



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Nutrição

Giulia Medeiros Almeida Santos

**Papel protetor do consumo de *smoothie* de juçara na doença hepática
gordurosa não alcóolica em camundongos obesos**

Rio de Janeiro

2020

Giulia Medeiros Almeida Santos

**Papel protetor do consumo de *smoothie* de juçara na doença hepática gordurosa
não alcóolica em camundongos obesos**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-
graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Julio Beltrame Daleprane

Co-orientadora: Dra. Fernanda Torres Quitete

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CEH/A

S237 Santos, Giulia Medeiros Almeida.
Papel protetor do consumo de smoothie de juçara na doença hepática gordurosa não alcoólica em camundongos obesos / Giulia Medeiros Almeida Santos. – 2020.
51 f.

Orientador: Julio Beltrame Daleprane
Co-orientadora: Fernanda Torres Quitete
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição.

1. Nutrição – Teses. 2. Hepatopatia Gordurosa não Alcoólica – Teses. 3. Euterpe – Teses. I. Valença, Marcelo Mello. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Filosofia e Ciências Humanas. III. Título.

es CDU 612.3

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

Assinatura

Data

Giulia Medeiros Almeida Santos

**Papel protetor do consumo de *smoothie* de juçara na doença hepática gordurosa não
alcoólica em camundongos obesos**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-
graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 21 de julho de 2020.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Julio Betrame Daleprane(Orientador)

Instituto de Nutrição -UERJ

Profa. Dra. Patrícia Coelho deVelasco

Instituto de Nutrição -UERJ

Profa. Dra. Virgínia Martins da Matta

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Rio de Janeiro

2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço e dedico esse trabalho à minha querida mãe Cláudia e ao meu irmão Nicholas, por todo apoio e carinho durante minha trajetória, por compreenderem os momentos que estive ausente me dedicando à esse trabalho e por nunca me deixarem desistir. Vocês são muito importantes para mim.

Aos meus avôs, pela estrutura emocional e financeira que me proporcionaram, sem vocês nada disso seria possível.

Agradeço aos meus orientadores Julio Beltrame Daleprane e Fernanda Torres Quitete, pelos conselhos, pelo ensinamento e pela paciência eterna durante nossas conversas.

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado participar e contribuir com seus conhecimentos, colaborando assim para o meu crescimento. Muito obrigada.

Aos meus colegas de laboratório, principalmente Patrícia, Elisa e Elaine, que me acolheram e dividiram comigo um pouco do imenso conhecimento de vocês. Serei eternamente grata.

Por fim agradeço a Deus, pela força e coragem perante os desafios e por nunca deixar de iluminar meu caminho.

Nós podemos encontrar muitas derrotas, mas não devemos ser derrotados.

Maya Angelou

RESUMO

SANTOS, Giulia Medeiros Almeida. **Papel protetor do consumo de *smoothie* de juçara na doença hepática gordurosa não alcoólica em camundongos obesos.** 2020. 51 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é o tipo de doença hepática com maior prevalência mundial. Mudanças no estilo de vida parecem ter grande impacto na prevenção e no tratamento da DHGNA. Neste contexto, a adoção de uma dieta rica em compostos bioativos possui papel importante para proteção contra o desenvolvimento da DHGNA. A juçara, fruto rico em compostos bioativos, exerce atividade antioxidante e é um potencial alimento no tratamento da DHGNA. O presente estudo teve como objetivo avaliar o consumo do *smoothie* de frutas no estresse oxidativo e no desenvolvimento da DHGNA em camundongos obesos induzidos por dieta hiperlipídica. Os animais foram divididos em grupo controle (C), grupo controle com *smoothie* de juçara (C-J), grupo com dieta hiperlipídica (HFD) e grupo com dieta hiperlipídica e *smoothie* de juçara (HFD-J). Os grupos HFD e HFD-J apresentaram maior ganho de peso corporal que os outros grupos, porém o HFD apresentou maior índice de adiposidade. O grupo HFD também apresentou maiores concentrações de glicose, insulina, leptina e enzimas hepáticas, além de maior concentração de lipídios no plasma e acúmulo de lipídios nos hepatócitos, quando comparado aos grupos C, CJ e HFD-J. Além disso, o grupo HFD apresentou, ainda, maiores concentrações de marcadores de dano oxidativo e redução na atividade da superóxido dismutase e catalase, quando comparado aos outros grupos experimentais. Adicionalmente, os grupos que receberam o *smoothie*, C-J e HFD-J, apresentaram aumento na atividade da catalase e da glutatona peroxidase em relação aos grupos C e HFD. Portanto, foi possível concluir que o consumo de *smoothie* de juçara é uma potencial alternativa para auxiliar na prevenção da DHGNA pela melhora da atividade antioxidante e da normalização de distúrbios metabólicos causados pela ingestão de uma dieta hiperlipídica.

Palavras chave: Doença hepática gordurosa não alcoólica. Juçara. Antocianinas. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

SANTOS, Giulia Medeiros Almeida. **Protective role of juçara smoothie consumption in non-alcoholic fatty liver disease in obese mice.** 2020. 51 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the type of liver disease with the highest prevalence worldwide. Lifestyle changes appear to have a major impact on the prevention and treatment of NAFLD. In this context, the adoption of a diet rich in bioactive compounds plays an important role in protecting against the development of NAFLD. Juçara, a fruit rich in bioactive compounds, exerts antioxidant activity and is a potential food in the treatment of NAFLD. The present study aimed to evaluate the consumption of fruit smoothie in oxidative stress and in the development of NAFLD in obese mice induced by a high-fat diet. The animals were divided into a control group (C), a control group with a juçara smoothie (C-J), a group with a high-fat diet (HFD) and a group with a high-fat diet and juçara smoothie (HFD-J). The HFD and HFD-J groups showed greater body weight gain than the other groups, however the HFD showed a higher adiposity index. The HFD group also showed higher concentrations of glucose, insulin, leptin and liver enzymes, in addition to a higher concentration of lipids in plasma and accumulation of lipids in hepatocytes, when compared to groups C, CJ and HFD-J. In addition, the HFD group also presented higher concentrations of oxidative damage markers and reduced activity of superoxide dismutase and catalase, when compared to the other experimental groups. Additionally, the groups that received the smoothie, C-J and HFD-J, showed an increase in the activity of catalase and glutathione peroxidase in relation to groups C and HFD. Therefore, it was possible to conclude that the consumption of juçara smoothie is a potential alternative to help prevent NAFLD by improving the antioxidant activity and normalizing metabolic disorders caused by eating a high-fat diet.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease. Juçara. Anthocyanins. Oxidative stress.

LISTA DE ABREVIATURAS

4-HNE	4-hidroxinonenal
Acetil-CoA	Acetil Coenzima A
ACC	Acetil-CoA carboxilase
ACL	ATP-citrato liase
AKT	Proteína Quinase B
AMPK	<i>AMP-activated protein Kinase</i> ou Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina
AMPc	Adenosina Monofosfato-Cíclico
AST	Aspartato Aminotransferase
ALT	Alanina Aminotransferase
CAT	Catalase
CD36	<i>Cluster of Differentiation 36</i> ou Cluster de Diferenciação 36
CGI-58	<i>Comparative Gene Identification 58</i>
ChREBP	<i>Carbohydrate-responsive element-binding protein</i> ou Proteína de ligação ao elemento regulador dos carboidratos
CT	Colesterol Total
CYP2E1	citocromo P-450 2E1
DHGNA	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FABP1	<i>Fatty acids binding protein 1</i> ou Proteína Transportadora de Ácidos Graxos 1
FAS	<i>Fatty acid synthase</i> ou Ácido Graxo Sintase
FATP 2	<i>Fatty acid transport protein 2</i> ou Proteína de Transporte de Ácido Graxo 2
FATP 5	<i>Fatty acid transport protein 5</i> ou Proteína de Transporte de Ácido Graxo 5
GLUT-1	<i>Glucose transporter type 1</i> ou Transportador de Glicose-1
GLUT-4	<i>Glucose transporter type 4</i> ou Transportador de Glicose-4
GPx	Glutationa Peroxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HDL-c	<i>High density lipoprotein</i> ou Lipoproteína de Alta Densidade
HOMA-IR	<i>Homeostatic Model Assessment</i> ou Modelo de Avaliação da Homeostase
IL-6	Interleucina-6

IL-8	Interleucina-8
IRS1	Substrato-1 do receptor de insulina
IRS2	Substrato-2 do receptor de insulina
LDL-c	<i>Low-density lipoprotein</i> ou lipoproteína de baixa densidade
LHS	Lipase Hormônio Sensível
LPS	Lipopolissacarídeos
MDA	Malondialdeído
O ₂	Superóxido
OH	Hidroxila
PKA	Proteína quinase A
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinase
RI	Resistência à Insulina
SREBP-1c	<i>Sterol regulatory element binding protein 1 c</i> ou Proteína de ligação de elemento regulador de esterol1c
SOD	SuperóxidoDismutase
TG	Triglicerídeos
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> ou Fator de necrose Tumoralalfa
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i> ou Fator de Transformação do Crescimentobeta
UCPs	<i>Uncoupling proteins</i> ou Proteína dedesacoplamento

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação dos múltiplos hits	22
Figura 2 -	Estrutura química das antocianinas.	26
Figura 3 -	Desenho do modelo Experimental	31
Figura 4 -	Análise histológica hepática dos camundongos após as 15 semanas de experimento	36

LISRA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional, compostos fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante do smoothie de juçara.....	30
Tabela 2 - Parâmetros nutricionais dos grupos após as 15 semanas do experimento	34
Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos no plasma dos grupos após as 15 semanas de experimento.....	35
Tabela 4 - Parâmetros bioquímicos e moleculares hepáticos dos grupos após as 15 semanas de experimento.....	37

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	14
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1	Obesidade	16
1.2	Doença Hepática Gordurosa Não Alcólica	19
2.3	Estresse Oxidativo	23
2.4	Estratégias Nutricionais para Controle e Prevenção da Obesidade e DHGNA	24
3	JUSTIFICATIVA	28
4	OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS	29
4.1	Objetivo Geral	29
4.2	Objetivos Específicos	29
5	MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1	<i>Smoothie</i> de Juçara	30
5.2	Animais e Modelo Experimental	30
5.3	Análises bioquímicas	32
5.4	Avaliação da esteatose no fígado	32
5.5	Atividade Antioxidante no Fígado	32
5.6	Danos Oxidativos no Fígado	33
5.7	Análise Estatística	33
5	RESULTADOS	34
5.1	Ingestão alimentar e massa corporal	34
5.2	Análises bioquímicas	34
5.3	Análises Hepáticas	35
5.3.1	<u>Marcadores da esteatose hepática</u>	35
5.3.2	<u>Marcadores de dano oxidativo e defesa antioxidante</u>	36
6	DISCUSSÃO	38
	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade mundial apresentou um aumento expressivo ao longo das últimas décadas, alcançando a classificação de pandemia global (BLÜHER, 2019). Definida como uma doença crônica não transmissível, a obesidade possui um quadro inflamatório devido à liberação de citocinas pró-inflamatórias, sendo, por si só, um fator de predisposição para outras doenças, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial sistêmica e a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (KINLEN; CODY; O'SHEA, 2018).

A DHGNA é considerada uma manifestação hepática da síndrome metabólica e tornou-se o tipo de doença hepática com maior prevalência mundial. Dados recentes apontam que 51,34% dos indivíduos obesos apresentam DHGNA (BLÜHER, 2019; DIVELLA et al., 2019; YOUNOSSI, 2016). A relevância clínica dessa condição está relacionada à alta prevalência mundial e ao risco de evolução aos estágios de cirrose e carcinoma hepatocelular, quadros críticos no qual o único tratamento é o transplante hepático (BENEDICT; ZHANG, 2017; CHALASANI et al., 2018; YOUNOSSI et al., 2018).

A classificação de DHGNA foi criada para caracterizar os achados histopatológicos da doença hepática alcoólica em pacientes que não apresentavam um consumo significativo de álcool. O desenvolvimento desta condição clínica é definido pelo acúmulo de lipídios nos hepatócitos superior a 5% do peso total do órgão e inclui um espectro de doenças: esteatose hepática, esteato-hepatite não alcoólica, cirrose e carcinoma hepatocelular (ARAÚJO et al., 2018; CHALASANI et al., 2018).

Fatores nutricionais, ambientais e metabólicos, como obesidade e resistência à insulina, assim como a predisposição genética, são importantes predeterminantes para o indivíduo desenvolver a DHGNA (ARAÚJO et al., 2018). Sendo assim, tanto o seu tratamento quanto a sua prevenção são baseados na mudança do estilo de vida, que inclui uma dieta com baixo consumo de lipídios e carboidratos simples, além da prática de atividade física, uma vez que, até o momento, não existe um tratamento farmacológico disponível para a DHGNA. Nesse contexto, estudos apontam para o uso de terapias complementares baseadas em compostos bioativos, reconhecidos por terem uma infinidade de benefícios para a saúde, incluindo a prevenção e/ou o tratamento do quadro da doença hepática (CARVALHO et al., 2018; HOANG et al., 2019; SANTAMARINA et al., 2019).

Os compostos bioativos são metabólitos secundários que se apresentam em pequenas quantidades nos alimentos, em especial nas frutas e vegetais, e possuem alguma atividade biológica no metabolismo corporal (ROTILI et al., 2018). Dentre os compostos

bioativos, as antocianinas encontradas na jabuticaba, açaí e juçara, dentre outros, são bem descritas pela sua importante atividade antioxidante (KHOO et al., 2017; ORTEGA; CAMPOS, 2019; YOUSUF et al.,2016).

