

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Investigação dos efeitos hipolipemiantes e antiateratogênicos do óleo da
carcaça do jacaré do Pantanal (*Caiman yacare*) (Daudin, 1802) em ratos
espontaneamente hipertensos submetidos à dieta aterogênica**

LUCIANE BARBOSA PESSOA

**Dourados-MS
2024**

LUCIANE BARBOSA PESSOA

Investigação dos efeitos hipolipemiantes e antiaterogênicos do óleo da carcaça do Jacaré do pantanal (*Caiman yacare*) (Daudin, 1802) em ratos espontaneamente hipertensos submetidos à dieta aterogênica.

Área do CNPq: Medicina II

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior

Dourados- MS
2024

P475i Pessoa, Luciane Barbosa

Investigação dos efeitos hipolipemiantes e antiateratogênicos do óleo da carcaça do jacaré do Pantanal (Caiman yacare) (Daudin, 1802) em ratos espontaneamente hipertensos submetidos à dieta aterogênica. [recurso eletrônico] / Luciane Barbosa Pessoa, Arquimedes Gasparotto Junior. -- 2024.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Arquimedes Gasparotto Junior.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Aterogênese. 2. óleo de jacaré. 3. ômega. 4. Dislipidemia. I. Gasparotto Junior, Arquimedes.
II. Gasparotto Junior, Arquimedes. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR LUCIANE BARBOSA PESSOA, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "FARMACOLOGIA".

Aos vinte e oito dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e quatro, às oito horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada **"Investigação dos efeitos hipolipemiantes e antiaterogênicos do óleo dacarcaça do Jacaré do pantanal (*Caiman yacare*) (Daudin, 1802) em ratos espontaneamente hipertensos submetidos à dieta aterogênica."**, apresentada pela mestrand Luciane Barbosa Pessoa, do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior/UFGD (presidente/orientador), Prof.ª Dr.ª Francislaíne Aparecida dos Reis Lívero/UFRP (membro titular externo), Prof.ª Dr.ª Thaise Boeing/UNIVALI (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada **Aprovada**. A Presidente da Banca atesta a participação dos membros que estiveram presentes de forma remota, conforme declarações anexas. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 28 de fevereiro de 2024.

Documento assinado digitalmente
gov.br ARQUIMEDES GASPAROTTO JUNIOR
Data: 28/02/2024 14:38:57-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior
Presidente/orientador
(Participação Remota)

Documento assinado digitalmente
gov.br FRANCISLAINE APARECIDA DOS REIS LIVERO
Data: 28/02/2024 18:32:49-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Prof.ª Dr.ª Francislaíne Aparecida dos Reis
Lívero
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

Thaise Boeing

Prof.ª Dr.ª Thaise Boeing
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: ____/____/____, PELA PROPP/ UFGD.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me acolher em momentos difíceis e de angústia, por me dar forças para continuar todos os dias e não desistir, por permitir em minha vida experiências e conhecer pessoas incríveis.

À minha mãe, que me ensinou tudo que eu sei hoje e por ser a responsável por todas as minhas conquistas.

À minha irmã Juliane, pelo apoio incondicional, os conselhos e por me incentivar todos os dias a ser alguém melhor e correr atrás de meus sonhos.

À minha irmã Eloiziane, por estar comigo sempre em Dourados, por tornar a jornada mais leve e agradável.

Ao meu orientador Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior, que acreditou em mim, me ajudou e orientou em tudo que precisei. Sempre com muita atenção, dedicação e boa vontade. Obrigada pelas oportunidades, por ser uma pessoa incrível e um excelente orientador e por sua disponibilidade em acompanhar meu desenvolvimento profissional.

Aos meus colegas de laboratório, que tive a oportunidade de trabalhar. Em especial a Aline Marques, Luana, Ale e Maria Luiza Fidelis que estavam presentes todos os dias, com muito apoio e boa vontade em ajudar e a Gabriela Pereira, Karyne Garcia e Bianca que me ajudaram sempre com muito empenho, auxiliando-me e incentivando-me a aprender cada vez mais, tornando minha jornada simples e tranquila.

A agência de fomento CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação) pela oportunidade e apoio durante o mestrado.

A todos, que de alguma forma me ajudaram e torceram por mim durante todo esse processo de desenvolvimento. Minha enorme gratidão!

EPÍGRAFE

O período de maior ganho em conhecimento e experiência
é o período mais difícil da vida de alguém.

(DALAI LAMA)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Eficácia das estatinas na redução do colesterol LDL em relação às doses.	19
Figura 2 - Jacaré do Pantanal (<i>C. yacare</i>).	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DCV	Doenças Cardiovasculares
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	High Density Lipoprotein (Lipoproteína de alta densidade)
I-CAM 1	Moléculas de adesão intracelular 1
IL-1	Endothelial adhesion molecules (Interleucina 1)
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
TG	Triglicerídeos
LDL	Low Density Lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade)
LDLox	Oxidized low-density lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade oxidada)
V-CAM 1	Vascular cell adhesion molecule 1 (Moléculas de adesão vascular 1)
VLDL	Very Low Density Lipoprotein (Lipoproteína de muito baixa densidade)
AVCs	Acidentes vasculares cerebrais
NPC1-L1	Niemann-Pick C1-like 1

Investigação dos efeitos hipolipemiantes e antiaterogênicos do óleo da carcaça do jacaré do pantanal (*Caiman yacare*) (Daudin, 1802) em ratos espontaneamente hipertensos submetidos à dieta aterogênica.

RESUMO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte em todo o mundo entre as doenças não transmissíveis. Existem vários fatores de risco que podem desencadear ou piorar a condição, levando a problemas mais graves, como a aterosclerose. O tratamento geralmente envolve medicamentos, mas existe o risco de interações medicamentosas e potencial resistência com o uso prolongado. Portanto, este estudo tem como objetivo investigar os efeitos do óleo de *Caiman yacare* na redução de lipídios e seus efeitos protetores cardiorrenais em ratos espontaneamente hipertensos. O estudo utilizou um modelo animal com vários fatores de risco cardiovascular, incluindo hipertensão, hipotireoidismo e dieta rica em gordura. Os ratos foram alimentados com dieta rica em gordura durante 8 semanas, com os tratamentos começando após 4 semanas. Óleo de *C. yacare* (administrado em doses de 19, 56 e 168 mg/kg), rosuvastatina (5 mg/kg) e óleo de peixe (56 mg/kg) foram administrados por via oral durante 4 semanas. A função renal foi avaliada no início e no final dos tratamentos. A pressão arterial e a atividade elétrica cardíaca foram monitoradas. Foram medidos os níveis de lipídios séricos, marcadores de inflamação e estresse oxidativo, bem como a função hepática e renal. O leito vascular mesentérico foi removido para avaliar a reatividade vascular e amostras de rim, coração e artérias (carótida e subclávia) foram coletadas para análise histopatológica. Os resultados mostraram que a administração oral de óleo de *C. yacare* a 168 mg/kg reduziu significativamente os níveis séricos de lipídios, uréia, creatinina e LDL-ox. Também preveniu a disfunção endotelial arterial e a espessura médio-intimal causada pelos múltiplos fatores de risco cardiovascular. Não foram observados efeitos diuréticos, anti-hipertensivos ou antiinflamatórios significativos. Os dados sugerem que o tratamento prolongado com óleo de gordura visceral de *C. yacare* tem efeitos significativos na redução de lipídios, reduz a oxidação do colesterol LDL, previne a disfunção endotelial e modula parcialmente a função renal em ratos com múltiplos fatores de risco cardiovascular.

Palavras-chave: Aterogênese; Óleo de jacaré; Ômegas; Dislipidemia.

Investigation of the lipid-lowering and anti-atherogenic effects of oil from the carcass of the Pantanal alligator (*Caiman yacare*) (Daudin, 1802) in spontaneously hypertensive rats submitted to an atherogenic diet.

ABSTRACT

Cardiovascular disease is the leading cause of death globally among non-communicable diseases. There are various risk factors that can trigger or worsen the condition, leading to more severe issues such as atherosclerosis. Treatment usually involves medication, but there is a risk of drug interactions and potential resistance with long-term use. Therefore, this study aims to investigate the effects of *Caiman yacare* oil on lowering lipids and its cardiorenal protective effects in spontaneously hypertensive rats. The study used an animal model with several cardiovascular risk factors including hypertension, hypothyroidism, and a high-fat diet. The rats were fed the high-fat diet for 8 weeks, with treatments starting after 4 weeks. *C. yacare* oil (given at doses of 19, 56, and 168 mg/kg), rosuvastatin (5 mg/kg), and fish oil (56 mg/kg) were administered orally for 4 weeks. Renal function was assessed at the beginning and end of the treatments. Blood pressure and cardiac electrical activity were monitored. Levels of serum lipids, inflammation and oxidative stress markers, as well as liver and kidney function were measured. The mesenteric vascular bed was removed to assess vascular reactivity, and samples from the kidney, heart, and arteries (carotid and subclavian) were collected for histopathological analysis. The results showed that oral administration of *C. yacare* oil at 168 mg/kg significantly reduced serum lipids, urea, creatinine, and oxLDL levels. It also prevented arterial endothelial dysfunction and intima-media thickness caused by the multiple cardiovascular risk factors. Significant diuretic, antihypertensive, or anti-inflammatory effects were not observed. The data suggests that prolonged treatment with *C. yacare* visceral fat oil has significant lipid-lowering effects, reduces the oxidation of LDL cholesterol, prevents endothelial dysfunction, and partially modulates renal function in rats with multiple cardiovascular risk factors.

Keywords: Atherogenesis; Alligator oil; Omegas; Dyslipidemia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Aterosclerose	13
2.2 Fatores de risco para aterosclerose.....	15
2.3 Tratamentos, dieta e prevenção da aterosclerose	17
2.4 Ácidos graxos (ômega)	20
2.5 Jacaré-do-pantanal (<i>C. yacare</i>).....	22
3 OBJETIVOS.....	25
5 APÊNDICES	34
Artigo 1: Revista - Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases (Qualis A2)	35
REFERENCES.....	49
6. CONCLUSÕES	52
7. ANEXOS	65
7.1 Aprovação do Comitê de Ética do Uso de Animais em pesquisa (CEUA).....	66
7.2 ICMBio.....	67

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs) foram responsáveis por aproximadamente 17,9 milhões de mortes em 2016, representando 31% de mortes a nível global. Destes óbitos estima-se que 85% ocorrem devido a ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais (AVCs) (OPAS, 2023). Sabe-se que há vários fatores de risco que desencadeiam ou agravam as DCVs, incluindo nutrição inadequada e falta de consumo de alimentos saudáveis, sedentarismo, hiperglicemia, hipertensão, obesidade, tabagismo, fatores genéticos, dentre outros (PRÉCOMA et al., 2019). Estes fatores quando não tratados adequadamente podem desencadear quadros mais graves como a aterosclerose (AMBROSE; BARUA, 2004).

A aterosclerose caracteriza-se pela formação de placas de ateroma que incluem em sua formação células, lipídios e restos de tecido na camada íntima vascular (BASATEMUR et al., 2019). Com o tempo essa placa de ateroma pode tornar-se fibrosa devido ao acúmulo de cálcio mineral. Isto ocasiona má circulação sanguínea e leva à isquemia tecidual, causando consequentemente síndromes coronárias agudas, incluindo infarto do miocárdio e outras condições crônicas como dor no peito (angina de peito estável), AVC, dentre outros (LIBBY et al., 2019).

Desenvolve-se em consequência a danos no revestimento interno das artérias, causados por diversos fatores de risco, dentre eles a hipertensão arterial (HAS), diabetes, dislipidemia, sobrepeso/obesidade e tabagismo (KOBİYAMA; LEY 2018). Tendo como fator crucial a dislipidemia, decorrente de maus hábitos alimentares, como uma dieta rica em gorduras saturadas, trans e sedentarismo, consequentemente aumentando os triglicerídeos e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), ocorrendo também a diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL) (JELLINGER et al., 2012).

Os triglicerídeos são formados por ácidos graxos e glicerol e constituem uma das formas de armazenar energia no organismo, sendo depositados nos tecidos musculares e adiposo. Os ácidos graxos, por sua vez, são classificados de acordo com o número de ligações em sua cadeia, sendo eles saturados, mono ou poliinsaturados. Os poli-insaturados mais frequentemente presentes na alimentação são classificados como ômega, incluindo o ômega 3 denominado Eicosapentaenoico (EPA) e Docosahexaenoico (DHA), e ômega 6 (linoleico) (FALUDI et al., 2017).

O tratamento mais utilizado para a aterosclerose requer uma mudança no estilo de vida e o uso de fármacos como as estatinas que atuam na diminuição das concentrações elevadas de lipídios plasmáticos e na prevenção primária das doenças coronarianas. Além das estatinas, são

utilizados inibidores de absorção de colesterol, sequestrantes dos ácidos biliares, , ácido nicotínico (niacina), fibratos e suplementos, sendo neste caso, indicado a suplementação com ômega-3, popular o óleo de peixe (FALUDI et al., 2017).

Os ômega-3 são substâncias utilizadas em suplementos incluídos no grupo denominado nutracêuticos, que proporcionam vários benefícios à saúde (PALTHUR et al., 2010). De acordo com dados experimentais (AVEZUM et al., 2005; MOZZAFFARIAN; WILLET, 2007), o ômega-3 protege contra a aterosclerose e morte súbita (URQUIAGA et al., 2004). Os óleos de origem animal são importantes fontes de ômega 3 e ômega 6 (MARTIN et al., 2006). Um estudo realizado por JUNIOR et al. (2016) com duas espécies de jacarés da Amazônia, o *jacaretinga* e *jacaré-açu*, no qual apontou a presença de ácidos graxos essenciais no óleo destes animais, apresentando níveis significantes de ômega 3.

No Brasil, destaca-se a exploração e a utilização de modo sustentável das populações naturais de jacarés. A cadeia produtiva tem como meta a obtenção da carne para a alimentação humana e da pele para indústria da moda. O estado brasileiro do Mato Grosso é o que mais investe na criação e reprodução da espécie *Caiman yacare*, com denominação popular de jacaré do pantanal (FILHO et al., 2020). Um estudo evidenciou que o óleo de *C. yacare* apresenta em sua composição quantidades significativas de ômega-3 e 6 (AZEVEDO et al., 2020). Há diversos estudos sobre o aproveitamento integral do animal, e suas partes menos nobres para as indústrias, como a gordura de jacaré como biodiesel (AYALASOMAYAJULA et al., 2012).

Diante disto torna-se importante realizar pesquisas que propiciem o reaproveitamento de descartes da indústria e agregar valor ao mesmo (BESSA et al., 2013). Nesse sentido, ao examinar os dados disponíveis, verifica-se a necessidade de se investigar o óleo de *C. yacare* para fins farmacológicos na medicina cardiovascular, tornando uma alternativa eficiente e viável a fim de agregar valor à cadeia produtiva, reduzindo descartes no meio ambiente com foco no uso integral do animal oriundo dos descartes já existentes (AZEVEDO et al., 2020). Embora este óleo possua propriedades anti-inflamatórias (AZEVEDO et al., 2020), não há pesquisas sobre o uso do óleo de jacaré para o tratamento da aterosclerose, possuindo assim a necessidade de mais estudos para confirmar a eficácia e determinar a dose adequada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aterosclerose

A aterosclerose é uma condição complexa caracterizada por processos inflamatórios crônicos que ocorrem na parede das artérias de médio e grande calibre, resultando na formação

de placas de gordura na camada íntima dos vasos. A dislipidemia é considerada o fator de risco primordial associado a essa patologia (PETERS et al., 2012; STÖGER et al., 2012).

O desenvolvimento da aterosclerose está intrinsecamente relacionado à hipertensão e ao dano ao endotélio vascular (HURBITUSE et al., 2016). Um fator crucial na formação da placa de ateroma é a disfunção endotelial, que pode ser causada pela hipertensão arterial sistêmica (HAS), pelo excesso de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), popularmente conhecida como “colesterol ruim”, e pelo baixo nível de lipoproteína de alta densidade (HDL), popularmente conhecida como “colesterol bom” (HU et al., 2016). O HDL desempenha um papel importante no transporte do colesterol das células periféricas para o fígado (FALUDI et al., 2017).

A disfunção do endotélio favorece a entrada e o depósito de LDL na camada íntima dos vasos. Uma vez depositadas, essas moléculas passam por um processo de oxidação, convertendo-se em LDL oxidado (LDLox), o que desencadeia uma resposta inflamatória local (GISTERÄ; HANSSON, 2017). Paralelamente, as células endoteliais começam a expressar moléculas de adesão, como a proteína 1 de adesão celular (VCAM-1), desencadeando a migração de monócitos para a área afetada. Esses monócitos infiltram-se no local e se diferenciam em macrófagos, em resposta ao fator estimulante de colônias de macrófagos (M-CSF) e ao fator estimulante de granulócitos (G-CSF). Os macrófagos, então, iniciam o processo de fagocitose das moléculas de LDLox (LIBBY et al., 2019).

Durante a fagocitose, os macrófagos sofrem uma transformação em células espumosas, as quais se acumulam na camada íntima dos vasos, iniciando assim o processo de formação das placas de ateroma. Nesta fase, há a liberação da interleucina IL-1 β , que tem como função recrutar células do músculo liso para a região afetada. Estas células, por sua vez, secretam interleucina IL-6 na corrente sanguínea, agindo em conjunto com a IL-1 β para promover efeitos pró-inflamatórios. À medida que essas células se deslocam para o interior das placas de ateroma, há um endurecimento das mesmas, causado pelo depósito de cristais de cálcio provenientes das células do músculo liso presentes no interior das placas. Isso resulta na formação de uma capa fibrosa composta por colágeno e elastina, levando ao endurecimento das placas e, por conseguinte, à obstrução parcial ou total das artérias (GISTERÄ; HANSSON, 2017). As placas de ateroma mais desenvolvidas são caracterizadas por um centro necrótico e neovascularização. A estabilidade dessas placas pode persistir por anos, mas quando se tornam instáveis, podem desencadear a formação de trombos e/ou interromper o fluxo sanguíneo (LU; DAUGHERTY, 2015).

