



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

**Centro Biomédico**

**Faculdade de Ciências Médicas**

**Caroline Alves de Araujo**

**Efeito terapêutico do extrato do caroço do açaí sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas em modelo experimental de obesidade: estudo comparativo com a metformina**

**Rio de Janeiro**

**2022**

Caroline Alves de Araujo

**Efeito terapêutico do extrato do caroço do açaí sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas em modelo experimental de obesidade: estudo comparativo com a metformina**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Aguiar da Costa

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ângela de Castro Resende

Rio de Janeiro

2022

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

A663 Araujo, Caroline Alves.

Efeito terapêutico do extrato do caroço do açaí sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas em modelo experimental de obesidade: estudo comparativo com a metformina / Caroline Alves Araujo. – 2022.

78 f.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Aguiar da Costa

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ângela de Castro Resende

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Euterpe – Uso terapêutico. 2. Obesidade – Tratamento – Teses. 3. Metabolismo dos carboidratos – Efeitos dos fármacos. 4. Fígado – Fisiopatologia – Teses. 5. Pâncreas – Fisiopatologia – Teses. I. Costa, Cristiane Aguiar da. II. Resende, Ângela de Castro. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 615.89:613.262

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo  
CRB7/7341

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

---

Assinatura

---

Data

Caroline Alves de Araujo

**Efeito terapêutico do extrato do caroço do açaí sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas em modelo experimental de obesidade: estudo comparativo com a metformina**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 01 de novembro de 2022

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Aguiar da Costa  
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ângela de Castro Resende  
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dra. Dayane Teixeira Ognibene  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Eliete Dalla Corte Frantz  
Universidade Federal Fluminense

\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Tatiana El-Bacha Porto  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2022

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais Lindalva Alves e Jorge Mauro Araújo pelo amor e apoio incondicional.

Em segundo lugar, gostaria de demonstrar a emoção que tenho sentido ao encerrar mais uma etapa em minha vida acadêmica, com um trabalho ao qual tive a honra de desenvolver sob orientação da Professora Dr<sup>a</sup>. Cristiane Aguiar da Costa. Deixo expresso aqui meu agradecimento por ter tornado esse trabalho possível, principalmente em um período onde o mundo parou, e pessoalmente, minha vida revirou. Foi um alívio saber que tive com quem contar e muitas de suas palavras me trouxeram até aqui. À minha querida orientadora, minha mais que imensa, minha eterna gratidão.

Meu agradecimento ao doutorando e colega de laboratório Bernardo Junqueira com quem compartilho o presente trabalho e infinitos questionamentos.

À minha coorientadora, professora Dr<sup>a</sup>. Ângela Castro Resende. É um orgulho e uma honra tê-la como exemplo em nosso laboratório. À minha revisora, professora Dr<sup>a</sup>. Grazielle Freitas de Bem pela dedicação e doação diária com tanto afeto. A todos os alunos do laboratório que, em algum momento, ao longo de todo esse tempo, contribuíram com esses resultados. À pesquisadora Fabiane Ferreira Martins que contribuiu pacientemente em muitos momentos para o desenvolvimento do meu projeto.

À UERJ, minha querida casa há 10 anos. Não saberia mensurar o quanto devo à generosidade e resiliência do ensino público em minha formação.

Às agências de fomento que possibilitaram a execução desse projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, com apoio FAPERJ e CNPq.

Por último, porém, não menos importante, aos meus familiares, meu namorado e amigos que são o suporte, alegria e luz da minha vida.

A todos vocês, por tudo o que são e tudo o que me tornaram.

## RESUMO

ARAÚJO, Caroline Alves. **Efeito terapêutico do extrato do caroço do açaí sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas em modelo experimental de obesidade:** estudo comparativo com a metformina. 2022. 78 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura que leva a um estado inflamatório sistêmico e crônico de baixo grau podendo ocasionar o desenvolvimento de diversas alterações metabólicas aumentando, assim, os riscos à saúde. É uma doença de causas multifatoriais, de difícil controle e que diminui consideravelmente a qualidade e a expectativa de vida. A literatura tem mostrado resultados promissores nos efeitos benéficos de compostos fenólicos presentes em alguns alimentos nas alterações metabólicas provocadas por essa doença. Em busca de fármacos que atuem de forma menos prejudicial ao organismo, o presente estudo tem como objetivo avaliar pela primeira vez o efeito terapêutico do extrato hidroalcoólico do caroço do açaí (ASE), rico em polifenóis como catequinas, antocianinas, epicatequina, dentre outros, e comparar com os efeitos da Metformina (MET), hipoglicemiante utilizado no tratamento do diabetes mellitus tipo 2, sobre as alterações metabólicas e histológicas do pâncreas e do fígado. Camundongos machos C57BL/6 com 3 meses de idade foram separados em quatro grupos e receberam as seguintes dietas durante 14 semanas: Grupo Controle (dieta normolipídica); Grupo Hiperlipídico (dieta hiperlipídica); Grupo Hiperlipídico + ASE (dieta hiperlipídica + ASE 300 mg/kg); e Grupo Hiperlipídico + Metformina (dieta hiperlipídica + Metformina 300 mg/kg). O tratamento com ASE e MET foi iniciado a partir da 10ª semana e realizado até a 14ª semana. O peso corporal, o consumo calórico e a glicemia foram avaliados durante todo o período de 14 semanas. Posteriormente à eutanásia, foram avaliados o perfil lipídico plasmático e a dosagem de ALT por ensaio colorimétrico. Os níveis plasmáticos de leptina e o GLP-1 foram avaliados por ELISA e o glicogênio hepático por ensaio enzimático. O índice de adiposidade foi avaliado a partir do peso dos tecidos adiposos dos compartimentos epididimário, retroperitoneal e subcutâneo e corrigido pela massa corporal. O pâncreas e o fígado foram isolados e armazenados em formalina para análise histológica e imunohistoquímica. Os tratamentos com ASE e MET foram capazes de reduzir o peso corporal, o índice de adiposidade, a dislipidemia, a glicemia, a leptina e o ALT no plasma além de reduzir a imunomarcagem de insulina nas ilhotas. Os tratamentos também se mostraram eficazes na redução de esteatose pancreática e hepática e no aumento dos estoques de glicogênio hepático. No entanto, nossos dados foram inconclusivos na dosagem do GLP-1. O ASE apresentou resultados em alguns desses pontos ainda mais promissores do que a metformina utilizada para controle positivo como na redução de peso, do colesterol total, no controle glicêmico, no metabolismo de glicogênio hepático e, também, da deposição de gordura no pâncreas e no fígado. Em conjunto, esses resultados sugerem um potencial terapêutico promissor do ASE no controle da obesidade demonstrando efeito hipolipidêmico, hipoglicemiante e antidiabético, sugerindo também que o ASE pode ser uma ferramenta importante para o tratamento da esteatose pancreática e hepática presentes neste modelo.

