Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Renata Cristina da Silva

Farinha do caroço de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): caracterização e efeitos da adição desta farinha em modelo murino de obesidade induzida por dieta

Rio de Janeiro
2016

Renata Cristina da Silva

Farinha do caroço de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): caracterização e efeitos da adição desta farinha em modelo murino de obesidade induzida pordieta

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.ª Dra. Ângela de Castro Resende

Coorientador: Prof. Dr. Julio Beltrame Daleprane

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S586 Silva, Renata Cristina da.
Farinha do caroço de açaí (*Euterpe oleracea Mart*.): caracterização e efeitos da adição desta farinha em modelo murino de obesidade induzida por dieta / Renata Cristina da Silva. – 2016.
70 f.

Orientadora: Ângela de Castro Resende.
Coorientador: Julio Beltrame Daleprane.
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biociências.

1. Açaí - Uso terapêutico - Teses. 2. Obesidade - Teses. 3. Nutrição – Metabolismo - Teses. I. Resende, Ângela de Castro. II. Daleprane, Julio Beltrame. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV Título.

CDU 616-056.52

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Renata Cristina da Silva

Farinha do caroço de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): caracterização e efeitos da adição desta farinha em modelo murino de obesidade induzida por dieta

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 24 de junho de 2016.

Coorientador: Prof. Dr. Julio Beltrame Daleprane
Instituto de Nutrição - UERJ

Banca examinadora:

_____
Prof.ª Dra. Ângela de Castro Resende (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

_____
Prof. Dr Gilson Teles Boaventura
Universidade Federal Fluminense

_____
Prof.ª Dra. Vanessa Souza-Mello
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Rio de Janeiro
2016

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Fatima Regina da Silva, que desde o início da graduação, tem suportado a distância e a saudade. E que, mesmo nos dias mais difíceis, me deu forças para seguir meus sonhos, acreditando mais em mim do que qualquer outra pessoa (até eu mesma, eventualmente). Obrigada por ser essa mãe tão maravilhosa, eu te amo!

Ao meu irmão, Rafhael da Silva Aragão, que durante o mesmo tempo tem sido a rocha da nossa família e o responsável por assegurar que nossa mãe receba sempre o carinho equivalente aos dois filhos.

Aos meus orientadores, Ângela de Castro Resende e Julio Beltrame Daleprane por abrirem as portas do laboratório para mim desde a iniciação científica, por acreditarem e confiarem no meu trabalho e competência e, principalmente, por terem sido os responsáveis por me colocar no caminho da ciência. Vocês são fonte de inspiração e de exemplo que levarei para o resto da vida.

Dayan C. R. S. de Oliveira, amor da minha vida, por compartilhar e entender o meu sonho. Por ter sido fonte inesgotável de amor e carinho durante 6 anos (e contando!) e por ter sido o maior entusiasta da minha caminhada. Se eu fizer por você o que você faz por mim, então minha felicidade estará sempre completa.

Às amigas, Izabelle e Graziele, por terem sido muito mais que amigas. Vocês me ensinaram praticamente tudo o que precisei durante esses dois anos e compartilharam a sabedoria, os dias, as risadas e a vida comigo. Sou muito grata por trabalhar com pessoas tão maravilhosas! Obrigada pelo apoio e reflexões críticas.

Aos companheiros de laboratório, Elisa, Elaine, Paula, Flávia, Ricardo, Douglas, Aline, Patrícia, Victor, Viviane, Cristiane, Dayane e Lenise, por terem dividido comigo durante o mestrado, alegrias, sabedoria, tempo de espera entre os experimentos, almoços e muitas outras coisas. Saibam que os dias passaram ainda mais rápido porque contei com a companhia de pessoas maravilhosas que fizeram do trabalho a minha segunda casa.

À profª. Drª Vanessa Souza-Mello, com quem tive o prazer de ter aulas ainda na graduação e que me ensinou ainda mais durante o mestrado, e Tamiris Rachid, por me receberem tão carinhosamente e me ensinarem técnicas valiosas para o meu trabalho.

Aos amigos, Rodrigo, Luana, Claudeci, Rita, João Paulo, Nícollas, Ingrid, Amanda e Pamella, pelos momentos em que pude compartilhar da minha vida com vocês e receber em

troca carinho e momentos que foram tão importantes para que eu me mantivesse sã nos dias em que estava mais cansada.

Aos técnicos Renato e Mischele por me auxiliarem nas técnicas de histologia, sanando minhas dúvidas e permitindo que o meu trabalho apresentasse resultados maravilhosos a partir disso.

Aos professores que fizeram parte da banca e revisão, muito obrigada por ajudarem a construir meu trabalho da melhor forma possível. Pelo tempo, carinho e disposição com que receberam o fruto da minha dedicação a esse trabalho.

À toda a equipe do Laboratório para Estudos de Interações entre Nutrição e Genética (LEING) e do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular e Plantas Medicinais (LFCPM) por todo o suporte e carinho.

O sonho é uma fonte infinita de inspiração.

Luiz Tambucci

RESUMO

SILVA, Renata Cristina da. **Farinha do caroço de açaí (*Euterpe oleracea Mart*.): caracterização e efeitos da adição desta farinha em modelo murino de obesidade induzida por dieta**. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

A obesidade é um importante problema de saúde pública, principalmente por estar associada ao aparecimento de diferentes comorbidades. Diversos alimentos têm sido utilizados como estratégia para minimizar os efeitos deletérios da obesidade. O açaí, fruto típico brasileiro, tem apresentado grande potencial com efeitos benéficos à saúde. Parte do fruto, cerca de 85%, é composto pelo caroço, que é desprezado gerando grande impacto ambiental. O objetivo do trabalho foi caracterizar a farinha do caroço do açaí (FCA) e investigar os efeitos da adição dietética desta farinha no desenvolvimento da obesidade em modelo murino induzida por dieta. Camundongos machos C57BL/6 com 21 dias de vida foram divididos em cinco grupos: dieta padrão (CG); dieta padrão com FCA (CA30, dieta padrão contendo 30% da FCA); dieta hiperlipídica (HFD); dietas hiperlipídicas com FCA (HFA15 e HFA30, dieta hiperlipídica contendo 15% ou 30% da FCA, respectivamente) durante 12 semanas. Foi realizada a caracterização da FCA e avaliados o consumo alimentar, evolução ponderal, efeito de marcadores bioquímicos do estado nutricional e de toxicidade, assim como o efeito no metabolismo lipídico, expressão de proteínas envolvidas na lipogênese e metabolismo de colesterol e aspectos morfológicos dos tecidos adiposo e hepático. A análise estatística foi realizada utilizando análise de variância *one way* ANOVA ou Kruskall-Wallis com significância estatística para $p < 0,05$ e pós testes de Tukey ou Dunn. A FCA apresentou 91,1% de carboidratos, 6,7% de proteína e 2,2% lipídeos, além de 9,6% de fibras, sendo 9,3% de fibras insolúveis e 0,3% de fibras solúveis. A concentração média de polifenois totais da FCA estudada foi de 19,95 ± 2,7 mg GAE.g–1. Os animais que receberam dieta hiperlipídica apresentaram sobrepeso, maior quantidade de massa gorda, efeitos negativos nos parâmetros bioquímicos de estado nutricional e toxicológicos, maiores concentrações de glicose, insulina, leptina e maior índice de resistência à insulina, perfil lipídico alterado, presença de esteatose hepática e aumento da obesidade hipertrófica. A FCA apresentou efeito protetor no ganho de peso dos animais, melhora do perfil lipídico e preveniu a resistência à insulina, normalizando concentrações de glicose, insulina e leptina. Os resultados mostram que a FCA reduz a lipogênese, prevenindo o desenvolvimento de esteatose hepática e evitando o desenvolvimento da obesidade hipertrófica. Observou-se ainda, influência do consumo da FCA na modulação de proteínas envolvidas na síntese e excreção do colesterol. O aumento do peso fecal nos grupos que consumiram a FCA demonstra importante ação das fibras também na excreção de ácidos biliares e colesterol. O consumo da FCA também demonstrou resultados importantes no grupo CA30, indicando que seu uso traz benefícios também na dieta com baixo teor de lipídeos. Os parâmetros bioquímicos de estado nutricional e toxicidade não foram alterados com o consumo da FCA, sugerindo que não há efeitos tóxicos nem prejudiciais ao estado nutricional dos animais e que o uso preventivo da FCA no desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades possui ação protetora em ambos os grupos.

Palavras-chave: Açaí. Compostos bioativos. Obesidade.

ABSTRACT

SILVA, Renata Cristina da. **Açai Seed Flour (*Euterpe oleracea* Mart.): characterization and effects of the addition of this flour in a murine model of diet-induced obesity**. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

Obesity is a major public health problem, mainly by being associated with the appearance of different comorbidities. Several foods have been used as a strategy to minimize the deleterious effects of obesity. Açai, a typical Brazilian fruit, has shown great potential with beneficial health effects. Part of the fruit, about 85%, is composed of the stone that is discarded causing substantial environmental impact. The aim of this study was to characterize the açai seed flour (ASF) and investigate the effects of dietary addition of this flour in the diet-induced obesity in mice. Male mice C57BL/6 of 21 days-old were divided into five groups: standard diet (CG); standard diet with ASF (CA30, standard diet containing 30% ASF); high fat diet (HFD); high fat diets with ASF (HFA15 and HFA30, fat diet containing 15% or 30% ASF, respectively) for 12 weeks. Characterization of ASF was performed and were assessed food intake, weight gain, biochemical effects of nutritional markers status and toxicity, effect on lipid metabolism, proteins expression of lipogenesis, cholesterol metabolism and morphology of fat and liver tissues. For analysis of variance was used one way ANOVA or Kruskall-Wallis with statistical significance level of $p < 0.05$. ASF contains 91.1% carbohydrate, 6.7% protein, 2.2% lipids, and 9.6 % fiber (9.3% insoluble fibers and soluble fibers 0.3%). Total polyphenols of ASF was 19.95 ± 2.7 mg GAE.g-1. Animals receiving the high fat diet were overweight, with larger amount of fat mass, negative effects on biochemical parameters of nutritional status and toxic, higher concentrations of glucose, insulin, leptin and increased insulin resistance index, altered lipid profile, presence of hepatic steatosis and increased hypertrophic obesity. ASF showed protective effect upon weight gain and acted preventing insulin resistance and improves the lipid profile of animals, which had lower concentrations of glucose, insulin and leptin. Thus, ASF reduced lipogenesis preventing the development of fatty liver and hypertrophic obesity. It was also observed influence of consumption of ASF in the modulation of proteins involved in synthesis and excretion of cholesterol. The high fecal weight in the ASF group demonstrates a significant action of fibers in the excretion of bile acids and cholesterol. Consumption of ASF also showed important results in CA30 group, indicating that its use brings benefits in the low lipids diet. Biochemical parameters of nutritional status and toxicity were not altered with the ASF use, suggesting no toxic or harmful effects to the nutritional status in the animals and that the preventive use of FCA in development of obesity and its comorbidities include action in both groups.

Keywords: Açai. Bioactive compounds. Obesity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Remodelamento do tecido adiposo na maior oferta calórica..... 17
Figura 2 - Metabolismo lipídico hepático..... 20
Quadro 1 - Classificação das dislipidemias..... 21
Figura 3 - Palmeira de *Euterpe oleracea* Martius (açaí)..... 25
Figura 4 - Fruto inteiro e seccionado de *Euterpe oleracea* Martius (açaí)..... 25
Figura 5 - Etapas da obtenção do caroço do açaí..... 28
Quadro 2 - Composição centesimal da farinha do caroço do açaí..... 38
Figura 6 - Ganho ponderal dos animais com diferentes dietas..... 39
Figura 7 - Consumo da dieta por animal e por dia em gramas e em quilocalorias e digestibilidade proteica aparente das dietas oferecidas..... 40
Figura 8 - Efeito da adição da FCA na composição corporal..... 41
Figura 9 - Efeito da adição da FCA nas concentrações de glicose plasmática..... 43
Figura 10 - Efeito da adição da FCA nas concentrações séricas de insulina e no índice HOMA-IR..... 44
Figura 11 - Efeito da adição da FCA nas concentrações séricas de leptina..... 45
Figura 12 - Efeito da adição da FCA no perfil lipídico plasmático..... 46
Figura 13 - Efeito da adição da FCA no peso e volume hepáticos..... 47
Figura 14 - Efeitos da adição da FCA no perfil lipídico hepático..... 48
Figura 15 - Efeitos da adição de FCA na esteatose hepática..... 49
Figura 16 - Efeitos da adição da FCA na expressão de proteínas envolvidas na lipogênese..... 51
Figura 17 - Efeitos da adição da FCA na expressão de proteínas envolvidas na síntese e excreção do colesterol..... 52
Figura 18 - Efeitos da adição da FCA no tecido adiposo..... 53
Figura 19 - Efeitos da adição da FCA no tecido adiposo..... 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais..... 30
Tabela 2 - Marcadores bioquímicos de estado nutricional e avaliação da toxicidade da FCA 42
Tabela 3 - Efeitos do consumo da farinha do caroço açaí na excreção fecal de esteróis neutros..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACCα	Acetil-CoA carboxilase
AGL	Ácidos graxos livres
ALT	Alanina amino transferase
AMPK	AMP quinase ativada
ASE	*Açaí Seed Extract*
AST	Aspartato amino transferase
CA30	Grupo controle contendo 30% da farinha do caroço do açaí
CG	Grupo controle
CK	Creatina quinase
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DXA	*Dual-energy x-rayabsorptiometry*
FAS	Ácido graxo sintase
FCA	Farinha do caroço do açaí
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HE	Hematoxilina-eosina
HFA15	Grupo dieta hiperlipídica contendo 15% da farinha do caroço do açaí
HFA30	Grupo dieta hiperlipídica contendo 30% da farinha do caroço do açaí
HFD	Grupo dieta hiperlipídica
HMG-CoA redutase	3-Hidroxi-3-Metilglutaril Coenzima A redutase
HOMA-IR	*Homesostasis Model Assessment – Insulin resistance*
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
pAMPK	AMPK foforilada
RI	Resistência à insulina
SREBP	Proteínas de ligação ao elemento de regulação de esteróis
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	14
1	**REFERENCIAL TEÓRICO**.....	16
1.1	**Obesidade e alterações metabólicas**.....	16
1.2	**Metabolismo lipídico**.....	18
1.3	**Lipídeos e Dislipidemias**.....	20
1.4	**Alterações hepáticas na obesidade**.....	22
1.5	**Modelo experimental**.....	23
1.6	**Estratégias nutricionais como alternativas no manejo da obesidade**.....	23
1.7	**Açaí (*Euterpe oleracea* Martius)**.....	24
2	**OBJETIVOS**.....	27
2.1	**Objetivo geral**.....	27
2.2	**Objetivos específicos**.....	27
3	**MATERIAIS E MÉTODOS**.....	28
3.1	**Obtenção da farinha do caroço do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**.....	28
3.2	**Caracterização da farinha do caroço do açaí**.....	28
3.3	**Análise de compostos fenólicos totais na FCA**.....	29
3.4	**Dieta e Modelo experimental**.....	29
3.5	**Consumo alimentar e evolução ponderal**.....	31
3.6	**Digestibilidade proteica aparente**.....	31
3.7	**Composição Corporal**.....	32
3.8	**Medida da massa de gordura visceral**.....	32
3.9	**Medidas do Peso e Volume do Fígado**.....	32
3.10	**Análise Histológica do Fígado e do Tecido Adiposo**.....	32
3.11	**Morfologia do Fígado**.....	33
3.12	**Morfometria do Tecido Adiposo**.....	33
3.13	**Análises Bioquímicas**.....	33
3.13.1	Marcadores bioquímicos de estado nutricional e avaliação da toxicidade.....	33
3.13.2	Perfil lipídico.....	34
3.13.3	Glicemia.....	34
3.13.4	Insulina.....	34
3.13.5	Leptina.....	35

3.13.6 Índice HOMA-IR..... 35
3.13.7 Avaliação da excreção fecal de esteróis neutros..... 35
3.14 **Western Blot**..... 36
3.15 **Análises Estatísticas**..... 37
4 **RESULTADOS**..... 38
4.1 **Caracterização da farinha do caroço do açaí**..... 38
4.2 **Evolução ponderal**..... 39
4.3 **Consumo alimentar e digestão proteica aparente**..... 40
4.4 **Composição corporal**..... 41
4.5 **Marcadores bioquímicos de estado nutricional e avaliação da toxicidade**..... 42
4.6 **Glicemia**..... 43
4.7 **Resistência à Insulina**..... 44
4.8 **Leptina**..... 45
4.9 **Perfil Lipídico Plasmático**..... 46
4.10 **Peso e Volume do Fígado**..... 47
4.11 **Perfil Lipídico Hepático**..... 48
4.12 **Esteatose hepática**..... 49
4.13 **Excreção Fecal de esteróis neutros e ácidos biliares**..... 50
4.14 **Expressão de proteínas envolvidas na síntese de lipídeos e excreção de colesterol**..... 51
4.15 **Peso do tecido adiposo**..... 53
4.16 **Morfometria do tecido adiposo**..... 54
5 **DISCUSSÃO**..... 56
CONCLUSÃO..... 62
REFERÊNCIAS..... 63
ANEXO - Avaliação da Comissão de Ética..... 70

INTRODUÇÃO

A obesidade é um importante problema de saúde pública, principalmente por estar associada ao aparecimento de diversas doenças crônicas como o diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão arterial sistólica, aterosclerose, entre outras, que são responsáveis por um expressivo número de óbitos (JUNG; CHOI, 2014). No Brasil, mais da metade da população apresenta sobrepeso (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Portanto, a prevenção e o tratamento da obesidade são de grande importância, assim como a identificação dos fatores de risco modificáveis, como os hábitos alimentares e práticas de atividades físicas, possuindo grande relevância para as populações com sobrepeso e obesidade (SARTORELLI; FRANCO, 2003).

