entre os grupos foram feitas utilizando o teste post-hoc de Tukey. Em todos os testes, foi considerado um nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O nível de TBARS no fígado foi mais elevado no grupo IR. No entanto, a suplementação com o extrato de açaí promoveu uma redução significativa ( $p < 0,0001$ ) do nível de TBARS no grupo AÇAÍ+IR quando comparado aos grupos Sham e IR. Isso indica que o estresse oxidativo induzido pela IR foi inibido pelo açaí (Figura 2).

**Figura 2-** Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no fígado de animais que foram submetidos ao modelo de IR hepática tratados ou não com açaí. O teste ANOVA, seguido pelo teste *post-hoc* de Tukey foi usado para comparação dos grupos Sham, IR e AÇAÍ+IR. \* $p \leq 0,0047$  versus Sham; # $p < 0,0001$  versus IR. Sham: animais não tratados, sem indução de IR hepática; IR: animais não tratados, submetidos à IR hepática; AÇAÍ+IR: animais tratados com extrato de açaí 500 mg/kg e submetidos à IR hepática.

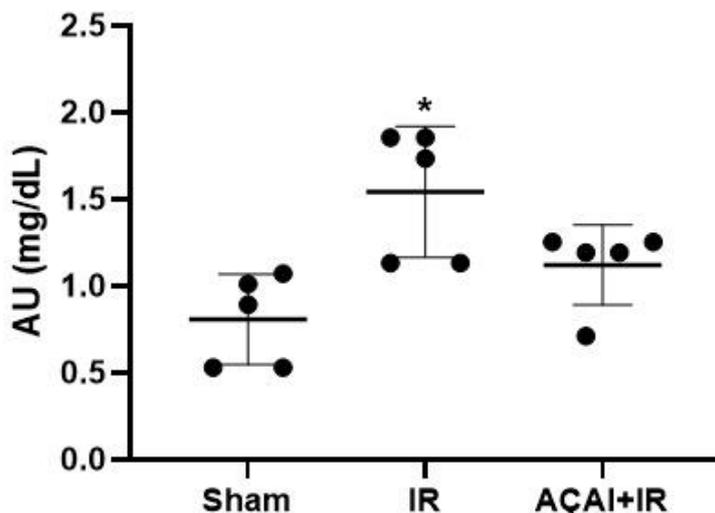


Fonte: Magalhães PCL, et al., 2025.

### Ácido úrico

A Figura 3 mostra que o grupo IR apresentou um aumento significativo ( $p = 0,0053$ ) na concentração de ácido úrico em relação ao grupo Sham.

**Figura 3-** Concentração de ácido úrico no fígado de animais que foram submetidos ao modelo de IR hepática tratados ou não com açaí. O teste ANOVA, seguido pelo teste *post-hoc* de Tukey foi usado para comparação dos grupos Sham, IR e AÇAÍ+IR. \* $p = 0,0053$  versus Sham. Sham: animais não tratados, sem indução de IR hepática; IR: animais não tratados, submetidos à IR hepática; AÇAÍ+IR: animais tratados com extrato de açaí 500 mg/kg e submetidos à IR hepática.

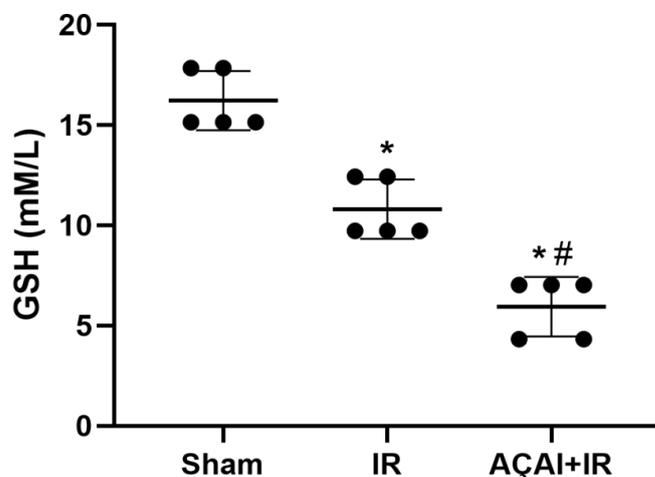


Fonte: Magalhães PCL, et al., 2025.