Portanto, no contexto da elevada prevalência mundial da DHGNA e da necessidade do estabelecimento de estratégias para o seu tratamento e/ou sua prevenção, torna-se necessário investigar o papel de novas alternativas nutricionais, como alimentos ricos em compostos bioativos, no desenvolvimento da DHGNA.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Obesidade

Obesidade, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), é definida como acúmulo anormal de tecido adiposo no organismo, com Índice de Massa Corporal ≥ 30 kg/m² (WHO, 2020). Considerada como um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, se apresentando nos últimos anos como uma ameaça à saúde maior do que a desnutrição (exceto em algumas regiões da África subsaariana), é classificada como uma pandemia global, atingindo aproximadamente 650 milhões de pessoas no mundo em 2016 (WHO, 2020).

A projeção é que, em 2025, cerca de 18% dos homens e 21% das mulheres da população mundial apresentem obesidade (CHOOI; DING; MAGKOS, 2019). No Brasil, de acordo com a pesquisa Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), realizada em todas as capitais brasileiras com indivíduos acima de 18 anos, a prevalência da obesidade, em 2019, foi de 20,3% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Portanto, é uma situação preocupante, não apenas por ser uma doença de caráter inflamatório, mas também pelo fato de ser um fator de risco para o desenvolvimento de outras doenças, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial sistêmica, DHGNA, além de ser um dos fatores para o diagnóstico da Síndrome Metabólica (BLÜHER, 2019; CHOOI; DING; MAGKOS, 2019).

A obesidade é uma doença multifatorial, pois é o resultado da interação complexa entre fatores comportamentais, biológicos e psicossociais, como hábitos alimentares, sedentarismo e pré-disposição genética (BLÜHER, 2019; KINLEN; CODY; O'SHEA, 2018).

A expansão do tecido adiposo possui importante papel na gênese da obesidade. O tecido adiposo branco está localizado em diversas regiões do corpo, podendo ser classificado como tecido adiposo visceral ou tecido adiposo subcutâneo. O tecido adiposo subcutâneo está presente principalmente abaixo da pele, nas regiões abdominal, glútea e femoral. Já o tecido adiposo visceral encontra-se no interior das vísceras da cavidade abdominal (IBRAHIM, 2010; NIELSEN et al., 2004; JAKOBSEN et al., 2007). Além disso, também é diferente a drenagem venosa desses tecidos. Sabe-se que a drenagem venosa do tecido adiposo visceral ocorre através da circulação portal, encaminhada diretamente para o fígado, enquanto que no tecido adiposo subcutâneo, a drenagem ocorre através da circulação sistêmica (NIELSEN et al., 2004; JAKOBSEN et al., 2007).

O tecido adiposo branco, que antes era considerado como um local de armazenamento de energia, atualmente já se sabe que, na verdade, além dessa função, ele atua como um órgão endócrino. Ele é capaz de sintetizar substâncias chamadas adipocinas, dentre as quais se encontra a leptina, e algumas citocinas, como interleucina- 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (KANG et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2011).

As adipocinas são proteínas sintetizadas e secretadas pelo tecido adiposo. Elas atuam não apenas no próprio tecido adiposo, como também em diversos órgãos, como cérebro, fígado e músculo esquelético, envolvidas em aspectos metabólicos fundamentais, como a ingestão e gasto energético, resistência à insulina e oxidação de ácidos graxos. Uma das adipocinas mais estudado na obesidade é a leptina (KANG et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2011, SIPPEL et al., 2014).

A leptina atua principalmente como sinalizador do estado nutricional, interagindo com receptores hipotalâmicos (Ob-Rb) no controle da ingestão alimentar. Ela é sintetizada principalmente pelos adipócitos do tecido adiposo branco e sua concentração sofre influência do: tecido adiposo, insulina, glicocorticóides, citocinas pró-inflamatórias e da resistência à leptina (HERMSDORFF et al., 2006).

No caso do tecido adiposo, principalmente o tecido adiposo branco, quando ocorre aumentodesse tecido, como no caso da obesidade, esses indivíduos apresentam maior conteúdo de leptina sérica, assim como indivíduos com pouco tecido adiposo apresentam diminuição da leptina sérica. Além disso, a leptina inibe a lipogênese e estimula a lipólise no tecido adiposo branco (FARR; GAVRIELI; MANTZOROS, 2015).

A insulina e a leptina possuem forte relação, uma interferindo na outra. A hiperinsulinemia estimula os adipócitos para a liberação de leptina, levando à redução da ingestão alimentar e ao aumento do gasto energético. Já a leptina, quando elevada, provoca a diminuição da concentração de insulina (KELESIDIS et al., 2011; MAKKI; FROGUEL; WOLONKCZUK, 2013).

Os glicocorticoides têm a capacidade de estimular a transcrição do gene e a síntese da leptina. Então, quando a concentração de glicocorticoides está elevada, a leptina sérica se apresenta maior. Citocinas inflamatórias, como a interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), em um efeito agudo, estimulam a secreção de leptina. No entanto, elevadas concentrações de TNF-alfa por um período prolongado podem inibir a síntese de leptina, reduzindo sua concentração sérica (KELESIDIS et al., 2011, PRADO et al., 2009).

Os fatores citados anteriormente levam ao aumento da concentração sérica da leptina, ocorrendo a inibição do apetite e aumento da saciedade. Quando esse quadro se prolonga, o

indivíduo pode desenvolver resistência à leptina. Isso pode ocorrer devido à uma alteração nos receptores transmembrana da leptina (Ob-R) localizados nos tecidos, principalmente no hipotálamo (Ob-Rb), promovendo uma falha no reconhecimento da leptina ou na sua sinalização pós-receptor. Com isso, não ocorre aumento da saciedade e inibição do apetite, gerando quadro preocupante, principalmente em indivíduos obesos (KANG et al., 2016; MACHADO; MONTEIRO; PINTO, 2015; OLIVEIRA et al., 2011; SIPPEL et al., 2014).

O tecido adiposo visceral é considerado mais patogênico que o subcutâneo, devido ao tipo de drenagem venosa, ao fato de que a taxa de lipólise e a circulação de ácidos graxos livres (AGL) está aumentada e as adipocinas são secretadas em maiores volumes no tecido adiposo visceral, quando comparado ao tecido adiposo subcutâneo. Logo, o seu acúmulo está relacionado com o desenvolvimento da síndrome metabólica, intolerância à glicose, hiperinsulinemia, hipertriacilglicerolemia, hipertensão arterial, alteração dos níveis de HDL-c, LDL-c e VLDL (NIELSEN et al., 2004; JAKOBSEN et al., 2007).

No tecido adiposo subcutâneo, os adipócitos estão dispostos de forma regular e organizados em tamanho pequeno. Já as células do tecido adiposo visceral são grandes, irregulares e desorganizadas (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013). Em ambos os tecidos, a principal função dos adipócitos é armazenar triacilglicerol, em gotícula unilocular (FONSECA-ALANIZ et al., 2006; MONTANARI; POŠČIĆ; COLITTI, 2017).

O armazenamento de lipídios ocorre quando a insulina se liga ao seu receptor na membrana dos adipócitos, estimulando o transporte de glicose, por meio do receptor Transportador de Glicose-1 (GLUT-1) ou Transportador de Glicose-4 (GLUT-4), e de ácidos graxos livres, por meio do receptor *cluster of differentiation 36* (CD36), para o interior da célula. A glicose é utilizada para a produção de glicerol-fosfato, que é unido aos ácidos graxos, dando origem ao triacilglicerol (GADDE et al., 2018; IACOBELLIS; BARBARO; GERSTEIN, 2008).

A ligação da insulina ao seu receptor no adipócito estimula a lipogênese e inibe a lipólise. Na lipólise, o triacilglicerol nos adipócitos é sequencialmente hidrolisado (diacilglicerol, monoacilglicerol e glicerol), liberando uma molécula de ácido graxo a cada hidrólise (LAMPIDONES et al., 2011).

O triacilglicerol é coberto pela perilipina 1, que se liga à *comparative gene identification 58* (CGI-58). Reguladores como as catecolaminas aumentam a concentração de adenosina monofosfato-cíclico (AMPC), que ativa a proteína quinase A (PKA), acarretando na fosforilação da perilipina 1. Esse mecanismo leva a alteração da superfície do lipídio, o que possibilita a ação da lipase hormônio sensível (LHS) e a liberação da CGI-58, que se liga à

lipase de triacilglicerol do adipócito. Em seguida, ocorre a hidrólise do triacilglicerol, gerando uma molécula de ácido graxo e o diacilglicerol. Em seguida, o diacilglicerol é hidrolisado, seguido pela hidrólise do glicerol (LAMPIDONES et al., 2011).

Quando a insulina se liga ao receptor de insulina nos adipócitos, ativa a fosfodiesterase 3B que degrada AMPc, levando à redução da ativação da PKA, o que inibe a lipólise. No quadro de resistência à insulina, não ocorre essa inibição e o processo de lipólise se mantém constante (LAMPIDONES et al., 2011).

O aumento do tecido adiposo, principalmente o visceral, acarreta em elevação na circulação de lipídios no plasma, levando à deposição de lipídios em diversos tecidos não adiposos, como o fígado, músculo esquelético e pâncreas. Esse processo é chamado de lipotoxicidade e pode acarretar em estresse no retículo endoplasmático, inflamação e resistência à insulina (RI). Esses fatores têm papel fundamental no desenvolvimento de diversas doenças, como a doença hepática gordurosa não alcoólica (ENGIN, 2017; GADDE et al, 2018; HERTZEL et al., 2008).

1.2 Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) possui alta prevalência global, sendo determinada como a doença hepática crônica e progressiva mais comum. A prevalência global de DHGNA é em torno de 25%, sendo que a América do Sul (31%) e Oriente Médio (32%) apresentam as maiores taxas, depois vem a Ásia (27%), América do Norte (24%), Europa (23%) e por último a África (14%). No entanto, por ser assintomática no estágio de esteatose simples, estima-se que esses valores encontram-se subestimados (CHALASANI et al., 2018; YOUNOSSI et al., 2016).

A taxa de mortalidade em pacientes com DHGNA aumenta exponencialmente com a presença de fibrose. Além disso, quanto mais alto o estágio de fibrose, maior o risco de mortalidade. Portanto, quanto mais cedo for o diagnóstico, aumentam as chances de cura e menor a taxa de mortalidade. O diagnóstico, na maior parte dos casos, é realizado através de exames de imagem, como ultrassonografia hepática ou ressonância magnética, conjuntamente à investigação de níveis séricos anormais das enzimas hepáticas (DULAI et al., 2017).

O termo DHGNA inclui um espectro de doenças, as quais incluem a esteatose hepática simples, esteato-hepatite não alcoólica, cirrose e carcinoma hepatocelular (BENEDICT; ZHANG, 2017; GOMES et al., 2013; TAKAKURA et al., 2019).

A DHGNA é uma doença complexa e com vários fatores envolvidos no seu desenvolvimento, dentre eles: predisposição genética, alimentação desbalanceada, obesidade, resistência à insulina, intolerância à glicose, dislipidemia e hipertensão arterial. Estes fatores também estão presentes na síndrome metabólica e, por esse motivo, a DHGNA é considerada como a manifestação hepática desta síndrome. Também é determinado que, diferentemente da doença hepática alcoólica, o indivíduo não consome álcool de maneira excessiva (consumo < 70 g de etanol/semana para mulheres e < 140 g de etanol/semana para os homens) (BENEDICT; ZHANG, 2017; DRESCHER; WEISKIRCHEN; WEISKIRCHEN, 2019; WONG; WONG; GISH, 2019).

Atualmente, acredita-se que a DHGNA é desencadeada por processos que correm simultaneamente, que interagem entre si e levam ao surgimento da doença no organismo do indivíduo. Essa teoria chama-se teoria dos múltiplos *Hits* (Figura 1). A resistência à insulina e a obesidade, considerados *Hits*, são, portanto, determinantes para o aumento do conteúdo intracelular de lipídios nos hepatócitos, por meio do desequilíbrio entre a entrada de lipídios nos hepatócitos (aumento da captação de ácidos graxos e a lipogênese de novo) e a remoção destas moléculas (formação da partícula de VLDL e produção de energia) (KAWANO; COHEN, 2013).

O metabolismo lipídico nos hepatócitos é muito importante para o desenvolvimento da DHGNA. Os receptores CD36 e as proteínas de transporte de ácido graxo 2 e 5 (FATP2 e FATP5) fazem a captação de lipídios circulantes para o interior dos hepatócitos. Uma vez no citosol, a proteína transportadora de ácidos graxos 1 (FABP1) participa da degradação dos AGL em acil-CoA, que são armazenados no interior dos hepatócitos (IPSEN; LYKKESFELDT; TVEDEN-NYBORG, 2018; KAWANO; COHEN, 2013).

Outro fator presente no metabolismo lipídico dos hepatócitos e que contribui para o acúmulo intracelular de lipídios é a lipogênese de novo. Nesse processo, ocorre a síntese de lipídio (Acetil-CoA) a partir da glicose. Nos hepatócitos, a glicose é captada pelo GLUT, depois entra na via glicolítica e gera piruvato. Este piruvato é convertido em Acetil-CoA, que alimenta o ciclo do ácido cítrico. O citrato produzido sai da mitocôndria e é convertido novamente em Acetil-CoA pela enzima ATP-citrato liase (ACL). O Acetil-CoA sofre ação da Acetil-CoA carboxilase (ACC), gerando o malonil-CoA, este último é usado como substrato para a produção de ácido palmítico pela enzima ácido graxo sintase (FAS) (VOET; VOET, 2006).