O balanço energético positivo crônico e o consequente estoque de triacilglicerol nas células adiposas, sobretudo na gordura visceral, levam a hipertrofia dos adipócitos (BAYS et al., 2008). Um adipócito disfuncional (hipertrófico) perde sua habilidade em estocar mais lipídeos, levando ao acúmulo ectópico dessa gordura em outros tecidos como o fígado, o músculo esquelético e o pâncreas (BADOUD et al., 2015; LEMOINE et al., 2012), contribuindo para o desenvolvimento da resistência à insulina e disfunção das células hepáticas e β pancreáticas, apresentando efeito lipotóxico.

A oferta energética exacerbada leva ao desenvolvimento de dislipidemias e alterações no metabolismo lipídico hepático, favorecendo o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) por gerar o aumento da massa corporal, hiperlipidemia e resistência à insulina (CARMIEL-HAGGAI, 2004).

Dietas ricas em componentes alimentares bioativos, como os compostos fenólicos e fibras, possuem um papel importante na manutenção da saúde e na redução dos riscos de obesidade e doenças crônicas associadas, podendo exercer um efeito protetor no ganho de peso (WEDICK et al., 2012). Por esse motivo, diversos alimentos têm sido utilizados como estratégia para minimizar os efeitos deletérios da obesidade.

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é um fruto típico da região Amazônica, sendo consumido amplamente em todo o território brasileiro em diversas preparações. Estudos prévios demonstram o potencial antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos da polpa e também do extrato do caroço do açaí, que exerce papel importante na redução da glicêmica, melhora da sensibilidade à insulina, do perfil lipídico e proteção no ganho excessivo de peso, além de possuir efeito vasodilatador dependente do endotélio, anti-hipertensivo e antioxidante (DA COSTA et al., 2012; DE BEM et al., 2014; DE OLIVEIRA et al., 2010, 2015; KANG et

al., 2012; ROCHA et al., 2007, 2008; SCHAUSS et al., 2006). Embora a polpa apresente características benéficas à saúde, o caroço, que corresponde a cerca de 85% do fruto, é descartado e gera um grande volume de resíduos com importante impacto ambiental.

Até o presente momento, os estudos realizados com o extrato do caroço do açaí demonstram grande potencial em modular componentes associados à obesidade. Acreditamos que a farinha do caroço do açaí apresente características similares às encontradas na polpa e no extrato do caroço, podendo ser um importante aliado na prevenção e tratamento de doenças relacionadas à obesidade e possibilitando o uso de forma integral do alimento. Assim, este estudo objetivou caracterizar a farinha do caroço do açaí e investigar os efeitos da adição desta farinha em modelo murino de obesidade induzida por dieta.

1 **REFERENCIAL TEÓRICO**

1.1 **Obesidade e alterações metabólicas**

A Organização Mundial de Saúde define a obesidade como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode impactar na saúde do indivíduo (WHO, 2013). No Brasil, mais da metade da população apresenta sobrepeso e 17,9% da população é classificada como obesa. O aumento da obesidade e de doenças associadas, incluindo o diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão arterial sistólica e aterosclerose representam um grande problema de saúde pública (JUNG; CHOI, 2014). Cerca de 72% dos óbitos no país decorrem de doenças crônicas relacionadas à obesidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A obesidade pode ser desenvolvida através de diversos fatores. Entre eles, fatores genéticos, ambientais e metabólicos. Os hábitos alimentares integram parte dos fatores ambientais e são promotores do desenvolvimento da obesidade pelo aumento da ingestão de alimentos em maiores porções, alta quantidade de gordura e de alimentos de alto valor calórico, como os *fast food*, bebidas açucaradas, alimentos ultraprocessados, embutidos e outros (HILL; PETERS, 1998).

O balanço energético positivo e vias biológicas da regulação da fome e apetite, metabolismo e adipogênese também atuam no desenvolvimento da obesidade (SANDHOLT; HANSEN; PEDERSEN, 2012). Portanto, um indivíduo que ingere mais calorias que o necessário para a manutenção de suas funções biológicas e para as atividades físicas poderá desenvolver mais facilmente o quadro de obesidade quando comparado ao indivíduo que possui um equilíbrio entre gasto energético e consumo energético.

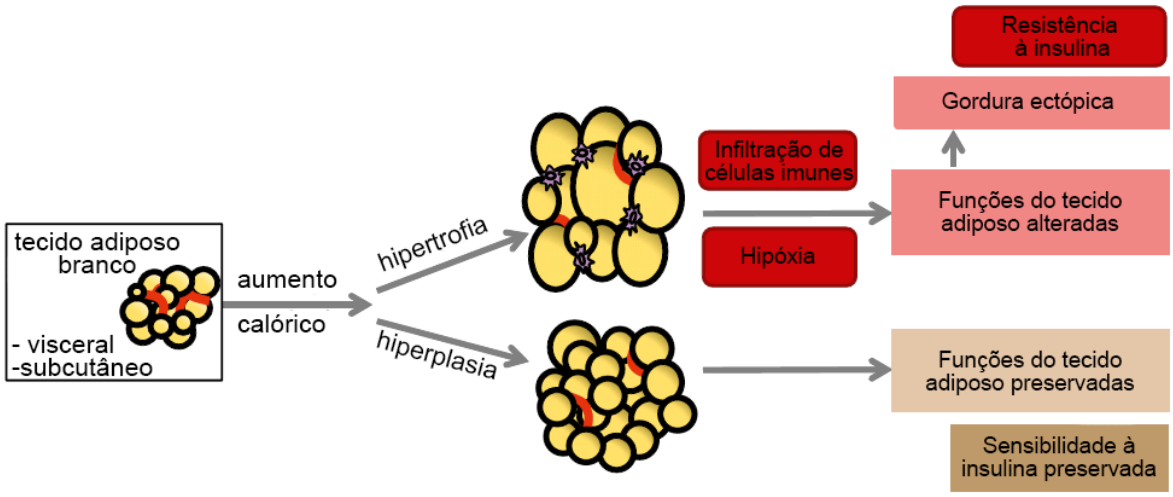
Assim como uma alimentação inadequada, a inatividade física causada pela maior urbanização, desenvolvimento tecnológico, transporte facilitado e uso de aparelhos eletrônicos, aumentam o sedentarismo de adultos e crianças. Muitos indivíduos vivem de forma sedentária, reduzindo significativamente a necessidade energética devido ao menor metabolismo favorecendo o desenvolvimento da obesidade (HILL; PETERS, 1998).

O acúmulo excessivo de tecido adiposo, principalmente na região abdominal, é indicativo do desenvolvimento da obesidade. O tecido adiposo é também considerado um órgão endócrino, que além de exercer função central no metabolismo de lipídeos e de glicose,

sintetiza adipocinas, como leptina, adiponectina e resistina, que influenciam os processos metabólicos (FONSECA-ALANIZ et al., 2006).

A proliferação e diferenciação dos adipócitos durante a obesidade estão reduzidas como reflexo da menor expressão de genes adipogênicos (BAYS et al., 2008). Dessa forma, os adipócitos na obesidade encontram-se principalmente hipertrofiados, com maior acúmulo de gordura, aumentando a atividade metabólica desse tecido. O balanço energético positivo crônico e a consequente hipertrofia dos adipócitos (BAYS et al., 2008), leva a um remodelamento do tecido adiposo a fim de acomodar as células hipertróficas (Figura 1). As células com acúmulo excessivo de gordura podem resultar em disfunções na vascularização e enervação do tecido adiposo, gerando a liberação de citocinas pró-inflamatórias e prejudicando as funções desse tecido. As alterações morfofuncionais do tecido adiposo hipertrofiado podem resultar na inabilidade dos adipócitos em estocar mais lipídeos, levando ao acúmulo ectópico dessa gordura em tecidos como o fígado, músculo esquelético e pâncreas (BADOUD et al., 2015; LEMOINE et al., 2012). Esse acúmulo de gordura ectópico contribui para o desenvolvimento da resistência à insulina (RI) e disfunção das células hepáticas e β pancreáticas, apresentando efeito lipotóxico (SAVAGE et al., 2001).

Figura 1 – Remodelamento do tecido adiposo na maior oferta calórica



Legenda: Interações entre o remodelamento do tecido adiposo branco, inflamação e resistência à insulina.
Fonte: Adaptado de BADOUD et al., 2015.

A insulina é secretada pelas células β das ilhotas pancreáticas e atua em resposta ao aumento dos níveis de glicose e aminoácidos após as refeições, a fim de aumentar a captação dessa glicose e a síntese proteica. A insulina reduz a produção hepática de glicose, reduz a lipólise e a proteólise e estimula a lipogênese nos adipócitos (DIMITRIADIS et al., 2011; KAHN et al., 2006b).

A hiperinsulinemia está associada ao desenvolvimento da RI, que é definida como a falha das concentrações normais da insulina de atingir respostas metabólicas normais ou a necessidade de concentrações maiores para atingir essa resposta. (BUGIANESI et al., 2010). A obesidade desempenha um papel central no desenvolvimento da RI. No fígado, a RI permite a diminuição da glicogênese e aumento da gliconeogênese e glicogenólise, levando a progressão da esteatose (PARADIS et al., 2001).

Outro hormônio importante no quadro da obesidade é a leptina, que é produzida principalmente pelo tecido adiposo branco, secretada em níveis correspondentes a massa total desse tecido, apresentando funções em diversos tecidos e sendo associada ao peso corporal, refletindo o estado energético (CRUJEIRAS et al., 2015; FRUHBECK; NUTR, 2002). Esse hormônio é conhecido por atuar no controle da ingestão dietética, agindo como um fator de saciedade. A leptina age através dos receptores hipotalâmicos, reduzindo a ingestão e aumentando a termogênese, resultando em perda de peso corporal (JÉQUIER, 2002), além de inibir a lipogênese e estimular a lipólise, atuando de forma protetora na lipotoxicidade causada pelo excesso de triglicerídeos da dieta (FRUHBECK; NUTR, 2002).

A obesidade induzida por dieta está associada ao desenvolvimento de hiperleptinemia pode resultar na resistência à leptina. O alto consumo lipídico é o gatilho para a resistência central e periférica a leptina e, nesse sentido, também devido a expansão do tecido adiposo, que exerce um papel importante nesse processo. A diminuição da resposta à leptina afeta a regulação de ingestão dietética e do metabolismo, levando a desregulação do balanço energético (CRUJEIRAS et al., 2015).

1.2 **Metabolismo Lipídico**

A dieta rica em lipídeos, após sofrerem ação de lipases no intestino, eleva as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres (AGL), que seguem pela veia porta, sendo direcionados ao fígado e induzindo a gliconeogênese hepática e o aumento da síntese de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Os triglicerídeos formados a partir dos AGL e gliceróis são prioritariamente captados pelo tecido adiposo ou pelo músculo esquelético, caso haja necessidade energética (FRAYN; ARNER; YKI-JÄRVINEN, 2006).

O aumento da gliconeogênese hepática resulta em aumento na glicose plasmática, levando a maior liberação de insulina pelas células β pancreáticas, e maior estímulo à

lipogênese, decorrente da hiperinsulinemia (KAHN et al., 2006a). O aumento do depósito de tecido adiposo e o aumento dos níveis de insulina levam ao armazenamento de AGL em órgãos sensíveis à insulina como o fígado, músculo esquelético e pâncreas (UNGER; ORCI, 2000).

Parte do metabolismo lipídico ocorre no fígado, que participa da via de lipogênese e síntese e excreção de colesterol (TURNER *et al.*, 2011), como demonstrado na figura 2. A homeostase lipídica é regulada por uma família de fatores de transcrição de proteínas de ligação ao elemento regulador de esteróis (SREBP). A alta concentração da insulina plasmática aumenta a expressão de SREBP-1c, que ativa genes lipogênicos alvos como os da acetil-CoA carboxilase (ACCα) e da ácido graxo sintase (FAS), estimulando a lipogenese (HORTON; GOLDSTEIN; BROWN, 2002).

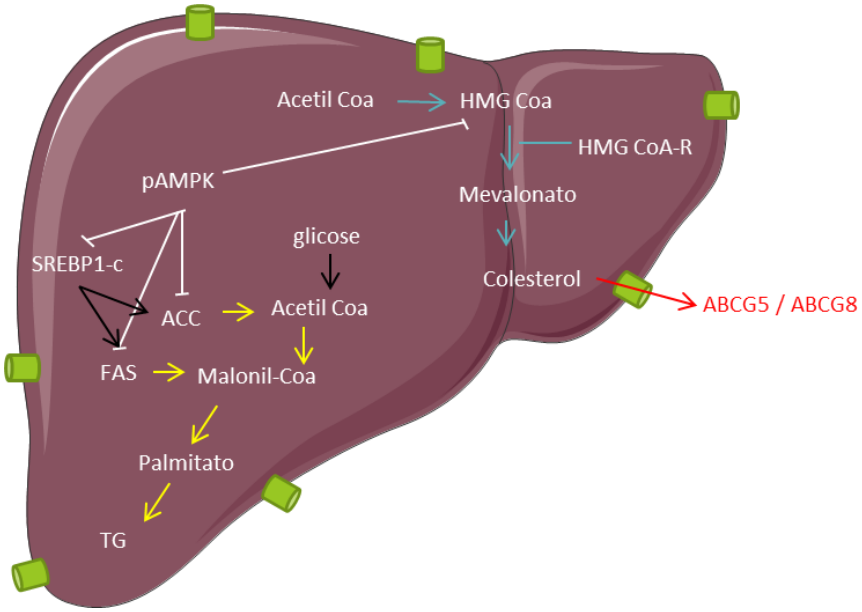
A glicose, frutose, piruvato, entre outros substratos, auxiliam a síntese de Acetil-CoA. A ACCα converte o Acetil-CoA em Malonil-CoA, um potente inibidor da oxidação de ácidos graxos, e os carbonos dessa molécula são utilizados pela proteína FAS para formar o palmitato (principal produto da lipogênese *de novo*), que atuará como substrato para a formação de triglicerídeos. Os triglicerídeos resultantes dessa via serão liberados na circulação na forma de VLDL ou serão oxidados pela mitocôndria para gerar energia (FRAYN; ARNER; YKI-JÄRVINEN, 2006).

O colesterol possui diversas funções essenciais no organismo como a manutenção das membranas celulares e participação na produção de hormônios esteroides. Seus níveis plasmáticos são regulados pela ingestão dietética e também pelo metabolismo hepático, que é de extrema importância para a excreção do colesterol excedente na forma de ácidos biliares ou na bile de forma livre (DANIELS, 2009; LUDKE; LÓPEZ, 1999). A síntese de colesterol também é um ponto importante do metabolismo lipídico. Estudos mostram que o aumento do colesterol pode estar envolvido no aumento da expressão gênica de enzimas lipogênicas (HAN et al., 2013; KNIGHT et al., 2005). A ação da enzima 3-Hidroxi-3-Metilglutaril Coenzima A redutase (HMG-Coa redutase) é uma etapa limitante para a síntese de colesterol. A síntese é iniciada pela condensação de moléculas de Acetil-Coa, resultando em 3-Hidroxi-3-Metilglutaril. A HMG-Coa redutase reduz essas moléculas em mevalonato, que será posteriormente convertido em colesterol (WU et al., 2013).

Os transportadores da família ABC (ATP-binding cassete), sub-família G formam o heterodímero ABCG5 e ABCG8 e são expressos na membrana apical dos hepatócitos e enterócitos. Esses transportadores atuam realizando o efluxo do colesterol dos hepatócitos para a bile, evitando o acúmulo do colesterol (BROWN; YU, 2009; YU et al., 2005).

A proteína AMP quinase (AMPK) possui papel central em diversas vias no metabolismo lipídico. A AMPK é ativa por fosforilação, e foforilada (pAMPK) atua em diversas enzimas do metabolismo lipídico para diminuir a lipogênese. Um de seus alvos é a ACCα, que é inativada através da fosforilação pela pAMPK. Outra enzima fosforilada pela pAMPK é a HMG-Coa redutase, levando a inibição da síntese de colesterol (HARDIE et al., 1997). A atuação da pAMPK na SREBP-1c também reduz a atividade deste fator de transcrição, consequentemente, diminuindo as atividades da FAS e também da ACCα (KOHJIMA et al., 2008).

Figura 2 – Metabolismo lipídico hepático



Legenda: Elemento de regulação de esterois (SREBP1-c), acetil-CoA carboxilase (ACCα), ácido graxo sintase (FAS), Triglicerídeos (TG), enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-Coa redutas(HMGCoA-R)e atua na molécula de HMGCoa (formada através de ação enzimática em moléculas de Acetil-Coa), ATP-binding cassete G5 e G8 (ABCG5/ABCG8).
Fonte: O autor, 2016.

1.3 **Lipídeos e Dislipidemias**

Os hábitos alimentares podem também promover o desenvolvimento de diversos distúrbios metabólicos devido à vasta disponibilidade de alimentos, maiores porções, grande quantidade de gordura e de alimentos de alto valor calórico, como os *fast food*, bebidas açucaradas, alimentos ultraprocessados, embutidos e outros (HILL; PETERS, 1998).

Como consequência do alto consumo alimentar e energético, instaura-se, entre outros, o quadro de dislipidemias e alterações hepáticas. As dislipidemias são caracterizadas como a alteração dos níveis séricos de lipídeos e podem incluir o aumento do colesterol, de triglicerídeos e de colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), além das menores concentrações do colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL). A ocorrência de dislipidemias é fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (ANVISA, 2011).