2.2 Fatores de risco para aterosclerose

Os fatores de risco associados à aterosclerose estão, em sua maioria, relacionados à disfunção endotelial. De acordo com Glasser, Selwyn e Ganz (1996), um endotélio normal desempenha uma função inibitória, inibindo a contração e a divisão celular das células do músculo liso, a agregação plaquetária, a trombose e a aderência de monócitos. Quando ocorre a disfunção endotelial, diversos fatores podem contribuir para a formação de placas ateroscleróticas.

Outros fatores de risco incluem o sexo feminino, obesidade, tabagismo e sedentarismo, como mencionado por Faludi et al. (2017). Esses elementos interagem de maneira complexa no desenvolvimento da aterosclerose e podem aumentar a susceptibilidade do indivíduo a essa condição de saúde. Além disso, o envelhecimento é um fator de risco adicional, uma vez que o avanço da idade resulta em alterações na parede arterial e modificações em sua estrutura, contribuindo para a formação de placas ateroscleróticas (DE ANDRADE et al., 2010).

Além dos fatores supramencionados, a obesidade, diabetes mellitus, predisposição genética, dislipidemia e HAS destacam-se como fatores de risco proeminentes na aterosclerose. A HAS é uma doença crônica não transmissível definida por níveis pressóricos elevados, resultando de uma combinação de fatores de risco multifatoriais, como genética, sexo, etnia, obesidade e estilo de vida. Essa condição é caracterizada por uma elevação da pressão arterial (PA), com a pressão arterial sistólica (PAS) igual ou superior a 140 mm Hg e/ou a pressão arterial diastólica (PAD) igual ou superior a 90 mm Hg (BARROSO et al., 2020).

Devido à sua natureza geralmente assintomática, a HAS frequentemente causa alterações estruturais e funcionais nos órgãos-alvo, como o coração, cérebro, rins e vasos sanguíneos. Ela é reconhecida como o principal fator de risco para doenças cardiovasculares, doença renal crônica e óbito. Além disso, fatores de risco metabólicos, como dislipidemia, obesidade, intolerância à glicose e diabetes mellitus, estão associados a doenças do sistema cardíaco circulatório e renal (BARROSO et al., 2020).

A HAS também é um fator de risco significativo para o desenvolvimento da aterosclerose devido ao estresse de cisalhamento na parede dos vasos sanguíneos. Esse estresse leva à formação de lesões que permitem a entrada de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) na camada íntima das artérias. Vale destacar que, embora a hipertensão seja um fator de risco para a aterosclerose, essa condição também pode surgir como uma consequência da própria aterosclerose (PAN et al., 1997).

A dislipidemia refere-se a alterações nos níveis séricos de lipídios, incluindo o colesterol total, triglicerídeos (TG) e lipoproteínas presentes na corrente sanguínea. Essas alterações

podem envolver um aumento nas LDLs e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), acompanhado ou não da diminuição das HDLs. Esses desequilíbrios lipídicos são fatores desencadeantes da aterosclerose. Elas podem ser classificadas em hiperlipidemias, por apresentarem níveis elevados de lipoproteínas e hipolipidemias, pois se constituem de níveis baixos de lipoproteínas plasmáticas. (FALUDI et al., 2017).

A classificação etiológica das hiper e as hipolipidemias podem ter causas primárias na qual o distúrbio lipídico é de origem genética ou secundária quando são decorrentes de estilo de vida inadequado ou do uso de medicamentos. Dentre as dislipidemias primárias inclui-se obesidade, tabagismo, ingestão excessiva de gorduras trans, sedentarismo e o hipotireoidismo (SANTOS, 2001).

Dentre as dislipidemias destacam-se dois tipos principais: hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia (FALUDI et al., 2017). Ainda de acordo com Faludi et al. (2017), o diagnóstico das dislipidemias é estabelecido por meio da medição dos níveis séricos de lipídios, incluindo o colesterol total no sangue. As dislipidemias são classificadas de acordo com os valores observados e existem várias categorias:

- *Hipercolesterolemia isolada*: Aumento isolado do colesterol LDL (LDL-c), geralmente definido quando os níveis de LDL-c são iguais ou superiores a 160 mg/dL.
- *Hipertrigliceridemia isolada*: Aumento isolado dos TG, normalmente definido quando os níveis são iguais ou superiores a 150 mg/dL (se a amostra for obtida em jejum).
- *Hiperlipidemia mista*: Esse diagnóstico é dado quando ocorre um aumento tanto no LDL-c ($\text{LDL-c} \geq 160\text{mg/dL}$) quanto nos triglicerídeos ($\text{TG} \geq 150\text{ mg/dL}$ em jejum).
- *HDL-c baixo*: Esse é o diagnóstico quando ocorre uma redução dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c). Isso pode ocorrer de forma isolada ou em associação com um aumento do LDL-c ou dos TG. Os níveis baixos de HDL-c geralmente são definidos como menores que 40 mg/dL em homens e menores que 50 mg/dL em mulheres.

Esses diagnósticos são importantes na avaliação do perfil lipídico do paciente, uma vez que diferentes tipos de dislipidemias podem influenciar o risco de doenças cardiovasculares e direcionar as estratégias de tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (FALUDI et al., 2017).

A dislipidemia pode também resultar de outras condições, sendo o hipotireoidismo uma das mais destacadas (2). O hipotireoidismo é uma síndrome clínica caracterizada pela deficiência na produção ou na ação dos hormônios tireoidianos, afetando as funções metabólicas orgânicas. A forma primária, que representa 95% dos casos, ocorre devido a uma diminuição na síntese dos hormônios, geralmente causada por disfunção direta da glândula

tireoide. Já a forma secundária ocorre por causa hipofisária, e a terciária, por causa hipotalâmica (22).

A glândula tireoide é responsável pela produção dos hormônios triiodotironina (T3) e tetraiodotironina (T4), os quais desempenham um papel crucial no metabolismo lipídico, incluindo síntese, mobilização e degradação (24). T3 e T4 regulam os receptores de LDL, influenciando a ativação de seus genes e afetando o metabolismo da HDL, aumentando a atividade da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), que transfere colesterol da HDL para outras lipoproteínas, como LDL e VLDL. Além disso, esses hormônios tireoidianos estimulam a lipoproteína lipase, que cataboliza as lipoproteínas ricas em triglicerídeos (23).

A dislipidemia observada em pacientes com hipotireoidismo é caracterizada pelo aumento das concentrações plasmáticas de LDL-c, principalmente devido à redução do número de receptores hepáticos responsáveis pela remoção dessas partículas, à depuração retardada das LDL e ao aumento da absorção intestinal de colesterol, influenciada pela ação do hormônio tireoidiano na proteína niemann-Pick C1-like 1 (NPC1-L1) (1). O hipotireoidismo também afeta a função renal, seja diretamente no rim ou por meio de efeitos sistêmicos hemodinâmicos, metabólicos e cardiovasculares (38), o que se reflete em um aumento da creatinina sérica, diminuição da taxa de filtração glomerular e hiponatremia (39).

2.3 Tratamentos, dieta e prevenção da aterosclerose

No tratamento da aterosclerose é possível destacar abordagens tanto farmacológicas quanto não farmacológicas. Os estudos epidemiológicos enfatizam a importância de um estilo de vida saudável e uma alimentação adequada (FALUDI et al., 2017). A adoção de um padrão alimentar saudável deve ser complementada por atividades físicas, já que esses fatores estão interligados. A terapia nutricional desempenha um papel crucial, orientando os pacientes a fazerem escolhas alimentares saudáveis e evitar o consumo excessivo de alimentos ricos em gordura, uma vez que estes estão associados ao aumento do colesterol no sangue. A relação entre a ingestão de gorduras e a formação de placas de ateroma é bem documentada (LIBBY, 2021). A combinação de um estilo de vida saudável, dieta adequada e atividade física podem contribuir significativamente para reduzir o risco e melhorar o manejo da aterosclerose (SANTOS; UMPIERRE, 2020).

De acordo com a Diretriz Brasileira de Obesidade (2016) o controle do peso corporal é uma intervenção essencial no tratamento da aterosclerose, e estudos indicam que a perda de peso pode resultar em uma redução significativa na concentração plasmática de triglicerídeos, na ordem de até 20%. A redução do consumo de bebidas alcoólicas também desempenha um

papel importante no tratamento da aterosclerose. O consumo de álcool, especialmente quando combinado com uma dieta rica em ácidos graxos saturados, pode acentuar o aumento dos níveis de triglicerídeos (NAUD; BENSON; LOTUFO, 2020). Além disso, reduzir o consumo de açúcares e carboidratos refinados e substituir ácidos graxos saturados por ácidos graxos mono e poli-insaturados na dieta são medidas adicionais (FALUDI et al., 2017). Esses carboidratos aumentam os riscos de doenças cardiovasculares por desencadearem a inflamação, diminuição da sensibilidade da insulina, aumento da pressão arterial e endotelial (PATTY et al. 2015).

Os ácidos graxos saturados têm sido associados ao aumento dos níveis de triglicerídeos, uma vez que podem estimular a lipogênese hepática e a secreção de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Portanto, recomenda-se a inclusão de ácidos graxos poli e monoinsaturados na dieta (LOTTENBERG et al., 2012). Os ácidos graxos poli-insaturados são classificados em ômega 3 (incluindo o ácido eicosapentaenóico – EPA e o ácido docosahexaenóico – DHA) e ômega 6 (como o ácido linoleico), dependendo da posição da ligação dupla entre os átomos de carbono a partir do grupo hidroxila. Esses ácidos graxos têm sido extensivamente estudados por seus potenciais benefícios no tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares (GREVENGOED et al., 2021; PISANIELLO et al., 2021; SHAIKH et al., 2012) como a redução da inflamação, agregação plaquetária, melhora da função endotelial, redução da pressão arterial e, conseqüentemente, à prevenção e tratamento de DCV (SHERRATT et al., 2023). A suplementação de ácidos graxos ômega 3 têm demonstrado a capacidade de reduzir significativamente a concentração plasmática de triglicerídeos, com reduções de até 25 a 30% (KRIS-ETHERTON; HARRIS; APPEL, 2003).

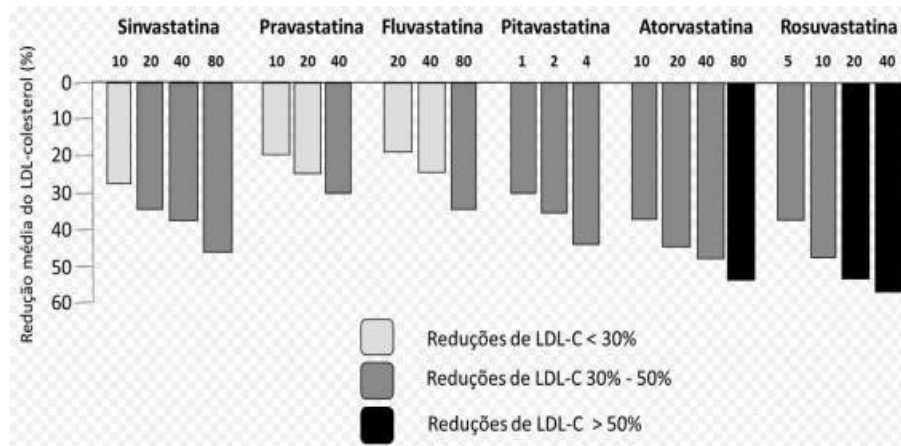
O tratamento farmacológico da aterosclerose frequentemente envolve a administração de estatinas, que também podem ser combinadas em situações específicas com outros agentes como a ezetimiba, colestiramina, fibratos e ácido nicotínico. As estatinas são medicamentos que reduzem os níveis de colesterol no sangue, incluindo a diminuição dos triglicerídeos. Elas agem inibindo a enzima responsável pela síntese hepática do colesterol, conhecida como HMG-CoA redutase. A redução do colesterol intracelular aumenta a expressão de receptores de LDL no fígado, o que resulta na redução dos níveis de LDL circulante (FRANCO; KRIEGER 2016).

É importante notar que diferentes estatinas disponíveis podem apresentar variações na redução percentual dos níveis séricos de LDL-c, conforme apresentado na Figura 1. A rosuvastatina, por exemplo, é destacada como uma das estatinas mais eficazes nesse sentido. A eficácia das estatinas varia de acordo com o paciente e pode depender de fatores como a dose

utilizada e a resposta individual (FALUDI et al., 2017).

Figura 1. Eficácia das estatinas na redução do colesterol LDL em relação às doses. (Fonte: FALUDI et al., 2017).

Embora as estatinas sejam amplamente reconhecidas por sua segurança, é importante notar que podem acarretar efeitos colaterais, tais como hepatotoxicidade, miopatias e



insuficiência renal (CAMPO; CARVALHO, 2007). Dado o prolongado período de tratamento necessário para combater a aterosclerose, surge a necessidade de explorar a complementaridade de produtos naturais em conjunto com as estatinas. Especialmente, destaca-se a importância de substâncias naturais dotadas de propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (MOSS; WILLIAMS; RAMJI, 2018).

Outra opção terapêutica para o tratamento da dislipidemia é a ezetimiba, que atua inibindo a absorção de colesterol no intestino delgado e bloqueando o transporte intestinal de colesterol. Esta inibição da absorção de colesterol, especialmente do colesterol biliar, resulta na redução dos níveis de colesterol no fígado, levando a diminuição do LDL-c plasmático entre 10 a 25% (ROSSEBO et al., 2008). Este medicamento é uma opção terapêutica em pacientes que apresentam intolerância às estatinas. Embora o efeito colateral deste medicamento seja raro, recomenda-se que ele não seja utilizado em casos de dislipidemias com doença hepática aguda (FALUDI et al., 2017).

Os sequestrantes dos ácidos biliares também chamados de resinas atuam diminuindo a absorção enteral dos ácidos biliares. Processo este, que resulta na diminuição do colesterol hepático. Os três sequestrantes desenvolvidos para este fim são a colestiramina, colestipol e colesevelam, entretanto no Brasil, apenas a colestiramina está disponível. Deste modo, a adição de colestiramina ao tratamento com estatinas pode ser considerada quando a meta de LDL-c não é alcançada. Como efeito colateral este medicamento pode interferir na motilidade intestinal, causando obstipação, plenitude gástrica, náuseas, dentre outros sintomas, seu uso

deve ser evitado no caso de hipertrigliceridemia, pois, pode-se ocorrer um aumento dos níveis de TG (FALUDI et al., 2017).

Os fibratos são medicamentos derivados do ácido fíbrico que atuam estimulando os receptores nucleares conhecidos como “Receptores Alfa Ativador da Proliferação dos Peroxissomas” (PPAR- α). A ativação desses receptores resulta no aumento da produção e da ação da lipoproteína lípase (LPL), responsável pela hidrólise intravascular dos triglicerídeos. Os estímulos do PPAR- α pelos fibratos promove também aumento dos níveis de HDL, indicado quando há falha no tratamento das medidas não farmacológicas. Apesar dos efeitos colaterais dos fibratos serem infrequentes, estão interligados com distúrbios gastrintestinais, mialgia, astenia, dentre outros efeitos (FALUDI et al., 2017).

O ácido nicotínico é responsável por reduzir a ação da lípase tecidual nos adipócitos, ocasionando menor liberação de ácidos graxos livres para a corrente sanguínea, reduzindo assim a síntese de TG pelos hepatócitos. Ele pode ser empregado excepcionalmente em pacientes com níveis isoladamente baixos de HDL-c, mesmo na ausência de hipertrigliceridemia como uma alternativa ao uso dos fibratos e estatinas, ou em combinação com estes medicamentos. Ele pode causar efeitos adversos como rubor e prurido que tendem a acontecer com maior frequência no início do tratamento (FALUDI et al., 2017).

Outro agente hipolipemiante são os inibidores da pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) (CHAUDHARY et al., 2017). A PCSK9 é uma proteína responsável pela degradação dos receptores hepáticos de LDL, o que resulta em hipercolesterolemia (SABATINE, 2016; RODRIGUEZ; HARRINGTON, 2016). Os inibidores dessa proteína são anticorpos monoclonais que aumentam a quantidade de receptores de LDL disponíveis. Quando a PCSK9 é inibida, há um aumento na captura de LDL pelos receptores nos hepatócitos, levando a uma redução nos níveis séricos e plasmáticos de LDL (STEIN; RAAL, 2014; SCHMIDT et al., 2017).

Como apresentado anteriormente, os tratamentos medicamentosos tendem a ocasionar efeitos colaterais que podem ser prejudiciais à saúde do paciente, sendo assim necessária busca por novos tratamentos à base de produtos naturais, um exemplo disto, seriam os ômega-3 que aumentam discretamente o HDL-c, no qual há estudos que evidenciam a redução da mortalidade e desfechos coronários (MARCHIOLI et al., 1997; YOKOYAMA et al., 2007).

2.4 Ácidos graxos (ômega-3)

Os óleos de origem animal têm despertado considerável interesse como potenciais objetos de estudo no campo farmacológico. Eles consistem em compostos de ácidos graxos e

glicerol, alguns dos quais são considerados essenciais, uma vez que o organismo humano não os sintetiza e, portanto, devem ser adquiridos por meio da dieta. Entre esses óleos, destacam-se os ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 e ômega 6, que desempenham um papel crucial no corpo, contribuindo para a prevenção de doenças cardiovasculares, neurológicas, imunológicas e muitas outras (VAZ et al., 2014).

Dois ácidos graxos particularmente relevantes nesse contexto são EPA e o DHA (CALDER, 2018). Esses ácidos são abundantemente encontrados em frutos do mar, especialmente em peixes com alto teor de gordura. Além disso, diversos suplementos alimentares, como óleo de peixe, óleo de fígado de bacalhau, óleo de krill e certos óleos de algas, contém EPA e DHA. Esses compostos estão disponíveis tanto individualmente quanto em formulações farmacêuticas combinadas (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006).

O potencial benéfico do EPA e do DHA nas DCV foi primeiramente observado em estudos realizados na Groenlândia, onde a taxa de mortalidade por infarto do miocárdio e doença cardíaca isquêmica era notavelmente baixa. Essa observação estava associada ao consumo significativamente elevado de EPA e DHA na dieta dessas populações (KROMANN; GREEN, 1980; BJERREGAARD; DYERBERG, 1988).