Nesse processo, dois fatores de transcrição são importantes na lipogênese de novo: a ChREBP (proteína de ligação ao elemento regulador dos carboidratos) e a SREBP1c (proteína 1c ligadora do elemento regulado por esteróis). Esses dois fatores são responsáveis pela

regulação hepática de genes lipogênicos como FAS e ACC, que estão presentes na lipogênese de novo. Quando esses fatores são mais expressos, maior será a lipogênese de novo. A hiperglicemia aumenta a expressão da ChREBP e a hiperinsulinemia aumenta a expressão da SREBP1c, duas situações comuns na DHGNA. Portanto, normalmente é comum encontrar esses dois mais expressos na DHGNA e, com isso, um aumento da lipogênese de novo, agravando o quadro (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016).

Outro *Hit* importante é a resistência à insulina (RI), onde ocorre uma falha na cascata de sinalização da insulina. Normalmente, a captação da glicose ocorre da seguinte forma: a insulina, ao se ligar ao seu receptor, promove a fosforilação desse receptor em resíduos de tirosina, o que acarreta na fosforilação de Substrato-1 do receptor de insulina (IRS1), com fosforilação e ativação subsequentes de Fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K) e Proteína Quinase B (AKT), a qual irá promover a translocação de GLUT4 para a membrana celular e a captação de glicose para o interior da célula nos tecidos insulino-dependentes (tecido adiposo e músculo) (HONMA et al., 2018; KITADE et al., 2017). A resistência à insulina ocorre pelo fato de o receptor de insulina ter diminuição da sua capacidade de fosforilar em tirosina após receber o estímulo com insulina, o que impede a transativação do GLUT-4 e, conseqüentemente, a entrada da glicose para o interior da célula. O Substrato-1 do receptor de insulina (IRS2) consegue compensar parcialmente essa falha. Com o quadro de resistência à insulina, ocorre aumento de glicose sérica. Isso faz com que maiores quantidades de insulina sejam secretadas pelas células β -pancreáticas, criando um estado de hiperinsulinemiacompensatória (HONMA et al., 2018; KITADE et al., 2017).

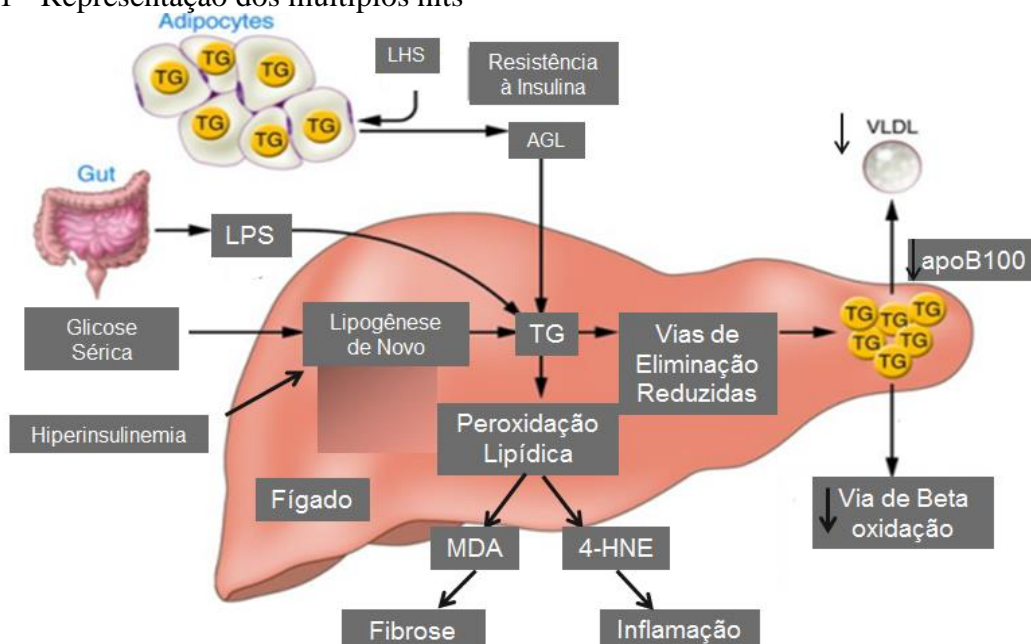
Essa hiperinsulinemia e hiperglicemia são fatores importantes para a lipogênese de novo e, assim, elevando a concentração de lipídios no fígado. Também estimulam a maior expressão de CD36 nos hepatócitos, aumentando a captação de lipídios, levando à piora no quadro de DHGNA (BUQUÉ et al., 2012; BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016; STENEBERG et al., 2015).

A microbiota intestinal tem papel importante, pois, no intestino com disbiose, ocorre predomínio de bactérias patogênicas, que sintetizam lipopolissacarídeos. Também ocorrem rupturas nas junções entre as células intestinais e com isso ocorre translocação de lipopolissacarídeos e bactérias, que são direcionados para a veia porta, e encaminhados até o fígado. Isso desencadeia a produção de citocinas pró-inflamatórias, com um quadro de resposta inflamatória. Inicia um processo inflamatório nos lipídeos acumulados nesse fígado, ocorrendo peroxidação lipídica (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016)

Outro fator importante é a peroxidação que ocorre no lipídio armazenado no fígado, gerando dois compostos importantes: malondialdeído (MDA) e 4-hidroxinonenal (4-HNE). O MDA ativa as células estreladas, que são células hepáticas, posicionadas em cima do vaso sanguíneo, e a sua função é armazenar vitamina A. No entanto, quando elas são ativadas, alteram o seu fenótipo, deixando de armazenar vitamina A e se tornando células produtoras de colágeno, de tecido cicatricial, dando início à fibrose que, se persistir, pode desencadear o quadro de cirrose. A presença do 4-HNE leva à produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , TGF- β , IL-6 e IL-8. Logo, o processo de peroxidação lipídica no fígado promove o aparecimento de fibrose e inflamação, evoluindo para esteato-hepatite não alcoólica. (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016)

A elevação da concentração de AGL promove aumento da expressão do citocromo P-450 2E1 (CYP2E1), uma enzima que participa da β -oxidação dos AGL de cadeia longa, levando à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), desencadeando um quadro de estresse oxidativo. Além disso, alguns AGL de cadeia longa são metabolizados pela β -oxidação peroxissomal, que também gera EROs. O estresse oxidativo, no fígado, desencadeia a degeneração e necrose dos hepatócitos. (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016; VOET; VOET, 2006)

Figura 1 - Representação dos múltiplos hits



Legenda: 4-Hidroxinonenal (4-HNE); Malondialdeído (MDA); Lipopolissacarídeos (LPS); Triglicerídeos (TG)

2.3 Estresse Oxidativo

O organismo produz, de maneira fisiológica e contínua, radicais livres durante diversos processos biológicos. Estes processos ocorrem, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma. O oxigênio participa da transferência de elétrons nas reações bioquímicas, sendo fosforilado e gerando adenosina-5-trifosfato (ATP), mas também produzindo radicais livres, como as EROs, que são instáveis e altamente reativas. Radicais livres são átomos que contêm em sua estrutura um ou mais elétrons não emparelhados na camada externa de valência. As EROs fazem parte desse grupo, são radicais livres que contêm átomos de oxigênio, como o superóxido (O_2^-) e a hidroxila (OH) (SINHA; DABLA, 2015; KESHARI et al., 2015).

Muito importante também é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que não é um radical livre, sendo conhecido como oxidante, por não ter um elétron desemparelhado na sua última camada eletrônica, mas é uma espécie com alto potencial reativo. Além de ser tóxico quando está em excesso, pois junto com o ferro, através da reação de Fenton, gera radical hidroxil (OH), um radical altamente reativo e instável, e por isso capaz de causar dano oxidativo. O H_2O_2 também tem papel importante no desenvolvimento e agravamento de doenças hepáticas, pois é o principal iniciador do processo de peroxidação lipídica (BARBOSA et al., 2010; IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

Apesar de sua importância para as reações metabólicas do organismo, esses radicais não devem ficar livres, por isso existe um mecanismo chamado de defesa antioxidante, que pode agir impedindo a formação dos radicais livres, a sua ação ou reparando os danos derivados da sua presença (BURTON; JAUNIAUX, 2011, SINHA; ABLA, 2015; KESHARI et al., 2015). Os agentes dessa defesa antioxidante são substâncias que são capazes de retardar ou inibir a oxidação. Elas podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicais, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com capacidade antioxidante (PISOSCHI; POP, 2015).

O sistema de defesa pode ser dividido em enzimático (endógeno) ou não-enzimático (exógeno). Fazem parte do sistema enzimático as enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutaciona peroxidase (GPx), que também são consideradas como defesa de primeira linha, por serem as primeiras a atuarem no sistema antioxidante. Essas enzimas agem através de mecanismos para prevenir o dano oxidativo, impedindo e/ou controlando a formação das espécies reativas (BARBOSA et al., 2010; IGHODARO; AKINLOYE, 2018; PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008).

A SOD catalisa a geração do peróxido de hidrogênio, através do radical superóxido (O_2^-). Ela atua catalisando a dismutação de radicais superóxido (S_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

e oxigênio (O₂), tornando H₂O₂ menos prejudicial. As enzimas CAT e GPx agem com o propósito de impedir o acúmulo de H₂O₂ (BARBOSA et al., 2010; IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

A CAT utiliza o ferro ou manganês como um co-fator e catalisa a degradação ou a redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio molecular, sendo um complemento na ação da SOD. No caso da GPx, sua atividade depende do selênio como um co-fator. Essa enzima desempenha um papel mais crucial na inibição do processo de peroxidação lipídica e, portanto, protege as células do estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2010; IGHODARO; AKINLOYE, 2018). Sendo assim, a atividade dessas enzimas muitas vezes depende da participação de co-fatores enzimáticos, especialmente antioxidantes de origem dietética. Tais co-fatores podem diferir de acordo com a enzima e o local de ação das enzimas (PISOSCHI; POP, 2015; IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

O sistema de defesa não-enzimático é exógeno, ou seja, proveniente da dieta e não produzido pelo organismo humano, como a vitamina E, vitamina C, licopeno, selênio, entre outros. Também é considerada a segunda linha de defesa antioxidante (BARBOSA et al., 2010; PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008).

2.4 Estratégias Nutricionais para Controle e Prevenção da Obesidade e DHGNA

O tratamento para DHGNA não é de atuação direta na doença, mas sim melhorar quadro dos *Hits* que levam ao seu desenvolvimento. Portanto visa reverter os quadros de resistência à insulina, estresse oxidativo, obesidade, dislipidemia, inflamação e fibrose no fígado (GOLABI; BUSH; YOUNOSSI, 2017; LISBOA; COSTA; COUTO, 2016).

As principais alternativas de tratamento são a adoção de um estilo de vida saudável, unindo a prática de atividade física com a ingestão de uma dieta saudável. Isso devido ao fato de que a prática de atividade física auxilia na redução da lipogênese de novo e no aumento da saída de lipídios do fígado. Adicionalmente, a adoção de uma dieta saudável leva à melhora dos quadros clínicos dos múltiplos *Hits* (GOLABI; BUSH; YOUNOSSI, 2017; LISBOA; COSTA; COUTO, 2016).

Nas intervenções nutricionais, o mais indicado tem sido dietas com consumo abundante de alimentos de origem vegetal (frutas, legumes e verduras in natura, alimentos integrais, frutos secos e oleaginosos), azeite e carnes magras, como pescado. Portanto é uma dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados, fibras, vitaminas e minerais, como a vitamina C, vitamina E e o selênio, por exemplo, que agem como antioxidantes e, assim, auxiliam na prevenção e/ou melhora do quadro de DHGNA (THOMA; DAY; TRENELL, 2012).

Objetivando aumentar a eficácia da intervenção nutricional, os estudos têm focado na busca por alimentos cuja composição apresente compostos bioativos. Estes compostos podem ser carotenóides, polifenóis, fitoesteróis, ácidos graxos ou peptídeos. Os compostos mais estudados são aqueles com capacidade antioxidante, com potencial de reverter o quadro de estresse oxidativo e, assim, prevenir diversas doenças, como a DHGNA (AMAROWICZ; PEGG, 2019; ASTLEY; FINGLAS, 2016; THOMA; DAY; TRENELL, 2012).

Os compostos antioxidantes vêm sendo alvo de estudo em centros de pesquisa, empresas de alimentos, indústria farmacêutica e cosmética devido à sua atividade biológica comprovada de reduzir os radicais livres e os danos causados pelos mesmos, melhorando o estresse oxidativo e protegendo do desenvolvimento de diversas doenças tais como, por exemplo, o câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, Alzheimer e obesidade (NEHA et al., 2019; ORTEGA; CAMPOS, 2019).

Os radicais livres são produzidos por processos fisiológicos de respiração, metabolismo de alimentos e exercício físico, e, com o objetivo de controlar o efeito desses radicais livres gerados, o próprio organismo produz antioxidantes para impedir danos ao organismo. Esse processo é conhecido como balanço redox. Porém, quando ocorre desequilíbrio nesse balanço, ocorre uma produção maior de radicais livres e os antioxidantes não são produzidos em quantidade suficiente para eliminá-los, levando ao desenvolvimento de doenças (MOO-HUCHIN et al., 2015).