### Glutaciona

A **Figura 4** mostra que, no grupo IR, a concentração de GSH foi mais elevada em relação ao grupo AÇAÍ+IR. No entanto, o tratamento com extrato de açaí promoveu uma redução significativa ( $p < 0,0001$ ) no nível de GSH do grupo AÇAÍ+IR quando comparado aos grupos Sham e IR.

**Figura 4.** Concentração de glutaciona no fígado de animais que foram submetidos ao modelo de IR hepática tratados ou não com açaí. O teste ANOVA, seguido pelo teste *post-hoc* de Tukey foi usado para comparação dos grupos Sham, IR e AÇAÍ+IR. \* $p < 0,0001$  versus Sham; # $p < 0,0001$  versus IR. Sham: animais não tratados, sem indução de IR hepática; IR: animais não tratados, submetidos à IR hepática; AÇAÍ+IR: animais tratados com extrato de açaí 500 mg/kg e submetidos à IR hepática.

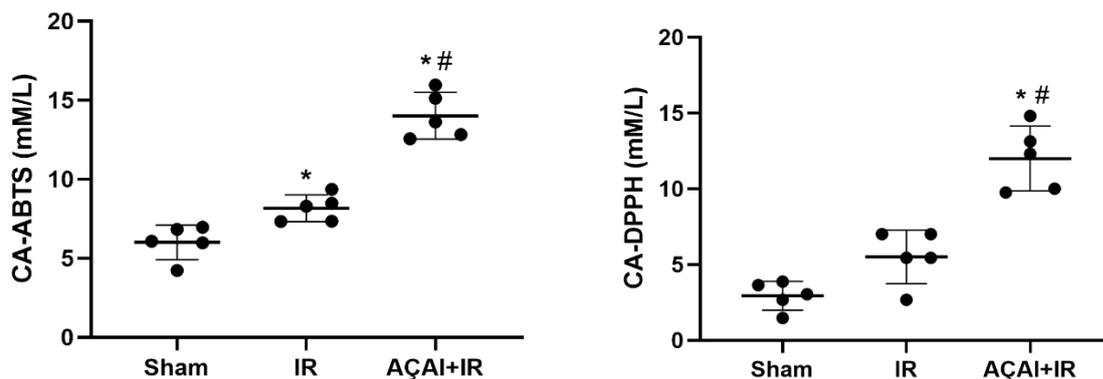


Fonte: Magalhães PCL, et al., 2025.

### Capacidade antioxidante equivalente ao trolox

A **Figura 5** mostra que o grupo AÇÁI+IR induziu aumento significativo ( $p = 0,0327$ ) da capacidade antioxidante (CA-ABTS e CA-DPPH) quando comparado com o grupo Sham, e em relação ao grupo IR ( $p < 0.0001$ ).

**Figura 5.A-** Capacidade antioxidante total pela inibição do radical ABTS no fígado de animais que foram submetidos ao modelo de IR hepática tratados ou não com açaí. **B:** Capacidade antioxidante total pela inibição do radical DPPH no fígado de animais que foram submetidos ao modelo de IR hepática tratados ou não com açaí. O teste ANOVA, seguido pelo teste *post-hoc* de Tukey foi usado para comparação dos grupos Sham, IR e AÇAI+IR. \* $p = 0,0327$  versus Sham; # $p < 0,0001$  versus IR. Sham: animais não tratados, sem indução de IR hepática; IR: animais não tratados, submetidos à IR hepática; AÇAI+IR: animais tratados com extrato de açaí 500 mg/kg e submetidos à IR hepática.



Fonte: Magalhães PCL, et al., 2025.

### DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou, pela primeira vez, que o tratamento com extrato de *E. oleracea* foi eficaz na redução do dano oxidativo hepático induzido pela IR promovendo um aumento na capacidade de defesa antioxidante do organismo animal. Pesquisas prévias indicam que o açaí pode minimizar danos oxidativos em diferentes órgãos, como coração, rins e cérebro, além de potencializar a atividade antioxidante protetora em tecidos submetidos à IR (ALEGRE P, et al., 2019; EL MORSY EM, et al., 2015; TEIXEIRALL, et al., 2023). Estudos anteriores também evidenciaram que antioxidantes, como folha de amora-preta e curcumina possuem o potencial de atenuar os efeitos deletérios da IR no fígado (FATHI AM, et al., 2023; BAVARSADK, et al., 2019).