Palavras-chave: Obesidade. Polifenóis. Euterpe oleracea Mart. Metformina.

## ABSTRACT

ARAUJO, Caroline Alves. **Therapeutic effect of açai seed extract on glucose metabolism, metabolic, liver and pancreatic alterations in an experimental model of obesity: a comparative study with metformin.** 2022. 78 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Obesity is characterized by abnormal or excessive accumulation of fat that leads to a systemic and chronic low-grade inflammatory state, which can lead to the development of several metabolic alterations, thus increasing health risks. It is a disease with multifactorial causes, difficult to control and which considerably reduces the quality of life and life expectancy. The literature has shown promising results on the beneficial effects of phenolic compounds present in some foods on the metabolic changes caused by this disease. In search of drugs that act in a less harmful way to the body, the present study aims to evaluate for the first time the therapeutic effect of the hydroalcoholic extract of the açai seed (ASE), rich in polyphenols such as catechins, anthocyanins, epicatechin, among others, and compare with the effects of Metformin (MET), a hypoglycemic agent used in the treatment of type 2 diabetes mellitus, on the metabolic and histological alterations of the pancreas and liver. Male C57BL/6 mice aged 3 months were separated into four groups and received the following diets for 14 weeks: Control Group (normolipid diet); Hyperlipidic Group (high-fat diet); Hyperlipidic + ASE Group (high-fat diet + ASE 300 mg/kg); and Hyperlipidic + Metformin Group (high-fat diet + Metformin 300 mg/kg). Treatment with ASE and MET was started from the 10th week and continued until the 14th week. Body weight, caloric intake, and blood glucose were assessed throughout the 14-week period. After euthanasia, the plasma lipid profile and ALT dosage were evaluated by colorimetric assay. Plasma levels of leptin and GLP-1 were evaluated by ELISA and liver glycogen by enzymatic assay. The adiposity index was evaluated based on the weight of adipose tissues in the epididymal, retroperitoneal and subcutaneous compartments and corrected for body mass. Pancreas and liver were isolated and stored in formalin for histological and immunohistochemical analysis. Treatments with ASE and MET were able to reduce body weight, adiposity index, dyslipidemia, glycemia, leptin and ALT in plasma, in addition to reducing insulin immunostaining in islets. The treatments were also effective in reducing pancreatic and hepatic steatosis and increasing hepatic glycogen stores. However, our data were inconclusive regarding GLP-1 dosage. The ASE showed results in some of these points that were even more promising than metformin used for positive control, such as weight reduction, total cholesterol, glycemic control, hepatic glycogen metabolism, and also fat deposition in the pancreas and in the liver. Together, these results suggest a promising therapeutic potential of ASE in obesity control, demonstrating hypolipidemic, hypoglycemic and antidiabetic effects, also suggesting that ASE may be an important tool for the treatment of pancreatic and hepatic steatosis present in this model.

Keywords: Obesity. Polyphenols. *Euterpe oleracea* Mart. Metformin.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Dados da obesidade no Brasil.....	16
Figura 2 –	Ilhotas pancreáticas de camundongos em microscopia.....	20
Figura 3 –	Anatomia microscópica de humanos e camundongos.....	21
Figura 4 –	Vias de sinalização na secreção de insulina estimulada por glicose.....	22
Figura 5 –	Hormônios no controle da secreção de insulina.....	24
Figura 6 –	Diagrama simplificado de sinalização de insulina.....	26
Figura 7 –	Quadro resumo das alterações metabólicas na obesidade.....	29
Figura 8 –	Camundongo C57BL/6.....	30
Figura 9 –	Efeitos comprovados da metformina em alguns tecidos.....	32
Figura 10 –	Imagens ilustrativas do fruto do açaí.....	35
Figura 11 –	Imagens ilustrativas do caroço do açaí.....	35
Figura 12 –	Ilustração resumida do protocolo para a obtenção do ASE.....	39
Figura 13 –	Divisão dos grupos experimentais.....	41
Figura 14 –	Fases das dietas e tratamentos.....	42
Figura 15 –	Peso médio ao longo do tempo (A), índice de adiposidade (B) e ingestão calórica média (C) dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	50
Figura 16 –	Teste oral de tolerância à glicose (A) e área sob a curva do TOTG (B) dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	51
Figura 17 –	Dosagem de alanina aminotransferase (ALT) dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	53
Figura 18 –	Dosagem de glicogênio hepático dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	54
Figura 19 –	Gráfico quantitativo de esteatose pancreática(A) e imagens ilustrativas de esteatose pancreática(B) dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	55
Figura 20 –	Gráfico quantitativo de esteatose hepática(A) e imagens ilustrativas de esteatose hepática (B) dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	55
Figura 21 –	Gráficos quantitativos de imunomarcção de insulina (A) no tecido pancreático e imagens ilustrativas da imunomarcção dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	56



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação de IMC para adultos.....	14
Tabela 2 –	Composição das dietas.....	42
Tabela 3 –	Níveis glicêmicos inicial, pré-tratamento e final dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	51
Tabela 4 –	Níveis plasmáticos de Leptina e GLP-1 dos grupos C, HF, HFA e HFM....	52
Tabela 5 -	Níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos dos grupos C, HF, HFA e HFM.....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Difosfato de adenosina
AG	Ácidos graxos
AGL	Ácidos graxos livres
AKT	Proteína quinase B
ALT	Alanina aminotransferase
AMP	Monofosfato de adenosina
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
ANOVA	One way analysis of variance
ASE	<i>Açaí seed extract</i>
ATP	Trifosfato de adenosina
AUC	Área sob a curva
C	Controle
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CEMIB	Centro Multidisciplinar para Investigação
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
CT	Colesterol total
DAB	Diaminobenzidina
DCNTs	Doenças crônicas não transmissíveis
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EROS	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GCGR	Receptor de glucagon
GIH	Gordura intra-hepática
GIP	Polipeptídeo insulínico dependente de glicose
GIPR	Receptor de polipeptídeo inibitório gástrico
GK	Glucocinase
GLP1	Peptídeo semelhante ao glucagon 1

GLP1R	Receptor de GLP1
GLUT	Transportador de glicose
HF	<i>High fat</i>
HFA	<i>High fat</i> ASE
HFM	<i>High fat</i> metformina
IKK	I $\kappa$ B quinase
IMC	Índice de massa corporal
IR	Receptor de insulina
IRS1	Substrato 1 do receptor de insulina
KATP	Canais de potássio sensíveis ao ATP
MET	Metformina
NEP	Endoproteolítica pela neutral endopeptidase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino
PKC	Proteína quinase C
PI3K	Fosfoinosítídeo 3-quinase
PIP	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
RI	Resistência à insulina
RPM	Rotação por minuto
SOP	Síndrome dos ovários policísticos
TAG	Triglicerídeos
TOTG	Teste oral de tolerância a glicose