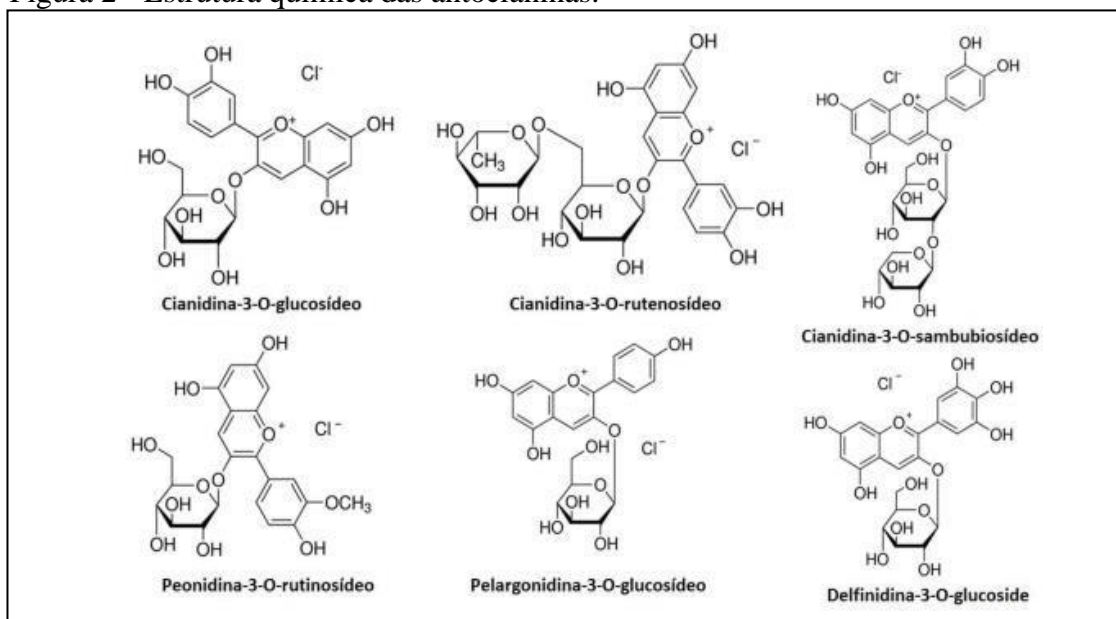
Além desses radicais livres produzidos naturalmente, também afetam a saúde do ser humano aqueles produzidos pela poluição ambiental, tabaco, radiação, aditivos químicos, entre outros. Desta forma, o consumo de compostos antioxidantes se faz necessário a fim de combater o efeito dos radicais livres (LÜ et al., 2010; MOO-HUCHIN et al., 2015).

Os antioxidantes exógenos, substâncias que são encontradas em pequenas concentrações em plantas e frutos, podem ser classificados pela sua estrutura química em carotenóides, polifenóis, glucosinolatos, tiosulfatos, entre outros. Além de possuir atividade antioxidante, estes compostos apresentam outras funções de proteção, por isso são conhecidos como compostos bioativos (LÜ et al., 2010).

Os compostos fenólicos pertencem a um grupo amplo e heterogêneo de componentes químicos que possuem um ou mais anéis aromáticos com um sistema aromático conjugado e um ou mais grupos hidroxila. Dentre os compostos fenólicos estão os flavonóides, os quais apresentam como principais classes as antocianinas, as flavanas, as flavonas, os flavonóis e os isoflavonóides (AMBRIZ-PÉREZ et al., 2016, CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; RODRIGUES et al., 2015).

As antocianinas são pigmentos vegetais, que podem variar do vermelho vivo ao violeta/azul, solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas. Nas plantas, as antocianinas possuem as seguintes funções: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como a polinização e a dispersão de sementes (CASTAÑEDA-OVANDO et al.,2009; RODRIGUES et al.,2015).

Figura 2 - Estrutura química das antocianinas.



Fonte: CEDRIM, BARROS& NASCIMENTO, 2018.

Já no organismo humano, as antocianinas têm a capacidade de inibir e/ou diminuir os efeitos do estresse oxidativo, desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes, fazendo com que ocorram menores danos ao DNA, amenizando os danos cumulativos e, por consequência, reduzindo o risco ao desenvolvimento de doenças (CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018; VASCONCELOS et al., 2019).

Por essa propriedade, algumas pesquisas têm focado no estudo de alimentos ricos em antocianinas (OYAMA et al., 2016; VALENTI et al., 2013; WINTER; BICKFORD, 2019). Dentre eles, a juçara é um exemplo de alimento que tem chamado a atenção dos pesquisadores por sua grande quantidade desses compostos (CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018; VASCONCELOS et al., 2019).

Conhecida popularmente como juçara ou jussara, palmito juçara, içara, palmito-doce, palmiteiro, ensarova ou ripeira, a *Euterpe Edulis Martius* é uma palmeira típica do bioma da Mata Atlântica e cerrado, encontrada na região sul e sudeste do Brasil. Por anos, ela foi utilizada para produção de palmito, sendo o segundo item mais importado não madeireiro proveniente da Mata Atlântica (BARROSO et al., 2018; SCHULZ et al., 2016).

Os frutos da juçara são arredondados, com tamanho aproximado de 3 cm e coloração arroxeada. Estas características são parecidas com os frutos da *Euterpe Oleracea*, conhecido como açaí, porém ele possui algumas características diferentes com relação aos compostos bioativos (BARROSO et al., 2018; SCHULZ et al., 2016).

A juçara apresenta maiores quantidades de antocianinas, quando comparada ao açaí, o que a torna mais interessante na proteção ao estresse oxidativo. Cardoso e colaboradores (2015), em seu estudo com a polpa liofilizada da *Euterpe Edulis Martius*, observaram um alto potencial antioxidante (BARROSO et al., 2018; CARDOSO et al., 2015).

Devido a essa propriedade da juçara, Ribeiro e colaboradores (2018), desenvolveram uma bebida do tipo *smoothie*, um produto com capacidade antioxidante, com boa aceitação, produzido a partir de produtos da biodiversidade brasileira. O objetivo era ofertar um produto sem aditivos artificiais, tratado por pasteurização e que leve ao seu consumidor um alimento natural e rico em compostos bioativos (RIBEIRO et al., 2018).

O *smoothie* foi obtido a partir da mistura de polpas de morango (40%), banana (40%) e juçara (20%). A juçara foi adicionada devido à sua capacidade antioxidante, proporcionado pela presença dos compostos fenólicos, principalmente as antocianinas. No entanto, a juçara se apresentou com pouca aceitação sensorial, por isso foi adicionado ao *smoothie* a banana e o morango (RIBEIRO et al., 2018).

A banana possui alto teor de carboidratos, sendo assim boa fonte energética, além de apresentar teores significativos das vitaminas A, B1 (tiamina), B2 (riboflavina) e C, e dos minerais potássio, fósforo, cálcio, sódio e magnésio. Ela é uma fruta com paladar mais adocicado, e é bastante aceita pela população brasileira, teve o intuito de adoçar o *smoothie* (PAREEK, 2016; RIBEIRO et al., 2018).

O morango tem altos teores de vitamina C e folato, além de apresentar um teor de antocianinas. Ele foi adicionado principalmente com o intuito de preservar o *smoothie* com seu *pH* mais ácido, mas também para aumentar a capacidade antioxidante do produto (AFRIN, et al., 2016; RIBEIRO et al., 2018).

A proporção final foi alcançada por meio de teste de aceitabilidade, realizado com 100 indivíduos adultos, de ambos os sexos, que seriam parte do público-alvo para o produto. Foram feitas cinco formulações com proporções diferentes de banana e morango, e o percentual de juçara se manteve em 20%. Por fim, a formulação com proporção igual de morango (40%) e banana (40%) foi a mais bem aceita não apenas pelo paladar, mas pela fluidez e aparência do *smoothie* (RIBEIRO et al., 2018).

3 JUSTIFICATIVA

O número de indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) cresceu nos últimos anos, com dados globais de prevalência próximos a 25%. Além disso, sua progressão pode acarretar em graves consequências para o indivíduo, principalmente nos estágios finais. Mesmo diante desse contexto, ainda não foram encontrados métodos seguros e eficazes para preveni-la. Portanto, surge a necessidade de pesquisas por novas estratégias com potencial protetor na DHGNA e, assim, impedir o desenvolvimento de quadros mais graves. A inclusão de um produto de origem vegetal, presente na biodiversidade brasileira, rico em compostos bioativos com alta capacidade antioxidante, como as antocianinas, surge como uma alternativa para prevenir o desenvolvimento da DHGNA.

4 OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar o papel de *smoothie* rico em compostos fenólicos, na prevenção da DHGNA em camundongos adultos e com obesidade induzida por dieta hiperlipídica

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar, em camundongos adultos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica, os efeitos da ingestão do *smoothie* em:

- a) Parâmetros nutricionais;
- b) Perfil lipídico plasmático;
- c) Glicemia de jejum;
- d) Concentrações plasmáticas de insulina e leptina;
- e) Marcadores de função hepática;
- f) Concentração de lipídios no fígado;
- g) Marcadores de dano oxidativo e atividade antioxidante no fígado.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 *Smoothie* de Juçara

A composição nutricional do *smoothie* pasteurizado, composição centesimal, compostos fenólicos totais, antocianinas e a capacidade antioxidante estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição nutricional, compostos fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante do *smoothie* de juçara

Parâmetros	Resultados
Umidade(%)	85.49 ± 0.01
Proteína(%)	0.66 ± 0.04
Lipídio(%)	0.06 ± 0.01
Cinzas(%)	0.49 ± 0.01
Carboidrato Total(%)	13.32 ± 0.04
Sólidos Solúveis(°Brix)	12.0 ± 0.1
Valor Energético (kcal 100mL ⁻¹)	56.4
Compostos Fenólicos Totais (mg 100g ⁻¹)	203.2 ± 12.9
Antocianinas (mg 100g ⁻¹)	18.5 ± 0.1
Capacidade Antioxidante (µmol Trolox g ⁻¹)	11.5 ± 0.3

Ribeiro et al.(2018); Ribeiro et al.(2019)

5.2 Animais e Modelo Experimental

Foram utilizados camundongos machos C57BL/6 (n=40), com 3 meses de idade, mantidos em um ciclo de 12 h/12 h escuro/claro com umidade (60 ± 10%) e temperatura (21 ± 2°C) controladas, em gaiolas com livre acesso a ração e água. Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas de proteção e bem-estar dos animais e o protocolo foi aprovado pelo Comitê de uso e cuidado de Animais Experimentais da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil (CEUA / 042 / 2014).

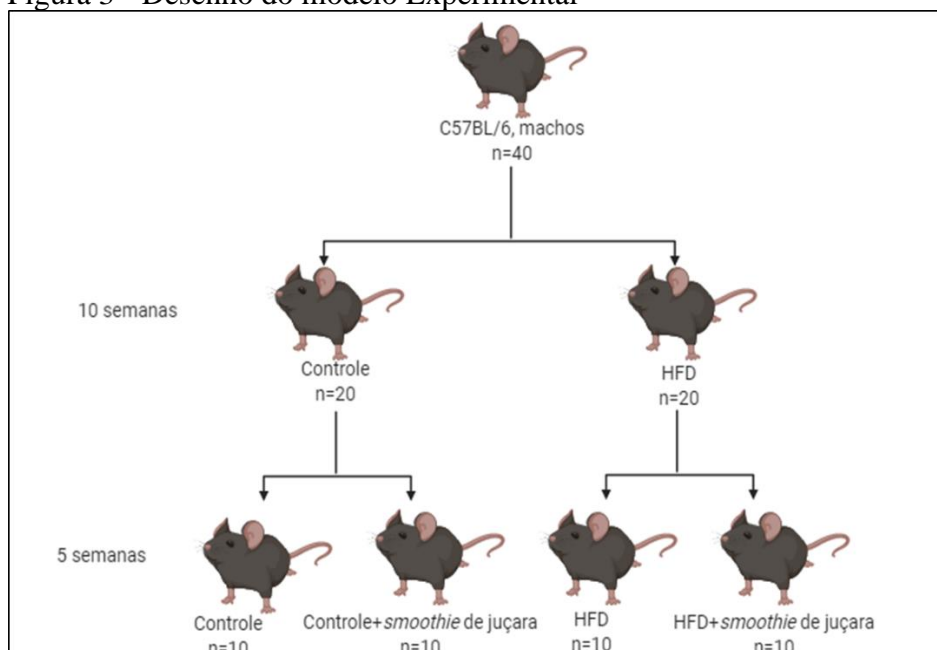
Os camundongos foram designados de maneira aleatória para receber dieta controle (grupo Controle - C: 14% de proteína, 10% de gordura e 76% de carboidratos, energia total 15 kJ g⁻¹) ou dieta hiperlipídica (grupo *high-fat* - HF: 14% de proteína, 50% de gordura (banha de porco) e 36% de carboidratos, energia total 21 kJ g⁻¹), com n = 20 por grupo, por dez semanas.

Após esse período, os grupos controle (C) e *high-fat* (HF) foram subdivididos em quatro grupos (n = 10) de acordo com o tratamento, por cinco semanas: (a) grupo C, alimentado com dieta controle e água; (b) grupo C-J, alimentado com dieta controle, *smoothie* de juçara e água; (c) grupo HFD, alimentado com dieta hiperlipídica e água; (d) grupo HFD-J, alimentado com dieta hiperlipídica, *smoothie* de juçara e água (Figura 2). Todos os grupos tinham livre acesso à ração e água. A reposição do *smoothie* e o registro do volume consumido foram realizados diariamente.