Descobertas semelhantes foram feitas em populações nativas do Ártico e na população japonesa (NEWMAN et al., 1993). Subsequentemente, uma série de estudos corroborou essas descobertas iniciais, destacando que o consumo de peixe ou a ingestão de EPA e DHA estão correlacionados com uma redução do risco de mortalidade por DCV, em especial as doenças coronarianas (CALDER, 2004; INNES, J. K.; CALDER, P., 2020).

Uma série considerável de estudos de coorte prospectivos realizados até o momento tem consistentemente revelado uma associação inversa entre a presença de ácidos graxos EPA e DHA na dieta, no sangue ou nos tecidos e as baixas taxas de mortalidade por DCV (DJOUSSÉ et al., 2012; ZHANG et al., 2018; ALEXANDER et al., 2017). Essas descobertas fornecem evidências convincentes do papel crucial desempenhado pelos ácidos graxos na prevenção dessas doenças. Como resultado, há um crescente interesse na investigação dos mecanismos pelos quais os ácidos graxos, especificamente o EPA e o DHA, exercem sua ação cardioprotetora, com foco especial nos fatores de risco associados às DCV (INNES, J. K.; CALDER, P., 2020).

Um extenso corpo de estudos e meta-análises (WANG et al., 2006; BALK et al., 2006) revelou que o EPA e o DHA apresentam benefícios notáveis, como a redução dos níveis de triglicerídeos e a diminuição da pressão arterial (ABUMWEIS et al., 2018; MILLER et al., 2014). Além disso, esses ácidos graxos demonstraram capacidade de reduzir a agregação

plaquetária (GAO et al., 2013) e melhorar a dilatação mediada pelo fluxo sanguíneo e a complacência arterial relacionada ao endotélio vascular (XIN; WEI; LI, 2012; WANG et al., 2012).

O ômega 6 é conhecido por ser um precursor de prostanóides da série-2 e leucotrienos da série-4, substâncias que têm associação com atividades pró-inflamatórias e pró-trombóticas (MCKENNEY; SICA, 2007). A suplementação com ômega 3 e 6 demonstrou a capacidade de retardar o desenvolvimento da aterosclerose em camundongos *knockout* no receptor de LDL, pois reduziu os níveis de triglicerídeos e colesterol no sangue (ZAMPOLLI et al., 2006). É importante observar que há relatos sobre os efeitos do ômega 6 (SIMOPOULOS, 2002) alguns indicam que ele tem a capacidade de reduzir o colesterol total e os níveis de triglicerídeos, enquanto outros afirmam que esse ácido graxo possui propriedades pró-inflamatórias. Isso destaca a necessidade de uma investigação mais aprofundada para entender melhor os efeitos do ômega 6 (JUMP, 2022).

Além de serem encontrados em peixes, os ômega 3 também podem ser encontrados em aves e até mesmo em répteis. Entre os répteis, os jacarés destacam-se como os principais representantes. Eles são abundantes na região centro-oeste do Brasil e despertam interesse comercial devido à sua carne, couro e também à sua gordura. Assim, o aproveitamento de matérias-primas, como essas fontes lipídicas, para a produção de produtos farmacêuticos, pode ser uma alternativa econômica que contribui para agregar valor à região (GOMES et al., 2014).

2.5 Jacaré-do-pantanal (*C. yacare*)

Popularmente conhecido como jacaré-do-pantanal, o *Caiman yacare* é apresentado na Figura 2. Pertencente ao filo *Chordata*, classe *Reptilia*, subclasse *Archosauria*, ordem *Crocodylia*, família *Crocodylidae* e subfamília *Alligatoridae*, gênero *Caiman*, espécie *Caiman yacaré* (SHIRLEY, 2013). Esse réptil pode atingir um comprimento que varia entre 2,5 a 3 metros na fase adulta. Possui escamas osteodermas na região dorsal e é caracterizado por apresentar faixas amarelas, que predominam principalmente na região caudal. Sua alimentação é essencialmente composta por peixes e animais pequenos, e esse padrão alimentar pode ser influenciado pela sazonalidade, especialmente durante os períodos de seca e cheia (BRAZAITIS; MYRNA; PETER, 1998).

Esta espécie é normalmente encontrada nas regiões alagadas pertencentes ao nordeste e leste da Bolívia, em diferentes habitats, no bioma Pantanal, na Amazônia brasileira, nos rios Paraná e Paraguai e nordeste da Argentina (FARIAS et al., 2013). Os jacarés-do-pantanal possuem uma ampla diversidade alimentar, alimentando-se tanto de animais vertebrados quanto

de invertebrados. Dentre os vertebrados encontram-se os peixes, esta alimentação é influenciada pelas mudanças sazonais da região que influenciam a temperatura e períodos de secas e cheias nos rios (SANTOS et al., 1996).



Figura 2. Jacaré do Pantanal (*C. yacare*). Fonte: Farias et al., 2013.

No Brasil, a exploração sustentável das populações naturais de jacarés é um destaque notável. Isso se deve ao vasto território tropical do país que abriga populações de espécies de jacarés com reconhecido valor econômico e socioeconômico. O Brasil é, portanto, um dos principais produtores mundiais e tem um potencial significativo nesse setor, considerando sua posição como detentor da maior diversidade de espécies de jacarés do mundo. A cadeia produtiva desses répteis tem como principal objetivo a obtenção de carne para consumo humano e peles para a indústria da moda. O estado brasileiro de Mato Grosso destaca-se como líder nesse segmento, investindo significativamente na criação e reprodução da espécie *C. yacare*. Esses jacarés são criados em sistemas de produção fechados, e o estado contribui anualmente para uma cadeia produtiva que resulta no abate de aproximadamente 300 mil unidades. Isso demonstra a importância desse setor econômico e a preocupação com a sustentabilidade na exploração de recursos naturais (FILHO et al., 2020).

Devido ao seu grande interesse econômico para diversas indústrias, os crocodilianos, incluindo os jacarés, enfrentam sérios riscos de caça ilegal e perda de habitat, o que aumenta a ameaça de extinção dessas espécies. No Brasil, existem seis espécies de crocodilianos, e programas de conservação têm sido elaborados para proteger esses animais. No entanto, ainda é necessária uma compreensão mais profunda da ecologia e fisiologia dessas espécies para

garantir sua preservação (GOMES et al., 2014).

O sistema de criação comercial de jacarés do Pantanal é caracterizado pela coleta de ovos na natureza, seguida pela incubação, nascimento, engorda e recria dos animais. Essa prática tem permitido a criação de vários criadouros ao longo dos anos. A consolidação desse setor de criação, especialmente no estado de Mato Grosso, contribui significativamente para a preservação da espécie e desestimula a caça predatória e ilegal (ALEIXO et al., 2011). A criação de jacarés em cativeiro não apenas visa à preservação das espécies, mas também ao uso integral dos animais. Estudos, como o realizado com jacarés da região Amazônica, destacam o interesse industrial na utilização da gordura e óleo desses animais (BUTHELEZI et al., 2012).

Os répteis frequentemente desempenham um papel importante nas práticas da medicina popular tradicional, onde são associados à cura e à prevenção de doenças (ALVES et al., 2010). De acordo com as observações de Von Martius (1939), que conduziu uma expedição pelo interior do Brasil no século XIX, tribos ameríndias faziam uso de inúmeros medicamentos naturais, incluindo a aplicação da gordura fresca de jacaré para aliviar sintomas de reumatismo. Essas práticas demonstram a relação entre a fauna local e o conhecimento ancestral sobre o uso de recursos naturais na medicina tradicional.

Além disso, os óleos de origem animal desempenham um papel relevante, uma vez que são importantes fontes de ácidos graxos essenciais, como ômega 3 e ômega 6. Um estudo conduzido por Junior et al. (2016) com duas espécies de jacarés, o jacaretinga e o jacaré-açu, e identificaram a presença significativa de ácidos graxos essenciais nos óleos desses animais, incluindo níveis apreciáveis de ômega 3. Essas descobertas destacam a relevância dos répteis na relação entre medicina popular e recursos naturais, bem como o potencial desses animais na obtenção de compostos benéficos para a saúde humana.

De acordo com Azevedo et al. (2020), foram identificados e quantificados um total de 9 ácidos graxos no óleo de *Caiman yacare*, representando 86,69% da composição total do óleo. Dentre esses ácidos graxos, 42,95% são saturados, 43,74% são insaturados, dos quais 34,65% são monoinsaturados e 9,09% são poli-insaturados. O óleo de *Caiman yacare* inclui o ácido araquidônico, que é um ácido graxo poli-insaturado e pode ser sintetizado a partir do ácido linoleico. Ambos esses ácidos graxos são precursores de metabólitos conhecidos como eicosanóides, que incluem prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos. Essas substâncias desempenham um papel modulatório e inflamatório no organismo. Além disso, esses ácidos graxos têm propriedades antioxidantes e contribuem para a promoção da saúde.

3 OBJETIVOS

GERAL

Avaliar as atividades hipolipemiantes e antiateroscleróticas do óleo da carcaça de jacaré *C. yacare* (OJ) em ratos hipertensos na presença de hipotireoidismo e dieta hiperlipídica

ESPECÍFICOS

- Avaliar o volume urinário, o pH, a densidade, e a excreção de eletrólitos e creatinina nos diferentes grupos experimentais;
- Avaliar a atividade elétrica cardíaca por meio da eletrocardiograma e a pressão arterial sistólica, diastólica, média e a frequência cardíaca pelo método direto nos diferentes grupos experimentais;
- Investigar diferentes parâmetros bioquímicos séricos;
- Avaliar histologicamente e morfometricamente amostras de tecido hepático, cardíaco e arterial.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUMWEIS, S., JEW, S., TAYYEM, R., AGRAIB, L. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid containing supplements modulate risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis of randomised placebo-control human clinical trials. **Journal of Human Nutrition and Dietetics: The Official Journal of the British Dietetic Association**, v. 31, n. 1, p. 67–84, fev. 2018.. <https://doi.org/10.1111/jhn.12493>

ALEIXO, V.M., PRESSINOTI, L.N., CAMPOS, D.V.S., MENEZES-ALEIXO, R. DE C., FERRAZ, R.H.S. Histologia, histoquímica e histometria do intestino de jacaré-do-Pantanal criado em cativeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 1120–1128, dez. 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011001200014>

ALEXANDER, D.D., MILLER, P.E., VAN ELSWYK, M.E., KURATKO, C.N., BYLSMA, L.C. A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials and Prospective Cohort Studies of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Long-Chain Omega-3 Fatty Acids and Coronary Heart Disease Risk. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 92, n. 1, p. 15–29, jan. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.10.018>

ALVES, R.R.N., ROSA, I.L. Trade of Animals Used in Brazilian Traditional Medicine: Trends and Implications for Conservation. **Human Ecology**, v. 38, n. 5, p. 691–704, 2010.

AMBROSE, J.A., BARUA, R.S. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 43, n. 10, p. 1731–1737, 19 maio 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2003.12.047>

ARTERBURN, L.M., HALL, E.B., OKEN, H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6 Suppl, p. 1467S-1476S, jun. 2006. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1467S>

AYALASOMAYAJULA, S., SUBRAMANIAM, R., GALLO, A., DUFRECHE, S., ZAPPI, M., BAJPAI, R. Potential of Alligator Fat as Source of Lipids for Biodiesel Production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 4, p. 2166–2169, 1 fev. 2012. <https://doi.org/10.1021/ie201000s>

AZEVEDO, L.P., DOS SANTOS FERRAZ, R.H., DE MAGALHÃES, M.R.L., OLIVEIRA, A.P., COGLIATI, B., LEMOS, L.M.S., BRANCO, P.C., DE ABREU SOUSA, D., CUNHA DA SILVA, J.R.M., PRESSINOTTI, L.N., 2020. Healing potential of Caiman yacare (Daudin, 1802) visceral fat oil. **Wound Medicine**, v. 31, p. 100195, 1 dez. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100195>

BALK, E. M., LICHTENSTEIN, A. H., CHUNG, M., KUPELNICK, B., CHEW, P., LAU, J. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis*. 2006 Nov;189(1):19-30. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.02.012>.

BARROSO, W.K.S., RODRIGUES, C.I.S., BORTOLOTO, L.A., MOTA-GOMES, M.A., BRANDÃO, A.A., FEITOSA, A.D. DE M., MACHADO, C.A., POLI-DE-FIGUEIREDO, C.E., AMODEO, C., JÚNIOR, D.M., BARBOSA, E.C.D., NOBRE, F., GUIMARÃES, I.C.B., VILELA-MARTIN, J.F., YUGAR-TOLEDO, J.C., MAGALHÃES, M.E.C., NEVES, M.F.T., JARDIM, P.C.B.V., MIRANDA, R.D., PÓVOA, R.M. DOS S., FUCHS, S.C., ALESSI, A., LUCENA, A.J.G. DE, AVEZUM, A., SOUSA, A.L.L., PIO-ABREU, A., SPOSITO, A.C., PIERIN, A.M.G., PAIVA, A.M.G. DE, SPINELLI, A.C. DE S., NOGUEIRA, A. DA R., DINAMARCO, N., EIBEL, B., FORJAZ, C.L. DE M., ZANINI, C.R. DE O., SOUZA, C.B. DE, SOUZA, D. DO S.M. DE, NILSON, E.A.F., COSTA, E.F. DE A., FREITAS, E.V. DE, DUARTE, E. DA R., MUXFELDT, E.S., JÚNIOR, E.L., CAMPANA, E.M.G., CESARINO, E.J., MARQUES, F., ARGENTA, F., CONSOLIM-COLOMBO, F.M., BAPTISTA, F.S., ALMEIDA, F.A. DE, BORELLI, F.A. DE O., FUCHS, F.D., PLAVNIK, F.L., SALLES, G.F., FEITOSA, G.S., SILVA, G.V. DA, GUERRA, G.M., JÚNIOR, H.M., FINIMUNDI, H.C., BACK, I. DE C., FILHO, J.B. DE O., GEMELLI, J.R., MILL, J.G., RIBEIRO, J.M., LOTAIF, L.A.D., COSTA, L.S. DA, MAGALHÃES, L.B.N.C., DRAGER, L.F., MARTIN, L.C., SCALA, L.C.N., ALMEIDA, M.Q., GOWDAK, M.M.G., KLEIN, M.R.S.T., MALACHIAS, M.V.B., KUSCHNIR, M.C.C., PINHEIRO, M.E., BORBA, M.H.E. DE, FILHO, O.M., JÚNIOR, O.P., COELHO, O.R., VITORINO, P.V. DE O., JUNIOR, R.M.R., ESPORCATTE, R., FRANCO, R., PEDROSA, R., MULINARI, R.A., PAULA, R.B. DE, OKAWA, R.T.P., ROSA, R.F., AMARAL, S.L. DO, FERREIRA-FILHO, S.R., KAISER, S.E., JARDIM, T. DE S.V., GUIMARÃES, V., KOCH, V.H., OIGMAN, W., NADRUZ, W. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **rq. Bras. Cardiol.**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 25 mar. 2021.. <https://doi.org/10.36660/abc.20201238>

BASATEMUR, G.L., JØRGENSEN, H.F., CLARKE, M.C.H., BENNETT, M.R., MALLAT, Z. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. **Nature Reviews. Cardiology**, v. 16, n. 12, p. 727–744, dez. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0227-9>

BESSA, N.G.F. DE, BORGES, J.C.M., BESERRA, F.P., CARVALHO, R.H.A., PEREIRA,

M. A. B., FAGUNDES, R., CAMPOS, S.L., RIBEIRO, L.U., QUIRINO, M.S., CHAGAS JUNIOR, A.F., ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, p. 692–707, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500010>

BRAZAITIS, G.A., MYRNA E. WATANABE, PETER. **The Caiman Trade**. Disponível em: <<https://www.scientificamerican.com/article/the-caiman-trade/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

BUTHELEZI, S., SOUTHWAY, C., GOVINDEN, U., BODENSTEIN, J., DU TOIT, K., 2012. An investigation of the antimicrobial and anti-inflammatory activities of crocodile oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 1, p. 325–330, 30 ago. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.040>

CALDER, P.C. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. **Clinical Science (London, England: 1979)**, v. 107, n. 1, p. 1–11, jul. 2004. <https://doi.org/10.1042/CS20040119>

CALDER, P. C. Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future. *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 77, no. 1, pp. 52–72, 2018. <https://doi.org/10.1017/S0029665117003950>

CAMPO, V.L., CARVALHO, I. 2007. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v. 30, p. 425–430, abr. 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200033>.

CHAUDHARY, R., MATHEW, D., BLIDEN, K., TANTRY, U. S., SHARMA, T., GESHEFF, M. G., FRANZESE, C. J., PANDYA, S., TOTH, P. P. GURBEL, P. A. Low-density lipoprotein 4: a novel predictor of coronary artery disease severity. *Curr Med Res Opin*. 2017 Nov;33(11):1979-1984. <https://doi.org/10.1080/03007995.2017.1365052>.

DE ANDRADE, J.P., GRAVINA, C.F., ROSA, R.F., FRANKEN, R.A.. II Diretrizes em Cardiogeriatría da Sociedade Brasileira de Cardiologia.

Diretrizes brasileiras de obesidade 2016 / ABESO [WWW Document], Disponível em: <<https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/biblioteca/diretrizes-brasileiras-de-obesidade-2016-abeso/>>. Acesso em: 17 jan. 2024..

DJOUSSÉ, L., AKINKUOLIE, A.O., WU, J.H.Y., DING, E.L., GAZIANO, J.M. Fish consumption, omega-3 fatty acids and risk of heart failure: A meta-analysis. **Clinical Nutrition**, v. 31, n. 6, p. 846–853, 1 dez. 2012.. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2012.05.010>

Doenças cardiovasculares - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/doencas-cardiovasculares>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

EMANUELLE DE LIMA VIANA, D. et al. ÁCIDOS GRAXOS DAS SÉRIES ÔMEGA-3 E ÔMEGA-6 E SUA UTILIZAÇÃO NO TRATAMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES: UMA REVISÃO. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://rsc.revistas.ufcg.edu.br/index.php/rsc/article/download/218/214/423>>. Acesso

em: 12 jan. 2024.