## LISTA DE SÍMBOLOS

Kg	Kilo
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
%	Percentual
β	Beta
α	Alfa
δ	Delta
γ	Gama
ε	Épsilon
Ca	Cálcio
pH	Potencial hidrogeniônico
g	Gramma
mL	Mililitro
°C	Graus Celsius
Kcal	Caloria
Mg	Miligramma
Kg	Kilogramma
Mol	Massa molecular
L	Litro
M	Molaridade
dL	Dicilitro
pg	Petagramma
pmol	Picomolar
μL	Microlitros
μg	Microgrammas
Na	Sódio
O	Oxigênio
H	Hidrogênio
P	Fósforo
Mm	Micrômetro
JPG	Formato de arquivo de imagem

x	Multiplicação
K	Potássio
Cl	Cloro
±	Mais ou menos
<	Menor
=	Igual
*	Asterísco
+	Mais
#	Cerquilha

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1	<b>OBESIDADE E RESISTÊNCIA À INSULINA (RI)</b> .....	18
1.1	<b>Sinalização da insulina e fisiopatologia da RI</b> .....	25
1.2	<b>Modelo experimental de obesidade</b> .....	29
1.3	<b>Metformina</b> .....	31
1.4	<b>Polifenóis</b> .....	33
1.4.1	<u>Extrato hidroalcolólico do caroço do açaí (ASE)</u> .....	34
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	38
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	38
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	38
3	<b>METODOLOGIA</b> .....	39
3.1	<b>Obtenção do ASE</b> .....	39
3.2	<b>Diluição do fármaco Metformina</b> .....	40
3.3	<b>Animais Experimentais</b> .....	40
3.4	<b>Dietas Experimentais</b> .....	42
3.5	<b>Ingestão alimentar</b> .....	43
3.6	<b>Peso corporal</b> .....	43
3.7	<b>Eutanásia e remoção de tecidos</b> .....	43
3.8	<b>Índice de adiposidade</b> .....	44
3.9	<b>Análises bioquímicas</b> .....	44
3.9.1	<u>Glicemia</u> .....	44
3.9.2	<u>Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)</u> .....	44
3.9.3	<u>Leptina e GLP-1 plasmáticos</u> .....	45
3.9.4	<u>Perfil lipídico e ALT</u> .....	45
3.9.5	<u>Glicogênio hepático</u> .....	45
3.10	<b>Análise histológica</b> .....	46
3.11	<b>Imunohistoquímica de pâncreas</b> .....	47
3.12	<b>Análise estatística</b> .....	47
4	<b>RESULTADOS</b> .....	49

4.1	<b>Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre o peso corporal, o índice de adiposidade e a ingestão alimentar.....</b>	49
4.2	<b>Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre as análises bioquímicas.....</b>	50
4.2.1	<u>Homeostase glicêmica.....</u>	50
4.2.2	<u>Leptina e GLP-1.....</u>	52
4.2.3	<u>Colesterol Total e TAG.....</u>	52
4.2.4	<u>Alanina aminotransferase (ALT).....</u>	53
4.3	<b>Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre o glicogênio hepático.....</b>	54
4.4	<b>Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre a esteatose pancreática e hepática.....</b>	54
4.5	<b>Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre a expressão de proteínas como insulina no pâncreas.....</b>	56
5	<b>DISCUSSÃO .....</b>	57
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	63
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	64

## INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2021), o sobrepeso e a obesidade são definidos como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode ser prejudicial à saúde. No entanto, nem sempre a obesidade foi vista como cenário de risco.

A escassez de comida ao longo da maior parte da história levou à crença de que a corpulência e o sobrepeso eram sinônimos de riqueza, fartura, poder e influência. Também associada ao caráter e personalidade do indivíduo alegre e de boa índole, era o padrão corpóreo desejado pela sociedade e aceito como saudável pela opinião médica da época. Padrão esse refletido nas figuras corpóreas dos barões industriais e nas mulheres retratadas nas artes e na literatura (Eknoyan, 2006; Houkamau *et al.* 2021).

Apenas na segunda metade do século XIX a gordura começou a ser estigmatizada por razões estéticas (Eknoyan, 2006) e, no século XX, sua associação com o aumento da mortalidade foi reconhecida (Guerrini, 2001).

Atualmente, já se sabe que a obesidade é uma doença caracterizada por um estado de inflamação crônico e de baixo grau que prejudica as funções fisiológicas do organismo favorecendo o desenvolvimento de outras doenças (Brasil, 2022).

A medida utilizada como parâmetro para diagnóstico é o índice de massa corporal (IMC) que é o resultado do peso do indivíduo sobre o quadrado de sua altura ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ). O IMC fornece a medida mais útil e prática de sobrepeso e obesidade na população pois é o mesmo para ambos os sexos e para adultos de todas as idades. Dentre suas limitações, está o fato de não avaliar a composição corporal como um todo, classificando diferentes pessoas pelos mesmos parâmetros, devendo então ser considerado como um valor aproximado (WHO, 2021). Como diagnóstico, se o IMC for igual ou superior a  $25 \text{ Kg}/\text{m}^2$  retrata quadro de sobrepeso e acima de  $30 \text{ Kg}/\text{m}^2$ , retrata quadro de obesidade. A tabela a seguir demonstra os valores citados.

Tabela 1- Classificação de IMC para adultos (continua)

IMC ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ )	CLASSIFICAÇÃO
Menos do que 18,5	Abaixo do peso
Entre 18,5 e 24,9	Peso normal
Entre 25 e 29,9	Sobrepeso
Entre 30 e 34,9	Obesidade Grau I
Entre 35 e 39,9	Obesidade Grau II
Mais do que 40	Obesidade Grau III

Fonte: WHO, 2000.



Ainda que com suas limitações pra avaliação corporal, dados demonstram que o risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis cresce com o aumento das taxas de IMC (WHO, 2021) como diabetes, doenças cardiovasculares e distúrbios musculoesqueléticos, resultando em diminuição considerável da qualidade e expectativa de vida (Lin *and* Li, 2021).

Segundo os últimos dados apresentados pela OMS (WHO, 2021) a obesidade mundial quase triplicou desde 1975 e tem se mostrado um importante e crescente problema de saúde pública em todo o mundo. Até 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos, com 18 anos ou mais, estavam acima do peso sendo mais de 650 milhões, obesos. Esses números equivalem a 39% da população adulta acima do peso e 13% com quadro de obesidade. Além disso, 41 milhões de crianças com menos de 5 anos e mais de 340 milhões de crianças e adolescentes entre 5 a 19 anos estavam acima do peso ou obesas.