As VLDLs são sintetizadas e excretadas pelo fígado. A função primária dessa lipoproteína é transportar os triglicerídeos endógenos do fígado para outros tecidos (HAN et al., 2013). As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são compostas por triglicerídeos residuais e colesterol. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) transportam o colesterol até o fígado em um processo conhecido como transporte reverso do colesterol e também fazem a remoção de LDL oxidada (XAVIER et al., 2013).

O desenvolvimento das dislipidemias ocorre pela hipercolesterolemia, resultante do acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol como a LDL e de mutações genéticas, ou pela hipertrigliceridemia, resultante do acúmulo de VLDL e quilomícrons plasmáticos (XAVIER et al., 2013). As dislipidemias podem ser diagnosticadas através de análises bioquímicas e são classificadas fenotipicamente ou genotipicamente de acordo com o demonstrado no quadro a seguir:

Quadro 1 – Classificação das dislipidemias

Classificação	Critério
Hipercolesterolemia isolada	Elevação isolada do LDL-C (> 160 mg/dL).
Hipertrigliceridemia isolada	Elevação isolada dos TG (>150 mg/dL)
Hiperlipidemia mista	Valores aumentados de ambos LDL-C (> 160 mg/dL) e TG (>150 mg/dL)
HDL-C baixo	Redução do HDL-C (homens <40 mg/dL e mulheres <50 mg/dL) isolada ou em associação com aumento de LDL-C ou de TG.

Fonte: (XAVIER et al., 2013).

1.4 **Alterações hepáticas na obesidade**

O fígado é um órgão importante para o metabolismo lipídico e desempenha um papel essencial em desordens metabólicas relacionadas à obesidade, fazendo parte da via de síntese e excreção de colesterol e da lipogênese (TURNER *et al.*, 2011). O consumo de dietas hiperlipídicas favorece o desenvolvimento da DHGNA por gerar o aumento de peso, hiperlipidemia e RI nos indivíduos (CARMIEL-HAGGAI, 2004). Entretanto, dietas com baixo teor de carboidratos e gorduras saturadas, além de maior quantidade proteica e aporte de fibras, são mais propensas a melhorar o quadro da doença (MCCARTHY; RINELLA, 2012).

A infiltração gordurosa no fígado constitui a DHGNA, que pode evoluir desde esteatose hepática, caracterizada pelo acúmulo de lipídeos no interior do hepatócito, até a esteato-hepatite, fibrose e cirrose (COTRIM et al., 2000; HARRISON; TORGERSON; HAYASHI, 2003; SUZUKI et al., 2005). A esteatose hepática é uma das alterações mais frequentes e o aumento de sua prevalência nos últimos 20 anos é claramente elevada (GOGIA; NEUSCHWANDER-TETRI, 2006), tendo a obesidade, hiperlipidemia, diabetes *mellitus* tipo 2 e aterosclerose associados aos seus fatores de risco. Histologicamente, a DHGNA apresenta características similares à doença hepática gordurosa alcoólica, com presença de esteatose micro e macrovesicular, aumento e possível necrose dos hepatócitos (LUDWIG; MCGILL; LINDOR, 1997).

O diagnóstico da DHGNA envolve a alteração assintomática das aminotransferases, hepatomegalia e achados radiológicos de gordura hepática, excluindo-se o abuso do uso de álcool (RINELLA, 2015). O acúmulo excessivo de lipídeos no fígado pode estar relacionado ao aumento da síntese de ácidos graxos ou redução da oxidação dos mesmos, a exportação de lipídeos do fígado ou adaptações mal sucedidas da regulação de ácidos graxos através de fontes dietéticas ou do tecido adiposo (SOZIO; LIANGPUNSAKUL; CRABB, 2010).

A RI hepática favorece o aumento da gliconeogênese e glicogenólise, além da diminuição da glicogênese. A RI eleva o depósito de gordura nos hepatócitos através de dois principais mecanismos que são a hiperinsulinemia e a lipólise. O aumento do estresse oxidativo gerado pelo acúmulo de ácidos graxos nos hepatócitos faz parte do mecanismo que resultará na evolução da esteatose para esteato-hepatite e fibrose (BUGIANESI et al., 2010).

1.5 **Uso de modelos experimentais para estudo da obesidade**

Diversos modelos experimentais são utilizados para a realização de estudos sobre obesidade e doenças crônicas relacionadas, como diabetes *mellitus* tipo 2, dislipidemias, aterosclerose e outros. Estudos têm demonstrado que as dietas ricas em gorduras (*high fat diets*) são as mais adequadas para o desenvolvimento do modelo de obesidade e síndrome metabólica, e que cerca de 20 a 60% de gorduras animais e vegetais na dieta já são o suficiente para que sejam observadas as características desse modelo (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007).

Quando comparado a outros modelos como, por exemplo, ratos e camundongos com deleções genéticas, o modelo de camundongos da linhagem C57BL/6 se sobressai, sendo o que melhor mimetiza a obesidade humana (GALLOU-KABANI et al., 2007).

Estudo realizado com camundongos da linhagem C57BL/6 demonstrou que o consumo da dieta hiperlipídica (com 60% de gordura) desenvolveu nesses animais diversos parâmetros encontrados na obesidade, síndrome metabólica e dislipidemias, além de desenvolverem DHGNA. Entre eles, podemos destacar o aumento do peso, RI, alterações estruturais hepáticas sinalizadas por macro e microesteatose e aumento da gordura corporal. Alterações plasmáticas também foram observadas como aumento da insulina, glicose, transaminases hepáticas aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) e Triglicerídeos, HDL-c e LDL-c (FRAULOB et al., 2010).

Os camundongos respondem ao aumento da oferta dietética com o aumento de acúmulo de tecido adiposo, com hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos (STRISSEL et al., 2007).

1.6 **Estratégias nutricionais como alternativas no manejo da obesidade**

Os avanços científicos estão demonstrando que o alimento pode fazer parte da modulação de diversas vias metabólicas, tornando-se um importante aliado na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao sobrepeso e obesidade. Estratégias como o aumento do gasto energético (termogênese), maior limitação da biodisponibilidade dos alimentos e o uso de compostos bioativos, como fibras e compostos fenólicos representam uma alternativa aos

tratamentos farmacológicos já conhecidos e que frequentemente geram efeitos adversos à saúde dos indivíduos (VASUDEVA; YADAV; SHARMA, 2012; WEDICK et al., 2012).

Alguns compostos bioativos já são comprovadamente eficazes e utilizados amplamente na prevenção e tratamento de doenças como a obesidade, dislipidemias, diabetes *mellitu*s tipo 2 e aterosclerose. As plantas representam as fontes naturais de compostos bioativos mais estudados para efeitos antiobesogênicos (TORRES-FUENTES et al., 2015). Entre esses compostos, a isoflavona, compostos fenólicos (catequinas, antocianinas, entre outros), cálcio, esteróis de plantas, ácidos graxos poli-insaturados (ômega-3 e ômega 6) e fibras dietéticas, já demonstraram efeitos benéficos como a melhora no perfil lipídico, redução de lipogênese, redução da ingestão calórica, redução do perfil inflamatório, efeitos antioxidantes e aumento da termogênese. A utilização desses compostos é observada no uso de alimentos *in natura* e também em fortificações de panificados, laticínios, sucos e outros, sendo uma oportunidade de oferecer opções para um estilo de vida mais saudável (TRIGUEROS et al., 2013; VASUDEVA; YADAV; SHARMA, 2012).

1.7 **Açaí (*Euterpe oleracea* Martius)**

O açaí (*Euterpe oleracea* Martius) é proveniente do açaizeiro, uma *Palmácea* da família *Arecacea* tipicamente brasileira (Figura 3), da região Amazônica, e tem sua maior produção nos estados do Pará, Amazonas, Maranhão, Amapá, Tocantins e Mato Grosso. Sua palmeira possui até 25 brotações e seu fruto tem cerca de 1 a 2 cm de diâmetro e peso médio de 1,5 g. O epicarpo é roxo ou verde (em período de maturação), o mesocarpo é polposo e é formado pela semente (ou caroço) que é envolvida ainda pelo endocarpo (DO NASCIMENTO, 2008).

Figura 3 – Palmeira de *Euterpe oleracea* Martius (açaí)

Fonte: Disponível em: <http://www.folhadojurua.com.br/2014/08/voce-sabia-que >Acesso em 2 maio 2016.

Sua polpa é rica em antioxidantes como antocianinas, sendo as principais a cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo, proantocianidinas e flavonoides. O açaí também possui quantidades importantes de fibras e fitoesterois, destacando-se o campesterol, estigmasterol e o β-sistoesterol, que podem auxiliar no controle de peso corporal e nos níveis plasmáticos de colesterol (RODRIGUES et al., 2006; SCHAUSS et al., 2006)

O açaí é um fruto considerado de alto valor energético por ter grande quantidade de lipídeos em sua polpa, seu óleo contém alto teor de lipídeos, com 60% de monoinsaturados e 13% de poliinsaturados. É mais proteico que o leite, contendo 13g de proteínas em 100g e pode ser considerado também rico em minerais, principalmente em potássio, cálcio, ferro e magnésio. Também estão presentes em sua composição, as vitaminas E e B1 (ROGEZ, 2000).

Figura 4 – Fruto inteiro e seccionado de *Euterpe oleracea* Martius (açaí)

Fonte: Disponível em:< http://frutasnativasdaamazonia.blogspot.com.br/2012_03_01_archive.html> Acesso em 2 maio 2016.

Estudos indicam os efeitos benéficos no consumo da polpa do açaí, melhorando a resposta antioxidante, com efeitos hipocolesterolêmicos, imunomoduladores, anti-inflamatórios e diversos outros (DE SOUZA et al., 2012; KANG et al., 2011, 2012; YAMAGUCHI et al., 2015). Existem relatos populares em regiões mais pobres do Brasil que indicam o uso do açaí também no alívio de dores, febres e resfriados (MATHEUS et al., 2006).

O açaí é usado comumente na produção de bebidas, geleias, sorvetes e outros produtos industriais, e é consumido em preparações salgadas ou doces, dependendo do estado brasileiro (MENEZES et al., 2011). Entretanto, cerca de 85% do fruto corresponde ao caroço (DALTON CRUZ PESSOA; DA SILVA E SILVA, 2007; ROGEZ, 2000), como pode ser observado na figura 4, sendo classificado como resíduo comercial (ABNT, 2002) e gerando um importante impacto ambiental. Algumas opções para o uso desse caroço são o artesanato, uso como carvão ou como possível biocombustível (HOMMA, 2002; VIRMOND et al., 2012).

Estudos realizados nos últimos anos vêm demonstrando que o extrato hidroalcoólico do caroço do açaí (ASE, da sigla em inglês *Açai Seed Extract*) exerce papel importante na redução glicêmica, RI, melhora no perfil lipídico e proteção do ganho de peso, além de possuir efeito vasodilatador dependente do endotélio, anti-hipertensivo e antioxidante (DA COSTA et al., 2012; DE BEM et al., 2014; DE OLIVEIRA et al., 2010, 2015, ROCHA et al., 2007, 2008). Estudos químicos recentes demonstraram que o ASE é rico em catequina, epicatequina e procianidinas poliméricas, apresentando conteúdo polifenólico mais expressivo que a polpa (de Oliveira *et al.*, 2015).

Esses efeitos benéficos à saúde demonstrados pela polpa e também pelo extrato do caroço do açaí indicam que o fruto tem grande potencial como planta medicinal. Portanto, a FCA possui grande potencial em demonstrar efeitos similares, tendo a possibilidade de se tornar uma opção de estratégia alimentar para o tratamento e prevenção de doenças importantes como a obesidade e dislipidemias. O uso do caroço também é uma importante alternativa para a redução do impacto ambiental gerado pelo desperdício na produção dos alimentos comumente consumidos.

2 **OBJETIVOS**

2.1 **Objetivo geral**

Caracterizar a farinha do caroço do açaí (FCA) e investigar os efeitos da adição dietética desta farinha no desenvolvimento da obesidade induzida por dieta em camundongos C57BL/6.

2.2 **Objetivos específicos**

a) Obter e caracterizar a FCA;
b) Avaliar o consumo alimentar e a evolução ponderal dos camundongos C57BL/6 submetidos às diferentes dietas;
c) Avaliar o efeito da FCA em marcadores bioquímicos do estado nutricional e de toxicidade;
d) Avaliar o efeito do consumo de FCA no metabolismo lipídico dos animais;
e) Determinar a expressão de proteínas envolvidas na lipogênese e na síntese e excreção de colesterol;
f) Avaliar os aspectos morfológicos do tecido hepático e adiposo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção da farinha do caroço do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)

Os frutos (Figura 5) provenientes da EMBRAPA, da Amazônia Oriental foram armazenados em freezer -20 ºC até o uso. Após selecionados e higienizados em solução de hipoclorito (10%, v/v), os frutos foram despolpados, a parte fibrosa foi retirada e os caroços limpos. A secagem dos caroços foi realizada em estufa de circulação de ar (330 drier, FANEM®, São Paulo Brazil), em 60ºC durante 24 h. Após a secagem os caroços foram triturados em moinho (MF 10 Basic; IKA®Werke, Staufen, Germany) e peneirados em peneira de 12 *mesh*, para a obtenção da farinha utilizada na confecção das dietas.

Figura 5 – Etapas da obtenção do caroço do açaí

Fonte: O autor, 2014.

3.2 Caracterização da farinha do caroço do açaí

As análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Nutrição da UERJ, segundo a metodologia do Instituto Adolf Lutz para a determinação de proteína bruta (Método de Kjeldahl, baseado na quantificação de nitrogênio) e lipídios totais (Método de Soxhlet, por lavagem com Éter). O teor de carboidratos da FCA foi calculado através da diferença, em percentual, em relação à soma dos valores obtidos pelas análises de proteína e lipídios.

O conteúdo de minerais e fibras totais, insolúveis e solúveis foi determinado no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) (Campinas, São Paulo, SP) de acordo com os protocolos

da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

3.3 **Análise de compostos fenólicos totais na FCA**

A extração dos compostos fenólicos na FCA foi realizada em triplicata de acordo com metodologia adaptada de (MATTILA; KUMPULAINEN, 2002). Para a extração dos compostos fenólicos solúveis, aproximadamente 1 g de amostra foi extraída com 20 mL de solução gelada de etanol:água (80:20, v/v) por 10 minutos através de agitação em vórtex. Posteriormente foram centrifugadas (2500 × g, 5 minutos, 10 ºC) (Sorvall ST 16R, Thermo ScientificTM). O sobrenadante foi coletado, uma alíquota de 0,5 mL foi transferida para um tubo falcon e adicionado 2,5 mL do reagente Folin Ciocalteau (Sigma Aldrich Chemical Co.) diluídos em água destilada (1:10). Após repouso de 3 a 8 min, foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio a 4%. A leitura foi realizada em absorbância de 760nm em espectofotômetro após 2 h de repouso sem contato com a luz. Os resultados foram expressos em mg GAE.g–1 (equivalente em ácido gálico) (SINGLETON; ROSSI, 1965).

3.4 **Dieta e Modelo experimental**

Os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética para Experimentação Animal do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes sob o protocolo nº CEUA/042/2014 (ANEXO I). Foram utilizados 30 camundongos machos da linhagem C57BL/6 com 21 dias de vida, obtidos no Biotério do Departamento de Farmacologia, do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ e escolhidos aleatoriamente, sendo separados em cinco grupos. Os animais foram mantidos em temperatura controlada de 22 ± 2 ºC, em ciclo circadiano de claro/escuro, com 12 horas de luz em baixa intensidade e 12 horas de escuro. As rações controle e hiperlipídica, contendo ou não a FCA, foram confeccionadas segundo as recomendações para roedores do *American Institute of Nutrition* (AIN-93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) de forma a atingir as necessidades nutricionais para roedores em crescimento, e serem isocalóricas e isoprotéicas. Os ingredientes utilizados para o

preparo das rações (Tabela 1) foram pesados e homogeneizados em batedeira semi-industrial Hobart®, com água fervente. A massa obtida foi transformada em *pelletes* e seca na estufa ventilada a 60ºC por 24h, e após a identificação, armazenada sob refrigeração a temperatura de 6 ± 2°C até seu uso. Para a realização do estudo, os camundongos foram divididos em cinco grupos experimentais, recebendo suas respectivas dietas experimentais por 12 semanas, sendo eles:

a) Grupo controle (CG) recebeu a dieta controle (AIN-93G);
b) Grupo controle (CA30) recebeu dieta controle contendo 30% da FCA;
c) Grupo dieta hiperlipídica (HFD) recebeu dieta hiperlipídica com 50% da energia proveniente de lipídeos;
d) Grupo dieta hiperlipídica (HFA15) recebeu dieta hiperlipídica com 50% da energia proveniente de lipídeos contendo 15% da FCA;
e) Grupo dieta hiperlipídica (HFA30) recebeu dieta hiperlipídica com 50% da energia proveniente de lipídeos contendo 30% da FCA;

Todos os grupos tiveram acesso livre à ração e água durante o experimento.

Tabela 1 – Composição das dietas oferecidas

	CG	CA30	HFD	HFA15	HFA30
	CG	CA30	HFD	HFA15	HFA30
Caseína[1] (g)	20	18	20	19	18
Amido de milho[2] (g)	52,95	25,6	33,07	19,4	5,8
Farinha caroço açaí (g)	0	30	0	15	30
Sacarose[3] (g)	10	10	10	10	10
Óleo de soja (g)	7	6,3	7	6,7	6,3
Banha de porco (g)	0	0	20	20	20
Celulose (g)	5	5	5	5	5
Mistura de minerais[1] (g)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura de vitaminas[1] (g)	1	1	1	1	1
l-cistina[1] (g)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Colina[1] (g)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Energia Kcal					
Proteína	80	80	80	80	80
Carboidrato	271,8	271,8	192,28	192,28	192,28
Lipídeo	63	63	243	243	243
Total	414,8	414,8	515,3	515,3	515,3

Legenda: [1]Comercial Rhosther Industria e Comércio LTDA; [2]Maizena®; [3]União®; [4]Liza®; [5]Macrocel®, Blanver LTDA.