As dietas foram fabricadas pela Prag Soluções (Jaú , São Paulo, Brasil), e estavam de acordo com as recomendações do Instituto Americano de Nutrição (AIN 93M). A ingestão de alimentos foi medida diariamente e a massa corporal foi medida semanalmente. Já a ingestão energética foi obtida através do somatório da quantidade total de dieta e *smoothie* consumidos multiplicado pelos seus respectivos valores energéticos.

Após 15 semanas de experimento, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e anestesiados profundamente com injeção intraperitoneal de cetamina (150 mg kg⁻¹) e xilazina (15 mg kg⁻¹). As amostras de sangue foram obtidas por punção cardíaca e o plasma separado por centrifugação (1200 g por 15 min a 4 °C). Além disso, o fígado e as gorduras subcutânea, epididimária e retroperitoneal foram dissecados e pesados. O índice de adiposidade foi determinado através da soma das gorduras subcutânea, epididimária e retroperitoneal dividida pelo peso corporal total de cada animal (DA SILVA et al., 2018). Todas as amostras foram armazenadas individualmente a -80°C até o momento da realização das análises.

Figura 3 - Desenho do modelo Experimental



Legenda: *high-fat* (HFD); *high-fat smoothie* de juçara (HFD+*smoothie* de juçara)

5.3 Análises bioquímicas

Os animais realizaram jejum de doze horas e a concentração de glicose foi realizada com a coleta de sangue da veia caudal através de glicosímetro (Accu- Check Active; Roche, Mannheim, Alemanha) no dia da eutanásia. A concentração de triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram determinadas, no plasma, por ensaio colorimétrico (Bioclin, Belo Horizonte, Brasil). As concentrações plasmáticas de insulina e leptina foram realizadas através de radioimunoensaio (St. Charles, Missouri, EUA) e ensaio imunoenzimático (ELISA) (Millipore, Billerica, MA, EUA, Cat. No. EZML-82K), respectivamente. A resistência à insulina foi avaliada usando a fórmula do índice de avaliação do modelo de homeostase (HOMA- IR): $\text{HOMA- IR} = \text{glicemia em jejum (mmol L}^{-1}) \times \text{insulina sérica em jejum (UI mL}^{-1}) / 22,5$ (MATTHEWS *et al.*, 1985).

5.4 Avaliação da esteatose no fígado

Após a eutanásia, o fígado foi removido e pesado (SCHLECK *et al.*, 2015). Para avaliar os níveis hepáticos de TG e colesterol, o tecido foi homogeneizado em álcool isopropílico e processado em um processador ultrassônico (Vibra -Cell™, Newtown, EUA). O conteúdo de TG e de colesterol do sobrenadante foi quantificado com kits colorimétricos específicos para triglicerídeos e colesterol, seguindo as especificações do fabricante (Bioclin, BH, MG, Brasil). A leitura foi realizada a 490–540 nm em espectrofluorímetro (Hidex, Turku, Finlândia).

As amostras de tecido utilizadas para avaliação histológica da esteatose hepática foram fixadas em formalina 10% e depois embebidas em Paraplast Plus (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), seccionadas a 5 µm e coradas com hematoxilina e eosina. As imagens foram capturadas em um microscópio DMRBE Leica (Leica Microsystem GmbH, Wetzlar, Alemanha) usando uma câmera Infinity 1-5c (Lumenera Co., Ottawa, ON, Canadá). A densidade volumétrica dos hepatócitos foi determinada usando o software STEPanizer© versão 1.8 na contagem de 16 pontos. O resultado foi obtido pela divisão entre a soma dos pontos encontrados e a soma do total de pontos do sistema, sendo expresso como porcentagem.

5.5 Atividade Antioxidante no Fígado

A atividade da superóxido dismutase (SOD) hepática foi avaliada aferindo a inibição da auto-oxidação da adrenalina com absorbância a 480 nm (de BEM *et al.*, 2014). A atividade da

catalase (CAT) foi medida em termos da taxa de diminuição do peróxido de hidrogênio a 240 nm (AEBI, 1984). A atividade da glutathione peroxidase (GPx) foi medida monitorando a oxidação do NADPH a 340 nm na presença de peróxido de hidrogênio (MILLER, 1978).

5.6 Danos Oxidativos no Fígado

O dano à membrana lipídica dos hepatócitos foi determinado pela concentração de produtos da peroxidação lipídica, no caso o malondialdeído – MDA, em homogenato de fígado, utilizando o método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como previamente descrito por Draper e colaboradores (1993). A carbonilação de proteínas foi determinada através do método previamente descrito por Levine e colaboradores (1990).

5.7 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os dados foram testados para distribuição normal e homocedasticidade da variância usando o teste Shapiro-Wilk e, em seguida, os grupos foram comparados usando a análise de variância one-way ANOVA e o pós-teste de Holm- Sidak. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas usando o software Graph Pad Prism 6.0 para MAC (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA).

5 RESULTADOS

5.1 Ingestão alimentar e massa corporal

Ao analisar a ingestão alimentar média diária, observou-se que não houve diferença significativa entre os quatro grupos (C, C-J, HFD, HFD-J) durante todo o período de 15 semanas do tratamento. Contudo, a ingestão de energia foi maior nos grupos HFD e HFD-J quando comparados ao grupo C (+24% e +30%, respectivamente; $p < 0,05$, Tabela 2). Além disso, os grupos HFD e HFD-J apresentaram maior ganho cumulativo de peso corporal ao longo do experimento, em comparação com o grupo C (+237% e +201%, respectivamente; $p < 0,05$, Tabela 2).

Apesar do ganho de peso corporal ter sido semelhante entre os grupos HFD e HFD-J, foi observada diferença significativa no índice de adiposidade entre eles, uma vez que o grupo HFD apresentou índice de adiposidade maior do que o grupo HFD-J (+57,1%; $p < 0,001$, Tabela 2), o qual não apresentou diferença significativa em relação aos grupos C e C-J.

Tabela 2 - Parâmetros nutricionais dos grupos após as 15 semanas do experimento

Parâmetros Nutricionais	Grupos Experimentais			
	C	C-J	HFD	HFD-J
Ingestão alimentar diária (g/dia)	3,2 ± 0,3	3,0 ± 0,2	3,2 ± 0,3	3,1 ± 0,4
Ingestão líquida (ml/dia)	2,9 ± 0,4	2,7 ± 0,9	3,1 ± 0,6	3,2 ± 0,3
Ingestão diária de <i>smoothie</i> (ml/dia)	-	1,4 ± 0,8	-	1,7 ± 0,4
Ingestão energética diária (kJ/dia)	46,6 ± 3,2 ^b	48,9 ± 4,9 ^b	57,2 ± 3,6 ^a	59,8 ± 1,6 ^a
Ganho de peso corporal total (g)	8,25 ± 2,9 ^b	9,46 ± 3,8 ^b	19,56 ± 3,4 ^a	17,2 ± 4,78 ^a
Índice de adiposidade (g)	4,1 ± 1,2 ^b	4,5 ± 1,3 ^b	7,7 ± 2,3 ^a	4,9 ± 0,9 ^b

Legenda: Controle (C); Controle com *smoothie* de juçara (C-J); Dieta Hiperlipídica (HFD); Dieta Hiperlipídica com *smoothie* de juçara (HFD-J). As diferenças estatísticas são indicadas por diferentes letras no canto superior direito dos resultados (One-way ANOVA seguido por pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

5.2 Análises bioquímicas

A Tabela 3 apresenta os resultados dos dados bioquímicos descritos a seguir. A concentração de triglicerídeos plasmáticos foi superior no grupo HFD quando comparado ao grupo C (+39%; $p < 0,001$, Tabela 3). Os dois grupos que receberam o *smoothie* de juçara, C-J e HFD-J, apresentaram a concentração de triglicerídeos plasmática semelhante ao grupo C. Com relação às concentrações de colesterol total no plasma, o grupo HFD apresentou média superior aos grupos C, C-J e HFD-J (+64%, +67% e +36%, respectivamente; $p < 0,05$, Tabela

3). O grupo HFD-J, embora tenha apresentado valores menores que o grupo HFD, ainda apresentou valores significativamente maiores que o grupo C (+20%; $p < 0,05$, Tabela 3).

O grupo HFD apresentou maiores valores plasmáticos de leptina, quando comparado aos grupos C, C-J e HFD-J (2,5; 2,4 e 2,4 *fold-increase*, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 3). O mesmo padrão pode ser observado para a glicemia de jejum (+79%, +84% e + 59%, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 3), para a insulina de jejum (+90%, 1,1 *fold-increase* e +63%, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 3) e para o HOMA-IR (2,2; 2,5 e 1,9 *fold-increase*, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 3).

Sobre os marcadores de função hepática no plasma, foi observado que o grupo HFD apresentou maiores concentrações de AST e ALT quando comparado ao grupo C (+ 43 % e + 29 %, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 3). No entanto, o grupo HFD-J apresentou níveis plasmáticos mais baixos de ALT (-33%; $p < 0,001$, Tabela 3) e AST (-28%; $p < 0,001$, Tabela 3) em relação ao grupo HFD, sendo, então, similar ao grupo C.

Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos no plasma dos grupos após as 15 semanas de experimento

Parâmetros	Grupos Experimentais			
	C	C-J	HFD	HFD-J
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	83,67 ± 2,2 ^b	80,1 ± 7,4 ^b	116,3 ± 4,4 ^a	84,25 ± 4,0 ^b
Colesterol Total (mg dL ⁻¹)	85,0 ± 1,2 ^c	83,7 ± 3,4 ^c	139,5 ± 5,6 ^a	102,5 ± 3,4 ^b
Leptina (pg mL ⁻¹)	6297,2 ± 223,5 ^b	6520,5 ± 704,2 ^b	21966,1 ± 1452,6 ^a	6524,3 ± 891,1 ^b
Glicose (mg dL ⁻¹)	151,3 ± 4,97 ^b	147,7 ± 16,8 ^b	271,3 ± 27,9 ^a	170,3 ± 14,9 ^b
Insulina (pg mL ⁻¹)	453,3 ± 26,6 ^b	404,3 ± 32,3 ^b	860,3 ± 35,8 ^a	528,0 ± 21,9 ^b
HOMA-IR	1,91 ± 0,4 ^b	1,77 ± 0,2 ^b	6,12 ± 0,9 ^a	2,12 ± 0,2 ^b
ALT (UI L ⁻¹)	24,9 ± 1,2 ^b	24,9 ± 0,9 ^b	35,6 ± 1,5 ^a	24,0 ± 0,6 ^b
AST (UI L ⁻¹)	36,1 ± 1,0 ^b	36,2 ± 0,8 ^b	46,5 ± 1,1 ^a	33,5 ± 1,1 ^b

Legenda: Controle (C); Controle com *smoothie* de juçara (C-J); Dieta Hiperlipídica (HFD); Dieta Hiperlipídica com *smoothie* de juçara (HFD-J); HOMA-IR, Modelo de Avaliação da Homeostase para resistência à insulina; Alanina aminotransferase (ALT) e Aspartato aminotransferase (AST). As diferenças estatísticas são indicadas por diferentes letras no canto superior direito (One-way ANOVA seguido por pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

5.3 Análises Hepáticas

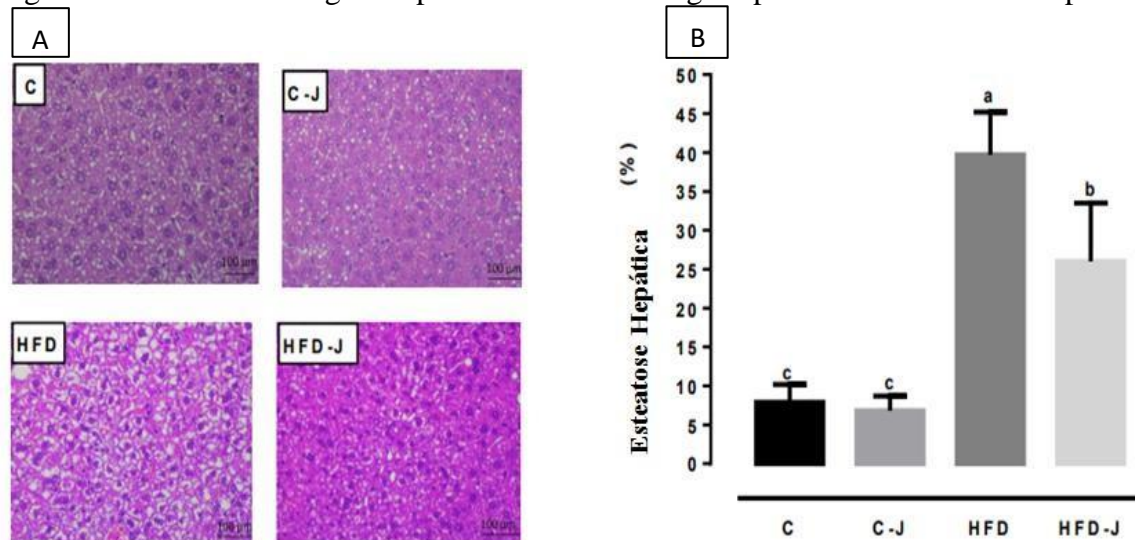
5.3.1 Marcadores da esteatose hepática

No que diz respeito ao volume do fígado, o grupo HFD apresentou um volume maior, quando comparado com os outros grupos experimentais (HFD VsC: 1,3 *fold-increase*; HFD Vs C-J: 1,4 *fold-increase*; HFD Vs HFD-J: 1,6 *fold-increase*; $p < 0,001$, Tabela 4).