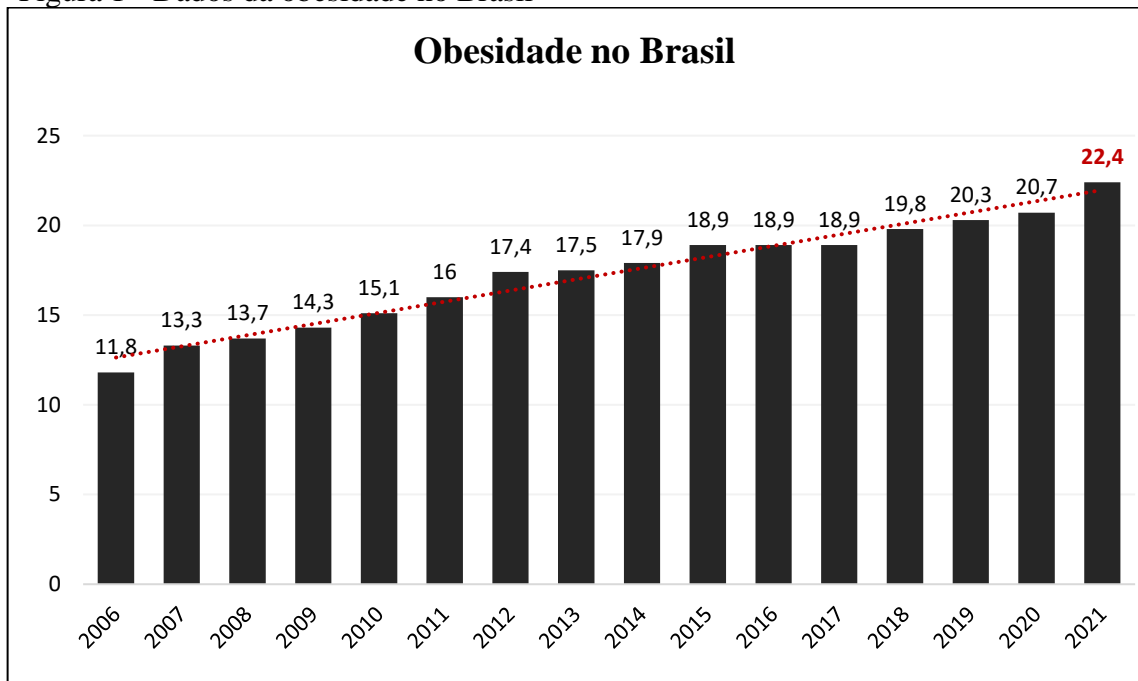
A crença de que a obesidade é resultado de desleixo pessoal, embora amplamente aceita pela sociedade, é insatisfatória (Friedman, 2004; Harvey, 2022). Ainda, segundo a OMS (WHO, 2021), a causa fundamental do sobrepeso e da obesidade é “um desequilíbrio energético entre as calorias consumidas e gastas”, no entanto, já se sabe que sua etiologia é complexa e multifatorial. Suas principais causas identificadas até o momento, além das citadas anteriormente, são predisposição genética, fatores emocionais, ambientais, sociais, econômicos, tratamentos farmacológicos (Friedman, 2004; Lin *and* Li, 2021) e, também, endocrinopatias como síndrome hipotalâmica, síndrome de Cushing, hipotireoidismo, entre outras (Brasil, 2022).

A indústria alimentícia global, nacional e local, embora alimente a população mundial, tem grande impacto no aumento da obesidade pois estimula a supernutrição em parte responsável pelo o ganho de peso populacional. Além disso, os alimentos ultraprocessados de baixo custo, em maioria, apresentam um alto valor calórico e péssima qualidade nutricional. Esses produtos alimentícios tem sido a principal fonte alimentar de populações subdesenvolvidas. Dados demonstram que, enquanto 1,9 bilhão de adultos estão com sobrepeso e obesidade, 462 milhões de pessoas no mundo estão abaixo do peso, sendo comum encontrar desnutrição e obesidade coexistindo no mesmo país (WHO, 2022). Ou seja, mesmo com variabilidade de ganho de peso relacionada às interações entre os fatores ambientais, individuais e composição genética, a epidemia apresenta padrões previsíveis nas subpopulações e, o que era antes um problema de países de alta renda, agora está drasticamente em ascensão nos países de baixa e média renda (NCD-RisC, 2017; WHO, 2022).

O *World Obesity Atlas* (2022), publicado pela *World Obesity Federation*, prevê que 1 bilhão de pessoas em todo o mundo, incluindo 1 em cada 5 mulheres e 1 em cada 7 homens, viverão com obesidade até 2030. As descobertas destacam que os países não apenas perderão a meta da OMS para 2025 de interromper o aumento da obesidade, mas que o número de pessoas com a doença está prestes a dobrar em todo o mundo.

O cenário brasileiro não é diferente. A última Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel, 2022) divulgada pelo Ministério da Saúde informou que a taxa de obesidade no país passou de 11,8% para 22,4% entre 2006 e 2021, um crescimento alarmante de 90,7% nesses últimos anos. Quanto ao sobrepeso, as pesquisas concluíram que mais da metade da população brasileira (57,2%) se encontra nessa condição enquanto que, em 2006, esse percentual era de 42,6%. O gráfico a seguir demonstra esses valores (Figura 1):

Figura 1 - Dados da obesidade no Brasil



Fonte: Adaptado de Vigitel, 2022.

Dados da literatura também demonstram que as doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) comumente associadas à obesidade matam 41 milhões de pessoas a cada ano, o equivalente a 71% de todas as mortes no mundo. As doenças cardiovasculares são responsáveis pela maioria das mortes (17,9 milhões de pessoas anualmente), seguidas por câncer (9,3 milhões), doenças respiratórias (4,1 milhões) e diabetes (1,5 milhão). Esses quatro grupos de

doenças são responsáveis por mais de 80% de todas as mortes prematuras por DCNTs (WHO, 2022).

Mundialmente, o sobrepeso e a obesidade estão associados a mais mortes do que o baixo peso. A OMS (WHO, 2021) já reconhece que é um dos mais graves problemas de saúde pública atualmente e, ao contrário de outras causas principais de morte e incapacidade evitáveis, como uso de tabaco, ferimentos e doenças infecciosas, não há populações modelos em que a epidemia de obesidade tenha sido revertida por medidas governamentais (Swinburn *et al.* 2011; Russell *et al.* 2022) destacando a urgente necessidade de estratégias e políticas eficazes para conter o avanço trágico dessa epidemia.

## 1 OBESIDADE E RESISTÊNCIA À INSULINA (RI)

A obesidade é um importante fator de risco para alterações metabólicas como a resistência à insulina (RI) (WHO, 2021) e os mecanismos exatos pelos quais a obesidade induz a essa alteração ainda precisam ser elucidados. Até o momento, alguns fatores têm demonstrado um papel significativo no desenvolvimento desse processo patológico envolvendo tanto mecanismos celulares autônomos quanto comunicações entre órgãos (Bellou *et al.* 2018).