Nota: Composição de macronutrientes da FCA: 91,1% carboidratos; 6,7% proteínas; 2,2% lipídeos.

Após 12 semanas, os animais foram eutanasiados com o uso do anestésico Tiopental (0,09 mg/mL por 100g de peso) intraperitoneal, e após a certificação de anestesiados, os animais foram posicionados na forma de decúbito dorsal para incisão da caixa torácica e exposição do coração. As amostras de sangue foram coletadas através de punção cardíaca com agulhas heparinizadas e acondicionadas em tubos de 1 mL. Para obtenção do plasma, o sangue foi centrifugado à 1500 rpm à 4 º C por 15 min. Subsequentemente foram dissecados o fígado e as gorduras retroperitoneal e epididimária e uma fração desses tecidos foram armazenadas a -80 ºC para as demais análises. Outras frações foram fixadas com formalina de Millonig (1.27 mol/formaldeído em 0.1M de tampão fosfato, pH 7,2).

3.5 **Consumo alimentar e evolução ponderal**

O peso corporal foi avaliado semanalmente em balança analítica. A ingestão alimentar dos animais foi acompanhada a cada dois dias e o consumo foi calculado através da subtração do resto da quantidade ofertada para cada grupo. O consumo calórico foi estimado a partir do consumo em gramas dos animais e das composições centesimais da ração comercial e da farinha do caroço do açaí.

3.6 **Digestibilidade proteica aparente**

A digestibilidade proteica aparente da dieta foi calculada pela fórmula:

$$\boldsymbol{Digestibilidade\ aparente}\ (\%) = \frac{(\boldsymbol{proteína\ ingerida - proteína\ fecal})}{\boldsymbol{proteína\ ingerida\ x\ 100}}$$

3.7 **Composição Corporal**

A composição corporal dos animais foi determinada através de densitometria de dupla emissão (dual-energy x-rayabsorptiometry, DXA), no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional do Instituto de Nutrição/UERJ, utilizando o equipamento LUNAR - iDXA (GE-Healthcare, Madison, WI).

3.8 **Medida da massa de gordura visceral**

Após o sacrifício o tecido adiposo epididimário e retroperitoneal foram retirados e pesados. O peso dos tecidos foi utilizado para quantificar a adiposidade central.

3.9 **Medidas do Peso e Volume do Fígado**

Após o sacrifício, o fígado foi retirado e pesado em balança analítica e o volume foi aferido por Sherle (SCHERLE, 1970).

3.10 **Análise Histológica do Fígado e do Tecido Adiposo**

Para as análises histológicas, os tecidos do fígado e do tecido adiposo retirados dos animais e previamente fixados em formalina de Millonig foram posteriormente incluídos em Paraplastplus® (Sigma-AldrichCo, St. Louis, USA) para a secção de cortes de 5µm de espessura. As lâminas foram coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) e dez imagens de cada lâmina foram realizadas em câmera Olympus DP71 e com microscópio de fluorescência Olympus BX60 (Olympus, Tokyo, Japão). As análises foram realizadas através do programa Image-Pro Plus versão 7.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

3.11 **Morfologia do Fígado**

A densidade esteatose hepática foi determinada através de sistema de 36 pontos-testes, onde a grade de pontos é sobreposta à imagem do tecido e a contagem dos pontos que tocam o tecido é realizada. O resultado é dado pela divisão entre o somatório dos pontos encontrados e o somatório dos pontos totais do sistema e é expresso em porcentagem.

3.12 **Morfometria do Tecido Adiposo**

A densidade das células adiposas foi analisada através do software STEPanizer com 10 campos por animal e 5 animais por grupo, com a utilização de duas linhas proibidas na parte superior da imagem para evitar a ocorrência de superestimações. O diâmetro das células adiposas foi analisado no software Image-Pro Plus versão 7.0 em 5 adipócitos por imagem e 5 animais por grupo.

3.13 **Análises Bioquímicas**

3.13.1 Marcadores bioquímicos de estado nutricional e avaliação da toxicidade

Os parâmetros bioquímicos foram analisados no plasma. A albumina, as proteínas totais, a creatina quinase (CK) e as enzimas hepáticas aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) foram avaliadas seguindo os protocolos dos kits comerciais (Bioclin, Belo Horizonte, Brasil) e lidas em leitor automatizado. Os resultados para albumina e proteínas totais foram expressos em mg/dL e os resultados da CK, AST e ALT foram expressos em UI/L.

3.13.2 Perfil lipídico

As análises de colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de alta densidade (HDL-c), lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) plasmáticas foram determinados por ensaios colorimétricos através de kits comerciais (Bioclin, Belo Horizonte, Brasil). As lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) foram calculadas pela relação entre a concentração de triacilgliceróis/5 (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). As análises foram feitas em duplicatas e os resultados expressos em mg/dL.

Para as análises de colesterol e triglicerídeos hepáticos, 1mL de álcool isopropílico foi adicionado a 50g de amostra, com posterior processamento em sonicador durante 8 minutos a 40% de amplitude. Em seguida, centrifugado por 10min a 4ºC e 5900rpm. O sobrenadante foi coletado e utilizado em kit semi-automático (Bioclin, Belo Horizonte, Brazil) com leitura realizada em 500 nm em espectrofotômetro (Bioclin).

3.13.3 Glicemia

Após jejum de 6 horas, foi realizada secção próxima a extremidade (cerca de 5 mm) da cauda do animal e os níveis de glicose dos animais foram determinados a partir do sangue coletado em fita própria e avaliado em medidor automático (Accu-Check Active; Roche, Mannheim, Germany). Os valores encontrados foram expressos em mg/dL.

3.13.4 Insulina

A avaliação da concentração de insulina sérica foi realizada pelo método de radioimunoensaio através do kit Insulin 125I Ria (MP Biomedicals, LLC-Orangeburg, NY). As análises foram feitas em duplicatas e os resultados expressos em µUl/mL.

3.13.5 Leptina

A concentração sérica de leptina foi avaliada através da técnica de ELISA utilizando kit comercial *Boster Biological Engineering Co., Ltd.* (Wuhan, China), de acordo com instruções descritas pelo fabricante.

3.13.6 Índice HOMA-IR

O índice de resistência à insulina foi calculado através do índice HOMA (Homesostasis Model Assessment) calculado pela fórmula abaixo, de acordo com MATTHEWS et al. (1985).

3.13.7 Avaliação da excreção fecal de esteróis neutros

As análises de esteróis neutros e ácidos biliares nas fezes foram realizadas em parceria com o Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP). Amostras de fezes foram coletadas ao longo do final de três dias do período de experimentação, liofilizados, macerados e armazenados à -80 °C (AUSMAN et al., 1993). Cerca de 200 mg de macerado de fezes foram adicionadas à 4 mL de uma solução de metanol/clorofórmio (50:50) durante 1 h a 100 °C. As amostras foram, em seguida, resfriadas em temperatura ambiente e foram centrifugadas a 1500 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi removido a partir do sedimento fecal e transferido para um frasco de borosilicato de 8 mL. Os sobrenadantes foram evaporados utilizando N_2.

Em seguida, 4 mL de uma solução 0,1 mol/L de NaOH/etanol (10:90, v/v) foi adicionada a cada amostra, e aquecido a 100 °C durante 30 min. As amostras foram deixadas a arrefecer até à temperatura ambiente, o solvente foi removido e transferido para tubos de ensaio. Água (5 mL) e hexano (3 mL) foram adicionados ao solvente seguido por agitação em vórtex e centrifugação a 1500 rpm durante 2 min. A fase aquosa foi retirada e ajustada para um volume final de 10 mL com adição de NaOH 0,1 mol/L. Foi removido 1 mL para quantificação enzimática de ácidos biliares totais, de acordo com instruções do fabricante (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany). A fase de hexano superior foi removida e acondicionada em frasco e

acrescida de 1 mL de 5-α-colestano (240 mg/L) (Sigma-Aldrich) e o volume ajustado para 10 mL com hexano. Em seguida, 2 mL desta solução foram retirados e secos utilizando N_2. Ao final, 100 µL do reagente Tri-Sil (Thermo Scientific™, USA) foi adicionado e a mistura aquecida a 85 °C por 20 min, seguido de evaporação e ressuspensão em 100 µL de diclorometano. Em seguida, 1 µL foi injetada e analisada por cromatografia gasosa capilar.

Os esteróis neutros foram analisados usando um cromatógrafo de fase gasosa GC-14A com um detector de ionização de chama Shimadzu (Kyoto, Japão) e coluna capilar de 50 m x 0,2 mm HP-1 (Hewlett Packard, Andover, MA). As temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 300 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 220 °C e foi aumentada para 300 ° C a uma velocidade de 2 °C/min. A temperatura final foi mantida durante 10 min. O fluxo da coluna foi de 1,5 ml/min. As áreas de pico foram quantificadas utilizando um integrador Shimadzu CR501. Quantificação e identificação de esteróis neutros foram baseadas nos padrões (Sigma-Aldrich).

3.14 **Western Blot**

A lise do tecido hepático foi realizada através de tampão homogeneizador e inibidor de protease. O homogenato foi centrifugado a 3200 rpm durante 20 min a 4ºC. O sobrenadante foi coletado e quantidades equivalentes de proteína foram suspensas em tampão de amostra a 95ºC durante 5 min. A eletroforese foi realizada com alíquotas de 30 µg de proteína transferidas para membranas de nitrocelulose (Hybond-P/GE Healthcare, Madison, WI). O peso molecular utilizado como padrão foi o Full Range Raibon Molecular Weight Marker (GE Healthcare, EUA). Após a transferência, as membranas foram bloqueadas com solução de fosfato e tween 10 (0,1%) (TBS-T) e albumina bovina (5%) e incubadas *overnight* com anticorpo primário policlonal de imunoglobulina G desenvolvido em coelho para SREBP1c, HMG-CoA redutase, pAMPK, AMPK, ACC, pACC, ABCG5 e ABCG8, desenvolvido em cabra para AMPK e desenvolvido em ratos para β-actina (1:1.000, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA). Todos os resultados foram normalizados pela β-actina, utilizada como controle para proteína estrutural celular. Após o tempo de incubação, as membranas foram lavadas com TBS-T e incubadas com anticorpo secundário para rato, cabra ou coelho durante 1h e lavadas novamente. Para revelação foi utilizada solução de ECL do kit de detecção (GEHealthcare, Madison, WI) e os sinais foram visualizados em equipamento de detecção ChemiDoc XRS+

(Bio-Rad Laboratórios, São Paulo, Brasil). A quantidade proteica foi determinada em software Image-Pro Plus versão 7.0.

3.15 **Análises Estatísticas**

Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média. Para verificar se os dados seguiam a distribuição Gaussiana foi aplicado o teste de Kolmogorov-Srminorv. Para análise de variância foi utilizado one way ANOVA ou Kruskall-Wallis com significância estatística para $p < 0,05$. Quando aplicáveis, as diferenças entre os grupos foram avaliadas por pós teste de Tukey ou Dunn. As análises foram feitas no software GraphPad Prism versão 6.

4 **RESULTADOS**

4.1 **Caracterização da farinha do caroço do açaí**

A composição centesimal da FCA apresentou em média maior quantidade de carboidratos, com 91,1 g em 100g de FCA. As proteínas compõem cerca de 6,7g e lipídeos 2,2g. Além disso, a FCA apresentou 9,6g de fibras, sendo a maior parte de fibras insolúveis (9,3g) e apenas 0,3g de fibras solúveis. Minerais como sódio, cálcio, potássio, ferro, zinco, magnésio, cobre, manganês e fósforo também fazem parte da composição da farinha. A concentração média de polifenois totais da farinha do caroço do açaí estudada foi de 19,95 ± 2,7 mg GAE.g–1.

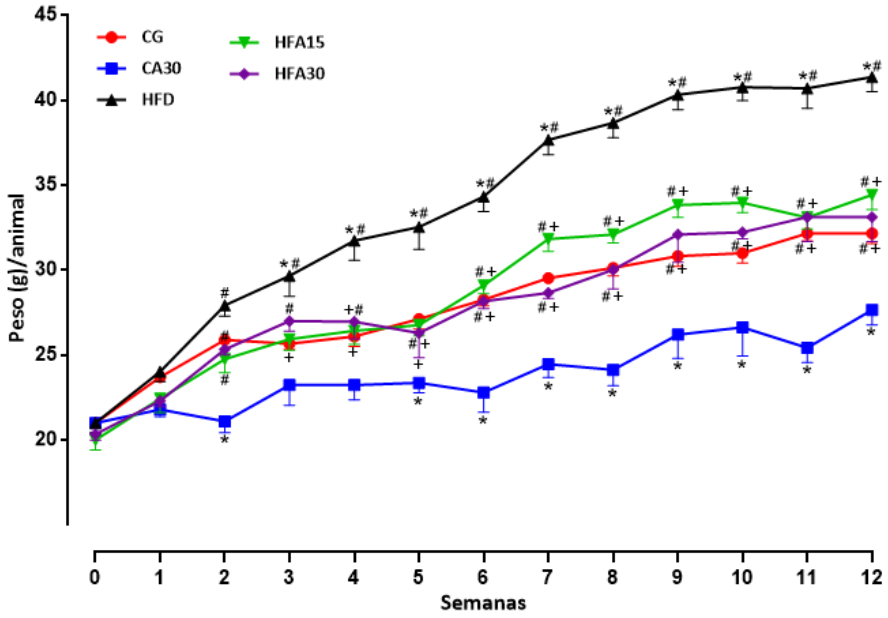
Quadro 2 - Composição centesimal da farinha do caroço do açaí

Farinha do caroço do açaí (100g)	
Energia	411,4 Kcal
Carboidrato	91,1 ± 2,3 g
Fibras	9,6 ± 1,1 g
Fibras Insolúveis	9,3 ± 1,7 g
Fibras solúveis	0,3 ± 0,0 g
Proteína	6,7 ± 1,2 g
Lipídeos	2,2 ± 0,6 g
Sódio	17 ± 3,3 mg
Cálcio	281,9 ± 12,3 mg
Potássio	273,3 ± 23 mg
Ferro	1,5 ± 0,1 mg
Magnésio	56,7 ± 7,1 mg
Zinco	0,55 ± 0,0 mg
Cobre	0,15 ± 0,0 mg
Fósforo	16,22 ± 0,9 mg
Manganês	2,83 ± 0,18 mg

4.2 **Evolução ponderal**

Na primeira semana de experimento não houve diferença significativa do ganho de peso entre os animais dos diferentes grupos experimentais (Fig. 7). A partir da segunda semana, o ganho de peso dos animais do grupo controle que recebeu a ração com a FCA (CA30) foi significativamente menor ($p < 0,05$) que o dos grupos controle (CG) e hiperlipídicos (HFD e HFA15). O tratamento com a FCA exerceu efeito protetor no ganho de peso dos animais de todos os grupos tratados, demonstrando diferença significativa ($p < 0,05$), a partir da quinta semana e sendo mantido até a última pesagem, na décima segunda semana.

Figura 6 – Ganho ponderal dos animais com diferentes dietas



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30).

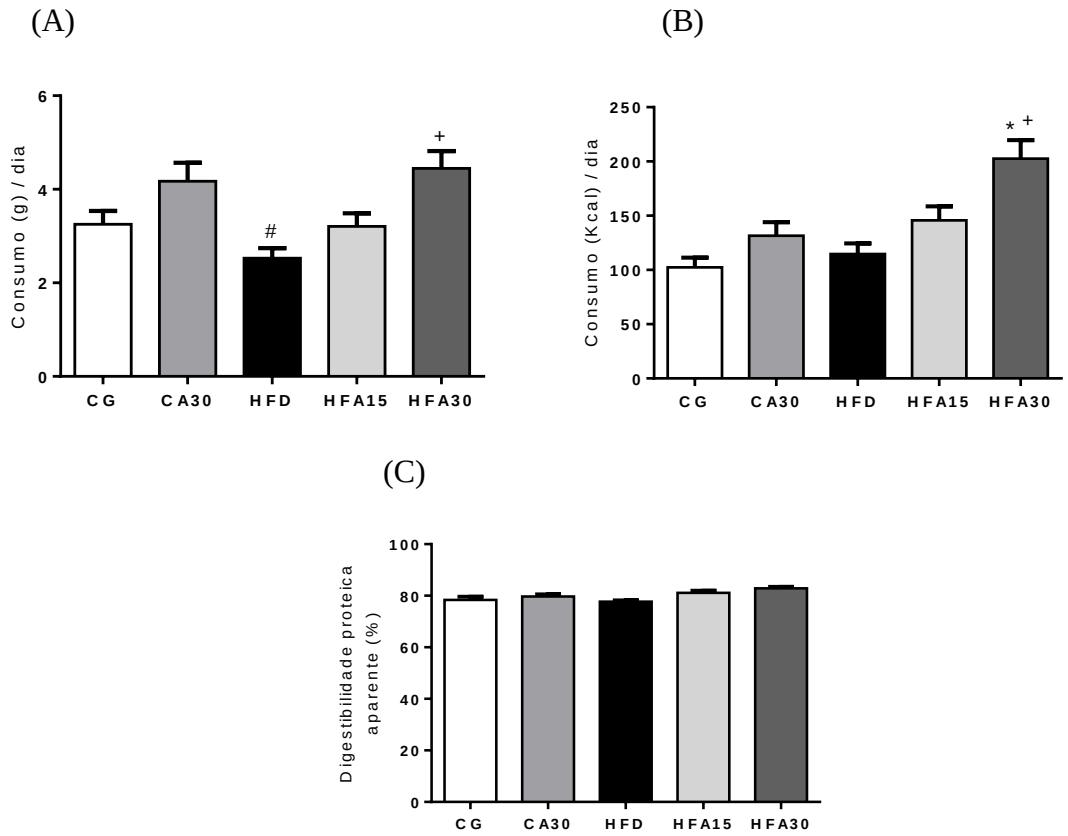
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.3 **Consumo alimentar e digestão proteica aparente**

O consumo médio da dieta durante as 12 semanas foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo hiperlipídico com 30% da FCA (HFA30) quando comparado ao grupo hiperlipídico (HFD) em gramas e em quilocalorias (Figs. 7A e B) e maior ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle (CG) em quilocalorias (Fig. 7B). Os outros grupos mantiveram o consumo em gramas e em quilocalorias em valores próximos, sem diferença estatística.