A IR é um processo patológico complexo que se inicia com a asfíxia tecidual, seguido pela produção de ERON, desencadeando o estresse oxidativo. Esse mecanismo se inicia com a deficiência de oxigênio ( $O_2$ ), que dificulta o metabolismo celular devido à interrupção do fluxo sanguíneo (KOÇ A, et al., 2023). A reperfusão, ao restabelecer o fluxo sanguíneo, acelera o metabolismo da hipoxantina, acumulada durante a isquemia, pela xantina oxidase (XO), gerando subprodutos altamente reativos, incluindo ácido úrico (AU), ácido hipocloroso (HOCl),  $O_2^{\cdot-}$ , radicais hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), que oxidam os lipídios celulares e geram outros subprodutos como o MDA e outras TBARS (ZHANG S, et al., 2022; WANG L, et al., 2023).

As TBARS, subprodutos da peroxidação lipídica e o AU, metabólito final da purina, formado também a partir da degradação de DNA e RNA no organismo, estão comumente elevados em condições de IR (WU PJ, et al., 2018). Refletindo, em parte, a intensidade do estresse oxidativo e da lesão celular. Por outro lado, a diminuição desses marcadores pode indicar a redução dano oxidativo hepático.

Um estudo prévio com extrato de folhas de *Hypericum humifusum*, rico em flavonoides e outros compostos fenólicos (FERCHICHI H, et al., 2018), em um modelo experimental de IR hepática, evidenciou redução na peroxidação lipídica no fígado de animais tratados com os extratos, enquanto os animais não tratados apresentaram níveis aumentados de TBARS.

Nossos resultados foram semelhantes, com níveis elevados de TBARS no grupo IR indicando um aumento do estresse oxidativo, e uma redução nos níveis de TBARS nos animais suplementados com açaí, fato que evidencia o potencial do açaí na mitigação do estresse induzido pela IR hepática.

Paralelamente, o AU é um biomarcador importante no processo de IR. Notavelmente, trabalhos de (SCHMIDT HM, et al., 2023) indicam que o AU é produzido durante a isquemia e aumenta sua concentração na reperusão devido a atuação da XO sobre a hipoxantina. Em nosso estudo, os animais do grupo IR aumentaram a concentração de AU em relação ao grupo Sham, confirmando a presença e a intensidade do estresse oxidativo. Essa descoberta está alinhada com os resultados de Shen S, et al. (2021) que correlacionou o acúmulo de AU a exacerbação da lesão de cardiomiócitos em camundongos submetidos à IR miocárdica, devido ao aumento da inflamação tecidual e intensificação do estresse oxidativo.

Embora o mecanismo de ação do açaí não tenha sido investigado diretamente neste estudo, podemos especular que os compostos bioativos presentes, como polifenóis e proantocianidinas, além das altas concentrações de ácidos graxos mono e poliinsaturados, componentes raros na maioria das frutas e bagas (SIRACUSA R, et al., 2022), desempenham um papel crucial na modulação dos níveis de TBARS, GSH e AU, minimizando o estresse oxidativo hepático.

Além disso, a interação entre polifenóis e antocianinas na neutralização de radicais livres e na modulação de antioxidantes celulares tem sido amplamente documentada em estudos anteriores, como de (LEÃO DP, et al., 2021). Apesar dos modelos experimentais utilizados nesses estudos difiram do modelo de IR hepática aqui apresentado, as evidências convergem quanto ao potencial terapêutico do açaí no controle do estresse oxidativo e na prevenção dos danos hepáticos associados a IR.

As enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), GSH e glutathione peroxidase (GPx) desempenham papéis essenciais na proteção contra o estresse oxidativo, uma vez que neutralizam as ERON no organismo (VARELA ELP, et al., 2022). A SOD, por exemplo, protege o fígado ao catalisar a conversão do  $O_2^{\cdot-}$  em  $H_2O_2$ , que é, então, convertido em água pela CAT ou por GSH ou GPx (NAKAZATO PCG, et al., 2018). Esses mecanismos formam uma rede interconectada que ajuda a mitigar os efeitos danosos do estresse oxidativo e, assim, protegem as células hepáticas.

Assim, a GSH desempenha um papel essencial na defesa intracelular, agindo como cofator para enzimas antioxidantes e participando da detoxificação de subprodutos prejudiciais (HANDY DE e LOSCALZO, 2022). Nossos resultados, os animais do grupo tratado com açaí não apresentaram concentrações elevadas de GSH. Uma possível explicação pode ser o fato de que a redução do estresse oxidativo foi mais atribuída às antocianinas do açaí do que ao sistema antioxidante endógeno, representado pela GSH. Esses resultados contrastam com os estudos de (BARBOSA PO, et al., 2021), que observou um aumento nos níveis de GSH em animais suplementados com polpa de açaí, indicando que a ativação das defesas antioxidantes endógenas foi mais pronunciada do que a encontrada em nosso estudo.

Por outro lado, Bonomo LF, et al. (2014), demonstrou que a suplementação dietética de açaí em ratos pode resultar na redução da produção de ERON pelos neutrófilos, no aumento dos níveis de GSH, na diminuição dos danos às proteínas e na ativação da expressão gênica de enzimas antioxidantes como a GPx no fígado.

A fim de caracterizar a capacidade antioxidante de moléculas presentes no extrato de açaí e sua habilidade em eliminar radicais livres, realizamos os ensaios ABTS e DPPH. O ensaio ABTS é baseado na geração do radical  $ABTS^{\cdot+}$ , que pode ser utilizado para avaliar sistemas antioxidantes tanto hidrofílicos quanto lipofílicos, enquanto o ensaio DPPH utiliza o radical dissolvido em solvente orgânico, sendo, portanto, mais adequado para sistemas hidrofóbicos (KIM D, et al., 2002). Esses testes fornecem uma visão abrangente dos antioxidantes presentes em uma amostra biológica e são úteis para estudar os potenciais benefícios do açaí em condições patológicas como a síndrome de IR, mediadas pelo estresse oxidativo. Nosso estudo, demonstrou uma diminuição nos níveis de ABTS, DPPH e GSH no grupo IR. Como a IR induz a produção de agentes oxidantes e também estimula os leucócitos a gerarem ERON, essa redução nos parâmetros antioxidantes pode refletir uma resposta fisiológica do próprio organismo animal, no intuito

de se proteger contra as ERON. Além disso, pode indicar uma desregulação no equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, onde o aumento das ERON está diretamente relacionado à diminuição dos substratos antioxidantes, como SOD, CAT, GSH e GPx, nesse modelo experimental de IR (DE OLIVEIRA NKS, et al., 2019).

Por outro lado, os animais do grupo AÇAÍ+IR apresentaram níveis de ABTS e DPPH superiores em comparação aos grupos Sham e IR. Uma possível explicação para esse efeito benéfico, é a própria composição fitoquímica complexa do açaí, rico em antocianinas, como o cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo, responsáveis pela cor arroxeada da fruta (MINIGHIN EC, et al., 2020) e os polifenóis que reduzem o estresse oxidativo por mecanismos como doação de hidrogênio e quelação de íons metálicos, sendo capazes de reduzir e proteger de danos celulares e oxidativos (REMIGANTE A, et al., 2022).

Além disso, estudos de (SINGH K, et al., 2023), observou que os flavonoides são hepatoprotetores, além de possuir atividade antioxidante semelhante à da SOD e CAT, outra explicação do potencial antioxidante desempenhado pelo extrato de açaí em nosso estudo.

De maneira análoga, o estudo de (IMPELLIZZERI D, et al., 2022) demonstrou que a suplementação de açaí na dose de 500 mg/kg, a mesma do presente trabalho, foi capaz de aumentar a defesa antioxidante fisiológica, sugerindo um possível papel protetor durante eventos de demência vascular. Esses achados corroboram com os resultados de (FIGUEIREDO AM, et al., 2022), o qual observou melhorias no metabolismo energético antioxidante e redução do estresse oxidativo em ratos submetidos a um modelo de infarto agudo do miocárdio tratados com polpa de açaí em comparação aos animais controle.