Embora causas genéticas também sejam identificadas, a resistência insulínica é uma alteração metabólica diretamente relacionada ao excesso de gordura corporal distribuídos predominantemente na região abdominal (Hossan *et al.* 2019). Sabe-se que a adiposidade está intimamente relacionada ao glicometabolismo uma vez que o acúmulo de gordura pode afetar os efeitos da insulina através de uma variedade de mecanismos. Esses fatos sugerem uma correlação positiva entre a distribuição do tecido adiposo e o comprometimento do controle glicêmico. Estudos tem demonstrado um efeito causal significativo da obesidade na RI em indivíduos não diabéticos visto que a disfunção das células  $\beta$  pancreáticas e a resistência à insulina em vários órgãos (como fígado e músculo) podem ser causadas pelo excesso de adiposidade (Leitner *et al.*, 2017; Klein *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022).

A consequência predominante da RI é o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Henstridge *et al.* 2019), considerado um dos distúrbios metabólicos mais comuns em todo o mundo. Existem três condições de RI ou deficiência de insulina: (1) secreção disfuncional desse hormônio pelas células  $\beta$  pancreáticas; (2) antagonistas da insulina presentes no plasma devido a hormônios contrarreguladores ou corpos não hormonais que prejudicam os receptores ou a sinalização da insulina; e (3) resposta de insulina prejudicada nos tecidos-alvo (Pearson *et al.* 2016; Stahl *et al.* 2019).

Os órgãos envolvidos no desenvolvimento de RI e, possivelmente, de DM2 incluem o pâncreas, fígado, músculo esquelético, rins, cérebro, intestino delgado e tecido adiposo (Schwartz *et al.* 2016) e os três principais locais de RI são no músculo, fígado e tecido adiposo (Stahl *et al.* 2019). A diminuição da resposta metabólica das células desses tecidos responsivos à insulina, em nível sistêmico, gera uma resposta ineficiente no controle dos níveis glicêmicos no sangue (Blachier *and* Malaisse, 1988; Czech, 2017; Roden *and* Shulman, 2019).

As células  $\beta$  pancreáticas são responsáveis pela produção de insulina (Bunney *et al.* 2017). A liberação desse hormônio é desencadeada, principalmente, por uma resposta a altas concentrações de glicose no sangue. Outros fatores também são capazes de induzir a liberação

de insulina, como alguns aminoácidos, ácidos graxos (AG) e hormônios (Boland *et al.* 2017; Henstridge *et al.* 2019).

Quando os níveis de glicose circulante aumentam, as células  $\beta$  absorvem glicose através de uma proteína transportadora de glicose denominada GLUT1 e GLUT2 em humanos e roedores, respectivamente (Dolenšek *et al.* 2015), que age como um sensor para essas células. Uma vez que a glicose é interiorizada, o catabolismo glicêmico é ativado através de uma série de reações que desencadeiam a exocitose de insulina no sangue (Blachier *and* Malaisse, 1988; Campbell *and* Newgard, 2021).

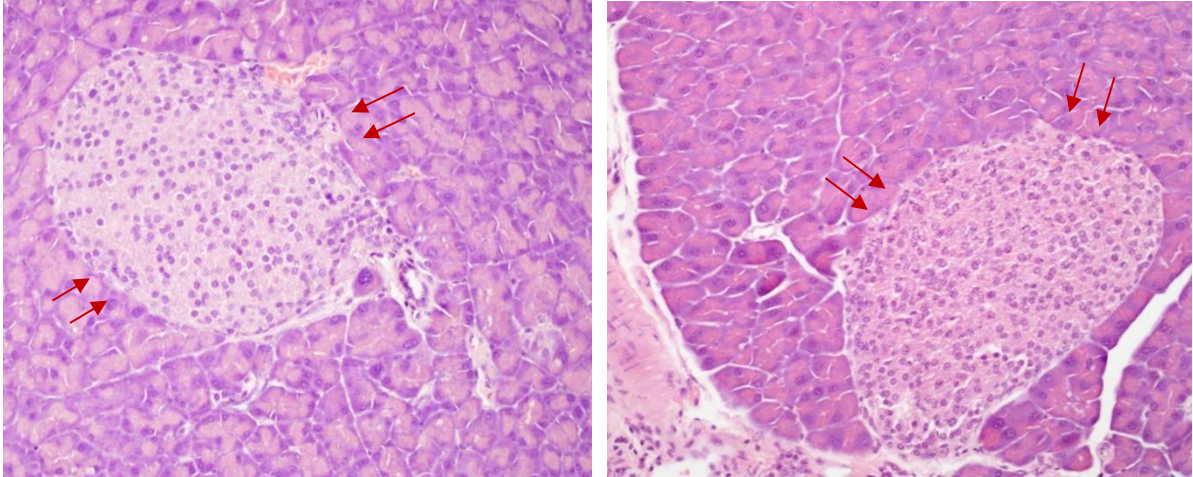
Outros sinais celulares também podem auxiliar ou aumentar a liberação de insulina das células  $\beta$ . Evidências sugerem que o AMP cíclico (AMPC) é um importante potencializador por induzir a mobilização de vesículas secretoras desse hormônio (Cuññas *et al.* 2016).

Associado a isso, existe a ação do glucagon, hormônio hiperglicemiante secretado pelas células  $\alpha$  das ilhotas pancreáticas. Durante o jejum, a resposta insulínica é contra regulada pelo glucagon para prevenir a hipoglicemia induzida pela insulina que, após as refeições, promove a síntese de glicogênio a partir da glicose que entra no fígado (Schwartz *et al.* 2016).

Entre as refeições, quando a concentração de glicose decai na corrente sanguínea, o glucagon estimula o fígado, seu principal órgão de atuação, a degradar o glicogênio hepático - sintetizado anteriormente pela ação da insulina - e converter outros substratos não glicídicos em glicose para a sua liberação na corrente sanguínea (Halban *et al.* 2014; Khin *et al.* 2021).

As ilhotas pancreáticas de Langerhans (Figura 2), descobertas em 1869 por Paul Langerhans, estudante de medicina (Sakula, 1988) abrigam sua própria vasculatura e compreendem aproximadamente 2.000 células produtoras de hormônios endócrinos que abrangem cinco tipos. Essas células podem ser diferenciadas por seus produtos hormonais endócrinos primários: células  $\alpha$  (glucagon), células  $\beta$  (insulina e amilina), citadas anteriormente, células  $\delta$  (somatostatina), células  $\gamma$  e células  $\epsilon$  (grelina) (Saito K, 1978; Dolenšek *et al.* 2015).