Não houve diferença significativa entre os grupos para a avaliação da digestilibidade proteica aparente da dieta consumida (Fig. 7 C).

Figura 7 – Consumo da dieta por animal e por dia em gramas e em quilocalorias e digestibilidade proteica aparente das dietas oferecidas



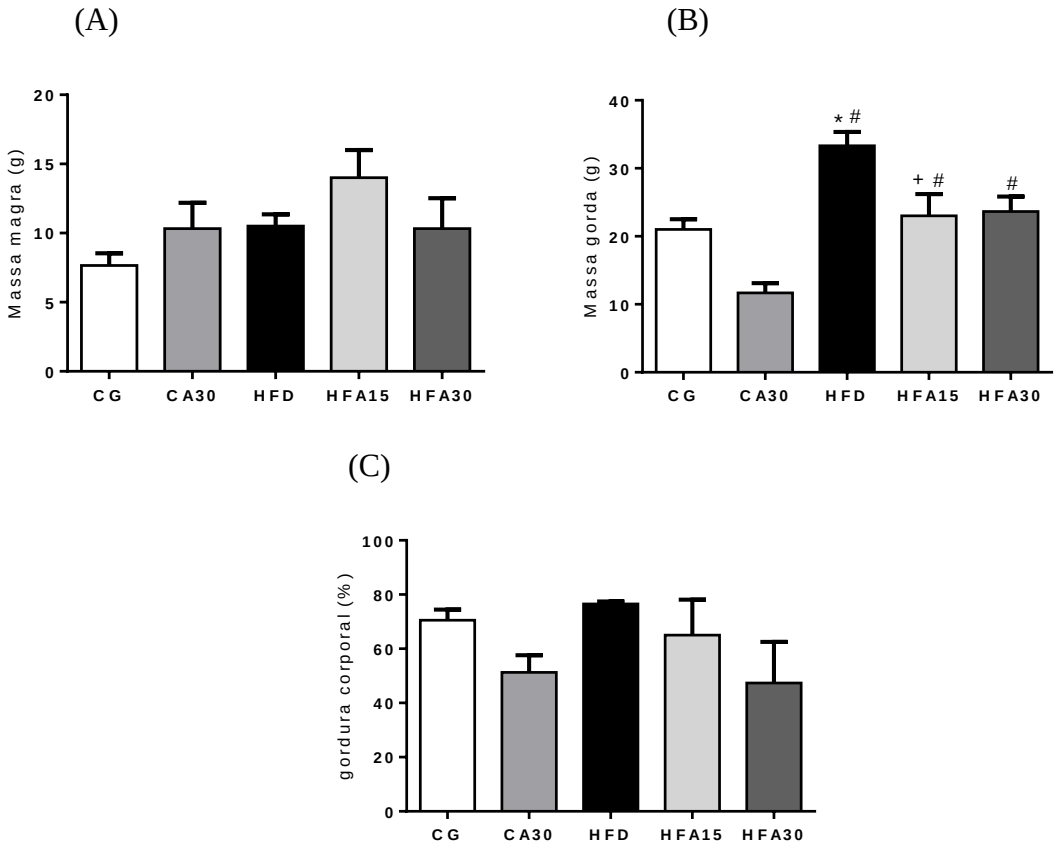
Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Consumo em gramas por dia (A), consumo em quilocalorias por dia (B) e Digestibilidade proteica aparente (C).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.4 **Composição corporal**

A quantidade média de massa gorda corporal dos animais do grupo HFD foi significativamente maior ($p < 0,05$) comparada aos grupos CG e CA30 (Fig. 8 B). A adição da FCA resultou em menor ($p < 0,05$) massa gorda corporal do grupo HFA15, comparada ao grupo HFD (Fig. 8B). Todos os grupos com dietas hiperlipídicas apresentaram maior quantidade de massa gorda ($p < 0,05$), comparados ao grupo controle tratado com FCA (CA30). Não houve diferença entre os grupos para os parâmetros de massa magra e de gordura corporal total (Fig 8 A e C).

Figura 8 – Efeito da adição da FCA na composição corporal



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Massa magra (A), massa gorda (B) e gordura corporal (C).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.5 **Marcadores bioquímicos de estado nutricional e avaliação da toxicidade**

As análises dos parâmetros de aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) e creatina quinase (CK) demonstraram um aumento significativo ($p < 0,05$) no grupo HFD. Não houve diferença entre os outros grupos. Os valores das proteínas totais e albumina não foram diferentes entre os grupos.

Tabela 2 – Marcadores bioquímicos de estado nutricional e avaliação da toxicidade da FCA

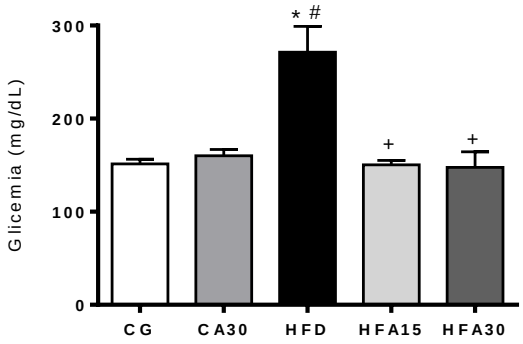
Parâmetros	CG	CA30	HFD	HFA15	HFA30
ALT / TGP (UI/L)	24,9 ± 3,0[a]	25,4 ± 1,4[a]	35,5 ± 3,8[b]	24,0 ± 1,7[a]	24,9 ± 2,1[a]
AST / TGO (UI/L)	36,1 ± 2,4[a]	36,7 ± 2,9[a]	46,5 ± 2,7[b]	33,5 ± 3,0[a]	36,2 ± 2,0[a]
CK (UI/L)	302 ± 4,7[a]	301,6 ± 17,9[a]	379,8 ± 16,3[b]	284,4 ± 24,6[a]	291,5 ± 20,7[a]
Albumina (mg/dL)	3,9 ± 0,4[a]	3,5 ± 0,6[a]	3,7 ± 0,5[a]	4,0 ± 0,9[a]	3,8 ± 0,6[a]
Proteína Total (mg/dL)	5,6 ± 0,7[a]	5,7 ± 0,5[a]	5,8 ± 1,0[a]	6,2 ± 0,9[a]	6,6 ± 0,8[a]

Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30).
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. Letras diferentes representam significância estatística.

4.6 **Glicemia**

A concentração sérica de glicose foi maior ($p < 0,05$) no grupo HFD comparada aos grupos CG e CA30 e houve redução significativa ($p < 0,05$) das concentrações de glicose nos grupos que consumiram a FCA (HFA15 e HFA30) comparadas ao grupo HFD.

Figura 9 – Efeito da adição da FCA nas concentrações de glicose plasmática



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30).

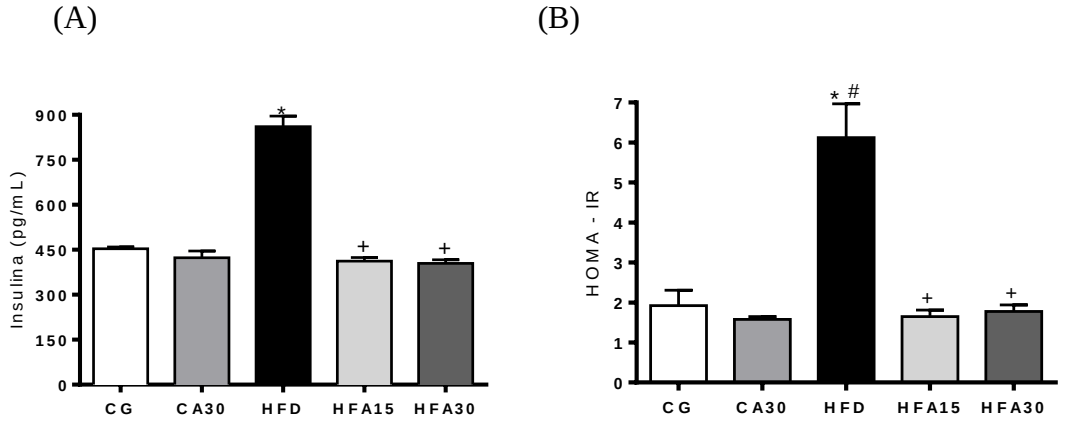
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.7 **Resistência à Insulina**

A concentração sérica de insulina foi maior ($p < 0,05$) no grupo HFD comparado aos grupos CG e CA30 e menor ($p < 0,05$) nos grupos que consumiram a FCA (HFA15 e HFA30) comparados ao grupo HFD.

O parâmetro que avalia a resistência à insulina, HOMA-IR, foi maior ($p < 0,05$) no grupo HFD comparado aos controles e os grupos hiperlipídicos tratados com a FCA demonstraram redução significativa ($p < 0,05$) nesse parâmetro quando comparados ao grupo HFD.

Figura 10 – Efeito da adição da FCA nas concentrações séricas de insulina e no índice HOMA-IR



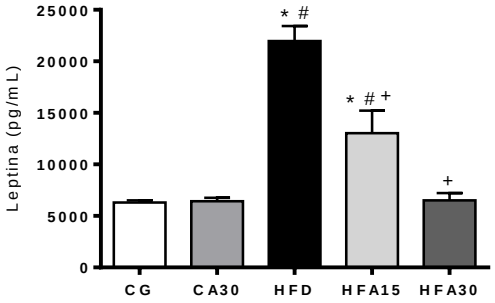
Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Níveis séricos de insulina (B) e índice HOMA-IR (B).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.8 **Leptina**

As concentrações séricas de leptina encontradas nos grupos HFD e HFA15 foram maiores ($p < 0,05$) que as dos grupos controles CG e CA30. Os animais dos grupos hiperlipídicos tratados com FCA (HFA15 e HFA30) demonstraram menores concentrações de leptina ($p < 0,05$).

Figura 11 – Efeito da adição da FCA nas concentrações séricas de leptina



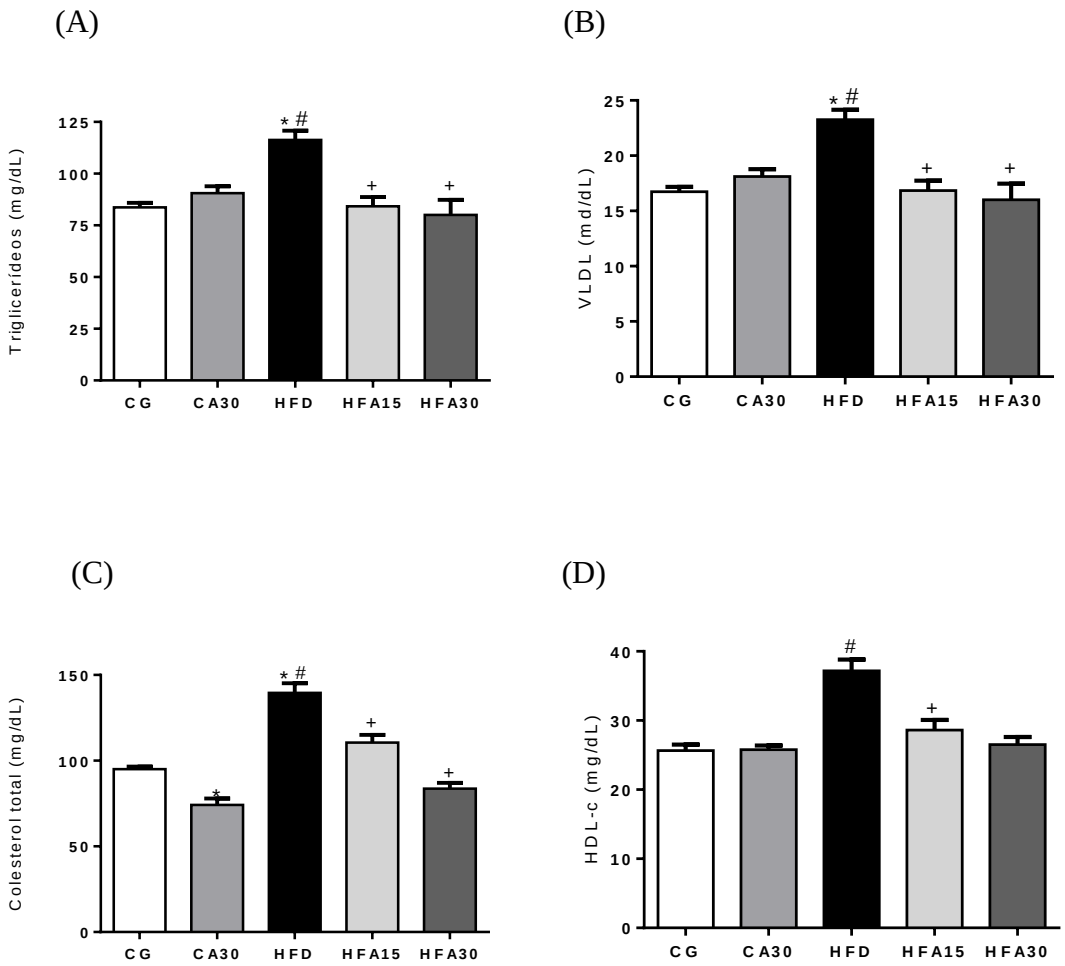
Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.9 **Perfil Lipídico Plasmático**

As concentrações séricas de triglicerídeos, VLDL e colesterol total apresentaram maiores valores no grupo HFD ($p < 0,05$) comparados ao grupo controle (Fig. 12 A, B e C). A adição da FCA preveniu o aumento desses parâmetros nos grupos HFA15 e HFA30 ($p < 0,05$). Foi observada menor concentração sérica de colesterol no grupo CA30 ($p < 0,05$) quando comparada ao grupo controle (Fig. 12 C). As concentrações séricas de HDL-c no grupo HFA15 foram menores ($p < 0,05$) quando comparadas ao grupo HFD (Fig. 12 D).

Figura 12 – Efeito da adição da FCA no perfil lipídico plasmático



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Triglicerídeo sérico (A), VLDL sérico (B), Colesterol total sérico (C) e HDL-c sérico (D).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

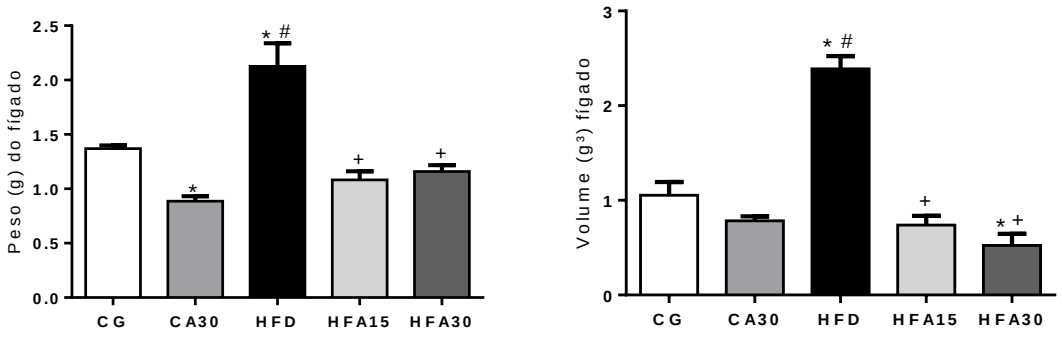
4.10 **Peso e Volume do Fígado**

O peso do tecido hepático do grupo HFD foi maior ($p < 0,05$) que dos grupos CG e CA30 (Fig 13 A). Os grupos que receberam as dietas adicionadas da FCA (HFA15 e HFA30) apresentaram valores de peso menores ($p < 0,05$), que o do grupo HFD, não sendo diferentes do controle (CG). O peso do tecido hepático do grupo CA30 ainda foi menor que o do controle (CG).

O volume hepático dos animais do grupo HFD foi maior ($p < 0,05$) que dos grupos CG e CA30 (Fig. 13 B). A adição da FCA resultou em menor ($p < 0,05$) volume hepático nos grupos HFA15 e HFA30 quando comparados ao grupo HFD. O grupo HFA30 também apresentou menor volume hepático ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo CG.

Figura 13 – Efeito da adição da FCA no peso e volume hepáticos

(A) (B)



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Peso do fígado (A) e volume do fígado (B).

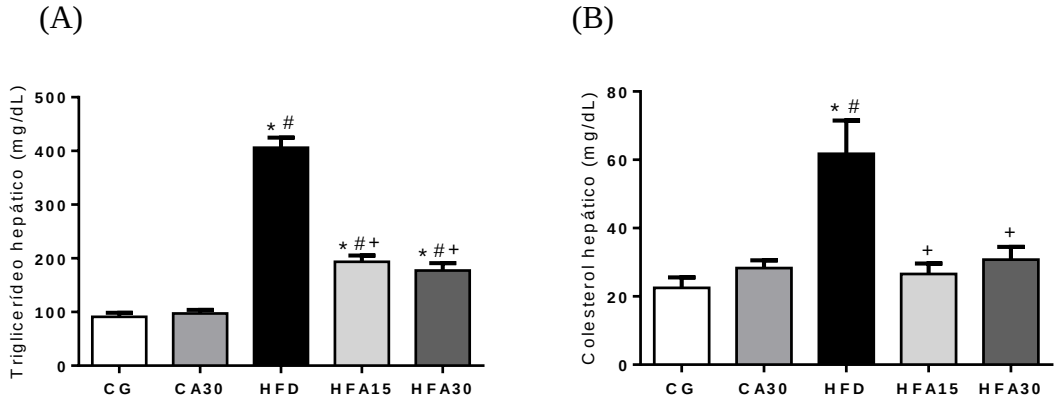
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.11 **Perfil Lipídico Hepático**

As concentrações hepáticas de triglicerídeos foram maiores ($p < 0,05$) no grupo HFD quando comparadas as dos grupos CG e CA30 (Fig. 14 A). Os valores dos grupos HFA15 e HFA30 se mostraram menores ($p < 0,05$) comparados ao grupo HFD, mas permaneceram ainda maiores que os dos grupos CG e CA30.