Com resultados semelhantes aos encontrados no plasma, os triglicerídeos e colesterol hepáticos foram maiores no grupo HFD em comparação com o grupo C (2,6 e 1,5 *fold-increase*, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 4), com o grupo C-J (2,2 e 1,2 *fold-increase*, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 4) e com o grupo HFD-J (2,0 e 1,3 *fold-increase*, respectivamente; $p < 0,001$, Tabela 4).

Ao realizar a análise histológica do tecido hepático (Figura 4. A) observou-se que o grupo HFD apresentou maior acúmulo de lipídios nos hepatócitos quando comparado aos grupos C, C-J e HFD-J (aumento de 5,0, 5,8 e 2,5 *fold-increase*, respectivamente; $p < 0,001$, Figura 4.B).

Figura 4 - Análise histológica hepática dos camundongos após as 15 semanas de experimento



Legenda: Controle (C); Controle com *smoothie* de juçara (C-J); Dieta Hiperlipídica (HFD); Dieta Hiperlipídica com *smoothie* de juçara (HFD-J). Método de contagem de 16 pontos para quantificação (B).

5.3.2 Marcadores de dano oxidativo e defesa antioxidante

Também foram analisados, no fígado, os marcadores de dano oxidativo e de atividade antioxidante. Foi observado que o grupo HFD apresentou maiores valores de malondialdeído (MDA) e de proteínas carboniladas que os grupos C (2,3 *fold-increase* e +71%, respectivamente; $p \leq 0,05$, Tabela 4), C-J (2,0 *fold-increase* e + 100%, respectivamente; $p \leq 0,05$, Tabela 4) e HFD-J (1,5 *fold-increase* e + 50%, respectivamente; $p \leq 0,05$, Tabela 4).

Em relação às enzimas antioxidantes no fígado, a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi menor no grupo HFD quando comparada com todos os outros grupos experimentais (HFD Vs C: -47%; HFD Vs C-J: -59%; HFD Vs HFD-J: -45%; $p \leq 0,05$, Tabela 4). Enzimas catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) apresentaram maior atividade nos grupos que

receberam *smoothie* de juçara em comparação com aqueles que não receberam (C-J Vs C: 1,92 *fold-increase* para CAT e 1,26 *fold-increase* para GPx; HFD-J Vs HFD: 3,62 *fold-increase* para CAT e 2,45 *fold-increase* para GPx).

Tabela 4 - Parâmetros bioquímicos e moleculares hepáticos dos grupos após as 15 semanas de experimento

Parâmetros	Grupos Experimentais			
	C	C-J	HFD	HFD-J
Volume hepático (g ³)	1,05 ± 0,1 ^b	0,99 ± 0,1 ^b	2,38 ± 0,1 ^a	0,93 ± 0,1 ^b
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	112,9 ± 7,8 ^b	126,1 ± 13,8 ^b	405,9 ± 18,8 ^a	136,6 ± 11,4 ^b
Colesterol (mg dL ⁻¹)	24,5 ± 3,1 ^b	28,7 ± 3,8 ^b	61,8 ± 9,7 ^a	26,5 ± 3,1 ^b
Malondialdeído (nmol/mg proteína)	0,23 ± 0,01 ^c	0,25 ± 0,03 ^c	0,76 ± 0,09 ^a	0,31 ± 0,07 ^b
Proteínas Carboniladas (nmol/mg proteína)	0,007 ± 0,00 ^b	0,006 ± 0,00 ^b	0,012 ± 0,002 ^a	0,008 ± 0,004 ^b
Superóxido Dismutase (U/mg proteína)	30,76 ± 3,89 ^a	39,42 ± 7,89 ^a	16,34 ± 5,16 ^b	29,98 ± 7,36 ^a
Catalase (U/mg proteína)	2,34 ± 0,98 ^b	6,84 ± 2,18 ^a	1,03 ± 0,42 ^c	4,76 ± 2,12 ^a
Glutaciona Peroxidase (U/mg proteína)	0,19 ± 0,03 ^b	0,43 ± 0,09 ^a	0,11 ± 0,03 ^b	0,38 ± 0,06 ^a

Legenda: Controle (C); Controle com *smoothie* de juçara (C-J); Dieta Hiperlipídica (HFD); Dieta Hiperlipídica com *smoothie* de juçara (HFD-J). As diferenças estatísticas são indicadas por diferentes letras no canto superior direito (One-way ANOVA seguido por pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, foi investigada a propriedade do *smoothie* de juçara na proteção do fígado frente o desenvolvimento da DHGNA induzida por dieta hiperlipídica em camundongos. O *smoothie* de juçara possui altas concentrações de compostos fenólicos provenientes da *Euterpe edulis Martius*. Ribeiro e colaboradores (2018) avaliaram esse produto e mostraram que o processo de pasteurização permitiu uma maior estabilidade ao *smoothie* e que, mesmo com o tratamento térmico, o produto final permaneceu rico em compostos fenólicos, como as antocianinas, como demonstrado na Tabela 1 (RIBEIRO et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

Apesar de, no presente estudo, os grupos HFD e HFD-J não terem apresentado diferença no ganho de peso (Tabela 2), já foi relatada na literatura uma ação protetora da juçara no ganho de peso. Santamarina e colaboradores (2019) objetivaram avaliar a efetividade de duas doses de juçara prevenir os efeitos de uma dieta hiperlipídica nos marcadores inflamatórios e na esteatose hepática. Os autores observaram que os animais que receberam dieta hiperlipídica e 0,25% polpa de juçara apresentaram menor ganho de peso corporal quando comparado ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica e o grupo que recebeu dieta hiperlipídica e 0,5% de polpa de juçara além de apresentar um menor consumo alimentar. Os autores acreditam que a dose de suplementação com 0,25% de polpa de juçara causou um efeito protetor hipotalâmico, controlando a sinalização de apetite (SANTAMARINA et al., 2019).

Com relação ao índice de adiposidade, como indicado na Tabela 2, foi observado que, embora os grupos HFD e HFD-J tenham apresentado maior ganho de peso corporal quando comparados ao grupo C, somente o grupo HFD apresentou aumento no índice de adiposidade, sugerindo que o *smoothie* de juçara foi capaz de prevenir o acúmulo de tecido adiposo nesses animais, mesmo com o consumo de uma dieta hiperlipídica, uma vez que o grupo HFD-J apresentou índice de adiposidade similar aos grupos que receberam dieta controle (C e C-J).

Sendo assim, infere-se que a juçara exerceu um papel anti-adipogênico. Este fato pode estar relacionado à inibição da diferenciação de pré-adipócitos, proliferação de adipócitos, síntese de triglicerídeos e ao estímulo da lipólise. Adicionalmente, sugere-se que tenha havido o processo de termogênese adaptativa, com aumento da expressão de genes mitocondriais, como as UCPs (*uncoupling proteins*) e da β -oxidação de ácidos graxos (SANTAMARINA et al., 2019; AZZINI; GIACOMETTI; RUSSO, 2017; WANG et al., 2014).

Há evidências crescentes de que alimentos fontes de compostos fenólicos podem atuar na prevenção e tratamento de desordens metabólicas devido à sua atividade antioxidante (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). De Oliveira e colaboradores (2015) investigaram o

efeito de um extrato de semente de açaí, rico em compostos fenólicos como as proantocianidinas, na adiposidade, nos níveis de colesterol e triglicerídeos no fígado e no acúmulo de lipídios nos hepatócitos em camundongos por 12 semanas. Quatro grupos foram estudados: grupo controle (C), grupo controle + ASE (ASE), grupo com dieta hiperlipídica (HF) e grupo com dieta hiperlipídica + ASE (HF + ASE). Os autores encontraram que os animais HF apresentaram aumento dos tecidos adiposos epididimários e retroperitoneais, já o grupo HF + ASE apresentou menor ganho desses tecidos adiposos (DE OLIVEIRA et al., 2015). Os autores indicam que essa atuação do ASE ocorra devido à presença de compostos fenólicos presentes no extrato (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Em nosso estudo, ao analisar o perfil lipídico plasmático (Tabela 3), foi observado que o grupo HFD apresentou maiores concentrações de colesterol total e triglicerídeos no plasma, quando comparado aos outros grupos experimentais. Estes resultados podem contribuir para um quadro metabólico prejudicial, uma vez que já foi demonstrado que os níveis de triglicerídeos e colesterol plasmáticos estão relacionados ao desenvolvimento de esteatose simples (TIROSH, 2018). Já o grupo HFD-J apresentou concentração plasmática de colesterol total menor que o grupo HFD, porém maior que os grupos C e C-J, mostrando que o *smoothie* amenizou o efeito da dieta hiperlipídica no colesterol total, mas não foi capaz de preveni-lo completamente. Com relação às concentrações de triglicerídeos, o grupo HFD-J apresentou valores similares ao grupo C e C-J, indicando que o *smoothie*, nesse caso, foi capaz de impedir que a ingestão da dieta hiperlipídica alterasse esse parâmetro.

Efeitos similares foram descritos por Graf e colaboradores (2013), que realizaram uma intervenção em ratos obesos por 10 semanas, com suco de uva e mirtilo, contendo 1551 mg/L de antocianinas, além de contêr outros compostos fenólicos como resveratrol e flavonóides, e um grupo controle que recebeu suco de uva e mirtilo sem compostos fenólicos.

Neste estudo, ao final do experimento, os autores verificaram menores concentrações de colesterol e triglicerídeos séricos no grupo que recebeu o suco contendo antocianinas (GRAF et al., 2013). Estes resultados sugerem que as antocianinas podem contribuir de forma importante na prevenção de alterações no perfil lipídico em roedores obesos.

A resistência à insulina desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da DHGNA, uma vez que estimula a via da lipogênese de novo no fígado e a continuação da lipólise no tecido adiposo, resultando em um aumento dos ácidos graxos circulantes e, conseqüentemente, podendo levar à esteatose hepática (BENEDICT; ZHANG, 2017).

Dessa forma, o presente estudo avaliou alguns parâmetros envolvidos com a resistência à insulina como glicemia, insulina plasmática e o índice HOMA-IR (Tabela 3) e foi observado

que o grupo HFD apresentou maiores concentrações de glicose e insulina plasmática quando comparado aos outros grupos, bem como índice HOMA-IR, o que sugere que a dieta hiperlipídica contribuiu para que os animais desse grupo apresentassem um quadro de resistência à insulina. Em contrapartida, o grupo HFD-J, embora também tenha recebido dieta hiperlipídica, apresentou valores de glicemia, insulina em jejum e índice HOMA-IR semelhantes aos grupos que receberam dieta controle, sugerindo que o *smoothie* de juçara foi eficaz na prevenção desse quadro. Uma possível explicação para essa ação do *smoothie* seria que as antocianinas atuam aumentando a sensibilidade à insulina e a captação de glicose em órgãos vitais, como músculos e tecidos adiposos, melhorando a resistência à insulina (BELWAL et al., 2017).

Resultados semelhantes podem ser encontrados em outros estudos com produtos ricos em compostos fenólicos. Sandoval e colaboradores (2019), em seu estudo, suplementaram maqui (*Aristotelia chilensis*), uma fruta rica em antocianinas como a juçara, em camundongos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: grupo que recebeu dieta hiperlipídica e grupo que recebeu dieta hiperlipídica e uma suplementação com maqui. Os autores observaram, nas análises, uma redução na glicemia de jejum e melhor resposta na curva de glicose no grupo suplementado quando comparada ao outro grupo. Os autores atribuem o efeito benéfico do maqui devido a uma indução da expressão de ChREBP, ChREBP α , ChREBP β e GLUT-4 no tecido adiposo (SANDOVAL et al., 2019).

Da mesma forma, Song e colaboradores (2016), ao suplementarem animais com suco de pitaya, fruta rica em vitamina C e compostos fenólicos, com o objetivo de prevenir a esteatose hepática em camundongos obesos induzidos por dieta hiperlipídica, encontraram que o grupo que recebeu dieta hiperlipídica e o suco de pitaya apresentou concentrações inferiores não apenas de glicose, insulina e HOMA-IR, como também o aumento de HOMA-IS, índice relacionado à sensibilidade à insulina (SONG et al., 2016).

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de de Bem e colaboradores (2018) no qual o extrato do caroço de açaí ofertado à animais obesos, levou a uma diminuição das concentrações de glicose no sangue, insulina sérica e HOMA-IR quando comparados aos animais não suplementados com açaí. Os autores acreditam que as proantocianidinas e as catequinas presentes no extrato do açaí diminuíram a absorção intestinal de glicose, exerceram ação antioxidante, protegendo as células beta contra a toxicidade promovida pela hiperglicemia e melhoraram a sensibilidade à insulina (de BEM et al., 2018).

Com relação à leptina, quando sua concentração está elevada, possui um papel indireto no desenvolvimento da DHGNA, pois desencadeia distúrbios metabólicos, como síndrome

metabólica, obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (ROTUNDO et al., 2018). Um estudo de meta-análise determinou uma correlação quanto maior a concentração sérica de leptina, maior a gravidade da DHGNA (POLYZOS et al., 2016). No atual estudo, como demonstrado na Tabela 3, o grupo HFD apresentou maiores concentrações de leptina sérica, enquanto o grupo HFD-J apresentou concentrações próximas aos valores dos grupos C e C-J. De forma semelhante, no estudo de Graf e colaboradores (2013), em que foi feita uma intervenção com suco de uva e mirtilo, rico em antocianinas, foi observado que as concentrações de leptina reduziram com a suplementação (GRAF et al., 2013).