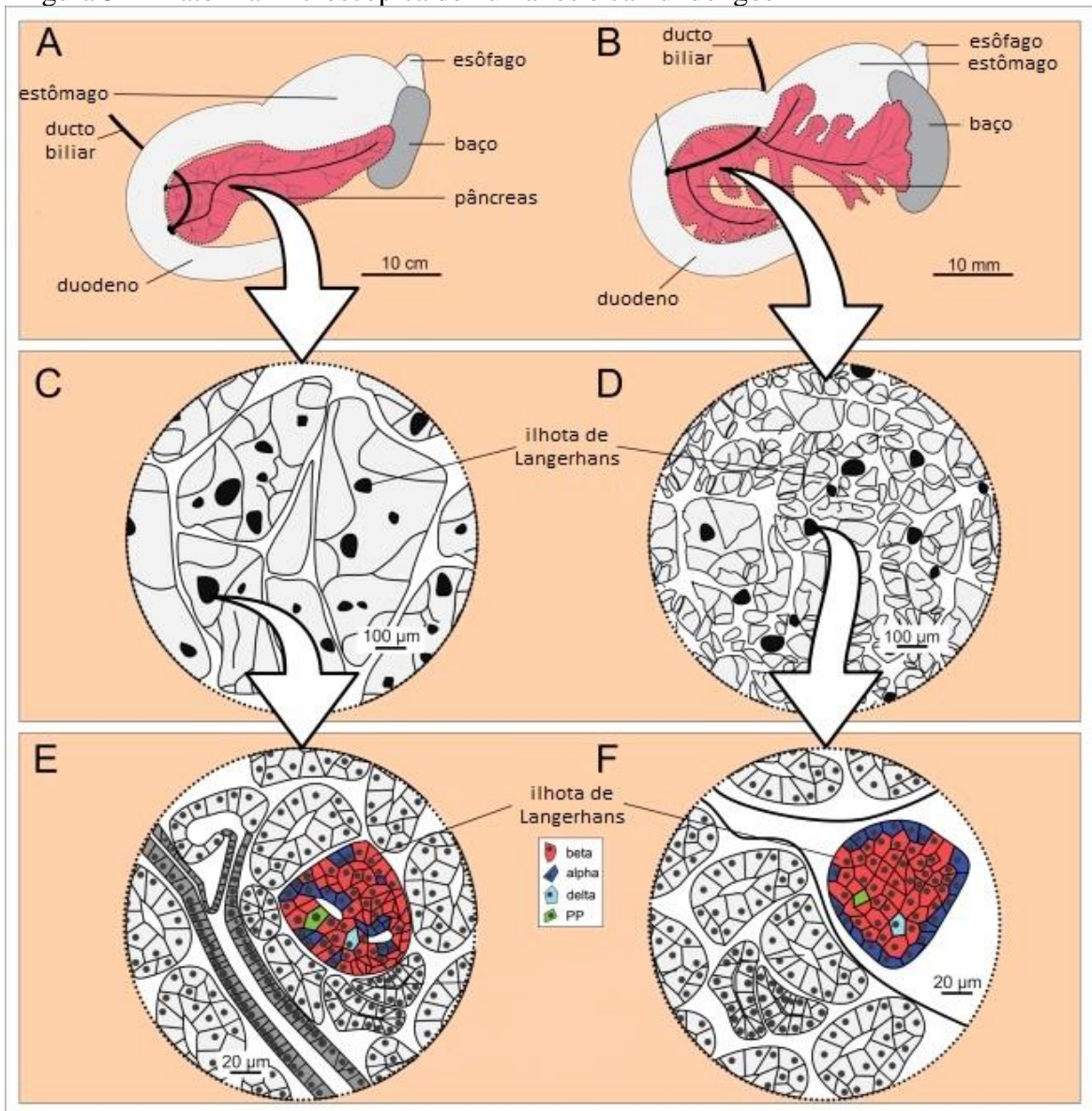
Figura 2 - Ilhotas pancreáticas de camundongos em microscopia



Nota: As setas em vermelho destacam as ilhotas presentes nas imagens.  
Fonte: O autor, 2022.

A Figura 3 diferencia a composição celular de ilhotas entre roedores e humanos. As ilhotas de roedores são compostas de 10 a 20% de células  $\alpha$ , encontradas predominantemente no manto externo, e 65 a 80% de células  $\beta$  que compõem seu núcleo interno. As células  $\delta$ , as células  $\gamma$  (também conhecidas como células de polipeptídeo pancreático) e as células  $\epsilon$  são encontradas espalhadas pela ilhota. As ilhotas humanas contêm uma porcentagem maior de células  $\alpha$ , que são encontradas em toda a ilhota, e uma porcentagem ligeiramente menor de células  $\beta$  quando comparada aos roedores (Dolenšek *et al.* 2015; Campbell *and* Newgard, 2021).

Figura 3 - Anatomia microscópica de humanos e camundongos



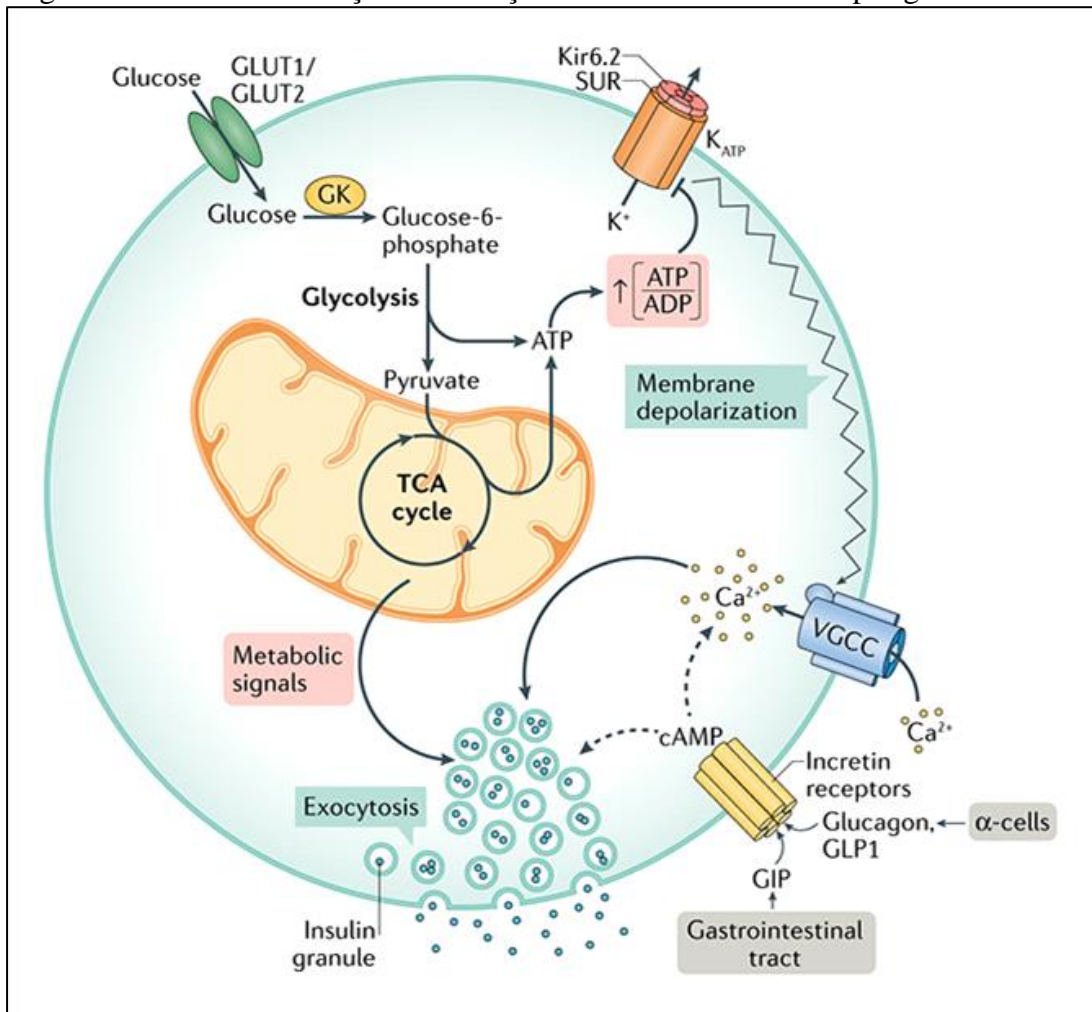
Legenda: Anatomia macroscópica do pâncreas humano (A, C e E) e do camundongo (B, D e F).  
 Fonte: Adaptado de Dolenšek *et al.* 2015.