FALUDI, A., IZAR, M., SARAIVA, J., CHACRA, A., BIANCO, H., AFIUNE NETO, A., BERTOLAMI, A., PEREIRA, A., LOTTENBERG, A., SPOSITO, A., CHAGAS, A., CASELLA-FILHO, A., SIMÃO, A., ALENCAR FILHO, A., CARAMELLI, B., MAGALHÃES, C., MAGNONI, D., NEGRÃO, C., FERREIRA, C., SCHERR, C., FEIO, C., KOVACS, C., ARAÚJO, D., CALDERARO, D., GUALANDRO, D., MELLO JUNIOR, E., ALEXANDRE, E., SATO, I., MORIGUCHI, E., RACHED, F., SANTOS, F., CESENA, F., FONSECA, F., FONSECA, H., XAVIER, H., PIMENTEL, I., GIULIANO, I., ISSA, J., DIAMENT, J., PESQUERO, J., SANTOS, J., NETO JR, F., MELO FILHO, J., KATO, J., TORRES, K., BERTOLAMI, M., ASSAD, M., MINAME, M., SCARTEZINI, M., FORTI, N., COELHO, O., MARANHÃO, R., SANTOS FILHO, R., ALVES, R., CASSANI, R., BETTI, R., CARVALHO, T., MARTINEZ, T., GIRALDEZ, V., SALGADO FILHO, W. ATUALIZAÇÃO DA DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE - 2017. **rqivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, 2017 . <https://doi.org/10.5935/abc.20170121>

FARIAS, I.P., MARIONI, B., VERDADE, L.M., BASSETTI, L., COUTINHO, M.E., MENDONÇA, S.H.S.T. DE, VIEIRA, T.Q., MAGNUSSON, W.E., CAMPOS, Z. **Avaliação do risco de extinção do jacaré-do-pantanal *Caiman yacare* (Daudin, 1802) no Brasil**. Biodiversidade Brasileira 3, 21–30. <https://doi.org/10.37002/biodiversidadebrasileira.v3i1.405>

FILHO, J.V.D., FRANCK, K.M., GASPAROTTO, P.H.G., CAVALI, J. DESENVOLVIMENTO DA JACARICULTURA NO BRASIL. **Revista Ciência e Saúde Animal**, v. 2, n. 0, p. 32–47, 1 abr. 2020.

GAO, L., CAO, J., MAO, Q., LU, X., ZHOU, X., FAN, L. Influence of omega-3 polyunsaturated fatty acid-supplementation on platelet aggregation in humans: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Atherosclerosis**, v. 226, n. 2, p. 328–334, fev. 2013.. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.10.056>

GISTERÅ, A., HANSSON, G.K. The immunology of atherosclerosis. **Nature Reviews. Nephrology**, v. 13, n. 6, p. 368–380, jun. 2017. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.51>

GLASSER, S.P., SELWYN, A.P., GANZ, P. Atherosclerosis: Risk factors and the vascular endothelium. **American Heart Journal**, v. 131, n. 2, p. 379–384, 1 fev. 1996. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(96\)90370-1](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(96)90370-1)

GOMES, G.Q., PALHA, M. DAS D.C., ARAUJO, J. DA C., SILVA, A. DO S.L. DA. Morfometria e endocrinologia de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*) em cativeiro. 2014.

GREVENGOED, T. J., TRAMMELL, S. A., SVENNINGSEN, J. S., MAKAROV, M. V., NIELSEN, T. S., JACOBSEN, J. C. B., TREEBAK, J. T., CALDER, P. C., MIGAUD, M. E., CRAVATT, B. F., GILLUM, M. P. An abundant biliary metabolite derived from dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids regulates triglycerides. **J Clin Invest**. 2021 Mar 15; 131(6):e143861. <https://doi.org/10.1172/JCI143861>.

HURTUBISE, J., MCLELLAN, K., DURR, K., ONASANYA, O., NWABUKO, D., NDISANG, J.F. The Different Facets of Dyslipidemia and Hypertension in Atherosclerosis. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 18, n. 12, p. 82, dez. 2016. <https://doi.org/10.1007/s11883-016-0632-z>

INNES, J.K., CALDER, P.C. Marine Omega-3 (N-3) Fatty Acids for Cardiovascular Health: An Update for 2020. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1362, 18 fev. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21041362>

JELLINGER, P.S., SMITH, D.A., MEHTA, A.E., GANDA, O., HANDELSMAN, Y., RODBARD, H.W., SHEPHERD, M.D., SEIBEL, J.A., AACE TASK FORCE FOR MANAGEMENT O. American Association of Clinical Endocrinologists' Guidelines for Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis. **Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, v. 18 Suppl 1, p. 1–78, 2012. <https://doi.org/10.4158/ep.18.s1.1>

JUNIOR, A.K., FRANCISCO, A.D., BEIRÃO, L., KLUCZKOVSKI, A., BARBOSA, H., 2016. Lipids of Amazon Caimans: A source of fatty acids. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 29, p. 1559–1565, 26 jul. 2016. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15393>

JUMP, D. B. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. **J Biol Chem**. 2002 Mar 15;277(11):8755-8. <https://doi.org/10.1074/jbc.R100062200>

KOBIYAMA, K., LEY, K. Atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 123, n. 10, p. 1118–1120, 26 out. 2018. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313816>

KRIS-ETHERTON, P.M., HARRIS, W.S., APPEL, L.J. American Heart Association. Nutrition Committee, 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. **Circulation**, v. 106, n. 21, p. 2747–2757, 19 nov. 2002. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000038493.65177.94>

KROMANN, N., GREEN, A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Incidence of some chronic diseases 1950-1974. **Acta Medica Scandinavica**, v. 208, n. 5, p. 401–406, 1980.

LIBBY, P. The changing landscape of atherosclerosis. **Nature**, v. 592, n. 7855, p. 524–533, abr. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03392-8>

LIBBY, P., BURING, J.E., BADIMON, L., HANSSON, G.K., DEANFIELD, J., BITTENCOURT, M.S., TOKGÖZOĞLU, L., LEWIS, E.F., 2019. Atherosclerosis **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 1–18, 16 ago. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0106-z>

LOTTENBERG, A.M., AFONSO, M. DA S., LAVRADOR, M.S.F., MACHADO, R.M., NAKANDAKARE, E.R. The role of dietary fatty acids in the pathology of metabolic syndrome. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 9, p. 1027–1040, set. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.03.004>

LU, H., DAUGHERTY, A., 2015. Atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 35, 485–491. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305380>

MANUAL DE FARMACOLOGIA - 1ªED.(2016) - Andre Silva Franco; Jose Eduardo

Krieger - Livro, n.d.

MARCHIOLI, R., BARZI, F., BOMBA, E., CHIEFFO, C., DI GREGORIO, D., DI MASCI, R., FRANZOSI, M.G., GERACI, E., LEVANTESI, G., MAGGIONI, A.P., MANTINI, L., MARFISI, R.M., MASTROGIUSEPPE, G., MININI, N., NICOLOSI, G.L., SANTINI, M., SCHWEIGER, C., TAVAZZI, L., TOGNONI, G., TUCCI, C., VALAGUSSA, F., GISSI-PREVENZIONE INVESTIGATORS. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. **Circulation**, v. 105, n. 16, p. 1897–1903, 23 abr. 2002. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000014682.14181.f2>

MARTIN, C.A., ALMEIDA, V.V.D., RUIZ, M.R., VISENTAINER, J.E.L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N.E.D., VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761–770, dez. 2006. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>

MARTIUS, K. F. P. VON; SILVA, P. DA; SCHADEN, E. **Natureza, doenças, medicina e remédios dos índios brasileiros (1844)**. 2. ed ed. São Paulo: Nacional, 1979

MCKENNEY, J.M., SICA, D. 2007. Prescription omega-3 fatty acids for the treatment of hypertriglyceridemia. **American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists**, v. 64, n. 6, p. 595–605, 15 mar. 2007. <https://doi.org/10.2146/ajhp060164>

MILLER, P.E., VAN ELSWYK, M., ALEXANDER, D.D., 2014. Long-chain omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Hypertension**, v. 27, n. 7, p. 885–896, jul. 2014. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpu024>

MOSS, J.W.E., WILLIAMS, J.O., RAMJI, D.P., 2018. Nutraceuticals as therapeutic agents for atherosclerosis. **Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease**, v. 1864, n. 5 Pt A, p. 1562–1572, maio 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2018.02.006>

NAUD, L.M., BENSENOR, I.J.M., LOTUFO, P.A., 2020. Perfil lipídico e consumo de bebida alcoólica: estudo longitudinal de saúde do adulto (ELSA-BRASIL). **SMAD. SMAD. Revista eletrônica saúde mental álcool e drogas**, v. 16, n. 1, p. 1–9, mar. 2020. <https://doi.org/10.11606/issn.1806-6976.smad.2020.153349>

NEWMAN, W.P., MIDDAUGH, J.P., PROPST, M.T., ROGERS, D.R., 1993. Atherosclerosis in Alaska Natives and non-natives. **Lancet (London, England)**, v. 341, n. 8852, p. 1056–1057, 24 abr. 1993. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92413-n](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92413-n)

PALTHUR, M.P., PALTHUR, S.S.S., CHITTA, S.K., n.d. NUTRACEUTICALS: CONCEPT AND REGULATORY SCENARIO.

PAN, W.H., BAI, C.H., CHEN, J.R., CHIU, H.C. Associations between carotid atherosclerosis and high factor VIII activity, dyslipidemia, and hypertension. **Stroke**, v. 28, n. 1, p. 88–94, jan. 1997. <https://doi.org/10.1161/01.str.28.1.88>

SIRI-TARINO, P. W., CHIU, S., BERGERON, N., KRAUSS, R.M. Saturated Fats Versus Polyunsaturated Fats Versus Carbohydrates of Cardiovascular Disease Prevention and Treatment. **Annu. Rev. Nutr.** 2015. 35: 517-43. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2532>

PISANIELLO, A. D., PSALTIS, P. J., KING, P. M., LIU, G., GIBSON, R. A., TAN, J. T., DUONG M., NGUYEN, T., BURSILL, C. A., WORTHLEY, M. I., NICHOLLS, S. J., DI BARTOLO, B. A. Omega-3 fatty acids ameliorate vascular inflammation: A rationale for their atheroprotective effects. **Atherosclerosis**. 2021 May;324:27-37. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2021.03.003>

PEARCE, E.N. Update in lipid alterations in subclinical hypothyroidism. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 97, n. 2, p. 326–333, fev. 2012. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2532>

PETERS, S.A.E., DEN RUIJTER, H.M., BOTS, M.L., MOONS, K.G.M. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. **Heart (British Cardiac Society)**, v. 98, n. 3, p. 177–184, fev. 2012. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2011-300747>

PRÉCOMA, D.B., OLIVEIRA, G.M.M.D., SIMÃO, A.F., DUTRA, O.P., COELHO-FILHO, O.R., IZAR, M.C.D.O., PÓVOA, R.M.D.S., GIULIANO, I.D.C.B., ALENCAR FILHO, A.C.D., MACHADO, C.A., SCHERR, C., FONSECA, F.A.H., SANTOS FILHO, R.D.D., CARVALHO, T.D., AVEZUM JÚNIOR, A., ESPORCATTE, R., NASCIMENTO, B.R., BRASIL, D.D.P., SOARES, G.P., VILLELA, P.B., FERREIRA, R.M., MARTINS, W.D.A., SPOSITO, A.C., HALPERN, B., SARAIVA, J.F.K., CARVALHO, L.S.F., TAMBASCIA, M.A., COELHO FILHO, O.R., BERTOLAMI, A., CORREA FILHO, H., XAVIER, H.T., FARIA-NETO, J.R., BERTOLAMI, M.C., GIRALDEZ, V.Z.R., BRANDÃO, A.A., FEITOSA, A.D.D.M., AMODEO, C., SOUZA, D.D.S.M.D., BARBOSA, E.C.D., MALACHIAS, M.V.B., SOUZA, W.K.S.B.D., COSTA, F.A.A.D., RIVERA, I.R., PELLANDA, L.C., SILVA, M.A.M.D., ACHUTTI, A.C., LANGOWISKI, A.R., LANTIERI, C.J.B., SCHOLZ, J.R., ISMAEL, S.M.C., AYOUB, J.C.A., SCALA, L.C.N., NEVES, M.F., JARDIM, P.C.B.V., FUCHS, S.C.P.C., JARDIM, T.D.S.V., MORIGUCHI, E.H., SCHNEIDER, J.C., ASSAD, M.H.V., KAISER, S.E., LOTTENBERG, A.M.P., MAGNONI, C.D., MINAME, M.H., LARA, R.S., HERDY, A.H., ARAÚJO, C.G.S.D., MILANI, M., SILVA, M.M.F.D., STEIN, R., LUCCHESI, F.A., NOBRE, F., GRIZ, H.B., MAGALHÃES, L.B.N.C., BORBA, M.H.E.D., PONTES, M.R.N., MOURILHE-ROCHA, R. Updated Cardiovascular Prevention Guideline of the Brazilian Society of Cardiology - 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2019. <https://doi.org/10.5935/abc.20190204>

RODRIGUEZ, F., HARRINGTON, R. A. Cholesterol, Cardiovascular Risk, Statins, PCSK9 Inhibitors, and the Future of LDL-C Lowering. **JAMA**. 2016 Nov 15;316(19):1967-1968. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.16575>

ROSSEBØ, A.B., PEDERSEN, T.R., BOMAN, K., BRUDI, P., CHAMBERS, J.B., EGSTRUP, K., GERDTS, E., GOHLKE-BÄRWOLF, C., HOLME, I., KESÄNIEMI, Y.A., MALBECQ, W., NIENABER, C.A., RAY, S., SKJAERPE, T., WACHTTELL, K., WILLENHEIMER, R., SEAS INVESTIGATORS. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. **New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 13, p. 1343–1356, 25 set. 2008. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0804602>

SABATINE, M. S. Advances in the treatment of dyslipidemia. **Cleve Clin J Med**. 2016 Mar;83(3):181-6. <https://doi.org/10.3949/ccjm.83gr.16001>

SANTOS, L.P., UMPIERRE, D. Exercise, Cardiovascular Health, and Risk Factors for Atherosclerosis: A Narrative Review on These Complex Relationships and Caveats of Literature. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 840, 2020. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00840>

SANTOS, R.D. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 77, p. 1–48, nov. 2001. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2001001500001>

SANTOS, S.A., NOGUEIRA, M.S., PINHEIR, M.S., MOURA, G.M. DIETS OF CA/MAN CROCODILUS YACARE FROM DIFFERENT HABITATS IN THE BRAZILIAN PANTANAL.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **J Am Coll Nutr**. 2002 Dec;21(6):495-505. <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719248>

SCHMIDT, A. F., PEARCE, L. S., WILKINS, J.T., OVERINGTON J. P., HIGORANI A. D., CASAS, J. P. PCSK9 monoclonal antibodies for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. **Cochrane Database Syst Rev**. 2017 Apr 28;4(4):CD011748. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011748.pub2>

SHAIKH, S. R. Mecanismos biofísicos e bioquímicos pelos quais os ácidos graxos poliinsaturados N-3 da dieta do óleo de peixe rompem as jangadas lipídicas da membrana. **J Nutr Bioquímica**. 2012; 23:101-105. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.07.001>

SHERATT, S.C.R., LIBBY, P., BUDOFF, M.J., BHATT, D.L., MASON, R.P. Role of Omega-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease: The Debate Continues **Current Atherosclerosis Reports**, v. 25, n. 1, p. 1–17, jan. 2023. <https://doi.org/10.1007/s11883-022-01075-x>

SHIRLEY, M.H., VLIET, K.A., CARR, A.N., AUSTIN, J.D. Rigorous approaches to species delimitation have significant implications for African crocodilian systematics and conservation. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1776, p. 20132483, 7 fev. 2014. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2483>

STÖGER, J.L., GIJBELS, M.J.J., VAN DER VELDEN, S., MANCA, M., VAN DER LOOS, C.M., BIESSEN, E.A.L., DAEMEN, M.J.A.P., LUTGENS, E., DE WINTHER, M.P.J. Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 225, n. 2, p. 461–468, dez. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.013>

STEIN, E. A., RAAL, F. Reduction of low-density lipoprotein cholesterol by monoclonal antibody inhibition of PCSK9. **Annu Rev Med**. 2014;65:417-31. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-022613-090402>

URQUIAGA, I., GUASCH, V., MARSHALL, G., SAN MARTÍN, A., CASTILLO, O., ROZOWSKI, J., LEIGHTON, F. Effect of Mediterranean and Occidental diets, and red wine, on plasma fatty acids in humans. An intervention study. **Biological Research**, v. 37, n. 2, p.

253–261, 2004. <https://doi.org/10.4067/s0716-97602004000200012>

Vaz, D.S.S., Guerra, F.M.R.M., Gomes, C.F., Simão, A.N.C., Junior, J.M., 2014. A IMPORTÂNCIA DO ÔMEGA 3 PARA A SAÚDE HUMANA: UM ESTUDO DE REVISÃO. **Uningá Review**, v. 20, n. 2, 10 nov. 2014.