Portanto, nossos resultados indicam que o extrato de açaí pode desempenhar um papel protetor contra o estresse oxidativo induzido pela IR no fígado, auxiliando na restauração do equilíbrio redox do organismo. Esse efeito pode estar relacionado, em parte, à ação das antocianinas presentes no açaí, que possuem um considerável potencial antioxidante e, conseqüentemente, podem contribuir para a redução dos danos hepáticos associados à IR.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam o potencial do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) como um agente antioxidante eficaz na diminuição dos danos causados pela isquemia e reperfusão hepática. O extrato do fruto demonstrou capacidade de reduzir o estresse oxidativo, o que destaca sua relevância como um composto bioativo promissor para a prevenção de danos teciduais relacionados a processos oxidativos. A suplementação com o açaí foi capaz de mitigar os efeitos adversos da IR hepática, evidenciando seu papel na atenuação da peroxidação lipídica, aumento da atividade antioxidante e modulação de biomarcadores associados ao estresse oxidativo. Contudo, para uma compreensão mais profunda dos mecanismos moleculares subjacentes a essa proteção, estudos adicionais são imprescindíveis. Essas investigações poderão esclarecer como o açaí atua a nível celular e molecular, além de avaliar seu potencial terapêutico em diferentes modelos animais e, futuramente, em aplicações clínicas. O uso do açaí como suplemento antioxidante poderia representar uma estratégia interessante no manejo de condições associadas ao estresse oxidativo, com implicações tanto na prevenção quanto no tratamento de doenças hepáticas e outras patologias relacionadas à disfunção de antioxidantes endógenos.

## REFERÊNCIAS

1. ALEGRE P, et al. *Euterpe oleracea* mart.(açaí) reduces oxidative stress and improves energetic metabolism in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2019; 114: 78-86.
2. ALNASSER MN e MELLOR IR. Neuroprotective activities of acai berries (*Euterpe* sp.): A review. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 2022; 11(2): 166-181.
3. ARAÚJO JÚNIOR FA, et al. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à

- isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 2005; 20: 93-99.
4. BARBOSA PO, et al. Açai (*Euterpe oleracea* Martius) supplementation improves oxidative stress biomarkers in liver tissue of dams fed a high-fat diet and increases antioxidant enzymes' gene expression in offspring. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021; 139: 111627.
  5. BAVARSAD K, et al. Protective effects of curcumin against ischemia-reperfusion injury in the liver. *Pharmacological research*, 2019; 141: 53-62.
  6. BLOIS MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958; 181(4617): 1199-1200.
  7. BONOMO LF, et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. *PLoS one*, 2014; 9(3): e89933.
  8. ELLMAN GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1959; 82(1): 70-77.
  9. FATHI AM, et al. Blackberry-loaded AgNPs attenuate hepatic ischemia/reperfusion injury via PI3K/Akt/mTOR pathway. *Metabolites*, 2023; 13(3): 419.
  10. FERCHICHI H, et al. *Hypericum humifusum* leaves attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Annals of Hepatology*, 2018; 17(1): 144-152.
  11. FIGUEIREDO AM, et al. Açai supplementation (*Euterpe oleracea* Mart.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats through different mechanistic pathways. *Plos one*, 2022; 17(3): e0264854.
  12. FLOR-UNDA O, et al. Physicochemical Characterization and Antioxidant Capacity of Açai (*Euterpe oleracea*) in Ecuadorian Region. *Foods*, 2024; 13(19): 3046.
  13. HANDY DE e LOSCALZO J. The role of glutathione peroxidase-1 in health and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 2022; 188: 146-161.
  14. IMPELLIZZERI D, et al. Açai berry mitigates vascular dementia-induced neuropathological alterations modulating Nrf-2/Beclin1 pathways. *Cells*, 2022; 11(16): 2616.
  15. KIM D, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 2002; 50(13): 3713-3717.
  16. KOÇ A, et al. The effects of sugammadex on gastric ischemia-reperfusion injury in rats: Biochemical and histopathological evaluation. *General Physiology & Biophysics*, 2023; 42(1).
  17. KOHN HI e LIVERSEDGE M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1944; 82(3): 292-300.
  18. LEÃO DP, et al. Bioproducts of Açai (*Euterpe* spp): a review study on the composition and applications (Amazon, Brazil). *European Academic Research*, 2021; 9(1): 777-795.
  19. LOPOPOLO M, et al. Effects of tramadol on viscerovisceral hyperalgesia in a rat model of endometriosis plus ureteral calculosis. *Fundamental & clinical pharmacology*, 2014; 28(3): 331-341.
  20. LU SC. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2013; 1830(5): 3143-3153.
  21. MILLER NJ, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science (London, England: 1979)*, 1993; 84(4): 407-412.
  22. MINIGHIN EC, et al. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the mineral content, phenolic compounds, and antioxidant capacity of commercial pulps of purple and white açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of food science and technology*, 2020; 57: 1740-1752.
  23. EL MORSY EM, et al. Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by açai extract preconditioning in a rat model. *Life sciences*, 2015; 123: 35-42.
  24. NAKAZATO PCG, et al. Liver ischemia and reperfusion injury. *Pathophysiology and new horizons in preconditioning and therapy. Acta cirurgica brasileira*, 2018; 33(08): 723-735.
  25. DE OLIVEIRA NKS, et al. Antioxidant effect of flavonoids present in *Euterpe oleracea* Martius and neurodegenerative diseases: A literature review. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry Chemistry*, 2019; 19(2): 75-99.