O grupo HFD também apresentou maiores concentrações de colesterol hepático ($p < 0,05$) comparado aos grupos CG e CA30 (Fig. 14 B). A adição da FCA resultou em valores menores ($p < 0,05$) de colesterol hepático, nos grupos HFA15 e HFA30, comparados aos do grupo HFD, não sendo diferentes do controle (CG).

Figura 14 – Efeitos da adição da FCA no perfil lipídico hepático



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Triglicerídeo hepático (A) e Colesterol hepático (B).

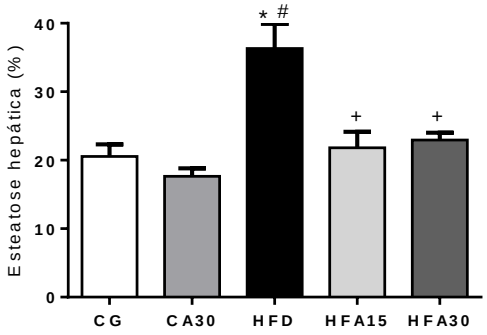
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.12 **Esteatose hepática**

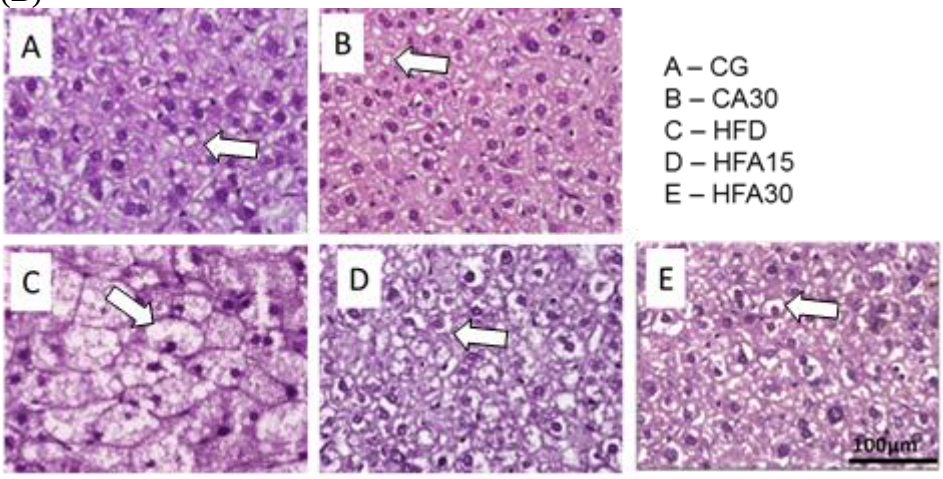
O percentual de esteatose hepática foi mais elevado ($p < 0,05$) no grupo HFD comparado aos grupos CG e CA30 (Fig. 15 A). Os grupos que receberam a dieta com adição da FCA (HFA15 e HFA30) não desenvolveram esteatose hepática, apresentando valores semelhantes aos dos grupos CG e CA30. A análise histológica do tecido hepático corado com eosina e hematoxilina revelou a maior presença de gotículas de gordura nos hepatócitos dos animais do grupo que recebeu a dieta hiperlipídica comercial (HFD) (Fig. 15 B). Todos os grupos tratados com a dieta hiperlipídica adicionada de FCA apresentaram menores gotículas, evidenciando menor percentual de gordura nos hepatócitos dos animais.

Figura 15 – Efeitos da adição de FCA na esteatose hepática

(A)



(B)



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Esteatose hepática (A) e Cortes representativos do fígado corado com HE (B).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.13 **Excreção Fecal de esteróis neutros e ácidos biliares**

O peso seco das fezes dos animais que consumiram as dietas com adição da FCA foi significativamente maior ($p < 0,05$) comparado aos grupos que consumiram as dietas padrões.

A quantidade de colesterol total presente nas fezes dos animais que consumiram a dieta hiperlipídica com adição de 30% da FCA (HFA30) foi maior ($p < 0,05$) quando comparada a dos outros grupos. As frações de colesterol representadas pelo colestanol e coprastanol foram encontradas em maior quantidade ($p < 0,05$) nos grupos que consumiram as dietas adicionadas da FCA.

Os grupos HFA15 e HFA30 excretaram mais ácidos biliares ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo HFD.

Tabela 3 – Efeitos do consumo da farinha do caroço açaí na excreção fecal de esteróis neutros

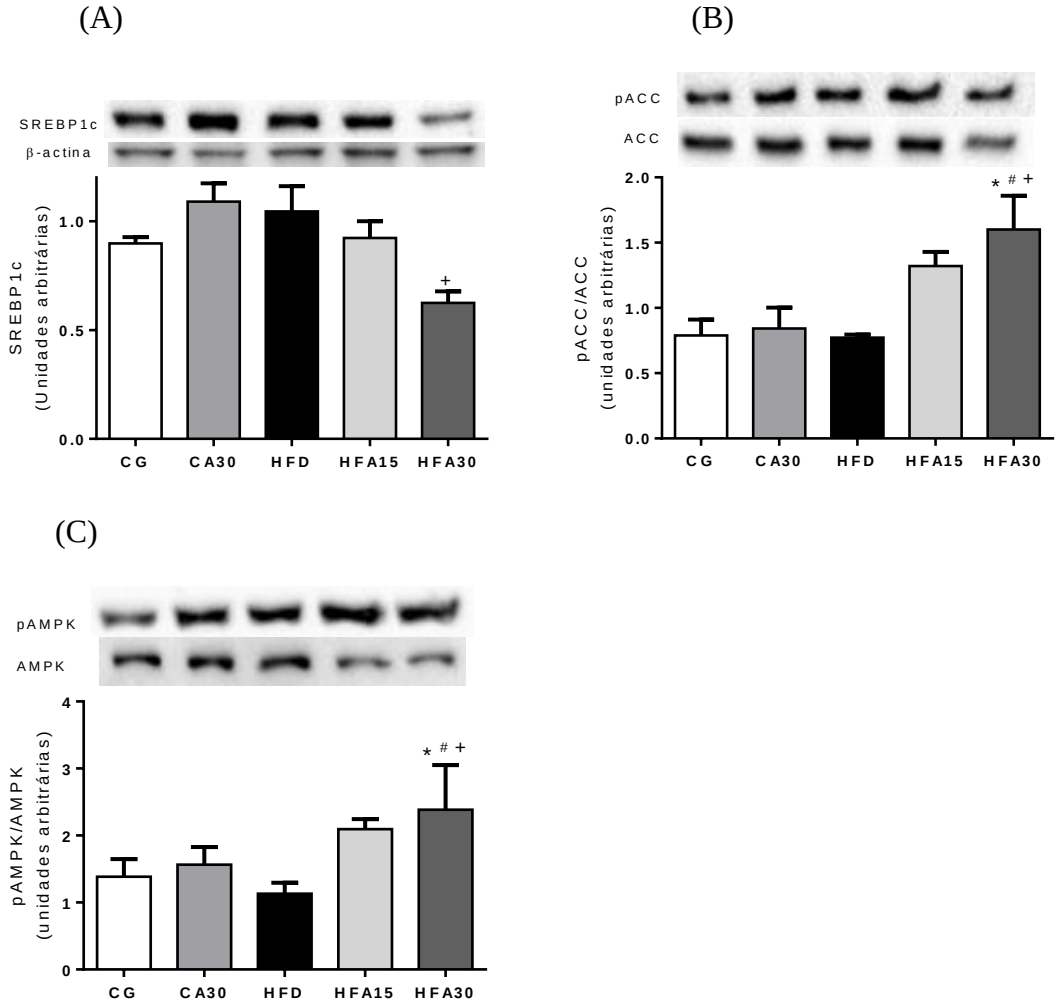
Fezes (3 dias)	CG	CA30	HFD	HFA15	HFA30
Peso seco (g)	3.3 ± 0.1^{a}	$5.8 \pm 0.1^{b,c}$	$5.1 \pm 0.2^{a,b}$	$7.2 \pm 0.5^{c,d}$	9 ± 0.4^{d}
Colesterol (µmol)	726 ± 33^{a}	839.7 ± 44.1^{a}	694.3 ± 39.1^{a}	$1252 \pm 84.4^{a,b}$	1561 ± 230.9^{b}
Colestanol (µmol)	23 ± 1.1^{a}	19.3 ± 0.8^{a}	22 ± 2.0^{a}	38.6 ± 1.7^{b}	43.3 ± 1.4^{b}
Coprastanol (µmol)	11 ± 1.1^{a}	36.6 ± 6.9^{b}	12.6 ± 1.2^{a}	$36.6 \pm 1.2^{b,c}$	$37.6 \pm 1.3^{b,c}$
Total de ácidos biliares (µmol)	157.7 ± 5.5^{a}	228 ± 12.7^{a}	160.3 ± 10.3^{a}	370.3 ± 17.9^{b}	357 ± 28^{b}

Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30).
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. Letras diferentes representam significância estatística.

4.14 **Expressão de proteínas envolvidas na síntese de lipídeos e excreção de colesterol**

A expressão do fator adipogênico de transcrição SREBP-1c foi menor ($p < 0,05$) no grupo HFA30 quando comparado ao grupo HFD (Fig. 16 A). Os outros grupos não apresentaram diferença estatística. A relação entre a expressão das proteínas pACC e ACC foi maior no grupo HFA30 em comparação aos grupos controle (CG e CA30) e HFD. (Fig 16.B). A relação entre a expressão das proteínas pAMPK e AMPK foi maior no grupo HFA30 em comparação aos grupos controle (CG e CA30) e HFD. (Fig 16.C).

Figura 16 – Efeitos da adição da FCA na expressão de proteínas envolvidas na lipogênese



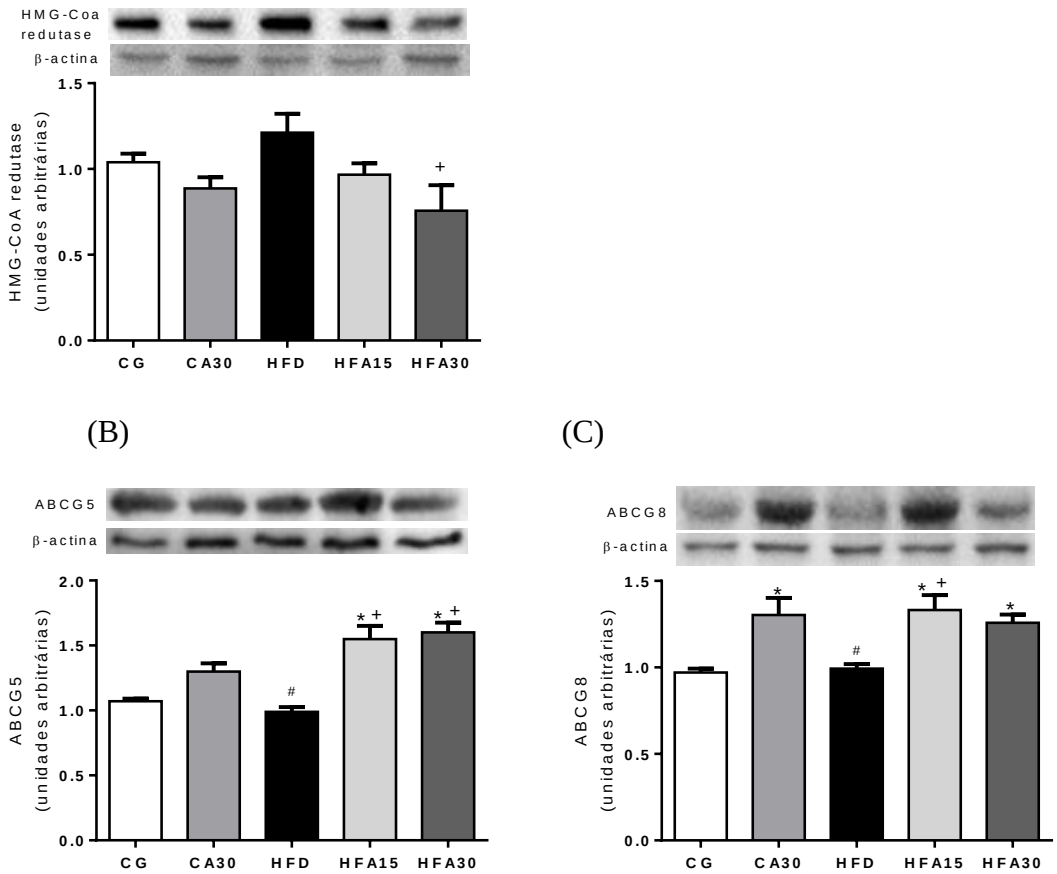
Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Expressão proteica de SREBP-1c (A), relação entre acetil-CoA carboxilase fosforilada (pACC) e acetil-CoA carboxilase (ACC) (B) e relação entre pAMPK e AMPK (C).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

A enzima HMG-CoA redutase do grupo HFA30 apresentou menor expressão ($p < 0,05$) em relação ao grupo HFD (Fig. 17 A). Os demais grupos não apresentaram diferença estatística para a expressão dessa enzima.

A expressão dos transportadores ABCG5 e ABCG8 não foi diferente entre os grupos HFD e controle CG, mas foi menor ($p < 0,05$) no grupo HFD em relação ao grupo CA30 (Fig. 17 B e C). A adição da FCA aumentou significativamente ($p < 0,05$) a expressão do ABCG5 em tecido hepático dos grupos HFA15 e HFA30 comparada a dos grupos HFD e CG (Fig 17B). A expressão do ABCG8 foi maior ($p < 0,05$) em todos os grupos que receberam dieta com adição de FCA (CA30, HFA15 e HFA30), comparada ao grupo CG (Fig. 17 C) e a expressão do transportador foi maior ($p < 0,05$) no grupo HFA15 em relação ao HFD.

Figura 17 – Efeitos da adição da FCA na expressão de proteínas envolvidas na síntese e excreção do colesterol



Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Expressão proteica de HMG-Coa redutase (A) ABCG5 (B) e ABCG8 (C).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

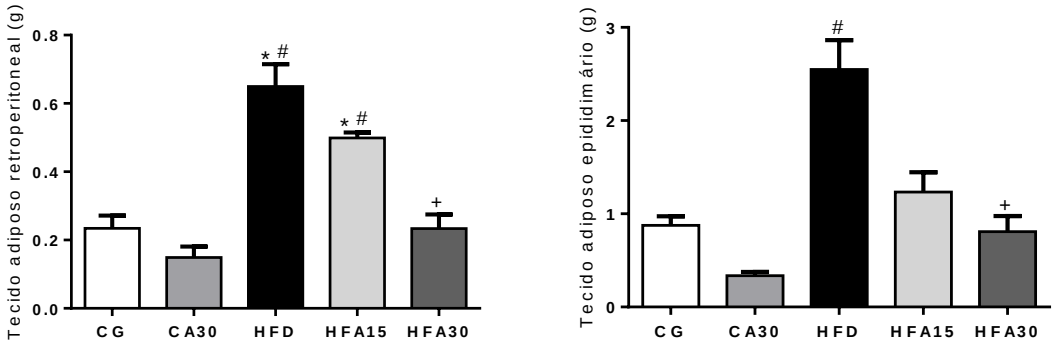
4.15 **Peso do tecido adiposo**

A quantidade de tecido adiposo retroperitoneal foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos animais que consumiram a dieta hiperlipídica (HFD) comparados aos animais do grupo controle CG e CA30 (Fig. 18 A). Os animais do grupo HFA30 apresentaram menor quantidade ($p < 0,05$) desse tecido comparado ao grupo HFD.

Os animais do grupo HFA30 também demonstraram menor ($p < 0,05$) quantidade de tecido adiposo epididimário, comparados aos do grupo HFD (Fig. 18 B). O grupo HFD apresentou maior quantidade ($p < 0,05$) desse tecido quando comparado ao grupo CA30.

Figura 18 – Efeitos da adição da FCA no tecido adiposo

(A) (B)



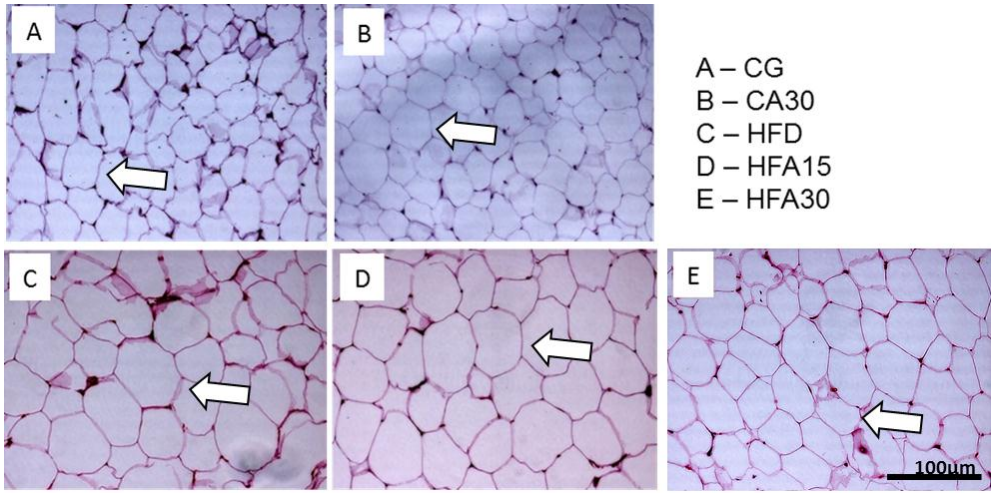
Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Tecido adiposo retroperitoneal (A) e Tecido adiposo epididimário (B).