WANG, Q., LIANG, X., WANG, L., LU, X., HUANG, J., CAO, J., LI, H., GU, D. Effect of omega-3 fatty acids supplementation on endothelial function: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Atherosclerosis**, v. 221, n. 2, p. 536–543, abr. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.006>

WANG, C., HARRIS, W. S., CHUNG, M., LICHTENSTEIN, A. H., BALK, E. M., KUPELNICK, B., JORDAN, H. S., LAU, J. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary-and secondary-prevention studies: a systematic review. **Am J Clin Nutr**. 2006 Jul;84(1):5-17. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.5>

XIN, W., WEI, W., LI, X. Effect of fish oil supplementation on fasting vascular endothelial function in humans: a meta-analysis of randomized controlled trials **PloS One**, v. 7, n. 9, p. e46028, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046028>

YOKOYAMA, M., ORIGASA, H., MATSUZAKI, M., MATSUZAWA, Y., SAITO, Y., ISHIKAWA, Y., OIKAWA, S., SASAKI, J., HISHIDA, H., ITAKURA, H., KITA, T., KITABATAKE, A., NAKAYA, N., SAKATA, T., SHIMADA, K., SHIRATO, K., Japan EPA lipid intervention study (JELIS) Investigators, 2007. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. **Lancet (London, England)**, v. 369, n. 9567, p. 1090–1098, 31 mar. 2007. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60527-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60527-3)

ZAMPOLLI, A., BYSTED, A., LETH, T., MORTENSEN, A., DE CATERINA, R., FALK, E. Contrasting effect of fish oil supplementation on the development of atherosclerosis in murine models. **Atherosclerosis**, v. 184, n. 1, p. 78–85, jan. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.04.018>

ZHANG, Y., ZHUANG, P., HE, W., CHEN, J.N., WANG, W.Q., FREEDMAN, N.D., ABNET, C.C., WANG, J.B., JIAO, J.J. Association of fish and long-chain omega-3 fatty acids intakes with total and cause-specific mortality: prospective analysis of 421 309 individuals. **Journal of Internal Medicine**, v. 284, n. 4, p. 399–417, out. 2018. <https://doi.org/10.1111/joim.12786>

5 APÊNDICES

Artigo 1: Revista - Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases (Qualis A2)

<https://www.sciencedirect.com/journal/nutrition-metabolism-and-cardiovascular-diseases/publish/guide-for-authors>

Lipid-lowering and cardiorenal protective effects of the visceral fat oil from the Pantanal Alligator (*Caiman yacare*) (Daudin, 1802) in spontaneously hypertensive rats exposed to multiple cardiovascular risk factors

Luciane Barbosa Pessoa¹, Lucas Polizzeli Azevedo², Aline Aparecida Macedo Marques¹, Juliane Barbosa Pessoa¹, Luana Ale Bertoncello Pael¹, Karyne Garcia Tafarelo Moreno¹, Maria Luiza Fidelis da Silva¹, Bianca Viana Silva¹, Katiana Simões Lopes¹, Danielle Ayr Tavares de Almeida¹, Marco Antonio Utrera Martines³, Jesus Rafael Rodriguez Amado¹, Fabricio Rios-Santos², and Arquimedes Gasparotto Junior¹.

¹*Laboratory Cardiovascular Pharmacology (LaFac), Faculty of Health Science, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil.*

²*Postgraduate Program in Health Sciences, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil.*

³*Laboratory of Nanostructured Materials, Metallopharmaceuticals and Medicines, Institute of Chemistry, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.*

* Corresponding author:

Dr. Arquimedes Gasparotto Junior. Laboratory Cardiovascular Pharmacology (LaFac), Federal University of Grande Dourados. Rodovia Dourados-Itahum, km 12, P.O. Box 533, 79.804-970 Dourados, MS, Brazil. Phone: +55 (67) 3410-2333, Fax: +55 (67) 3410-2321. Email Address: arquimedesjunior@ufgd.edu.br. (A. Gasparotto Junior).

Abstract

Cardiovascular disease is the leading cause of death globally among non-communicable diseases. There are various risk factors that can trigger or worsen the condition, leading to more severe issues such as atherosclerosis. Treatment usually involves medication, but there is a risk of drug interactions and potential resistance with long-term use. Therefore, this study aims to investigate the effects of *Caiman yacare* oil on lowering lipids and its cardiorenal protective effects in spontaneously hypertensive rats. The study used an animal model with several cardiovascular risk factors including hypertension, hypothyroidism, and a high-fat diet. The rats were fed the high-fat diet for 8 weeks, with treatments starting after 4 weeks. *C. yacare* oil (given at doses of 19, 56, and 168 mg/kg), rosuvastatin (5 mg/kg), and fish oil (56 mg/kg) were administered orally for 4 weeks. Renal function was assessed at the beginning and end of the treatments. Blood pressure and cardiac electrical activity were monitored. Levels of serum lipids, inflammation and oxidative stress markers, as well as liver and kidney function were measured. The mesenteric vascular bed was removed to assess vascular reactivity, and samples from the kidney, heart, and arteries (carotid and subclavian) were collected for histopathological analysis. The results showed that oral administration of *C. yacare* oil at 168 mg/kg significantly reduced serum lipids, urea, creatinine, and oxLDL levels. It also prevented arterial endothelial dysfunction and intima-media thickness caused by the multiple cardiovascular risk factors. Significant diuretic, antihypertensive, or anti-inflammatory effects were not observed. The data suggests that prolonged treatment with *C. yacare* visceral fat oil has significant lipid-lowering effects, reduces the oxidation of LDL cholesterol, prevents endothelial dysfunction, and partially modulates renal function in rats with multiple cardiovascular risk factors.

Keywords: Animal fat oil; Atherogenesis; Dyslipidemia; PUFA

1. Introduction

Hypertension is a clinical condition characterized by high blood pressure levels, generally defined as being equal to or greater than 140/90 mm Hg. This condition affects approximately 32.5% of adults and over 60% of the elderly in Brazil. It is responsible for 50% of deaths resulting from cardiovascular diseases, including atherosclerosis. Atherosclerosis is a multifactorial inflammatory pathology that develops in response to damage to the tunica intima of the arteries [1]. A meta-analysis involving 12,474 individuals revealed that hypertension can increase the risk of carotid atherosclerosis by 81% [2,3]. These pathological conditions are closely linked to serious events such as stroke, acute myocardial infarction, heart failure, chronic kidney disease, and death [4].

One of the main causes of atherosclerosis in the Western population, including Brazil, is the excessive consumption of fats in the diet, especially cholesterol. Excessively high levels of cholesterol, particularly the form carried by low-density lipoprotein (LDL-C), are strongly associated with atherogenesis [1]. These molecules are deposited in the subendothelial layer of the arteries, and when they oxidize (oxLDL), it becomes a critical step in the development of the disease. The oxLDL particles then cause an inflammatory response, which is mediated by interleukins such as IL-1 and IL-6. This response leads to the activation of adhesion molecules, resulting in the movement of monocytes to the subendothelial layer and the activation of macrophages [3]. The macrophages engulf oxidized LDL and transform into foam cells, which contribute to the formation of atherosclerotic plaques. Over time, the plaques develop a necrotic center and the growth of new blood vessels, often covered by a fibrous coating. The atherosclerotic plaques can remain stable for extended periods, but when they become unstable, they can trigger the formation of blood clots, disrupting blood flow and causing severe complications [5].

Despite the risks of excessive consumption, a well-balanced diet that includes an adequate amount of fats is highly important as these substances play crucial roles in the body. Fats not only provide energy but also serve as sources of fat-soluble vitamins such as A, D, E, and K. Additionally, they contain essential fatty acids (omega-3s and omega-6s) that have a significant impact on the body as they are part of the phospholipids that make up cell membranes. In addition to their role as structural components in cell membranes, omega-3s (along with omega-6s) play a role in the production of eicosanoids. Eicosanoids are signaling molecules with chemically similar structures to the fatty acids they are derived from and play important roles in the cardiovascular, pulmonary, immune, and endocrine systems of the body [6,7].

Several studies have demonstrated that regular consumption of essential fatty acids, especially omega-3s, can have a significant cardioprotective effect against dyslipidemia and atherosclerosis. Currently, the primary source of omega-3s is from cold-water marine fish such as salmon, mackerel, herring, tuna, and sardines. The high global demand for essential fatty acids has led to the search for alternative sources, including alligators. Brazil is home to a large and diverse population of alligators, and a recent study has discovered the presence of essential fatty acids in the oil of two species of Amazonian alligators [8].

In the Brazilian states of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, the most commonly found species is the *Caiman yacare*, which is commonly known as the Pantanal alligator ("jacaré-do-Pantanal" in Portuguese) [9]. A study conducted by Azevedo et al. [10] showed that the oil obtained from the Pantanal alligator contains significant levels of fatty acids, including omega-6s. Therefore, this suggests that consuming it may potentially provide health benefits. The purpose of the study was to evaluate the impact of long-term administration of *C. yacare* visceral fat oil on lipid levels and the development of atherosclerosis in hypertensive rats fed an atherogenic diet. This research may help increase our understanding of the potential therapeutic benefits of alligator oil for cardiovascular diseases.

2. Methods

2.1 Drugs and reagents

The following drugs, salts, and solutions were used: isoflurane (BioChimico, Rio de Janeiro, RJ, Brazil), and heparin (Hipolabor, Belo Horizonte, MG, Brazil). Phenylephrine (Phe), sodium nitroprusside (NPS), acetylcholine (ACh), sodium chloride (NaCl), potassium chloride (KCl), calcium chloride (CaCl₂), magnesium sulfate (MgSO₄), sodium bicarbonate (NaHCO₃), monobasic potassium phosphate (KH₂PO₄), dextrose, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), cholesterol, cholecalciferol, and cholic acid were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Methimazole (Tapazol®) was obtained from Biolab Pharma (Jandira, SP, Brazil). Fish oil (Lavitan®) was obtained from Cimed (São Paulo, SP, Brazil). All other reagents were obtained in analytical grade.

2.2 Obtaining *C. yacare* visceral fat oil

The fat used to extract the oil was obtained from alligators (*Caiman yacare*) that were over two and a half years old. These animals were raised in captivity and were legally obtained from the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio). Following the

methodology proposed by Azevedo et al. [10], the visceral fat was taken from the adipose tissue surrounding the right caudolateral aspect of the liver, known as the "adipose body". Initially, a sample of 854.9g of body fat was collected. The oil was extracted using the Soxhlet method, involving a six-hour reflux process at 65°C for five days. Subsequently, the oil was concentrated by evaporating the solvent at 65°C, using a rotary evaporator connected to a vacuum system.

2.3 Chemical analysis of *C. yacare* fat oil

The chemical composition of Caiman yacare oil was analyzed using Gas Chromatography (Shimadzu, model GC-2010, Japan) with a Flame Ionization Detector (FID) and a split/splitless injector. The separation was conducted on a 30m fused silica capillary column with a diameter of 0.25mm, BPX-70 (70% cyanopropyl-phenyl polysiloxane) (Sigma Aldrich, USA). The detector and injector temperatures were set at 250°C. The initial column temperature was set at 80°C for 3 minutes, then increased to 140°C at a rate of 10°C/min, and further increased to 250°C at 5°C/min for 10 minutes. Helium (White Martins, Brazil) was used as the carrier gas at a flow rate of 1.0 mL/min. Synthetic air and hydrogen were used as the detector gases, while nitrogen was used as the auxiliary gas (make-up gas). The injection volume was 10 µL. Fatty acids in the oil sample were identified and quantified by comparing them with the retention time of fatty acid methyl esters (FAME mix, 37 components) used as the internal standard (100 mg). The quantitation was expressed as a percentage of the total fatty acids. This methodology was developed and validated specifically for this purpose.

2.4 Animals

Male Wistar Kyoto (WKY) and Spontaneous Hypertensive Rats (SHR) that were 3 months old and weighed between 300-350 g were obtained from the Federal University of Grande Dourados (UFGD). The rats were kept in a vivarium with controlled conditions, which included 12 h:12 h light: dark cycles, a temperature of $22 \pm 2^\circ\text{C}$, and free access to food and water. Before conducting experiments, the rats underwent a one-week period of acclimatization to the laboratory conditions. All procedures involving the animals were reviewed and approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation at UFGD, with approval protocol number 23/2022.

2.5 Experimental procedures

2.5.1 Selecting the dosage of *C. yacare* fat oil

The doses of *C. yacare* fat oil (OJ) were determined using an allometric extrapolation

based on the body area scale [11]. This extrapolation was derived from the typical daily dose of fish oil (OP) given to human patients, which is set at 1 g/day. Considering the average body weight for humans is 70 kg, this results in a dose of 14.28 mg/kg. For the rats used in the study, the average body weight was 300 g. Therefore, the mean dose obtained for rats was 56 mg/kg, based on this allometric extrapolation. As a safety precaution, two other doses were considered: one three times higher, totaling 168 mg/kg, and another three times lower, approximately 19 mg/kg.

2.5.2 Groups and treatments

The experimental model used in this study followed the methodology proposed by Guarnier et al. [12] with a few modifications. Initially, the animals were divided into eight WKY and forty-eight SHRs. All hypertensive animals were fed an atherogenic diet (AD) for 60 days. The diet was prepared following the method described by Guarnier et al. [12], which included 64.4% standard rodent diet, 5% lard, 5% sucrose, 5% hydrogenated fat, 0.5% cholesterol, 0.1% sodium cholate, and 20% powdered egg yolk. Additionally, the SHR animals received daily methimazole (2 mg/kg orally) and four injections of 175,000 IU/kg of cholecalciferol (subcutaneously) every two days. Thirty days after the treatments described above, the animals were divided into the following experimental groups: 1) WKY rats that received orally filtered water (1 mL/kg, once daily) and were fed a standard commercial rodent diet (naïve group); 2) SHRs that received orally filtered water (1 mL/kg, once daily) and were fed an AD (negative control group; NC); 3) SHRs that received OJ (19, 56, and 168 mg/kg, once daily) and were fed an AD; 4) SHRs that received fish oil orally (56 mg/kg) and were fed an AD; 5) SHRs that received rosuvastatin orally (5 mg/kg) and were fed an AD. All treatments were carried out for 30 days. Throughout the experimental period, water and feed intake, as well as body weight, were monitored and recorded weekly.

2.5.3 Renal function

Renal function was evaluated following the methods proposed by Gasparotto Junior et al. [13]. On days 1 and 28 of treatment, all animals received an oral dose of 5 mL/kg of 0.9% NaCl to restore the balance of salt and water. Afterwards, the animals were placed individually in metabolic cages with unrestricted access to food and water, and the urine produced during an 8-hour period was collected and its volume measured. The pH and density of the urine were measured with a digital pH meter (Q400MT; Quimis Instruments, Diadema, Brazil) and a portable refractometer (NO107; Nova Instruments, Piracicaba, Brazil) respectively. In addition,

the levels of sodium, potassium, chloride, bicarbonate, and creatinine were determined using an automated biochemistry analyzer (COBAS INTEGRA 400 plus; Roche, Basel, Switzerland).

2.5.4 Electrocardiography

On the morning of the 29th day, after the experimental treatments had ended, all rats were anesthetized with isoflurane inhalation (2-3%). Then, electrodes were placed on the upper and lower limbs of each rat, and the P, Q, R, and S waves, as well as the PR, QRS, QT, and QTC segments, were recorded using an ECG recorder (WinCardio, Micromed, Brasília, Brazil).

2.5.5 Blood pressure and heart rate measurement

After the ECG was recorded, and while still under anesthesia, the blood pressure levels were measured according to the method described by Gasparotto Junior et al. [14]. First, heparin (30 IU) was administered subcutaneously. Then, the left carotid artery was cannulated and connected to a PowerLab recording system (Software Chart 8.0; ADInstruments, Castle Hill, Australia). The mean arterial pressure (MAP), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and heart rate (HR) were recorded for 20 minutes. The results are presented as an average of the last 5 minutes recorded.

2.5.6 Blood collection and biochemical analyses

After measuring blood pressure, blood samples (4-5 mL) were collected from the previously cannulated carotid artery. Serum was obtained by centrifugation (at 150 g for 10 min). Urea, creatinine, triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoproteins (LDL-C), very low-density lipoproteins (VLDL-C), high-density lipoproteins (HDL), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) levels were measured using an automated Roche cobas ® 6000 biochemical analyzer. Serum levels of nitrotyrosine (NT), oxidized LDL (oxLDL), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM1), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM1), interleukin-1 beta (IL-1 beta), and IL-6 were measured using enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA; Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Malondialdehyde (MDA) levels were measured using an MDA assay kit from Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA.

2.5.7 Mesenteric vascular beds (MVBs) reactivity

After collecting blood samples, the MVBs were promptly isolated and prepared for perfusion as described by Gasparotto Junior et al. [16]. The superior mesenteric artery was

cannulated and gently flushed with a physiological saline solution (PSS: 119 mM NaCl; 4.7 mM KCl; 2.4 mM CaCl₂; 1.2 mM MgSO₄; 25.0 mM NaHCO₃; 1.2 mM KH₂PO₄; 11.1 mM dextrose, and 0.03 mM EDTA). The entire intestine and MVB were then removed, and the MVB was separated. The MVBs were stored in glass vats at 37°C, aerated with carbogen (95% oxygen and 5% carbon dioxide), and perfused at a constant flow of 4 mL/min with a PSS using a peristaltic pump. Perfusion pressure was recorded using a pressure transducer connected to a computerized polygraph. After a 30-minute stabilization period, the integrity of the preparation was checked by administering 120 mmol of KCl. Then, a dose-response curve of phenylephrine (Phe; 1, 3, 10, and 30 nmol; 10-30 μ L) was performed. After another 30-minute stabilization period, the preparations were continuously perfused with PSS containing 3 μ M Phe to induce a prolonged increase in perfusion pressure. Under these conditions, the changes in vascular reactivity induced by the administration of sodium nitroprusside (SNP; 0.3, 1, 10, and 30 pmol; 10-30 μ L) and acetylcholine (ACh; 1, 3, 10, and 30 pmol; 10-30 μ L) were investigated. At the end of this procedure, all animals were euthanized due to an overdose of isoflurane.

2.5.8 Relative organ weight, histopathology, and morphometry

After euthanasia, the heart, kidney, liver, as well as the subclavian and carotid arteries were removed and cleaned. Then, the relative weight of the heart, kidneys, and liver were calculated ($\text{wt}\% = \text{absolute weight of the organ} \times 100 / \text{weight of the animal's body}$). A sample of the heart, liver, and arteries were preserved in a 10% buffered formalin solution. Afterwards, the samples were dehydrated using alcohol, clarified with xylene, and embedded in paraffin. The samples were then cut into 5 μ m sections, dyed with hematoxylin and eosin, and examined under a light microscope. The data analysis was carried out using Motic Images Plus 2.0 software.

2.6 Statistical analyses

The data was analyzed to determine if there was homogeneity of variance and normality. Differences between the means were assessed using a one-way analysis of variance (ANOVA), followed by a Bonferroni test. The results were expressed as the mean $\pm$ standard error of the mean (E.P.M.), and p-values of ≤ 0.05 were considered statistically significant. Graphs and statistical analyses were conducted using Prism 10 for macOS (GraphPad® Software, San Diego, CA, USA).

3. Results

3.1 Chemical analysis

The fatty acid composition of Caiman yacare visceral fat oil is presented in **Table 1**. Monounsaturated fatty acids make up the majority at 50.60%, followed by unsaturated fatty acids at 44.48%, and polyunsaturated fatty acids at 4.75%. The most abundant fatty acid is oleic acid (omega-9), a monounsaturated acid, accounting for 39.19% of the total composition.