A Figura 3 acima ilustra a anatomia macroscópica do pâncreas humano e do camundongo, respectivamente (A e B). A ampliação de uma porção do pâncreas revela lóbulos maiores em humanos quando comparados a camundongos, no entanto, as ilhotas de Langerhans são de tamanhos bastante comparáveis entre humanos e camundongos (C e D). A composição celular e a localização dessas ilhotas no tecido pancreático são diferentes nas duas espécies. É possível observar que as células endócrinas se encontram mais dispersas em humanos (E) diferente de como são distribuídas em camundongos (F).

Os hormônios produzidos pelas ilhotas de Langerhans têm papel importante na regulação da homeostase do combustível metabólico, com ênfase para a relação

insulina/glucagon que determina o grau relativo de fosforilação de enzimas atuantes nas vias de sinalização regulatórias (Schwartz *et al.* 2016; Wewer Albrechtsen *et al.* 2019). A secreção desses hormônios pelas células  $\beta$  e  $\alpha$  pancreáticas, respectivamente, é controlada por mecanismos reguladores metabólicos, endócrinos e parácrinos e é essencial para o controle dos níveis sanguíneos de glicose (Campbell *and* Newgard, 2021). A Figura 4 a seguir ilustra alguns desses mecanismos importantes:

Figura 4 - Vias de sinalização na secreção de insulina estimulada por glicose



Nota: A secreção de insulina estimulada por glicose é mediada por uma via de ativação (setas sólidas) e vias de amplificação (setas tracejadas).

Fonte: Campbell *and* Newgard, 2021.

A exposição da célula  $\beta$  à glicose tem um efeito intrínseco de ativação na secreção de insulina que envolve uma via de “ativação” e uma via “amplificadora” (Henquin, 2009; Merrins *et al.* 2022). A captação de glicose nas células  $\beta$  ocorre via transportadores GLUT1 (humano) ou GLUT2 (roedores). Uma vez interiorizada, a taxa de metabolismo da glicose nas células  $\beta$  é controlada pela glucoquinase (GK), enzima que determina a entrada do substrato na via



glicolítica seguida de sua oxidação através do ciclo de Krebs e subsequente geração de ATP (Figura 4) (Gaisano, 2017; Tuluc *et al.* 2021).

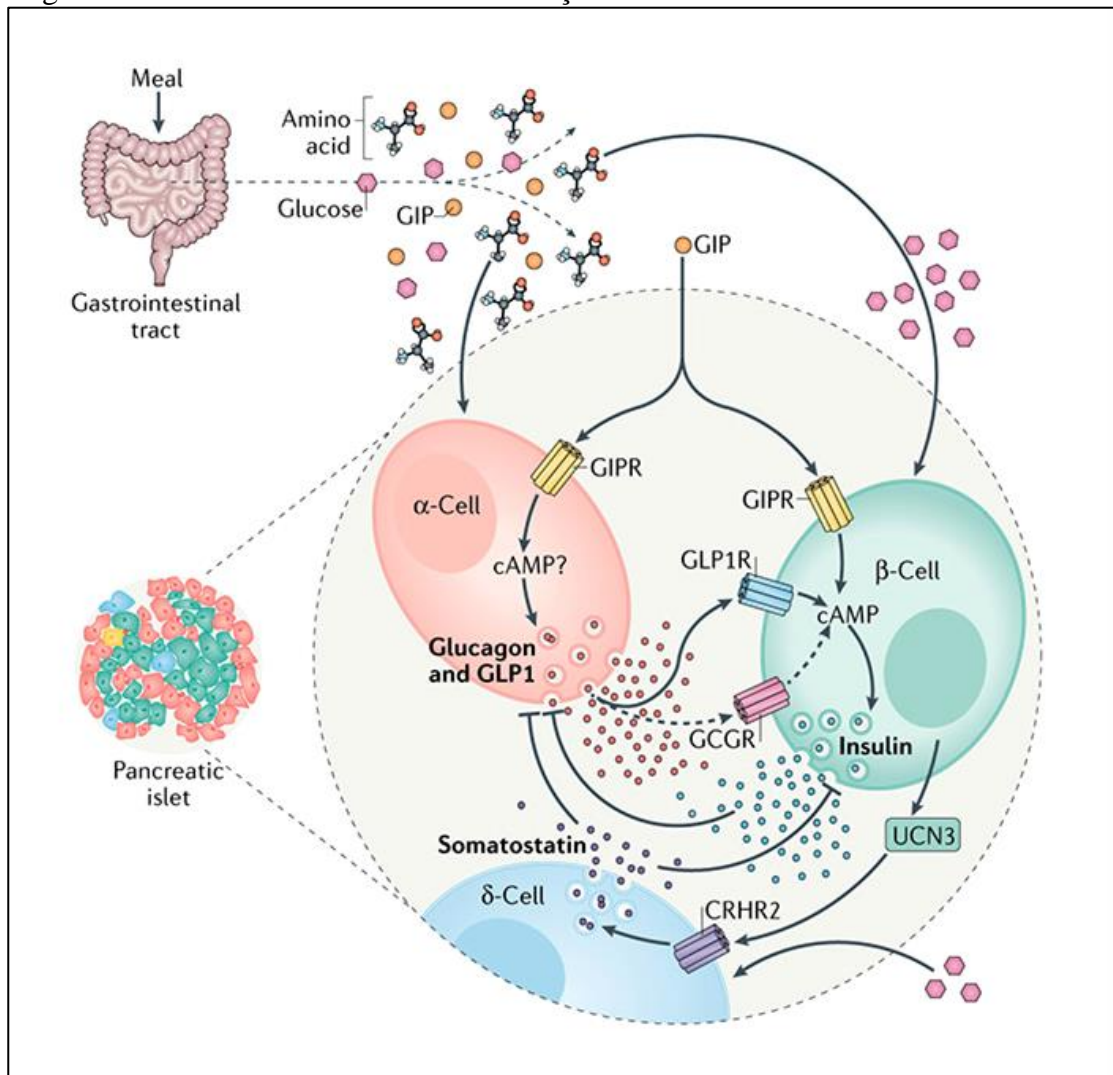
O resultado dessas reações causa elevação na relação ATP/ADP que leva ao fechamento dos canais de potássio sensíveis ao ATP (KATP) despolarizando a membrana e, conseqüentemente, ativando os canais de  $\text{Ca}^{2+}$  dependentes de voltagem. O aumento resultante do cálcio intracelular conduz a fase que desencadeia na exocitose dos grânulos de insulina (Figura 4). As vias de amplificação dependem dessa despolarização da membrana iniciada pela via de ativação. Múltiplos mecanismos de sinalização metabólica contribuem para essa amplificação da secreção de insulina (Gaisano, 2017; Merrins *et al.* 2022; Jevon, *et al.* 2022).