Wu e colaboradores (2013) que avaliaram o potencial do suco de mirtilo e de amora, frutas ricas em antocianinas como a juçara, em camundongos obesos, identificaram que os dois sucos também foram eficazes em reduzir os níveis séricos de leptina e insulina, quando comparados ao grupo que só recebeu dieta hiperlipídica (WU et al., 2013).

Ainda com relação às análises realizadas no plasma (Tabela 3), foram avaliadas as concentrações de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), as quais são utilizadas na avaliação da função hepática (DE RITIS, COLTORTI & GIUSTI, 1972). Foram observadas maiores concentrações para ambas as enzimas no grupo HFD, sugerindo que esses animais apresentavam possíveis danos hepáticos. Em contra partida, o grupo HFD-J apresentou valores próximos aos valores do grupo C e C-J, indicando que o consumo de *smoothie* rico em antocianinas foi capaz de proteger o fígado contra possíveis prejuízos causados pelo consumo de uma dietahiperlipídica.

De forma semelhante, ao suplementar os animais com suco de pitaya, Song e colaboradores (2016) encontraram que o grupo que recebeu uma dieta hiperlipídica e o suco de pitaya apresentou menores concentrações de AST e ALT, quando comparados ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica (SONG et al., 2016).

Carvalho e colaboradores (2019) estudaram o efeito do extrato aquoso de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) em um modelo de camundongos com DHGNA induzido por dieta hiperlipídica. Os animais foram divididos em grupo controle, grupo controle que recebeu extrato aquoso de açaí, grupo com dieta hiperlipídica e grupo com dieta hiperlipídica e açaí. Esse último apresentou concentrações de ALT próximas às do grupo controle e controle suplementado com açaí, sendo menor que o grupo com dieta hiperlipídica e as concentrações de AST não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (CARVALHO et al., 2019).

Além da avaliação bioquímica no plasma, analisamos o conteúdo de lipídios no fígado (Tabela 4), já que, quando armazenados no fígado, em torno de 95% se encontram na forma de

triacilgliceróis (TIROSH, 2018). O grupo HFD apresentou maiores valores de colesterol e triglicerídeos hepáticos, devido à oferta de uma dieta hiperlipídica para esses animais. Já o grupo HFD-J, mesmo tendo consumido uma dieta hiperlipídica, apresentou valores próximos ao do grupo C e C-J. Uma teoria para o efeito do *smoothie* nesses resultados é a de que compostos fenólicos atuam na regulação negativa de fatores de transcrição (SREBP-1a, SREBP-1c e SREBP-2) que são responsáveis por ativar genes necessários para a síntese de colesterol (XIE et al., 2018).

De Oliveira e colaboradores (2015) observaram que o grupo com dieta hiperlipídica foi o que apresentou maiores concentrações de colesterol e triglicerídeos hepáticos, enquanto que o grupo com dieta hiperlipídica e extrato de açaí apresentou concentrações próximas ao grupo controle e controle com extrato de açaí. Esse extrato se apresentou rico proantocianidinas poliméricas, indicando que alimentos ricos nesses compostos fenólicos se mostram como possíveis estratégias terapêuticas para a prevenção do aumento de colesterol e triglicerídeos no fígado, contribuindo para prevenir um quadro de esteatose hepática (DE OLIVEIRA et al., 2015). Esse resultado, segundo os autores, pode estar relacionado com a enzima HMG-CoA redutase, que possui papel importante na regulação da via de síntese do colesterol. A sua atividade é regulada pela AMPK (*AMP-activated protein kinase*), que em seu estado fosforilado, pAMPK, é responsável por inativar a HMG-CoA redutase. Quando a AMPK é ativada, a lipogênese no fígado é inibida, o que conseqüentemente inibe o acúmulo de gordura. O extrato do caroço do açaí impediu a redução da expressão de pAMPK e o aumento da HMG-CoA redutase no fígado dos animais suplementados com o extrato (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Com relação à histologia do tecido hepático (Figura 4), o grupo HFD apresentou maior acúmulo de lipídios nos hepatócitos, promovido pelo consumo de dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados, além de apresentar maior volume do órgão em relação aos outros grupos experimentais, reforçando essa maior presença de lipídios acumulados no fígado. Já o grupo HFD-J, mesmo tendo recebido dieta hiperlipídica como o grupo HFD, apresentou volume e histologia similares ao grupo controle, sugerindo um possível papel protetor da juçara contra o acúmulo de lipídios nos hepatócitos. Esses resultados reforçam os resultados obtidos nas análises do colesterol e triglicerídeos hepáticos no grupo HFD-J, mostrando que provavelmente o *smoothie* foi capaz de atuar no metabolismo lipídico no fígado.

Freitas e colaboradores (2016) investigaram os efeitos da polpa liofilizada, da polpa liofilizada sem gordura e do óleo de *Euterpe Edulis Mart.* na DHGNA induzida por uma dieta hiperlipídica em ratos. Os autores mostraram, por meio da análise histológica, que a polpa liofilizada e, principalmente, a polpa liofilizada sem gordura foram eficazes em reduzir o

acúmulo de lipídios nos hepatócitos, no entanto o óleo de juçara não apresentou nenhum efeito. Os autores acreditam que provavelmente o teor de antioxidantes no óleo seja menor que o das polpas e, portanto, não foi eficaz (FREITAS et al., 2016).

No estudo de Santamarina e colaboradores (2019), foram encontrados resultados semelhantes apenas no grupo que recebeu a dose de 0, 25% de polpa de juçara, uma vez que este grupo apresentou menor lesão hepática e menos lipídios nos hepatócitos, quando comparado ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica e ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica e 0,5% de polpa de juçara, mantendo-se com níveis semelhantes aos do grupo controle (SANTAMARINA et al., 2019)

Sabe-se que, além do acúmulo de lipídios no tecido hepático, a DHGNA está envolvida com o aumento do dano oxidativo nesse órgão, sendo assim, foi avaliado, neste estudo, alguns parâmetros de dano oxidativo e de defesa antioxidante. Com relação ao dano oxidativo (Tabela 4), foram avaliadas as concentrações do produto da peroxidação lipídica, o malondialdeído, e da carbonilação de proteínas e foi observado que o grupo HFD apresentou valores maiores em ambos os casos, quando comparados aos grupos C, C-J e HFD-J. O grupo HFD-J apresentou valores de MDA menores que o grupo HFD, no entanto, esses valores foram maiores que os grupos que receberam dieta controle, o que pode indicar que a juçara contribuiu para a prevenção do dano oxidativo causado pela dieta hiperlipídica, porém ainda não foi o suficiente para deixá-lo com níveis de MDA iguais ao grupo controle.

Em conformidade com o nosso trabalho, Freitas e colaboradores (2013) observaram que os grupos que receberam a polpa liofilizada e a polpa liofilizada sem gordura de juçara apresentaram menores concentrações de MDA no tecido hepático do que o grupo que recebeu o óleo de juçara. Dessa forma, pode-se especular que esses benefícios estão associados à forma como a juçara é consumida, preservando assim seus compostos fenólicos.

Reafirmando os resultados descritos no atual estudo e no estudo citado anteriormente, de Oliveira e colaboradores (2015), no seu tratamento com extrato de semente de açaí associado à dieta controle ou dieta hiperlipídica, encontraram que o grupo que recebeu somente a dieta hiperlipídica foi o que apresentou maiores valores de MDA, enquanto que o grupo que recebeu dieta hiperlipídica associada ao extrato apresentou valores menores que todos os grupos, inclusive o grupo controle.

Além do processo inflamatório, os múltiplos *hits* desencadeiam o aumento do estresse oxidativo, fato importante pois o estresse oxidativo desempenha um papel fundamental como ponto de partida do dano hepático. No intuito de minimizar esse quadro e melhorar a defesa antioxidante, uma dieta com alimentos ricos em antioxidantes tem se apresentado como

possível alternativa (MASARONE et al., 2018). Nesse contexto, analisamos as enzimas SOD, CAT e GPx (Tabela 4). No caso da SOD, no grupo HFD, apresentou uma diminuição na sua atividade em relação aos outros grupos experimentais, já os grupos tratados com a juçara (grupos C-J e HFD-J) apresentaram valores da atividade de SOD próximos ao grupo C, mostrando que, possivelmente, o consumo de juçara auxilia na proteção contra a redução da atividade dessas enzimas no grupo que recebeu a dieta hiperlipídica associada ao seu consumo. No caso da CAT, o grupo HFD também apresentou uma atividade menor quando comparado aos outros grupos experimentais. Já com relação à GPx, o grupo HFD apresentou valores próximos ao grupo C. No entanto, tanto para CAT quanto para GPx, os grupos que receberam a juçara (grupos C-J e HFD-J) apresentaram maior atividade dessas enzimas quando comparados ao grupo C e HFD, indicando que a juçara contribuiu para um aumento da defesa antioxidante nesses animais.

Carvalho e colaboradores (2019), em seu experimento com o extrato aquoso de açai, observaram que os animais que receberam dieta hiperlipídica e foram suplementados apresentaram valores de GPx próximos ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica, menor que o grupo controle. No caso da SOD, o grupo suplementado e com dieta hiperlipídica apresentou uma atividade maior que o grupo HFD, porém ainda menor que o grupo controle. No caso da CAT, o grupo suplementado apresentou concentração estatisticamente igual ao grupo controle e maior que o grupo HFD (CARVALHO et al., 2019).

Os resultados observados no presente estudo também foram encontrados e relatados em ensaios clínicos. Cardoso e colaboradores (2015) avaliaram o potencial antioxidante da juçara em suco ofertado a indivíduos saudáveis. Foi feita coleta de sangue antes, 1, 2 e 4 h após a ingestão de suco ou água (controle). Com relação à atividade das enzimas antioxidantes, foi observado que a enzima GPx e a SOD apresentaram atividade máxima duas horas após o consumo agudo de suco de juçara. No caso da CAT, sua atividade diminuiu na primeira hora e estabilizou após as primeiras 2 horas, voltando ao seu valor inicial. No entanto, esses valores ainda foram maiores que no grupo controle. Dessa forma, os autores sugerem que a juçara promove um efeito positivo na atividade antioxidante

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados neste estudo, foi observado que o *smoothie* de juçara respondeu de maneira positiva às teorias aqui levantadas, apresentando um efeito protetor no desenvolvimento da esteatose hepática, impedindo a elevação das concentrações dos lipídios plasmáticos, da leptina, da glicemia, e no desenvolvimento de um quadro de estresse oxidativo, ao aumentar a atividade das enzimas antioxidantes. Desta maneira o *smoothie*, por proteger o organismo do desenvolvimento dos fatores citados anteriormente, fatores esses que são responsáveis por desencadear a DHGNA, se apresentou como um alimento protetor do desenvolvimento dessa doença hepática.

Com base nisso, conclui-se que se torna interessante o desenvolvimento de mais estudos com juçara *in vitro*, *in vivo* e estudos clínicos, para que esse alimento possa ser usado pela população como um componente para auxiliar na prevenção de doenças como a DHGNA.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymology**, v. 105, p.121-126,1984.
- AFRIN, S. et al. Promising Health Benefits of the Strawberry: A Focus on Clinical Studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 4435-4449, mai. 2016.
- AMBRIZ-PÉREZ, D. L. et al. Phenolic compounds Natural alternative in inflammation treatment: A Review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, jan.2016.
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.. Natural antioxidants of plant origin. In: FERREIRA, I. C.; BARROS, L. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 90, cap. 1, p. 1-81, abr.2019.
- ARAÚJO, A. R. et al. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non- alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. **Liver International**, v. 38, n. S1, p. 47–51, fev.2018.
- ASTLEY, S.; FINGLAS, P. Nutrition and Health. **Reference Module in Food Science**, v. 1, p. 1-6, fev.2016.
- AZZINI, E.; GIACOMETTI, J.; RUSSO, G. L.. Antiobesity Effects of Anthocyanins in Preclinical and Clinical Studies. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, p. 1-11, jul. 2017.
- BARBOSA, K. B. F. et al . Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, ago.2010.
- BARROSO, M. E. S. et al. Phytochemical profile of genotypes of *Euterpe edulis* Martius - Juçara palm fruits. **Food Research International**, v. 116, p. 985-993, fev.2019.
- BELWAL, T.; et al. Dietary Anthocyanins and Insulin Resistance: When Food Becomes a Medicine. **Nutrients**, v. 9, n.10, p. 1-22, out.2017.
- BENEDICT, M.; ZHANG, X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. **World journal of hepatology**, v. 9, n. 16, p. 715–732, jun.2017.
- BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, p. 288-298, fev.2019.
- BUQUÉ, X.; et al. High insulin levels are required for FAT/CD36 plasma membrane translocation and enhanced fatty acid uptake in obese Zucker rat hepatocytes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 303, n. 4, ago.2012.
- BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 25, n. 3, p. 287-299, jun.2011.
- BUZZETTI, E.; PINZANI, M.; TSOCHATZIS, E. A. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Metabolism**, v. 65, n. 8, p. 1038–1048, ago.2016.
- CARDOSO, A. L., et al.. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 152–162, ago.2015.

CARVALHO, M. M. F.; et al. Açai improves non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by fructose. **Nutricion Hospitalar**, v. 35, n. 2, p. 318-325, fev.2018.

CARVALHO, M. M. F., et al. Effects of açai on oxidative stress, ER stress, and inflammation-related parameters in mice with high fat diet-fed induced NAFLD. **Scientific Reports**, v.9, n. 1, p. 1-11, mai.2019.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, abr. 2009.