26. PERCARIO S, et al. Dosagem do malondialdeído. *Newslab*, 1994; 2(6): 46-50.
27. POMPEU DR, et al. Optimization of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource technology*, 2009; 100(23): 6076-6082.
28. RE R, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 1999; 26(9-10): 1231-1237.
29. REMIGANTE A, et al. Açai (*Euterpe oleracea*) extract protects human erythrocytes from age-related oxidative stress. *Cells*, 2022; 11(15): 2391.
30. SCHMIDT HM, et al. Release of hepatic xanthine oxidase (XO) to the circulation is protective in intravascular hemolytic crisis. *Redox Biology*, 2023; 62: 102636.
31. SHEN S, et al. Uric acid aggravates myocardial ischemia–reperfusion injury via ROS/NLRP3 pyroptosis pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021; 133: 110990.
32. SINGH K, et al. Hepatic ischemia-reperfusion injury: protective approaches and treatment. *Current Molecular Pharmacology*, 2024; 17(1): e030823219400.
33. SIRACUSA R, et al. Acai berry attenuates cyclophosphamide-induced damage in genitourinary axis-modulating Nrf-2/HO-1 pathways. *Antioxidants*, 2022; 11(12): 2355.
34. TEIXEIRA LL, et al. Oral treatment with the extract of *Euterpe oleracea* mart. Improves motor dysfunction and reduces brain injury in rats subjected to ischemic stroke. *Nutrients*, 2023; 15(5): 1207.
35. VARELA ELP, et al. Potential benefits of lycopene consumption: rationale for using it as an adjuvant treatment for malaria patients and in several diseases. *Nutrients*, 2022; 14(24): 5303.
36. WANG L, et al. The application of optical technology in the diagnosis and therapy of oxidative stress-mediated hepatic ischemia-reperfusion injury. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023; 11: 1133039.
37. WU PJ, et al. Oxidative stress and nonalcoholic fatty liver disease in hemodialysis patients. *BioMed research international*, 2018; 1: 3961748.
38. YINZHI D, et al. The roles of liver sinusoidal endothelial cells in liver ischemia/reperfusion injury. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2024; 39(2): 224-230.
39. ZHANG S, et al. An antioxidant nanodrug protects against hepatic ischemia–reperfusion injury by attenuating oxidative stress and inflammation. *Journal of Materials Chemistry B*, 2022; 10(37): 7563-7569.
40. BRITO MVH, et al. *Manual Básico de Modelos Experimentais de Isquemia e Reperusão*. 1 ed. Belém-PA. Editora Ximango, 2016; 43p.