3.2 Behavioral changes, food consumption, and body weight gain

The behavior of the animals throughout the entire experimental period showed no significant changes, considering the species and gender. No clinically observable signs of toxicity were identified, including diarrhea, piloerection, decreased ambulation, peripheral ischemia, or porphyrin secretion in the eyes. No significant changes in food consumption and body weight gain were observed among the different experimental groups (data not shown).

3.3 Renal function

Tables 2 and **3** show the effects of oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg), and ROSU on urinary parameters on the 1st and 28th day of treatment. On the first day of treatment, all hypertensive animals fed with AD showed significantly higher urinary volume and renal excretion of sodium, potassium, chloride, and bicarbonate compared to the animals in the naïve group. The pH values and urinary density were not statistically different among all experimental groups.

On the twenty-eighth day of treatment, the urine volume produced by the animals in the NC, ROSU, and OJ groups (19 mg/kg) was similar to that of the animals in the naïve group. However, the OJ (56 in 168 mg/kg) and OP (56 mg/kg) groups showed a statistically lower urine volume compared to the naïve animals. The urinary pH was significantly reduced in all hypertensive animals fed with the AD, regardless of the treatment performed. The values of density, sodium, potassium, chloride, and urinary bicarbonate obtained in hypertensive animals fed with the AD were similar to those obtained in naïve rats.

3.4 Electrocardiography

The effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg) and ROSU on electrocardiography are shown in **Table 4**. The animals from the negative control group and the group treated with OJ at its lowest dose (16 mg/kg) showed a significant increase

in the PR segment. The treatment performed with OJ (56 and 168 mg/kg) or with OP (56 mg/kg) prevented this alteration, keeping the values of the PR segment similar to those found for the animals in the naïve group. All other electrocardiographic parameters did not show significant alterations among all the experimental group.

3.5 Blood pressure and heart rate

The effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg) and ROSU on blood pressure and heart rate values are presented in **Table 5**. All SHR fed with AD and treated with the vehicle, ROSU or OJ (at all doses) showed a significant increase in SBP, DBP, MAP, and HR when compared to naïve animals. On the other hand, animals treated with OP (56 mg/kg) exhibited a significant increase only in SBP and HR, while maintaining DBP and MAP values similar to those of the naïve group.

3.6 MVBs reactivity

The effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg) and ROSU on MVBs reactivity are presented in **Table 6**. The animals in the negative control group showed a significant increase in vascular reactivity to Phe 30 nmol, as well as a significant reduction in vasodilator response to ACh 3 pmol when compared to the naïve animals. The 28-day treatments with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg), and ROSU prevented this alteration, maintaining MVBs reactivity similarly to naïve rats.

3.7 Biochemical analyses

Table 7 presents the effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg), and ROSU on serum biochemical parameters. In the liver function tests, only the animals that received ROSU showed a significant increase in ALT serum levels, while all other experimental groups showed similar results to those obtained for naïve animals.

All serum lipids were significantly elevated in AD-fed SHR treated only with the vehicle. Only the animals that received ROSU showed significantly lower levels of triglycerides than those observed in hypertensive rats fed with AD and treated only with the vehicle. The levels of TC, LDL-C, and VLDL-C were significantly reduced in rats treated with OJ (168 mg/kg), OP (56 mg/kg), and ROSU when compared to the negative control group. On the other hand, only the animals treated with ROSU showed a significant reduction in HDL-C levels, while all groups treated with OJ or OP presented HDL-C levels similar to those observed in the AD-fed SHR rats treated only with the vehicle.

All serum oxidative stress markers were significantly elevated in the negative control group when compared to the naïve animals. The levels of serum oxLDL were significantly reduced in groups that received OJ (168 mg/kg), ROSU, and OP (56 mg/kg) when compared to the negative control animals. However, the levels of NT and MDA were significantly reduced only in animals treated with ROSU or OP (56 mg/kg) when compared to the negative control group. Meanwhile, the animals that received OJ at its highest dose (168 mg/kg) showed statistically higher levels of NT and MDA compared to all other experimental groups.

All serum inflammatory markers were significantly elevated in the AD-fed SHR rats treated only with the vehicle. Only the animals treated with ROSU showed statistically lower serum levels of sVCAM-1 and sICAM-1 compared to the rats in the negative control group. Regarding the levels of serum cytokines (IL-6 and IL-1 beta), the groups that received ROSU or OP (56 mg/kg) showed values lower than those observed in the animals of the negative control group. On the other hand, animals treated with OP (168 mg/kg) showed levels of IL-6 and IL-1 beta statistically higher than all other experimental groups.

Both markers of renal function, including serum levels of urea and creatinine, were significantly elevated in the rats fed an atherogenic diet and treated only with the vehicle. The rats treated with ROSU, OJ (168 mg/kg), or OP (56 mg/kg) were able to significantly reduce the levels of urea and creatinine when compared to the animals in the negative control group, however, the levels were still significantly higher than those found in naïve animals.

3.8 Relative organ weight, histopathology, and morphometry

Effects of oral prolonged treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg) and ROSU on relative organ weight are presented in **Table 8**. All hypertensive animals fed with AD, regardless of treatment, showed a significant increase in the relative weight of the liver and heart. The weight of the kidneys was not changed by any of the experimental groups.

Effects of oral prolonged treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg) and ROSU on cardiac and arterial morphometry are presented in **Table 9**. All hypertensive animals, regardless of treatment, showed a significant thickening of the heart wall and interventricular septum. Animals in the NC and OJ groups (19 and 56 mg/kg) showed a significant thickening of the intima-media in the carotid and subclavian arteries. Conversely, treatment with ROSU, OP, and OJ (at their highest dose) maintained the intima-media ratio statistically similar to that of the animals in the naïve group.

Representative histological images of the liver, left ventricle, and arteries (subclavian and carotid) are showed in **Figures 1** and **2**. All animals that were fed AD exhibited a significant

buildup of lipids in liver cells and small areas of cell death with mild inflammation (**Figure 1**). Additionally, the groups treated with OJ at doses of 19, 56, and 168 mg/kg showed localized increases in the growth of epithelial cells in the bile duct.

In the heart tissue, only one of the animals that received OJ at a dose of 168 mg/kg exhibited a small area of myocardial necrosis (**Figure 1**). In the samples of carotid artery from the group treated only with the vehicle (NC), it was possible to identify small areas with the presence of lipid streaks (**Figure 2**). In the other experimental groups, despite the thickening of the intimal layer, we did not find the presence of lipid streaks in the samples of carotid or subclavian arteries (**Figure 2**).

4. Discussion

The use of animal-derived oils for treating diseases is an ancient practice known as zootherapy [17]. In Brazil, various forms of traditional wildlife are recognized as zootherapeutic resources. At least 354 wild animal species are used in Brazilian traditional medicine, of which 157 are also consumed as food [18]. Among the animal species with therapeutic potential is *Caiman yacare*, an alligator species from the Pantanal biome, with an established production chain in the states of Mato Grosso do Sul, Brazil. This allows for the creation of an extraction procedure for a standardized oil that can be used for medical and ethnomedical purposes [19].

The *C. yacare* oil used in this study showed a high concentration of fatty acids, including unsaturated acids (44.48%), monounsaturated acids (50.60%), and polyunsaturated fatty acids (4.75%). The most abundant fatty acid was oleic acid (39.19%), followed by palmitic and stearic acid (27.44% and 12.08% respectively). The fatty acid composition observed in this study is similar to that reported by Azevedo et al. [19]. The high levels of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in *C. yacare* oil provide various health benefits. Oils with a similar fatty acid profile have been shown to have a significant impact in preventing oxidative stress, cardiovascular diseases, inflammatory conditions, neural development, thrombosis, cancer, and improving immunity [19, 20].

The presence of risk factors such as hypertension, obesity, dyslipidemia, diabetes, and smoking is strongly associated with negative outcomes in cardiovascular diseases [21]. Atherosclerotic lesions are abnormalities found in the inner layer of the arteries, caused by the accumulation of oxidized cholesterol and the growth of smooth muscle cells. These cells form a thick plaque that changes the middle layer of the artery, leading to various circulatory issues [22, 23, 24]. The accumulation of oxidized LDL in the arteries can begin with an unbalanced high-fat diet, excessive cholesterol synthesis, or reduced breakdown of LDL by the liver [25].

Our study used an effective model that replicates human conditions with various cardiovascular risk factors. We used hypertensive dyslipidemic animals, along with the administration of high doses of vitamin D3 and antithyroid drugs [12]. The model showed that after 8 weeks, animals treated with only the vehicle exhibited hepatic steatosis, reduced kidney function, serum oxidative stress, endothelial dysfunction, and an exacerbated systemic inflammatory response. Additionally, we observed thickening of the intima layer of the arteries, as well as ventricular hypertrophy, leading to significant electrocardiographic changes.

Throughout the world, the use of polyunsaturated fatty acids (PUFA) is widespread. Research conducted on both humans and animals suggests that omega-3 PUFA possess significant antioxidant effects, enhance nitric oxide synthesis, improve endothelial function, and promote vasodilation. Furthermore, clinical intervention studies suggest that omega-3 PUFA possess anti-inflammatory properties, which could potentially be beneficial in treating inflammatory and autoimmune diseases. Therefore, we decided to utilize fish oil (OP; a rich source of omega-3 PUFA) as one of the positive controls, along with a traditional lipid-lowering medication, rosuvastatin. Consistent with the data mentioned above, our study found that the 4-week treatment with OP was able to reduce serum oxidative stress, decrease levels of VLDL-C and LDL-C, and show an important anti-inflammatory response.

Despite the widespread use of OP, various types of animal fats are used worldwide, including in Brazil, where the use of alligator fat oil is notable. The viscera of *C. yacare* are considered a byproduct in the leather and food industry. However, it has been shown to be a potential source of raw material for pharmaceutical products, as some of its constituents have antioxidant and anti-inflammatory effects [10]. In our study, we used *C. yacare* oil, which is rich in unsaturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids. These compounds have antioxidant properties and protective effects against neurodegenerative diseases [30, 31], diabetes, cancer [32], and wound healing [33]. A recent study demonstrated that *C. yacare* fat oil has significant anti-inflammatory activity in wound healing in rats [10]. Since linoleic acid serves as a precursor of arachidonic acid, which is responsible for the synthesis of prostaglandins, leukotrienes, and thromboxane's, it is likely to play a crucial modulating role during inflammation. Furthermore, a systematic review with meta-analysis was conducted to summarize the current epidemiological evidence on the relationship between blood levels of omega-6 polyunsaturated fatty acids and the risk of coronary heart disease. The data indicated that the recommended intake of omega-6 polyunsaturated fatty acids may provide a coronary benefit in primary prevention [34]. Conversely, there is evidence suggesting that replacing dietary saturated fatty acids with an omega-6 enriched diet may have negative effects on the

cardiomyocyte levels [35]. While some of the information mentioned above is promising, there is currently no data indicating the beneficial or harmful effects of OJ in the presence of inflammatory heart diseases, including atherosclerosis.

Hypertension and a high-fat diet can be the genesis as well as an aggravating factor for progressive renal disease, characterized by reduced urine volume and renal excretion of electrolytes, as well as increased levels of urea and serum creatinine [36, 37]. In our study, after 8 weeks of exposure to different risk factors, blood pressure levels remained elevated, leading to cardiac hypertrophy. Additionally, the urine volume was significantly reduced, indicating a decrease in renal function and the absence of a diuretic effect from OJ or OP. On the other hand, serum levels of creatinine and urea were significantly reduced in groups treated with OJ (at its highest dose) and OP, showing a potential protective effect on the kidneys. This effect is likely due in part to changes in endothelial dysfunction and the decrease in intima-media thickness observed in arteries after treatment. Although it may not fully reverse all renal changes, it could help ensure the necessary vasodilation to maintain glomerular filtration rate. This discovery supports a previous study that showed these fatty acids improve endothelial function [27, 28].

It is known that hemodynamic changes caused by hypertension, along with dyslipidemia and oxidative stress, can lead to a significant vascular inflammatory response, creating ideal conditions for the development of coronary artery disease and resulting in severe cardiovascular outcomes [38]. It is notable that OJ produces a similar response to OP by reducing levels of VLDL-C, LDL-C, and oxLDL, which are key factors in atherosclerosis. However, differences arise when looking at systemic oxidation and circulating cytokine levels. Treatment with OP at its highest dose increased serum levels of MDA, NT, IL-6, and IL-1-beta, indicating an increase in oxidation and systemic inflammation compared to OP. Because the responses to oxidative stress and inflammatory mediators were opposite to those observed with OP, it cannot be definitively stated that prolonged administration of OJ benefits endothelial cell integrity as described for omega-3 PUFA rich OP. Also, there are still concerns about the possible heart-related side effects of consuming OJ for a long time, because one animal that was given a high dose of OJ showed mild necrosis in the cardiac area, indicating myocardial ischemia.

One of the main consequences of the high-fat diet used in our study, in addition to the cardiorenal changes, was hepatomegaly and diffuse hepatic steatosis. Although the catalytic relationship between heart diseases and hepatic steatosis is widely known [38], we did not find any histopathological effects that could indicate possible benefits of OJ on liver function. In addition to this gap, another important limitation deserves mention. It was not possible to identify the presence of atherosclerotic lesions in the arterial branches, despite the detection of

increased thickening of the intima-media layers in the carotid and subclavian arteries. The lack of atherosclerotic lesions is likely due to the rodents' natural resistance to short-term atherogenic factors. We believe that maintaining this model for more than 8 weeks will result in significant atherosclerotic lesions or contribute to other morphological changes typical of hypertensive disease, as well as help to clarify in a more detailed manner the actual role of OJ in the presence of multiple cardiovascular risk factors.

5. Conclusion

The data suggests that prolonged treatment with *Caiman yacare* visceral fat oil has significant lipid-lowering effects, reduces the oxidation of LDL cholesterol, prevents endothelial dysfunction, and partially modulates renal function in rats with multiple cardiovascular risk factors.

Financing

This research was funded by the Foundation for the Support of the Development of Teaching, Science and Technology of the State of Mato Grosso do Sul (FUNDECT, Brazil; no. 83/013.186/2023), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, Brazil; no. 305742/2022-1) and the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil; process number 88887.910272/2023-00).

Conflicts of interest

There were no conflicts of interest.

REFERENCES

- [1] Hurtubise J, McLellan K, Durr K, Onasanya O, Nwabuko D, Ndisang JF. The Different Facets of Dyslipidemia and Hypertension in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2016; 18:82. <https://doi.org/10.1007/s11883-016-0632-z>.
- [2] Faludi A, Izar M, Saraiva J, Chacra A, Bianco H, Afiune Neto A, et al. Update of the Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis Prevention. *Arq Bras Cardiol* 2017;109. <https://doi.org/10.5935/abc.20170121>.
- [3] Kobiyama K, Ley K. Atherosclerosis. *Circ Res* 2018; 123:1118–20. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313816>.
- [4] Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa AD de M, et al. Brazilian guidelines for arterial hypertension. *Arq Bras Cardiol* 2021; 116(3), 516-658. <https://doi.org/10.36660/abc.20201238>.
- [5] Lu H, Daugherty A. Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35:485–91. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305380>.
- [6] Gottlieb MG, Bonardi G, Moriguchi EH. Physiopathology and inflammatory aspects of atherosclerosis. *Sci Med* 2005;15.

- [7] Schwalfenberg G. Omega-3 fatty acids: their beneficial role in cardiovascular health. *Can Fam Physician* 2006; 52:734–40.
- [8] Junior AK, Francisco AD, Beirão L, Kluczkowski A, Barbosa H. Lipids of Amazon Caimans: A source of fatty acids. *Afr J Biotechnol* 2016; 15:1559–65. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15393>.
- [9] Filho JVD, Franck KM, Gasparotto PHG, Cavali J. Development of Alligator Farming in Brazil. *Rev Ci Saude Anim* 2020;2:32–47.
- [10] Azevedo LP, dos Santos Ferraz RH, de Magalhães MRL, Oliveira AP, Cogliati B, Lemos LMS, et al. Healing potential of *Caiman yacare* (Daudin, 1802) visceral fat oil. *Wound Medicine* 2020; 31:100195. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100195>.
- [11] Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm* 2016; 7:27–31. <https://doi.org/10.4103/0976-0105.177703>.
- [12] Guarnier LP, Romão PVM, Palozi RAC, Silva AO, Lorençone BR, Marques AAM, et al. Development of a Predictive Model to Induce Atherogenesis and Hepato-Renal Impairment in Female Rats. *Biomolecules* 2019;9:664. <https://doi.org/10.3390/biom9110664>.
- [13] Gasparotto A, Boffo MA, Lourenço ELB, Stefanello MEA, Kassuya CAL, Marques MCA. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. *J Ethnopharmacol* 2009;122:517–22. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.01.021>.
- [14] Gasparotto Junior A, Gasparotto FM, Lourenço ELB, Crestani S, Stefanello MEA, Salvador MJ, et al. Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. *J Ethnopharmacol* 2011;134(2), 363-372. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.026>.
- [15] Schmidt HH, Wilke P, Evers B, Böhme E. Enzymatic formation of nitrogen oxides from L-arginine in bovine brain cytosol. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165:284–91. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)91067-x](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)91067-x).
- [16] Gasparotto Junior A, Dos Reis Piornedo R, Assreuy J, Da Silva-Santos JE. Nitric oxide and Kir6.1 potassium channel mediate isoquercitrin-induced endothelium-dependent and independent vasodilation in the mesenteric arterial bed of rats. *Eur J Pharmacol* 2016;788:328–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.08.006>.
- [17] Fukushima M, Takayama Y, Habaguchi T, Nakano M. Comparative hypocholesterolemic effects of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris dabbenei*) oil, horse oil, and sardine oil in cholesterol-fed rats. *Lipids*. 1997;32(4):391-5. doi: 10.1007/s11745-997-0050-z. PMID: 9113627.
- [18] Alves RRN., Oliveira TPR, Rosa IL. Wild Animals Used as Food Medicine in Brazil. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 670352. <https://doi.org/10.1155/2013/670352>
- [19] Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza N, Visentainer JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *R Nutr* 2006;19(6), 761–770. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>
- [20] Borges, M. C., Santos, F. de M. M., Telles, R. W., Correia, M. I. T. D., & Lanna, C. C. D. (2014). Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos? *Rev Bras Reumatol*, 54(6), 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2013.12.002>
- [21] Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bitencourt MS, Callaway CW, et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A report from the American Heart Association. *Circulation* 2021;143:e254–e743. <https://doi.org/10.1161/circ.0000000000000950>.
- [22] Montenegro MR. Atherosclerosis morphology and pathogenesis. *ARBS Annu Rev Biomed Sci* 1999; 1: 133-44. <https://doi.org/10.5016/1806-8774>.