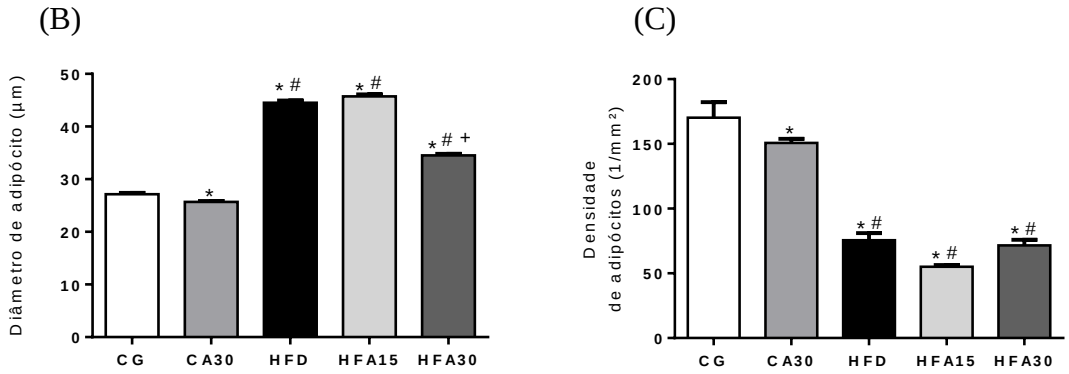
Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

4.16 **Morfometria do tecido adiposo**

O diâmetro dos adipócitos foi menor ($p < 0,05$) nos animais com dieta controle adicionada de 30% de FCA (CA30) comparados aos do grupo CG (Fig. 19 A e B). O grupo HFD apresentou diâmetros maiores ($p < 0,05$) que os encontrados no grupo CG. Adipócitos de menor diâmetro ($p < 0,05$) foram observados no grupo HFA30 comparados aos do grupo HFD (Fig. 19 A e B). A densidade de adipócitos do grupo HFD foi menor ($p < 0,05$) quando comparada a dos grupos CG e CA30 (Fig. 19 A e C). As lâminas histológicas do tecido adiposo coradas com eosina e hematoxilina mostram o aumento da quantidade de gotículas de gordura no grupo HFD comparado aos outros e a redução das gotículas nos grupos tratados com FCA, exceto no grupo HFA15.

Figura 19 – Efeitos da adição da FCA no tecido adiposo
(A)





Legenda: Animais dos grupos Controle (CG), controle com 30% de FCA (CA30), hiperlipídico (HFD), hiperlipídico com 15% de FCA (HFA15) e hiperlipídico com 30% de FCA (HFA30). Cortes representativos do tecido adiposo corado com HE (A) e Diâmetro de adipócitos (B) e Densidade de adipócitos (C).

Nota: Valores representam a média ± erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação ao grupo CG,+ $p<0,05$ em relação ao grupo HFD e # $p<0,05$ em relação ao grupo CA30.

5 **DISCUSSÃO**

O açaí é um fruto tropical, rico em compostos fenólicos, sendo 85% do seu peso composto pelo caroço. O extrato hidroalcoólico do caroço do açaí vem sendo objeto de estudos que demonstram um papel importante no tratamento e prevenção das características metabólicas e fenotípicas da síndrome metabólica, assim como a redução da massa corporal, diminuição da lipogênese e aumento da expressão de transportadores responsáveis pela excreção de colesterol (DE OLIVEIRA et al., 2010, 2015).

No presente estudo, a inclusão da FCA na dieta hiperlipídica ofertadas a animais recém desmamados apresentou impacto na prevenção de acúmulo de tecido adiposo, esteatose hepática, dislipidemias e na manutenção dos níveis séricos de marcadores bioquímicos de estado nutricional. A FCA promoveu menor lipogênese e maior a excreção de lipídeos por meio da regulação de receptores, transportadores e da cascata de sinalização de lipogênese, além do aumento da excreção de esteróis neutros e ácidos biliares.

Também foi determinada a composição centesimal da FCA, o que permitiu a comparação com a composição da polpa já demonstrada anteriormente (ROGEZ, 2000; SCHAUSS et al., 2006). Os novos dados do presente estudo, mostram que a FCA, apresentou menor teor lipídico e proteico e maior quantidade de carboidrato total que o da polpa. Em estudo recente sobre os frutos da jussara (Euterpe edulis Mart.) e da jabuticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell.) O. Berg), rico em compostos fenólicos, Inada et al., 2015 demonstraram que a composição dos caroços desses dois frutos possui conteúdos similares aos encontrados neste estudo. O caroço da jussara e o caroço da jabuticaba apresentam quantidades próximas de carboidrato quando comparadas ao caroço do açaí. A FCA possui maior teor lipídico entre os três, enquanto a jabuticaba aparece com maior valor proteico, próximo a FCA. O conteúdo mineral encontrado na FCA também é de suma importância, visto que o cálcio encontrado corresponde a 28,2% da *Recommended Dietary Allowances* (RDA) para homens e mulheres (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Também estão presentes o ferro, potássio, fósforo, zinco, cobre e magnésio, entretanto, em menor quantidade do que a encontrada no caroço da Jussara (INADA et al., 2015).

Embora alguns estudos revelem uma maior saciedade e, portanto, menor consumo dietético quando há presença de fibras na dieta (STORY, 1985), os animais que receberam a FCA não reduziram o consumo. Ainda assim, os animais do grupo HFA30, que consumiram a maior quantidade da dieta (em calorias e em gramas), apresentaram menor ganho de peso

quando comparados ao grupo HFD. Da mesma forma, o grupo CA30 e HFA15 obtiveram menor ganho de peso quando comparados ao GC e HFD.

Altas concentrações plasmáticas de AST e ALT remetem ao dano hepático e são considerados marcadores específicos clínicos de hepatotoxicidade (OZER et al., 2008). O grupo CA30 foi planejado no estudo com a finalidade de esclarecer se o uso da FCA poderia trazer danos tóxicos aos animais, já que se trata da maior concentração de FCA consumida pelo grupo com dieta hiperlipídica. As concentrações normais dessas aminotransferases, observadas não só no grupo CA30, mas também nos grupos HFA15 e HFA30 indicam que ambos os percentuais de FCA escolhidos para a realização deste estudo, não promovem alterações bioquímicas envolvidas na toxicidade hepática. As lâminas histológicas do tecido hepático apresentaram o tecido íntegro nos grupos que consumiram a FCA, reiterando que não houve danos nos hepatócitos advindos do consumo dietético experimental.

O marcador bioquímico CK também foi avaliado para verificar possíveis danos no miocárdio, músculo e fígado dos animais e nenhuma alteração foi encontrada. A albumina e a proteína total são conhecidas como parâmetros que indicam a condição proteica (JAMES; HAY, 1968). Os resultados não demonstraram alterações nos grupos que consumiram a FCA, reafirmando que não houve danos ou prejuízo no crescimento e desenvolvimento desses animais. Este dado também corrobora com a digestibilidade proteica aparente, demonstrando que a adição da FCA não influenciou o aproveitamento dietético da proteína ingerida. Com esses parâmetros, inferimos que, não há danos metabólicos para o consumo da FCA nas concentrações escolhidas para este estudo.

Foram observados no grupo HFD o aumento da glicemia, insulina e maior HOMA-IR, o que já foi relatado em diversos trabalhos publicados anteriormente (FRAULOB et al., 2010; PARADIS et al., 2001). A utilização da FCA impediu o aumento das concentrações de glicose e insulina, prevenindo o desenvolvimento da RI nos animais que consumiram 15 e 30% da FCA nas dietas hiperlipídicas. Estes resultados com a FCA reforçam nossos estudos prévios com o ASE, no mesmo modelo experimental (DE OLIVEIRA et al., 2010; 2015), sugerindo uma importante ação preventiva da FCA no desenvolvimento da hiperglicemia e RI. A diminuição do peso corporal e adiposidade promovida pela FCA poderiam explicar em parte a melhora da RI, já que a obesidade pode levar à RI, intolerância à glicose e diabetes (BASTARD et al., 2006).

As concentrações plasmáticas aumentadas de leptina, no grupo HFD devem ser decorrentes de uma maior síntese e secreção dessa adipocina pelo tecido adiposo. A hiperleptinemia na obesidade está geralmente relacionada com uma resistência ao efeito

anorexigênico da leptina (CONSIDINE et al., 1996), refletindo seus depósitos de gordura aumentados (OLIVEIRA et al., 2013). Notavelmente, as menores concentrações de leptina apresentadas pelos grupos HFA15 e HFA30 foram dose-dependente em relação às quantidades da FCA utilizadas nos grupos. Entretanto, apenas o grupo HFA15 teve a menor concentração de leptina correlacionada ao menor percentual de gordura corporal, sem alteração do consumo alimentar, indicando uma possível melhora da sensibilidade à leptina (Oliveira et al., 2015). Apesar da leptina ser considerada um importante fator de regulação da saciedade (JÉQUIER, 2002), o consumo alimentar não foi associado às menores concentrações de leptina encontradas neste trabalho.

As dietas com alto teor lipídico favorecem as dislipidemias (XAVIER et al., 2013). O grupo HFD apresentou maiores concentrações de triglicerídeos, VLDL, HDL e colesterol plasmáticos. A FCA atuou na prevenção das altas concentrações plasmáticas e hepáticas dos lipídeos nos animais que consumiram a FCA junto a dieta hiperlipídica. Importante ressaltar que em relação as concentrações plasmáticas de colesterol, o grupo CA30 apresentou concentrações ainda menores que o grupo CG, indicando que a ação da FCA nesse grupo pode ter importante papel no controle da dislipidemia.

A relação da expressão proteica entre as proteínas pAMPK e AMPK encontrou-se aumentada no grupo HFA30, refletindo na maior relação da expressão das proteínas pACC e ACC no mesmo grupo. A ACC é responsável por transformar a molécula de palmitato em mevalonato, seguindo com a síntese de lipídeos, e quando ativa passa a não atuar na via, resultando na redução desse processo. A expressão do SREBP-1c, fator de transcrição que ativa genes lipogênicos, bem como a expressão da HMG-CoA redutase, enzima chave na síntese de colesterol foram menores no grupo HFA30. Dessa forma, pode-se sugerir que a concentração de 30% da FCA na dieta hiperlipídica foi capaz de diminuir a lipogênese. A menor quantidade de tecido adiposo epididimário e retroperitoneal também foi mais expressiva no grupo HFA30, embora também tenha sido encontrado menor conteúdo do tecido adiposo retroperitoneal no grupo HFA15. Não houve diferença na composição corporal dos animais, exceto no grupo HFA15 que apresentou menor quantidade de massa gorda. Esse fato pode ser atribuído a menor síntese de lipídeos observada pela ação da FCA.

A análise morfométrica dos adipócitos revelou que a menor densidade dessas células foi encontrada no grupo HFA15, enquanto que a diminuição do diâmetro foi mais eficaz nos grupos CA30 e HFA30. Importante destacar que o grupo CA30 apresentou menor diâmetro e densidade comparada ao grupo CG, remetendo a formação de células de adipócitos

hiperplásicas. A concentração de 30% de FCA parece ter um papel essencial em reduzir o processo de lipogênese e reflete em menor ocorrência da obesidade hipertrófica.

A hepatomegalia e a esteatose hepática refletem o acúmulo ectópico de gordura no fígado e os animais obesos que consomem dieta hipercalórica e hiperlipídica apresentam maior estoque de gordura nesse órgão, demonstrado através do acúmulo de triglicerídeos e de forma morfológica através de depósitos micro e macrovesiculares de gotículas de gordura (CARMIEL-HAGGAI, 2004; LUDWIG; MCGILL; LINDOR, 1997). Dessa forma, as lâminas histológicas e a quantificação de gordura nos hepatócitos, mostram que a esteatose hepática nos animais que consumiram a dieta hiperlipídica com ambos percentuais da FCA se apresentou mais amena daquela observada quando é oferecida a dieta hiperlipídica sozinha, chegando a assemelhar-se ao encontrado no grupo controle. Houve menor acúmulo de triglicerídeos e menor peso e volume do fígado nos grupos HFA15 e HFA30, ressaltando-se também a importante redução do peso desse órgão no grupo CA30.

Na obesidade a expressão da enzima HMG-Coa redutase encontra-se aumentada (WU et al., 2013), o que também foi observado nesse estudo no grupo HFD. Os efeitos da FCA no grupo HFA30 mostraram que a concentração de 30% da FCA auxiliou na redução da síntese de colesterol, correlacionando com a menor expressão da HMG-Coa redutase. A ação apresentada pela FCA nos animais do grupo HFA30 sugerem que essa farinha pode ser estudada para avaliação de seu uso como nutracêutico, já que reduz a ação da enzima HMG-Coa redutase assim como o visto na ação de fármacos da classe das estatinas. Os dados bioquímicos confirmam a diminuição do colesterol circulante e também a menor concentração de colesterol no fígado nos grupos HFA15 e HFA30.

Os animais com dieta adicionada de FCA apresentaram menores concentrações de colesterol plasmático, indicando uma possível absorção reduzida desse esterol pelo intestino. Schauss *et al* em 2006, demonstraram a presença de fitoesterois e fibras alimentares no açaí. Acredita-se que os fitoesterois competem com o colesterol pelo sítio de absorção intestinal, reduzindo seus níveis plasmáticos (HEINEMANN et al., 1991), sendo possível então que estejam envolvidos na redução da absorção do colesterol dietético.

De fato, a utilização da FCA na dieta dos animais dos grupos hiperlipídicos contribuiu para o aumento da expressão dos transportadores ABCG5 e ABCG8. O aumento da expressão desses transportadores está correlacionado ao principal mecanismo de excreção biliar de colesterol (VOLOSHYNA; REISS, 2011; YU et al., 2002). Esses dados corroboram com trabalho anterior realizado pelo nosso grupo que também apresentou maior expressão dos transportadores ABCG5 e ABCG8 em animais tratados com o ASE (DE OLIVEIRA et al.,

2015). Juntos, os transportadores ABCG5 e ABCG8 foram mais expressos no grupo HFA15, sugerindo que essa concentração na dieta hiperlipídica seria mais eficaz na excreção do colesterol.

Neste estudo, demonstramos que 100g da FCA contém 9,6g de fibras, sendo a maior parte (9,3g) de fibras insolúveis. Na dieta oferecida aos animais, o percentual de 15% da FCA contribuiu com a soma de 1,4g de fibras. Já o percentual de 30% somou 2,8g de fibras à dieta oferecida. A presença destas fibras pode estar envolvida em parte do mecanismo de maior excreção fecal de colesterol e também do menor ganho de peso encontrado nos animais que consumiram a dieta com FCA. Apesar das fibras insolúveis, aumentarem o bolo fecal e melhorar o trânsito intestinal, também podem atuar nesse mecanismo impedindo a exposição da gordura no trato gastrointestinal, e assim a sua digestão e absorção (SHIMIZU-IBUKA et al., 2009).

Além disso, diversos estudos indicam que o aumento da ingestão de fibras na dieta está correlacionado ao menor risco de doenças cardiovasculares, que pode ser atribuída ao seu efeito positivo no conteúdo lipídico plasmático e no metabolismo de insulina e glicose (VEGA-LÓPEZ; FREAKE; FERNANDEZ, 2003; YOUDIM; MARTIN; JOSEPH, 2000).

Ainda em relação à excreção do colesterol, os dados fecais obtidos nesse estudo agregam e apoiam a hipótese de uma maior excreção de colesterol e suas frações colestanol e coprastanol nos grupos HFA15 e HFA30. O peso seco das fezes e maior excreção dos ácidos biliares nesses grupos reforçam a hipótese de que a FCA atua diretamente na via de excreção do colesterol. O grupo CA30, com maior peso fecal, demonstra a importante ação das fibras em todos os grupos que consumiram a FCA. Nossa hipótese é reforçada por evidências recentes de que a polpa de açaí pode modular a expressão dos genes envolvidos na homeostase do colesterol no fígado e aumentar a excreção fecal, reduzindo assim o colesterol sérico (DE SOUZA et al., 2012).

Em suma, a FCA exerce ação sistêmica, possivelmente pelo conteúdo de compostos biativos, como já demonstrado previamente por DE OLIVEIRA et al., 2015, e também exerce ação local, já que houve aumento da excreção de colesterol e frações e ácido biliar. A excreção de ácido biliar está relacionada com um maior seqüestro de colesterol plasmático para ser conjugado aos ácidos biliares, o que leva ao aumento da remoção de colesterol hepático e plasmático (WANG et al., 2012).

O uso da farinha do caroço de uva do tipo Chardonnay apresentou efeitos benéficos na redução do colesterol plasmático, da esteatose hepática, da quantidade de gordura abdominal e menor ganho de peso de *hamsters* machos que consumiram dietas hiperlipídicas. Esses estudos

atribuem os efeitos à modulação da microbiota a partir das fibras encontradas na farinha e também dos compostos fenólicos presentes, como as catequinas e epicatequinas, a partir da regulação da expressão de genes envolvidos no metabolismo de lipídeos no fígado e no tecido adiposo, além dos genes relacionados ao colesterol e ácidos biliares (KIM et al., 2014, 2015). Outro estudo utilizando a farinha do caroço de abacate em modelo murino de hipercolesterolemia encontrou resultados positivos na redução do colesterol e de LDL, atribuídos ao total de fibras dietéticas e de compostos fenólicos presentes na farinha do caroço de abacate, contudo, não apresentaram possíveis mecanismos de ação desses compostos. (PAHUA-RAMOS et al., 2012).