CEDRIM, P. C. A. S.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, T. G. do. Propriedades antioxidantes do açai (Euterpe oleracea) na síndrome metabólica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, ago.2018.

CHALASANI, N. et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. **Hepatology**, v. 67, n. 1, jan.2018.

CHOOI, Y. C., DING, C., MAGKOS, F. (2018). The epidemiology of obesity. **Metabolism**, v. 92, p. 6-10, mar. 2019.

CONTENDO QUERCETINA E ÍON GA (III). **Química Nova**, v. 36, n. 4, p. 495-501, fev.2013.

DA SILVA, R. C.; et al. Açai (Euterpe oleracea Mart.) seed flour prevents obesity-induced hepatic steatosis regulating lipid metabolism by increasing cholesterol excretion in high-fat diet-fed mice. **Food Research International**, v. 111, p. 408–415, mai.2018.

DE BEM, G. F.; et al. Protective effect of Euterpe oleracea Mart (açai) extract on programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during pregnancy. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 9, p. 1328–1338, abr. 2014.

DE BEM, G. F. et al. Antidiabetic effect of Euterpe oleracea Mart. (açai) extract and exercise training on high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats: A positive interaction. **PloS one**, v. 13, n. 6, jun.2018.

DE OLIVEIRA, P. R.; 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, dez.2015.

DE RITIS, F.; COLTORTI, M.; GIUSTI, G. Serum-transaminase activities in liver disease. **The Lancet**, v. 299, p. 685–687, mar.1972.

DIVELLA, R.; et al. Obesity, Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Adipocytokines Network in Promotion of Cancer. **International Journal of Biological Sciences**, V. 15, n. 3, p. 610–616, jan.2019.

DRAPER, H. H. et al. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 15, n. 4, p. 353–363, out.1993.

DRESCHER, H. K.; WEISKIRCHEN, S.; WEISKIRCHEN, R.. Current Status in Testing for Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). **Cells**, v. 8, n. 8, p. 845-868, ago.2019.

DULAI, P. S. et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. **Hepatology**, v. 65, n. 5, p. 1557–1565, jan. 2017.

ENGIN, A. B. What is lipotoxicity?. In: Engin, A.B.; Engin, A.. Obesity and lipotoxicity, advances in experimental medicine and biology. **Springer International Publishing**, cap. 8, p. 197-220, 2017.

FARR, O. M.; GAVRIELI, A.; MANTZOROS, C. S. Leptin applications in 2015: what have we learned about leptin and obesity?. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 22, n. 5, p. 353-359, out.2015.

FREITAS, R. B. et al. Euterpe edulis Extract but Not Oil Enhances Antioxidant Defenses and Protects against Nonalcoholic Fatty Liver Disease Induced by a High-Fat Diet in Rats. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, p.1-9.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabologia**, v.50, n.2, p.216-229, abr.2006.

GADDE, K. M. et al. Obesity. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 1, p. 69–84, jan2018.

GOLABI, P.; BUSH, H.; YOUNOSSI, Z. M. Treatment Strategies for Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. **Clinics in Liver Disease**, v. 21, n. 4, p. 739-753, nov.2017.

GOMES, M. A. et al. Carcinoma hepatocelular: epidemiologia, biologia, diagnóstico e terapias. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.59, n.5, p.514-524, set/out.2013.

GRAF, D. et al.. Anthocyanin-Rich Juice Lowers Serum Cholesterol, Leptin, and Resistin and Improves Plasma Fatty Acid Composition in Fischer Rats. **PLoSone**, v. 8, n. 6, jun. 2013.

HERMSDORFF, H. H. M.; VIEIRA, M. A. de Q. M.; MONTEIRO, J. B. R. Leptin and its influence in the pathophysiology of eating disorders. **Revista de Nutrição**, v. 19, n.3, p. 369-379, jun. 2006.

HERTZEL, A. V. et al. Lipid metabolism in adipose tissue. In: VANCE, D.E.; VANCE, J.E. Vance Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. **Elsevier B.V.**, 5ª ed, cap. 10, p. 277-3032008.

HOANG, M. et al. (2019). Kaempferol reduces hepatic triglyceride accumulation by inhibiting Akt. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, n. 11, p. 1-7, set.2019.

HONMA, M. et al. Selective insulin resistance with differential expressions of IRS-1 and IRS-2 in human NAFLD livers. **International journal of obesity**, v. 42, n. 9, 1544– 1555, mai. 2018.

IACOBELLIS, G.; BARBARO, G.; GERSTEIN, H. C. Relationship of epicardial fat thickness and fasting glucose. **International Journal of Cardiology**, v. 128, n. 3, p. 424–426, ago.2008.

IBRAHIM, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obesity Reviews**, v. 11, n. 1, jan.2010.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4. p. 287-293, dez. 2018.

IPSEN, D. H.; LYKKESFELDT, J.; TVEDEN-NYBORG, P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. **Cellular and molecular life sciences**, v. 75, n. 18, p. 3313–3327, jun.2018.

JAKOBSEN, M. U. et al. Abdominal Obesity and Fatty Liver. **Epidemiologic Reviews**, v. 29, n. 1, p. 77–87, mai.2007.

KANG, Y. E. et al.. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. **PloS one**, v. 11, n. 4, abr.2016.

KAWANO, Y.; COHEN, D. E. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Gastroenterology**, v. 48, n. 4, p.434-441, abr. 2013.

KELESIDIS, T. et al. Narrative Review: The Role of Leptin in Human Physiology: Emerging Clinical Applications. **Annals of internal medicine**, v. 152, n. 2, p. 93-100, jan. 2011.

KESHARI, A. K. et al. Oxidative stress: a review. **The international journal of science & technoledge**, v. 3, n. 7, jul.2015.

KINLEN, D.; CODY, D.; O'SHEA, D. Complications of obesity. **QJM: An International Journal of Medicine**, v. 111, n. 7, p. 437–443, jul.2018.

KITADE, H. et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance: New Insights and Potential New Treatments. **Nutrients**, v. 9, n. 4, 387, abr.2017.

KHOO, H. E. et al. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & nutrition research**, v. 61, n. 1, p. 1-21, ago.2017.

LAMPIDONIS, A. D. et al. The resurgence of Hormone-Sensitive Lipase (HSL) in mammalian lipolysis. **Gene**, v. 477, n. 1-2, p. 1–11, mai. 2011.

LEVINE, R. L. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 464-478,1990.

LISBOA, Q. C.; COSTA, S. M. F.; COUTO, C. A. Manejo atual da doença hepática gordurosa não alcoólica. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.62, n.9, p. 872-878, dez. 2016.

- LÜ, J. M., et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 14, n. 4, p. 840–860, 2010.
- MAKKI, K.; FROGUEL, P.; WOLOWCZUK, I. Adipose Tissue in Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance: Cells, Cytokines, and Chemokines. **International Scholarly Research Notices Inflammation**, V. 2013, P. 1-12, nov.2013.
- MASARONE, M. et al. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, p. 1-14, jun.2018.
- MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul.1985.
- MACHADO, W.; MONTEIRO, E.; PINTO, V. Leptina e exercício físico: mecanismos para controle do peso corporal. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 9, n. 54, p. 471-480, jul./ago.2015.
- MILLER, T. A. Surgical management of lymphedema of the extremity. **Annals of Plastic Surgery**, v. 1, n. 2, p. 184–187, mar.1978.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (**VIGITEL BRASIL 2019**). Brasília, 1ª edição,2020.
- MOO-HUCHIN, V. M. et al. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 166, n. 1, p. 17-22, jan.2015.
- MONTANARI, T.; POŠĆIĆ, N.; COLITTI, M. Factors involved in white-to-brown adipose tissue conversion and in thermogenesis: a review. **Obesity reviews**, v. 18, p. 495– 513, mai.2017.
- NEHA, K. et al. Medicinal Prospects of Antioxidants: A Review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 687-704, set. 2019.
- NIELSEN, S. et al. Splanchnic lipolysis in human obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 11, p. 1582–1588, jun.2004.
- OLIVEIRA, C. M. B. et al. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 260-265, abr. 2011.
- ORTEGA, A. M. M.; CAMPOS, M. R. S. Bioactive Compounds as Therapeutic Alternatives. In: CAMPOS, M. R. S. **Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications**, cap. 13, p. 247–264,2019.
- OYAMA, L. M. et al. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 8, p. 1-8, jan.2016.
- PAREEK, S. Nutritional and Biochemical Composition of Banana (Musa spp.) Cultivars. In: Simmonds, M. S. J., Preedy, V. R. **Nutritional Composition of Fruit Cultivars**, cap. 3, p. 49-81, 2016.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C.. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International journal of biomedical science**, v. 4, n. 2, p. 89–96, jun.2008.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, jun.2015.

POLYZOS, S. A. et al. Circulating leptin in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. **Diabetologia** v. 59, p. 30–43, jan.2016.

PRADO W. L. et al. Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.15, n.5, set./out. 2009.

RIBEIRO, L. de O., et al. Sensory evaluation and antioxidant capacity as quality parameters in the development of a banana, strawberry and juçara smoothie. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 653-660, out/dez.2018.

RIBEIRO, L. de O. et al. Effect of sonication on the quality attributes of juçara, banana and strawberry smoothie. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 12, p. 5531–5537, dez.2019.

RODRIGUES, S. et al. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jaboticaba peel. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 400–407, 2015.

ROTILI, M. C. C. et al. Bioactive compounds, antioxidant and physic-chemical characteristics of the dovyalis fruit. *Acta Scientiarum*. **Agronomy**, v. 40, p. 1-8, mar.2018.

ROTUNDO, L. et al. The Association of leptin with severity of non-alcoholic fatty liver disease: A population-based study. **Clinical and molecular hepatology**, v. 24, n. 4, p. 392–401, dez.2018.

SANDOVAL, V. et al. Lyophilized Maqui (*Aristotelia chilensis*) Berry Induces Browning in the Subcutaneous White Adipose Tissue and Ameliorates the Insulin Resistance in High Fat Diet-Induced Obese Mice. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, set.2019.

SANTAMARINA, A. B., et al. Polyphenols-Rich Fruit (*Euterpe edulis* Mart.) Prevents Peripheral Inflammatory Pathway Activation by the Short-Term High-Fat Diet. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1-14, mai.2019.

SCHULZ, M. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, part. 1, p. 14-26, nov.2016.

SINHA, N.; DABLA, P. K. Oxidative Stress and Antioxidants in Hypertension—A Current Review. **Current Hypertension Reviews**, v. 11, n. 2, p. 132-142, 2015.

SIPPEL, C. et al. Inflammatory processes of obesity. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 12, n. 42, p.48-56, out./dez.2014.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, part B, p. 820-897, out.2015.

SCHLECK, M. L.; et al. (2015). A Randomized, Double-Blind, Parallel Study to Evaluate the Dose-Response of Three Different Vitamin D Treatment Schemes on the 25- Hydroxyvitamin D Serum Concentration in Patients with Vitamin D Deficiency. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5413–5422, jul.2015.

SONG, H. et al. White Pitaya (*Hylocereus undatus*) Juice Attenuates Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in Diet-Induced Obese Mice. **PLoS One**, v. 11, n. 2, fev. 2016.

STENEBERG, P., et al. Hyperinsulinemia Enhances Hepatic Expression of the Fatty Acid Transporter Cd36 and Provokes Hepatosteatosis and Hepatic Insulin Resistance. **The Journal of biological chemistry**, vol. 290,n. 31,2015

TAKAKURA, K. *et al.* Recent Insights Into the Multiple Pathways Driving Non- alcoholic Steatohepatitis-Derived Hepatocellular Carcinoma. **Frontiers on Oncology**, v. 9, p. 1-7, Ago.2019.

TCHERNOF, A.; DESPRÉS, J. P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. **Physiological Reviews**, v. 93, p. 359-404, jan.2013.

THOMA, C.; DAY, C.P.; TRENELL, M. I. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. **Journal of Hepatology**, v. 56, n. 1, p. 255-266, jan.2012.

TIROSH, O. Hypoxic Signaling and Cholesterol Lipotoxicity in Fatty Liver Disease Progression. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, p. 1-15, mai.2018.

VALENTI, L. et al. Dietary Anthocyanins as Nutritional Therapy for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1-8, set.2013.

VASCONCELOS, N. R. I. de et al. Estresse oxidativo em cuidadoresinformais.

Revista brasileira de geriatria e gerontologia, v. 22, n.4, nov. 2019.

VOET D.; VOET, J. G. Bioquímica. **Artmed Editora S.A.**, 3ª edição,2006.

WANG, S. et al. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 1, p. 1–18, jan.2014.

WHO. Obesity and overweight. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>**World Health Organization**, abr.2020.

WINTER, A. N.; BICKFORD, P. C. Anthocyanins and Their Metabolites as Therapeutic Agents for Neurodegenerative Disease. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, p. 1-45, set. 2019.

WONG, T.; WONG, R. J.; GISH R. G. Diagnostic and Treatment Implications of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. **Gastroenterology & Hepatology (NY)**, v. 15, n. 2, p. 83-89, fev.2019.

WU, T. et al. Blueberry and mulberry juice prevent obesity development in C57BL/6 mice. **PLoS one**, v. 8, n. 10 out.2013.

YOUNOSSI, Z. M. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease- Meta-analytic assessment of prevalence, incidence and outcomes. **Hepatology**, v. 64, n. 1, p. 73-84, jul.2016.

YOUNOSSI, Z. et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**,15, 11–20, 2018.

YOUSUF, B. et al. Health Benefits of Anthocyanins and Their Encapsulation for Potential Use in Food Systems: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 13, p. 2223-2230, ago.2016.