- [23] Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis. *Am J Pathol* 1999; 155(1):1-5. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)65090-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)65090-0).
- [24] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115-26. <https://doi.org/10.1056/nejm199901143400207>.
- [25] Thompson GR, Soutar AK, Spengel FA, Jadhav A, Gavigan SJ, Myant NB. Defects of receptor-mediated low density lipoprotein catabolism in homozygous familial hypercholesterolemia and hypothyroidism in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78(4):2591-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.4.2591>.
- [26] Yagi S, Fukuda D, Aihara K-I, Akaiki M, Shimabukuro M & Sata M. N-3 polyunsaturated fatty acids: Promising nutrients for preventing cardiovascular disease. *J Atheroscler Thromb* 2017;24(10): 999-1010. <https://doi.org/10.5551/jat.rv17013>.
- [27] Goel A, Pothaneni N, Singhal M, Paydak H, Saldeen T, Mehta J. Fish, fish oils and cardioprotections: Promise or fish tale? *Int J Mol Sci*. 2018;19(12).
- [28] Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 2002 ;21(6):495-505. doi: 10.1080/07315724.2002.10719248.
- [29] Alves RRN, Rosa IL. Trade of Animals Used in Brazilian Traditional Medicine: Trends and Implications for Conservation. *Hum Ecol* 2010; 38:691–704.
- [30] Jiang ZY, Hunt JV, Wolff SP. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Anal Biochem* 1992; 202:384–9. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(92\)90122-n](https://doi.org/10.1016/0003-2697(92)90122-n).
- [31] Wojtunik-Kulesza KA, Oniszczyk A, Oniszczyk T, Waksmundzka-Hajnos M. The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. *Biomed Pharmacother* 2016;78:39–49. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.12.024>.
- [32] Carlson SE, Colombo J. Docosahexaenoic Acid and Arachidonic Acid Nutrition in Early Development. *Adv Pediatr* 2016;63:453–71. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2016.04.011>.
- [33] Cardoso CRB, Souza MA, Ferro EAV, Favoreto S, Pena JDO. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. *Wound Repair Regen* 2004;12:235–43. <https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2004.012216.x>.
- [34] Ren XL, Liu Y, Chu WJ, Li ZW, Zhang SS, Zhou ZL, Tang J, Yang B. Blood levels of omega-6 fatty acids and coronary heart disease: a systematic review and metaanalysis of observational epidemiology. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2023;63(26):7983-7995. doi: 10.1080/10408398.2022.2056867.
- [35] Ip WT, McAlindon A, Miller SE, Bell JR, Curl CL, Huggins CE, Mellor KM, Raaijmakers AJ, Bienvenu LA, McLennan PL, Pepe S, Delbridge LM. Dietary omega-6 fatty acid replacement selectively impairs cardiac functional recovery after ischemia in female (but not male) rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016;311(3):H768-80. doi: 10.1152/ajpheart.00690.2015.
- [36] Braun MC, Herring SM, Gokul N, Monita M, Bell R, Zhu Y, et al. Hypertensive Renal Injury Is Associated With Gene Variation Affecting Immune Signaling. *Circ Cardiovasc Genet* 2014;7:903-910. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.114.000533>.
- [37] Wirz H, Geigy JR. Kidney, Water and Electrolyte Metabolism. *Annu Rev Physiol* 1961;23:577-606. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.23.030161.003045>.
- [38] Kasper P, Martin A, Lang S, Kütting F, Goeser T, Demir M, et al. NAFLD and cardiovascular diseases: a clinical review. *Clin Res Cardiol* 2021;110:921–37. <https://doi.org/10.1007/s00392-020-01709-7>.

6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos nos permitem sugerir que o tratamento prolongado com óleo de *Caiman yacare* induz efeitos hipolipemiantes, previne a disfunção endotelial e modula parcialmente a função renal. Não observamos efeitos anti-hipertensivos significativos, bem como atividades antioxidantes e anti-inflamatórias sistêmicas.

Table 1. Fatty acid composition (g/100 gram of oil) of the *Caiman yacare* viscera fata oil determined by gas chromatography.

Carbon chain	Fatty acid name	Content (g/100 g)
<i>Saturated fat</i>		
C6:0	Caproic acid	0.99
C8:0	Caprylic acid	0.38
C10:0	Capric acid	0.02
C12:0	Lauric acid	0.07
C13:0	Tridecanoic acid	0.07
C14:0	Myristic acid	3.04
C16:0	Palmitic acid	27.44
C18:0	Stearic acid	12.08
C20:0	Arachidic acid	0.13
C22:0	Behenic acid	0.08
C23:0	Tricosanoic acid	0.11
C24:0	Lignoceric acid	0.07
<i>Total unsaturated</i>		44.48
<i>Monounsaturated fat</i>		
C16:1	Palmitoleic acid	4.63
C17:1	Heptadecenoic acid	0.09
C18:1n9c	Oleic acid	39.19
C20:1	Gadoleic acid	2.28
C24:1n9	Nervonic acid	4.39
<i>Total monounsaturated</i>		50.58
<i>Polyunsaturated fat</i>		
C18:2n6t	Linolelaidic acid	1.13
C18:2n6c	Linoleic acid	0.17
C20:2	Eicosadienoic acid	2.46
C20:4n6	Arachidonic acid	0.09
C20:3n3	Eicosatrienoic acid	0.02
C20:5n3	Eicosapentaenoic acid	0.31
C22:2	Docosadienoic acid	0.34
<i>Total polyunsaturated</i>		4.52
<i>Total fats</i>		99.58

Table 2. Effects of oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg), and rosuvastatin (ROSU) on urinary parameters on the 1st day of treatment

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
Urinary volume (mL/100g/8h)	2.5 ± 0.70	5.5 ± 0.98 ^a	5.1 ± 2.28 ^a	5.1 ± 1.47 ^a	4.1 ± 1.39 ^a	5.1 ± 1.91 ^a	4.9 ± 2.14 ^a
pH	7.3 ± 0.46	7.3 ± 0.65	7.87 ± 0.47	7.64 ± 0.35	7.84 ± 0.35	7.99 ± 0.34	8.00 ± 0.35
Density	1019 ± 2.22	1015 ± 3.21	1014 ± 5.39	1014 ± 3.99	1014 ± 3.90	1013 ± 3.72	1012 ± 3.73
Sodium (mmol/L)	112.4 ± 8.5	137.2 ± 9.1 ^a	142.1 ± 10.6 ^a	135.7 ± 12.4 ^a	151.4 ± 15.7 ^a	144.5 ± 13.4 ^a	139.1 ± 12.7 ^a
Potassium (mmol/L)	37.1 ± 3.6	45.2 ± 3.1 ^a	50.1 ± 5.6 ^a	47.3 ± 4.9 ^a	53.2 ± 6.8 ^a	49.1 ± 5.4 ^a	46.7 ± 5.2 ^a
Chloride (mmol/L)	133.1 ± 14.7	167.2 ± 13.1 ^a	170.6 ± 15.3 ^a	164.2 ± 11.8 ^a	171.4 ± 12.1 ^a	168.1 ± 13.2 ^a	166.4 ± 12.5 ^a
Bicarbonate (mmol/L)	207.2 ± 25.3	210.3 ± 18.4	205.7 ± 19.5	202.9 ± 21.6	212.4 ± 22.7	205.3 ± 20.2	209.1 ± 21.6

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 3. Effects of oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg) and, rosuvastatin (ROSU) on urinary parameters on the 28st day of treatment

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
Urinary volume (mL/100g/8h)	3.1 ± 1.10	1.8 ± 0.74	2.1 ± 0.88	2.1 ± 0.63	1.5 ± 0.56 ^a	1.6 ± 0.71 ^a	1.6 ± 0.71 ^a
pH	7.7 ± 0.08	6.5 ± 0.88 ^a	6.5 ± 0.55 ^a	6.4 ± 0.22 ^a	6.0 ± 0.18 ^a	6.7 ± 0.45 ^a	6.5 ± 0.47 ^a
Density	1020 ± 3.15	1019 ± 3.35	1021 ± 2.45	1023 ± 3.60	1025 ± 5.32	1024 ± 6.19	1015 ± 1.10
Sodium (mmol/L)	106.3 ± 7.3	110.2 ± 8.1	105.1 ± 7.3	102.5 ± 9.9	104.1 ± 8.0	112.6 ± 9.2	101.8 ± 8.2
Potassium (mmol/L)	34.2 ± 4.1	32.4 ± 5.2	32.6 ± 4.2	30.5 ± 4.0	31.5 ± 3.8	34.4 ± 4.9	33.3 ± 4.1
Chloride (mmol/L)	125.4 ± 11.8	122.3 ± 13.8	127.6 ± 11.3	130.3 ± 13.3	129.3 ± 13.1	126.5 ± 13.5	131.7 ± 15.6
Bicarbonate (mmol/L)	201.1 ± 22.5	204.1 ± 20.1	198.7 ± 21.6	189.1 ± 20.4	200.5 ± 19.4	195.8 ± 24.1	202.6 ± 22.6

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 4. Effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/kg), and rosuvastatin (ROSU) on electrocardiography

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
<i>Segments (ms)</i>							
PR	38.8 ± 3.24	47.4 ± 6.75 ^a	45.3 ± 3.62	48.7 ± 4.92 ^a	44.7 ± 7.35	45.3 ± 3.14	41.7 ± 4.64
QRS	36.5 ± 2.99	35.9 ± 2.21	35.7 ± 2.82	36.5 ± 2.37	37.6 ± 4.81	35.3 ± 3.33	37.1 ± 2.78
QT	72.4 ± 10.45	73.0 ± 8.25	71.1 ± 12.84	77.3 ± 12.11	70.4 ± 6.20	69.0 ± 4.01	70.0 ± 9.73
QTc	197.9 ± 27.81	184.4 ± 22.77	186.3 ± 26.76	205.9 ± 29.45	183.3 ± 16.55	173.5 ± 28.13	184.1 ± 26.05
<i>Waves (mV)</i>							
P	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.03	0.07 ± 0.04	0.06 ± 0.02
Q	0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01
R	0.22 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.26 ± 0.05	0.22 ± 0.06	0.27 ± 0.05	0.26 ± 0.06
S	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.03 ± 0.01	-0.03 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.01	-0.03 ± 0.01

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 5. Effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg), and rosuvastatin (ROSU) on blood pressure and heart rate values

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
PAS (mm Hg)	125.9 ± 11.38	152.3 ± 14.27 ^a	160.3 ± 14.48 ^a	151.8 ± 11.66 ^a	154.4 ± 10.76 ^a	161.9 ± 14.65 ^a	165.6 ± 13.03 ^a
PAD (mm Hg)	62.3 ± 9.30	92.3 ± 8.06 ^a	99.7 ± 9.15 ^a	90.4 ± 9.77 ^a	92.7 ± 11.02 ^a	94.4 ± 10.11 ^a	83.1 ± 15.39
PAM (mm Hg)	96.1 ± 11.21	121.4 ± 8.04 ^a	121.8 ± 8.46 ^a	120.0 ± 7.67 ^a	124.7±17.89	127.7 ± 13.97 ^a	118.4 ± 18.13
FC (bpm)	387.9 ± 23.97	292.9 ± 13.07 ^a	326.6 ± 9.28 ^a	323.6 ± 20.03 ^a	324.9 ± 38.36 ^a	318.5 ± 20.63 ^a	294.3 ± 33.60 ^a

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n= 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 6. Effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg), and rosuvastatin (ROSU) on mesenteric vascular be reactivity

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5mg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
<i>Phe (nmol)</i>							
1	10.88 ± 4.23	13.01 ± 4.33	8.54 ± 5.44	6.70 ± 2.55	6.29 ± 3.96	7.18 ± 3.58	5.49 ± 2.47
3	22.11 ± 5.21	19.33 ± 6.12	20.02 ± 6.21	25.11 ± 7.12	22.47 ± 8.44	20.21 ± 4.99	20.54 ± 8.77
10	56.5 ± 10.44	59.21 ± 11.32	45.99 ± 9.77	46.00 ± 11.22	55.12 ± 9.33	58.44 ± 10.03	59.13 ± 17.21
30	108.4 ± 12.77	155.35 ± 23.25 ^a	92.34 ± 14.66 ^b	85.52 ± 20.33 ^b	77.3 ± 18.12 ^b	104.2 ± 17.22 ^b	86.2 ± 18.22 ^b
<i>ACh (pmol)</i>							
1	-4.83 ± 1.73	-6.95 ± 2.11	-5.12 ± 1.44	-5.22 ± 2.11	-4.23 ± 2.55	-5.21 ± 2.24	-5.66 ± 1.44
3	-32.33 ± 8.21	-12.11 ± 8.55 ^a	-24.18 ± 11.43 ^b	-20.09 ± 13.12 ^b	-17.12 ± 9.88 ^b	-30.98 ± 13.21 ^b	-31.52 ± 15.44 ^b
10	-36.32 ± 12.33	-20.86 ± 8.90	-30.32 ± 10.11	-29.11 ± 10.12	-37.40 ± 14.77	-28.44 ± 12.91	-43.37 ± 14.86
30	-44.54 ± 14.56	-39.03 ± 13.11	-32.57 ± 11.20	-38.44 ± 16.04	-29.70 ± 13.14	-36.06 ± 15.22	-41.81 ± 18.96
<i>SNP (pmol)</i>							
0.3	-4.70 ± 2.11	-4.70 ± 2.61	-3.94 ± 1.31	-3.94 ± 1.64	3.97 ± 1.88	-3.83 ± 2.87	-4.68 ± 2.11
1	-7.33 ± 3.21	-7.01 ± 3.41	-6.61 ± 2.54	-7.31 ± 2.47	-7.75 ± 2.11	3.41 ± 2.05	-3.35 ± 1.77
3	-15.22 ± 6.21	-15.55 ± 7.22	-15.98 ± 6.44	-16.75 ± 4.09	-12.81 ± 4.26	-11.54 ± 5.65	-12.13 ± 4.67
10	22.00 ± 10.11	23.02 ± 10.09	23.53 ± 9.12	-24.21 ± 10.51	24.11 ± 11.04	18.73 ± 9.16	-19.25 ± 10.26

The values represent the changes in pressure (mm Hg) after the administration of Phe, ACh, or NPS compared to the baseline perfusion pressure. Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. ^b p ≤ 0.05 when compared to NC. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 7. Effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg), and rosuvastatin (ROSU) on serum biochemical parameters

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
AST (U/L)	58.1 ± 8.9	65.2 ± 10.6	67.1 ± 7.7 ^a	69.2 ± 9.34	60.6 ± 8.86	66.5 ± 9.01	65.7 ± 9.92
ALT (U/L)	35.2 ± 6.62	42.7 ± 8.25	62.6 ± 8.86 ^a	40.5 ± 7.49	43.1 ± 9.77	48.1 ± 9.95	39.4 ± 8.21
TG (mg/dL)	62.1 ± 6.11	199.2 ± 12.32 ^a	102.2 ± 11.33 ^{ab}	204.3 ± 12.44 ^{ac}	182.4 ± 12.23 ^{ac}	179.2 ± 11.23 ^{ac}	176.4 ± 13.33 ^{ac}
TC (mg/dL)	101.4 ± 7.77	342.8 ± 33.71 ^a	175.2 ± 16.77 ^{ab}	322.4 ± 32.11 ^{ac}	285.5 ± 33.65 ^{ac}	221.8 ± 21.4 ^{abcde}	206.6 ± 18.9 ^{abcde}
HDL-C (mg/dL)	40.2 ± 5.23	88.3 ± 7.65 ^a	65.1 ± 4.21 ^{ab}	79.3 ± 8.21 ^a	81.4 ± 6.54 ^a	84.8 ± 6.33 ^a	75.9 ± 6.21 ^a
LDL-C (mg/dL)	38.7 ± 5.66	146.8 ± 14.8 ^a	73.6 ± 6.32 ^{ab}	133.8 ± 12.77 ^{ac}	127.6 ± 11.96 ^{ac}	112.4 ± 9.53 ^{abcde}	105.2 ± 10.23 ^{abcde}
VLDL-C (mg/dL)	19.6 ± 2.11	81.2 ± 7.67 ^a	40.7 ± 5.21 ^{ab}	77.2 ± 6.01 ^{ac}	75.9 ± 5.22 ^{ac}	56.1 ± 5.21 ^{abcde}	54.1 ± 5.44 ^{abcde}
oxLDL (ng/mL)	0.19 ± 0.03	1.67 ± 0.09 ^a	1.03 ± 0.07 ^{ab}	1.58 ± 0.07 ^{ac}	1.49 ± 0.08 ^{ac}	1.26 ± 0.08 ^{abcde}	1.28 ± 0.07 ^{abcde}
NT (µmol/L)	0.012 ± 0.003	0.052 ± 0.006 ^a	0.024 ± 0.005 ^{ab}	0.051 ± 0.007 ^{ac}	0.060 ± 0.008 ^{ac}	0.087 ± 0.007 ^{abcde}	0.033 ± 0.005 ^{abdef}
MDA (mmol/L)	1.33 ± 0.07	5.12 ± 0.27 ^a	3.55 ± 0.19 ^{ab}	5.33 ± 0.32 ^{ac}	5.25 ± 0.38 ^{ac}	7.88 ± 0.31 ^{abcde}	3.70 ± 0.33 ^{abdef}
sVCAM-1 (ng/L)	2.11 ± 0.22	4.76 ± 0.46 ^a	3.83 ± 0.39 ^{ab}	4.55 ± 0.39 ^{ac}	4.63 ± 0.39 ^{ac}	4.82 ± 0.40 ^{ac}	4.04 ± 0.40 ^a
sICAM-1 (ng/L)	4.62 ± 0.51	10.21 ± 0.72 ^a	7.66 ± 0.78 ^{ab}	9.35 ± 0.88 ^{ac}	9.82 ± 0.73 ^{ac}	9.99 ± 0.97 ^{ac}	8.74 ± 0.90 ^a
IL-6 (ng/L)	152.4 ± 15.21	316.8 ± 31.7 ^a	252.5 ± 20.12 ^{ab}	327.5 ± 29.6 ^{ac}	333.2 ± 35.4 ^{ac}	421.6 ± 28.3 ^{abcde}	252.5 ± 20.12 ^{abdef}
IL-1 beta (pg/mL)	352.2 ± 21.65	578.9 ± 52.8 ^a	449.1 ± 34.93 ^{ab}	566.7 ± 49.2 ^{ac}	572.1 ± 56.4 ^{ac}	692.2 ± 51.2 ^{abcde}	435.4 ± 40.11 ^{abdef}
Urea (mg/dL)	30.1 ± 3.12	62.1 ± 5.33 ^a	46.1 ± 4.31 ^{ab}	56.7 ± 6.21 ^a	59.9 ± 6.77 ^a	44.5 ± 4.21 ^{ab}	47.2 ± 4.00 ^{ab}
Creatinine (mg/dL)	0.32 ± 0.06	1.82 ± 0.12 ^a	1.42 ± 0.09 ^{ab}	1.66 ± 0.13 ^a	1.59 ± 0.15 ^a	1.40 ± 0.10 ^{ab}	1.45 ± 0.13 ^{ab}

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. ^b p ≤ 0.05 when compared to NC. ^c p ≤ 0.05 when compared to ROSU. ^d p ≤ 0.05 when compared to OJ 19 mg/kg. ^e p ≤ 0.05 when compared to OJ 56 mg/kg. ^f p ≤ 0.05 when compared to OJ 168 mg/kg. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 8. Effects of oral prolonged treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), OP (56 mg/ kg) and rosuvastatin (ROSU) on relative organ weight

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
Liver	3.02 ± 0.29	4.86 ± 0.37 ^a	5.09 ± 0.42 ^a	4.89 ± 0.19 ^a	4.73 ± 0.33 ^a	4.78 ± 0.27 ^a	4.87 ± 0.20 ^a
Right kidney	0.33 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.37 ± 0.05	0.33 ± 0.03
Left kidney	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.05
Heart	0.23 ± 0.02	0.35 ± 0.03 ^a	0.35 ± 0.02 ^a	0.34 ± 0.02 ^a	0.34 ± 0.03 ^a	0.34 ± 0.02 ^a	0.35 ± 0.02 ^a

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet.