Foi encontrado neste estudo, uma concentração média de polifenois totais da farinha do caroço do açaí de 19,95 mg GAE.g–1. De forma semelhante, DE OLIVEIRA et al., 2015 apresentou que o ASE é rico em polifenois e que eles exercem importante função na prevenção de dislipidemias, ganho de peso e também no aumento da expressão de transportadores envolvidos na excreção de colesterol. Dessa forma, os resultados aqui encontrados sugerem que as fibras, ao lado dos mecanismos antioxidantes oferecidos pelos compostos fenólicos presentes no açaí podem ser importantes para que haja a redução da lipogênese e consequentemente menor ganho de peso dos animais estudados, além da melhora no perfil lipídico, redução da síntese e aumento da excreção de colesterol e ácidos biliares.

No presente estudo, avaliamos a adição da FCA em uma dieta hiperlipídica no desenvolvimento da obesidade. De forma semelhante, DE OLIVEIRA et al., 2015, demonstraram que o efeito antiobesogênico do extrato do caroço do açaí, rico em polifenóis está relacionado a menor expressão de proteínas envolvidas na lipogênese e na maior expressão de transportadores de excreção de lipídeos na prevenção da obesidade. Estes achados, adicionados dos dados de aumento da excreção de esteróis neutros encontrados em nosso estudo, indicam que além dos polifenóis encontrados na farinha do caroço do açaí, as fibras possuem papel importante na absorção e metabolismo de lipídeos. O uso da FCA possibilita o uso integral do caroço e também é importante por ser uma opção de uso direto na dieta.

CONCLUSÃO

Este estudo caracterizou a farinha do caroço do açaí e avaliou os efeitos resultantes do uso dessa farinha em modelo de obesidade murina induzida por dieta. Pode-se concluir então que a FCA possui importante quantidade de carboidratos, com importante quantidade de fibras e minerais e que não há prejuízo no estado nutricional ou toxicidade no consumo dessa farinha. Além disso, há um efeito protetor no ganho de gordura corporal dos animais que consumiram a dieta com FCA, que apresentaram menor lipogênese e síntese de colesterol, ao passo que obtiveram maior excreção de colesterol e ácidos biliares.

Os principais mecanismos propostos para tais efeitos benéficos envolvem: a ação das fibras dietéticas na redução da captação de colesterol dietético, bem como na excreção aumentada desse colesterol; a modulação das vias de síntese de colesterol, através da redução da expressão da HMG-Coa redutase e da excreção através do aumento da expressão proteica dos transportadores ABCG5 e ABCG8. Além da redução da lipogênese através da modulação negativa da SREBP-1c e positiva da pAMPK e pACC.

Os resultados aqui encontrados apresentam uma possibilidade de manejo alimentar na prevenção da obesidade para que o caroço do açaí seja utilizado de forma integral na dieta como agente preventivo no sobrepeso e obesidade e em suas alterações metabólicas.

REFERÊNCIAS

ABNT. **NBR 10004: Resíduos Sólidos - classificação.**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, , 2002.

ANVISA. **Dislipidemia**, 2011.

AOAC. **Official methods of analysis.** 18. ed. Gaithersburg: AOAC International: [s.n.].

AUSMAN, L. M. et al. Fecal bile acids and neutral sterols in the cotton-top tamarin (Saguinus oedipus). **Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry**, v. 105, n. 3–4, p. 655–663, ago. 1993.

BADOUD, F. et al. Molecular insights into the role of white adipose tissue in metabolically unhealthy normal weight and metabolically healthy obese individuals. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 3, p. 748–758, 1 mar. 2015.

BASTARD, J.-P. et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network**, v. 17, n. 1, p. 4–12, mar. 2006.

BAYS, H. E. et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 6, n. 3, p. 343–368, mar. 2008.

BROWN, J.; YU, L. Opposing Gatekeepers of Apical Sterol Transport: Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) and ATP-Binding Cassette Transporters G5 and G8 (ABCG5/ABCG8). **Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 18–29, 1 mar. 2009.

BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 15, n. 4, p. 798–808, abr. 2007.

BUGIANESI, E. et al. Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 17, p. 1941–1951, 1 jun. 2010.

CARMIEL-HAGGAI, M. A high-fat diet leads to the progression of non-alcoholic fatty liver disease in obese rats. **The FASEB Journal**, 26 out. 2004.

CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **The New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 5, p. 292–295, 1 fev. 1996.

COTRIM, H. P. et al. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma: natural history? **The American Journal of Gastroenterology**, v. 95, n. 10, p. 3018–3019, out. 2000.

CRUJEIRAS, A. B. et al. Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. **Life Sciences**, v. 140, p. 57–63, nov. 2015.

DA COSTA, C. A. et al. Euterpe oleracea Mart.-derived polyphenols prevent endothelial dysfunction and vascular structural changes in renovascular hypertensive rats: role of oxidative

stress. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 385, n. 12, p. 1199–1209, dez. 2012.

DALTON CRUZ PESSOA, J.; DA SILVA E SILVA, P. V. Effect of temperature and storage on açaí (*Euterpe oleracea*) fruit water uptake: simulation of fruit transportation and pre-processing. **Fruits**, v. 62, n. 5, p. 295–302, set. 2007.

DANIELS, T. F. Lipoproteins, cholesterol homeostasis and cardiac health. **International Journal of Biological Sciences**, p. 474–488, 2009.

DE BEM, G. F. et al. Protective effect of *E uterpe oleracea* Mart (açaí) extract on programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during pregnancy: ASE improves vascular and renal changes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 9, p. 1328–1338, set. 2014.

DE OLIVEIRA, P. R. B. et al. Effects of an Extract Obtained From Fruits of Euterpe oleracea Mart. in the Components of Metabolic Syndrome Induced in C57BL/6J Mice Fed a High-fat Diet: **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 56, n. 6, p. 619–626, dez. 2010.

DE OLIVEIRA, P. R. B. et al. Euterpe oleracea Mart.-Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0143721, 2 dez. 2015.

DE SOUZA, M. O. et al. The hypocholesterolemic activity of açaí (Euterpe oleracea Mart.) is mediated by the enhanced expression of the ATP-binding cassette, subfamily G transporters 5 and 8 and low-density lipoprotein receptor genes in the rat. **Nutrition Research**, v. 32, n. 12, p. 976–984, dez. 2012.

DIMITRIADIS, G. et al. Insulin effects in muscle and adipose tissue. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 93 Suppl 1, p. S52-59, ago. 2011.

DO NASCIMENTO, W. M. O. Açaí: Euterpe oleracea Mart. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**, v. 18, 2008.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. [The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism]. **Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 216–229, abr. 2006.

FRAULOB, J. C. et al. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 212–223, 2010.

FRAYN, K. N.; ARNER, P.; YKI-JÄRVINEN, H. Fatty acid metabolism in adipose tissue, muscle and liver in health and disease. **Essays in Biochemistry**, v. 42, p. 89–103, 2006.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, jun. 1972.

FRUHBECK, G.; NUTR, R. Peripheral Actions of Leptin and Its Involvement in Disease. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. suppl 10, p. S47–S55, 1 out. 2002.

GALLOU-KABANI, C. et al. C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 15, n. 8, p. 1996–2005, ago. 2007.

GOGIA, S.; NEUSCHWANDER-TETRI, B. A. Unexplained CK elevations in patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Liver International**, v. 26, n. 7, p. 899–900, set. 2006.

HAN, C. C. et al. Effect of cholesterol on lipogenesis and VLDL–TG assembly and secretion in goose primary hepatocytes. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 374, n. 1–2, p. 163–172, fev. 2013.

HARDIE, D. G. et al. Regulation of lipid metabolism by the AMP-activated protein kinase. **Biochemical Society Transactions**, v. 25, n. 4, p. 1229–1231, nov. 1997.

HARRISON, S. A.; TORGERSON, S.; HAYASHI, P. H. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 98, n. 9, p. 2042–2047, set. 2003.

HEINEMANN, T. et al. Mechanisms of action of plant sterols on inhibition of cholesterol absorption: Comparison of sitosterol and sitostanol. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 40, n. 1, p. S59–S63, jan. 1991.

HILL, J. O.; PETERS, J. C. Environmental contributions to the obesity epidemic. **Science (New York, N.Y.)**, v. 280, n. 5368, p. 1371–1374, 29 maio 1998.

HOMMA, A. Fruticultura em Revista. **Frazão DACO despertar da fruticultura amazônica**, n. Novembro, p. 27–31, 2002.

HORTON, J. D.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. **Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 9, p. 1125–1131, 1 maio 2002.

INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (Myrciaria jaboticaba) and jussara (Euterpe edulis) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422–433, ago. 2015.

JAMES, W. P.; HAY, A. M. Albumin metabolism: effect of the nutritional state and the dietary protein intake. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 9, p. 1958–1972, set. 1968.

JÉQUIER, E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 967, p. 379–388, jun. 2002.

JUNG, U. J.; CHOI, M.-S. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 4, p. 6184–6223, 2014.

KAHN, S. E. et al. Obesity is a major determinant of the association of C-reactive protein levels and the metabolic syndrome in type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 55, n. 8, p. 2357–2364, ago. 2006a.

KAHN, S. E. et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. **The New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 23, p. 2427–2443, 7 dez. 2006b.

KANG, J. et al. Flavonoids from acai (Euterpe oleracea Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 152–157, set. 2011.

KANG, J. et al. Bioactivities of açaí (Euterpe precatoria Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to Euterpe oleracea Mart. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 671–677, ago. 2012.

KIM, H. et al. Dietary Supplementation of Chardonnay Grape Seed Flour Reduces Plasma Cholesterol Concentration, Hepatic Steatosis, and Abdominal Fat Content in High-Fat Diet-Induced Obese Hamsters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 8, p. 1919–1925, 26 fev. 2014.

KIM, H. et al. Modulation of the Intestinal Microbiota Is Associated with Lower Plasma Cholesterol and Weight Gain in Hamsters Fed Chardonnay Grape Seed Flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 5, p. 1460–1467, 11 fev. 2015.

KNIGHT, B. L. et al. A role for PPARα in the control of SREBP activity and lipid synthesis in the liver. **Biochemical Journal**, v. 389, n. 2, p. 413–421, 15 jul. 2005.

KOHJIMA, M. et al. SREBP-1c, regulated by the insulin and AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. **International Journal of Molecular Medicine**, 1 abr. 2008.

LEMOINE, A. Y. et al. Link between Adipose Tissue Angiogenesis and Fat Accumulation in Severely Obese Subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 5, p. E775–E780, maio 2012.

LUDKE, M. DO C. M. M.; LÓPEZ, J. Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 181–187, mar. 1999.

LUDWIG, J.; MCGILL, D. B.; LINDOR, K. D. REVIEW: Nonalcoholic steatohepatitis. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 5, p. 398–403, maio 1997.

MATHEUS, M. E. et al. Inhibitory effects of Euterpe oleracea Mart. on nitric oxide production and iNOS expression. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 2, p. 291–296, set. 2006.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul. 1985.

MATTILA, P.; KUMPULAINEN, J. Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3660–3667, jun. 2002.

MCCARTHY, E. M.; RINELLA, M. E. The Role of Diet and Nutrient Composition in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 3, p. 401–409, mar. 2012.

MENEZES, E. et al. Preferences and attitudes towards açaí-based products among North American consumers. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1997–2008, ago. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância dos Fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico.**, 2014. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/80/553a243c4b9f3.pdf>. Acesso em: 14 maio. 2016

OLIVEIRA, M. C. et al. Acute and sustained inflammation and metabolic dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 21, n. 9, p. E396-406, set. 2013.

OTTEN, J. J.; HELLWIG, J. P.; MEYERS, L. D. **Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2006.

OZER, J. et al. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. **Toxicology**, v. 245, n. 3, p. 194–205, mar. 2008.

PAHUA-RAMOS, M. E. et al. Hypolipidemic Effect of Avocado (Persea americana Mill) Seed in a Hypercholesterolemic Mouse Model. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 1, p. 10–16, mar. 2012.

PARADIS, V. et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 34, n. 4 Pt 1, p. 738–744, out. 2001.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, nov. 1993.

RINELLA, M. E. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review. **JAMA**, v. 313, n. 22, p. 2263, 9 jun. 2015.

ROCHA, A. P. M. et al. Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascular Pharmacology**, v. 46, n. 2, p. 97–104, fev. 2007.

ROCHA, A. P. M. et al. Antihypertensive Effects and Antioxidant Action of a Hydro-Alcoholic Extract Obtained from Fruits of Euterpe oleracea Mart. (Acai). **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 3, n. 6, p. 435–448, 1 jun. 2008.

RODRIGUES, R. B. et al. Total Oxidant Scavenging Capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) Seeds and Identification of Their Polyphenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4162–4167, jun. 2006.

ROGEZ, H. EDUFPA. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação.**, p. 313, 2000.

SANDHOLT, C. H.; HANSEN, T.; PEDERSEN, O. Beyond the fourth wave of genome-wide obesity association studies. **Nutrition and Diabetes**, v. 2, n. 7, p. e37, jul. 2012.

SARTORELLI, D. S.; FRANCO, L. J. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. S29–S36, 2003.

SAVAGE, D. B. et al. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. **Diabetes**, v. 50, n. 10, p. 2199–2202, out. 2001.

SCHAUSS, A. G. et al. Phytochemical and Nutrient Composition of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8598–8603, nov. 2006.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, v. 26, n. 1, p. 57–60, jun. 1970.

SHIMIZU-IBUKA, A. et al. Hypocholesterolemic effect of peanut skin and its fractions: a case record of rats fed on a high-cholesterol diet. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 73, n. 1, p. 205–208, jan. 2009.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. v. 16, p. 144–58, 1965.

SOZIO, M.; LIANGPUNSAKUL, S.; CRABB, D. The Role of Lipid Metabolism in the Pathogenesis of Alcoholic and Nonalcoholic Hepatic Steatosis. **Seminars in Liver Disease**, v. 30, n. 4, p. 378–390, nov. 2010.

STORY, J. A. Dietary fiber and lipid metabolism. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)**, v. 180, n. 3, p. 447–452, dez. 1985.

STRISSEL, K. J. et al. Adipocyte Death, Adipose Tissue Remodeling, and Obesity Complications. **Diabetes**, v. 56, n. 12, p. 2910–2918, 1 dez. 2007.

SUZUKI, A. et al. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 43, n. 6, p. 1060–1066, dez. 2005.

TORRES-FUENTES, C. et al. A natural solution for obesity: Bioactives for the prevention and treatment of weight gain. A review. **Nutritional Neuroscience**, v. 18, n. 2, p. 49–65, fev. 2015.

TRIGUEROS, L. et al. Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 9, p. 929–942, jan. 2013.

UNGER, R. H.; ORCI, L. Lipotoxic diseases of nonadipose tissues in obesity. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 24 Suppl 4, p. S28-32, nov. 2000.

VASUDEVA, N.; YADAV, N.; SHARMA, S. K. Natural products: A safest approach for obesity. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 18, n. 6, p. 473–480, jun. 2012.

VEGA-LÓPEZ, S.; FREAKE, H. C.; FERNANDEZ, M. L. Sex and hormonal status modulate the effects of psyllium on plasma lipids and monocyte gene expression in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 1, p. 67–70, jan. 2003.

VIRMOND, E. et al. Characterisation of agroindustrial solid residues as biofuels and potential application in thermochemical processes. **Waste Management**, v. 32, n. 10, p. 1952–1961, out. 2012.

VOLOSHYNA, I.; REISS, A. B. The ABC transporters in lipid flux and atherosclerosis. **Progress in Lipid Research**, v. 50, n. 3, p. 213–224, jul. 2011.

WANG, S. D. et al. Inhibitory effect of Ginkgo biloba extract on fatty liver: regulation of carnitine palmitoyltransferase 1a and fatty acid metabolism. **Journal of Digestive Diseases**, v. 13, n. 10, p. 525–535, out. 2012.

WEDICK, N. M. et al. Dietary flavonoid intakes and risk of type 2 diabetes in US men and women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 95, n. 4, p. 925–933, 1 abr. 2012.

WHO. **Obesity and overweight**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acesso em: 12 abr. 2016.

WU, N. et al. Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1832, n. 10, p. 1560–1568, out. 2013.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 01–22, 2013.

YAMAGUCHI, K. K. DE L. et al. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137–151, jul. 2015.

YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n. 1, p. 51–60, 1 jul. 2000.

YU, L. et al. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. **Journal of Clinical Investigation**, v. 110, n. 5, p. 671–680, 1 set. 2002.

YU, L. et al. Expression of ABCG5 and ABCG8 Is Required for Regulation of Biliary Cholesterol Secretion. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 10, p. 8742–8747, 11 mar. 2005.

ANEXO – Avaliação da Comissão de Ética

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

COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **CEUA/042/2014** sobre **"Avaliação dos efeitos bioquímicos e moleculares da farinha do endocarpo do açaí em modelo de obesidade murina induzido por dieta"** sob a responsabilidade de **Julio Beltrame Daleprane**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEUA), em **25/11/2014.** Este certificado expira em **25/11/2018.**

Rio de Janeiro, 25 de Novembro de 2014.

Profa. Dra. Patricia C. Lisboa
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Elaine de Oliveira
CEUA/IBRAG/UERJ

Prof. Dr. Israel Felzenszwalb
CEUA/IBRAG/UERJ

Dr. Sylvio Claudio Neto
CEUA/IBRAG/UERJ

/.ass

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