Table 9. Effects of prolonged oral treatment with OJ (19, 56, and 168 mg/kg), rosuvastatin (ROSU) and OP (56 mg/kg) on cardiac and arterial morphometry

Parameter	Naïve	NC	ROSU (5 mg/kg)	OJ (19 mg/kg)	OJ (56 mg/kg)	OJ (168 mg/kg)	OP (56 mg/kg)
LV wall thickness (mm)	0.97 ± 0.13	1.48 ± 0.37 ^a	1.41 ± 0.34 ^a	1.25 ± 0.28 ^a	1.43 ± 0.26 ^a	1.32 ± 0.18 ^a	1.32 ± 0.38 ^a
RV wall thickness (mm)	0.56 ± 0.14	0.92 ± 0.17 ^a	1.13 ± 0.43 ^a	1.30 ± 0.26 ^a	0.98 ± 0.16 ^a	0.99 ± 0.17 ^a	1.09 ± 0.09 ^a
IS thickness (mm)	1.73 ± 0.36	2.39 ± 0.38 ^a	2.72 ± 0.25 ^a	2.75 ± 0.41 ^a	2.84 ± 0.36 ^a	2.99 ± 0.24 ^a	2.75 ± 0.46
IMT-LCCA (mm)	0.62 ± 0.08	0.81 ± 0.09 ^a	0.63 ± 0.10 ^b	0.95 ± 0.11 ^{ac}	0.84 ± 0.12 ^{ac}	0.71 ± 0.12	0.79 ± 0.18
IMT-LSA (mm)	0.49 ± 0.07	0.92 ± 0.07 ^a	0.55 ± 0.08 ^b	0.87 ± 0.09 ^{ac}	0.87 ± 0.11 ^{ac}	0.72 ± 0.16	0.70 ± 0.19

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Bonferroni. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). n = 7-8 rats per group. ^a p ≤ 0.05 when compared to naïve. ^b p ≤ 0.05 when compared to NC. ^c p ≤ 0.05 when compared to ROSU. OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; OP: hypertensive animals that were treated with fish oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet. AA: aortic arc; IS: interventricular septum; IMT-LCCA: intima-media thickness of left common carotid artery; IMT-LSA: intima-media thickness of left subclavian artery; LV: left ventricle; RV: Right ventricle.

Legend to figures

Figure 1. Representative histological sections of the heart and liver in different experimental groups: NAIVE, CN, ROSU, OJ (19, 56, and 168 mg/kg), and OP (56 mg/kg). OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet. In heart, the black arrows show an area of ischemic necrosis. In liver, the arrowheads present lipid droplets. In liver, the asterisks indicate cell death with mild inflammation.

Figure 2. Representative histological sections of the left common carotid and left subclavian arteries in different experimental groups: NAIVE, CN, ROSU, and OJ (19, 56, and 168 mg/kg). OJ: hypertensive animals that received different doses of alligator oil + atherogenic diet; ROSU: hypertensive animals that were treated with rosuvastatin (5mg/kg) + atherogenic diet; Naïve: Normotensive animals treated with vehicle (tween); NC: negative control; hypertensive rats treated with vehicle + atherogenic diet. In carotid artery, the black arrow indicates the presence of a lipid streak.

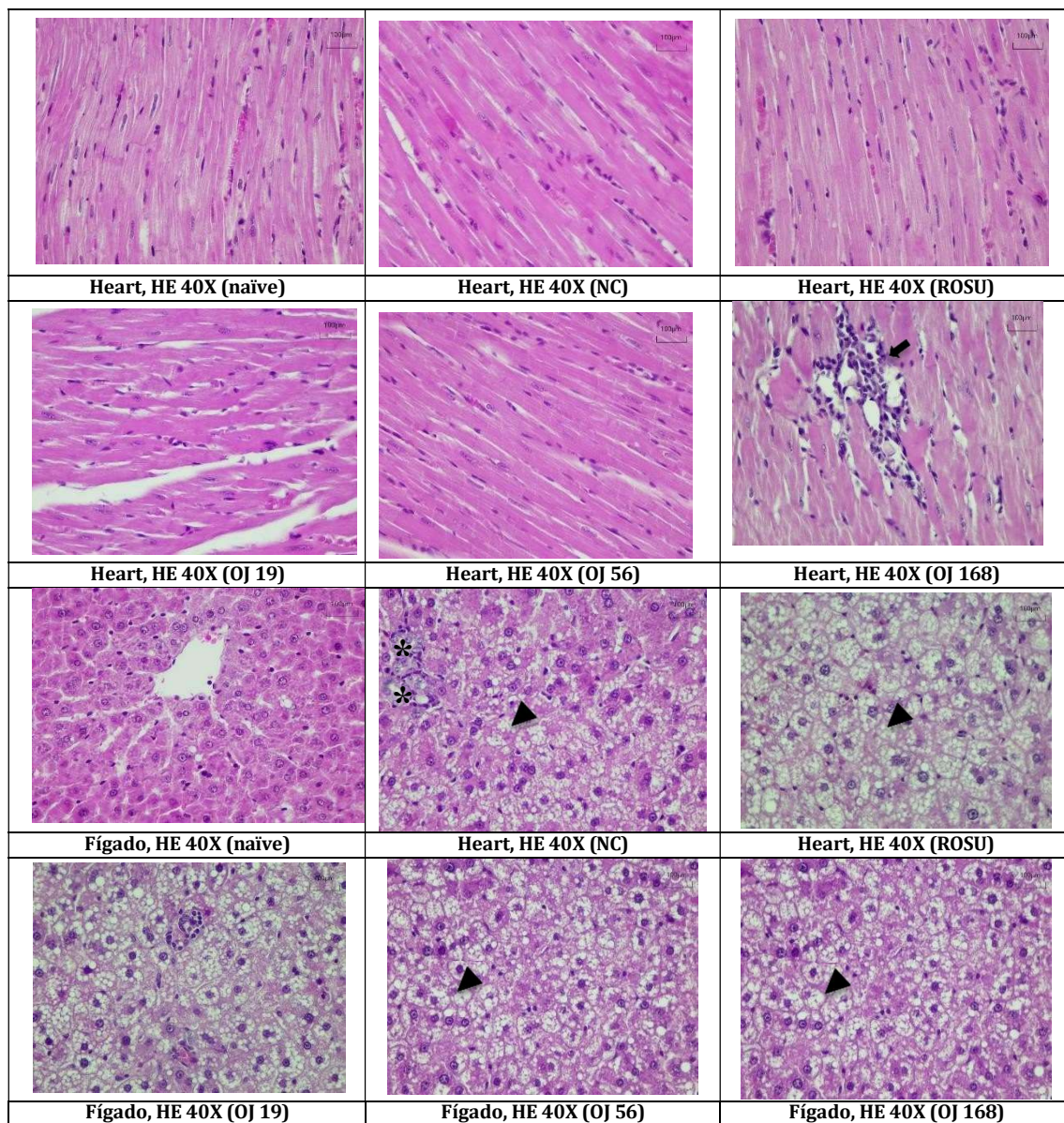


Figura 1
Barbosa et al.

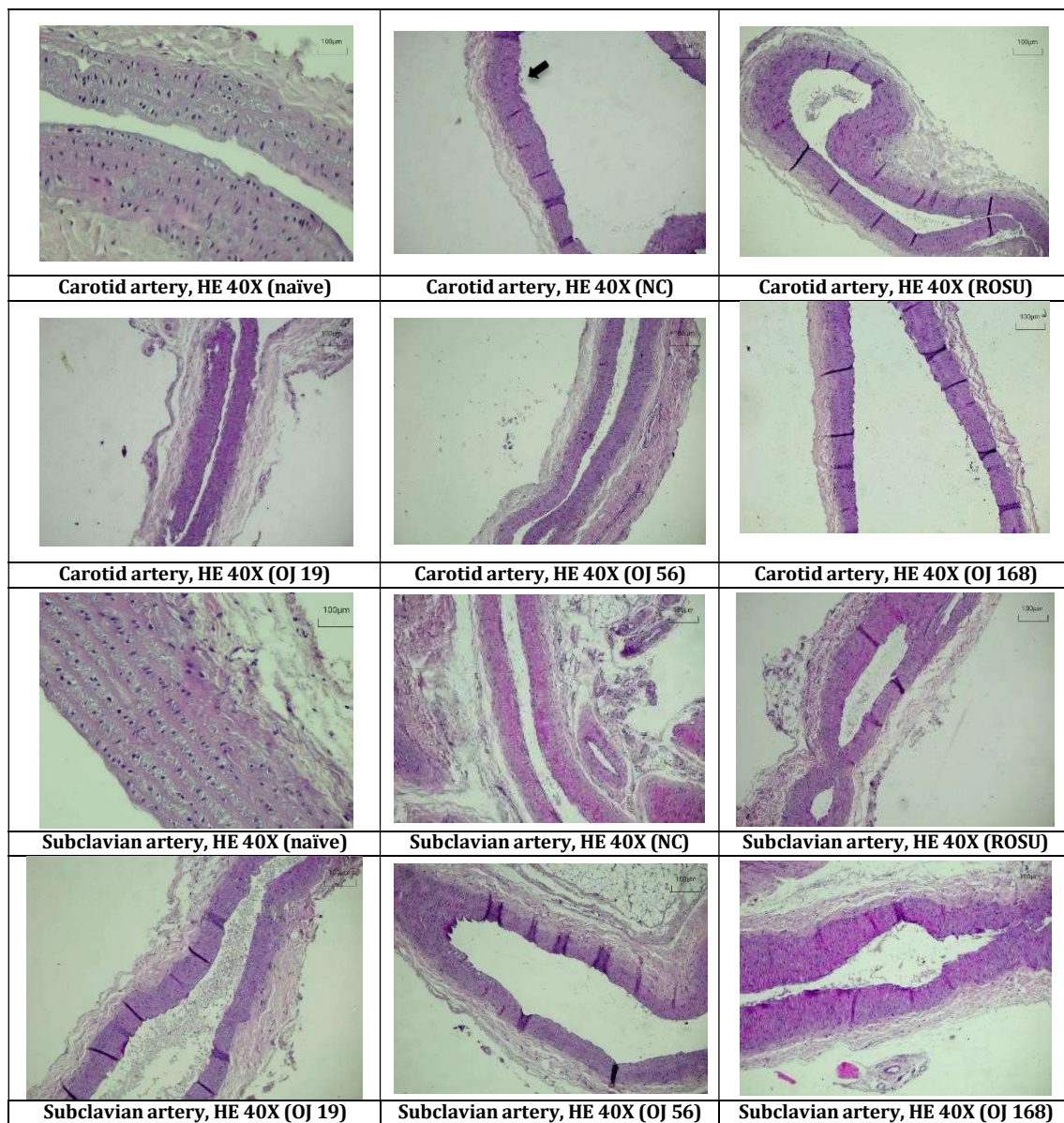


Figure 2
Barbosa et al.

7 ANEXOS

7.1 Aprovação do Comitê de Ética do Uso de Animais em pesquisa (CEUA)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Dourados-MS, 8 de setembro de 2022.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **"INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS HIPOLIPEMIANTES E ANTIATEROTOGÊNICOS DO ÓLEO DA CARÇA DO JACARÉ (*Caiman yacare* L.) EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS SUBMETIDOS À DIETA ATEROGÊNICA"**, registrada sob o protocolo de nº 23/2022, sob a responsabilidade de **Arquimedes Gasparotto Junior** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal Da Grande Dourados, em reunião de 11/08/2022.

<i>Finalidade</i>	() Ensino (X) Pesquisa Científica
<i>Vigência do projeto de pesquisa</i>	01/10/2022 a 01/08/2023
<i>Espécie/linhagem/raça</i>	<i>Rattus norvegicus</i> - Ratos Wistar e SHR
<i>Nº de animais</i>	60 animais (10 Wistar e 50 SHR)
<i>Peso/idade</i>	300g / 3 meses
<i>Sexo</i>	machos
<i>Procedência</i>	Biotério Central UFGD

Daniela Torres Cantadori
Coordenadora em exercício CEUA/UFGD

7.2 ICMBio



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 58681-1	Data da Emissão: 04/05/2017 11:33	Data para Revalidação*: 03/06/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Leandro Nogueira Pressinotti	CPF: 290.492.868-52
Título do Projeto: BIOPROSPECÇÃO EM DOIS ÓLEOS EXTRAÍDOS DE SUBPRODUTOS DO ABATE REGULAR DE Calman yacare (DAUDIN, 1802)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO	CNPJ: 01.367.770/0001-30

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta das glândulas e da esteatoleca	05/2017	04/2018
2	Experimentos de cicatrização	07/2017	09/2017
3	Experimentos de atividade antimicrobiana	09/2017	12/2017
4	Experimentos de atividade citotóxica	01/2018	05/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anulações previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DADAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	O estudo contempla o acesso ao PATRIMÔNIO GENÉTICO, definido pela MP 2186-16/01, como: "qualquer atividade que vise a obtenção de amostra de componente do patrimônio genético, isto é, atividade que objetive isolar, identificar ou utilizar informação de origem genética, em moléculas ou substâncias provenientes do metabolismo de ser vivo e extrato obtido deste, para fins de pesquisa científica, desenvolvimento tecnológico ou bioprospecção, visando a aplicação industrial ou de outra natureza. Desta forma, esta autorização SISBIO não desobriga o interessado da necessidade de obtenção de licenças e/ou autorizações que se fizerem necessárias perante o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (http://www.mma.gov.br/patrimonio-genetico/conselho-de-gestao-do-patrimonio-genetico).
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Natasha Rayane de Oliveira Lima	Aluna de Mestrado	034.629.151-85	20225830 SSP-MT	Brasileira
2	Lucas Polizelli Azevedo	Aluno de Mestrado	025.102.851-81	1959888-2 SSP-MT	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 19163337





Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SisBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 6881-1	Data de Emissão: 04/05/2017 11:33	Data para Revitalização: 04/05/2018
* De acordo com o art. 25 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser renovada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades e ser enviada por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Leandro Nogueira Presencini	CPF: 260.482.868-52
Título do Projeto: BIOPROSPECÇÃO EM DOIS ÓLEOS EXTRAÍDOS DE SUBPRODUTOS DO ABATE REGULAR DE <i>Calman jacare</i> (DAUDIN, 1800)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO	CNPJ: 01.367.770/0001-36

Local onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CACERES	MT	Cooperativa de Crustáceos de Jacaré do Pontal	Poa de LC Pontal

Atividades X Taxons

#	Atividade	Taxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	<i>Calman jacare</i>

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Moluscos)	Outras amostras biológicas (Caras e estruturas dos restos do abate regular)
---	--------------------------------	---

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi emitido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 19163337



Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 60001-1	Data de Emissão: 04/06/2017 11:00	Data para Revulgação: 04/06/2018
* De acordo com o art. 29 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revogada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data da aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Leandro Nogueira Presencini	CPF: 260.492.808-52
Título do Projeto: BIOPROSPECÇÃO EM DOIS ÓLEOS EXTRAÍDOS DE SUBPRODUTOS DO ABATE REGULAR DE <i>Calamus jacare</i> (DAUDIN, 1802)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO	CNPJ: 01.367.770/0001-06

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplada na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Taxon	Qde.	Tipo de amostra	Qde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Acesso ao código de autenticação Sisbio, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 18163337



Página 5/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SIBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68801-1	Data da Emissão: 04/05/2017 11:33	Data para Renovação*: 04/05/2018
* De acordo com o art. 29 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser renovada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do SIBIO no prazo de até 30 dias a contar da data da aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Leandro Nogueira Previcostil	CPF: 360.482.808-52
Título do Projeto: BIOPROSPECÇÃO EM DOIS ÓLEOS EXTRAÍDOS DE SUBPRODUTOS DO ABATE REGULAR DE <i>Colman yacare</i> (DAUDIN, 1833)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO	CNPJ: 01.367.770/0001-08

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do SIBIO/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sibio).

Código de autenticação: 19163337



Página 4/4