A via de ativação é a principal responsável pela "primeira fase" da liberação de insulina, envolvendo um pico acentuado na secreção seguido por um declínio que ocorre nos primeiros 10 a 20 minutos após um estímulo de glicose. A via de amplificação envolve um conjunto secundário de estímulos que permitem que a secreção desse hormônio continue a uma taxa mais baixa, porém sustentada, durante toda a fase pós-absortiva de uma refeição, abrangendo várias horas - um período também chamado de "segunda fase" de secreção hormonal (Gaisano, 2017; Tuluc *et al.* 2021).

A via de amplificação/independente do canal KATP está ativa durante todo o período de estimulação da glicose, que no estado pós-prandial pode envolver aumentos na glicose circulante por várias horas e estima-se que seja responsável por até 60-70% da insulina secretada na resposta à estimulação sustentada de glicose (Henquin, 2009; Corkey *et al.* 2021).

Além dos múltiplos mecanismos de sinalização metabólica descritos acima e demonstrados na Figura 4, a secreção de insulina das células  $\beta$  das ilhotas é fortemente regulada por sinais parácrinos de outras células endócrinas das ilhotas, especialmente células  $\alpha$  e  $\delta$  como demonstrado na Figura 5 a seguir (Campbell *and* Newgard, 2021; Merrins *et al.* 2022):

Figura 5 - Hormônios no controle da secreção de insulina



Fonte: Campbell *and* Newgard, 2021.

Em resumo, a ingestão de nutrientes aumenta as concentrações circulantes de glicose, aminoácidos e de hormônios incretínicos produzidos pelo trato gastrointestinal: polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP1). O agonismo do receptor GIP (GIPR) ou do receptor GLP1 (GLP1R) potencializa a secreção de insulina estimulada por glicose através de um mecanismo dependente de AMPc (Capozzi *et al.* 2019; Finan *et al.* 2020). O GIP também potencializa a secreção de glucagon estimulada por aminoácidos nas células  $\alpha$ , que ocorre através de mecanismos ainda indefinidos (Figura 6).

A secreção de glucagon geralmente se opõe à ação da insulina e a insulina regula negativamente a secreção de glucagon. No entanto, agora há evidências de que a atividade endócrina das células  $\alpha$  também é importante para regular a secreção de insulina estimulada pela glicose nas células  $\beta$  (Finan *et al.* 2020; Laurenti *et al.* 2022).

Juntamente com o glucagon, as células  $\alpha$  também produzem GLP1 através do processamento alternativo do precursor do peptídeo pró glucagon, e ambos os hormônios aumentam o nível de AMPc nas células  $\beta$  para regular a secreção de insulina em resposta a uma refeição (Capozzi *et al.* 2019). Isso é principalmente mediado pela ligação desses hormônios ao GLP1R e, em menor grau (setas tracejadas) ao receptor de glucagon (GCGR) (Figura 5). Assim, a ação do GIP para estimular a secreção de insulina inclui tanto efeitos diretos nas células  $\beta$  quanto ações indiretas nas células  $\alpha$ , mediadas pelos efeitos estimuladores parácrinos dos peptídeos derivados do pró glucagon (Wewer Albrechtsen *et al.* 2019; Laurenti *et al.* 2022).

O adequado funcionamento dessas vias de sinalização possibilita que a secreção de insulina seja suficiente para promover a homeostase glicêmica no estado pós-prandial, reduzindo assim, os níveis de glicose sanguínea que foram inicialmente responsáveis pelo estímulo da produção e liberação desses hormônios citados anteriormente (Finan *et al.* 2020; Campbell and Newgard, 2021)

### 1.1 Sinalização da insulina e fisiopatologia da RI

Em comparação com pessoas saudáveis, as pessoas com obesidade têm concentrações plasmáticas de insulina basais e pós-prandiais aumentadas. O pensamento predominante é que o aumento dessa insulina plasmática é uma resposta compensatória à resistência à insulina associada à doença (Saadeh *et al.* 2012; Brown and Matveyenko, 2022).

Coletivamente, os dados da literatura sugerem que a depuração da insulina plasmática é reduzida em pessoas nessas condições por uma resistência à insulina porque tanto a ação desse hormônio quanto a sua depuração requer a ligação da insulina em receptores presentes nesses tecidos alvo que, no longo prazo e por excesso de estímulo, passam a apresentar falha em sua ativação. Associado a isso, existe ainda um aumento acentuado na entrega de insulina pelo pâncreas como mecanismo compensatório à hiperglicemia persistente, aumentando ainda mais a concentração plasmática de insulina perpetuando assim a hiperinsulinemia característica da obesidade e da RI (Hu *et al.* 2020; Wen *et al.* 2022).

Em relação à fisiopatologia da doença, a disfunção das células  $\beta$  tem sido tradicionalmente associada à sua falência (Halban *et al.* 2014; Hu *et al.* 2020). Em um estado nutricional excessivo, comum na obesidade, a hiperglicemia e a hiperlipidemia estão frequentemente presentes, favorecendo a RI e a inflamação crônica. Nestas circunstâncias, as

células  $\beta$  estão sujeitas a pressões tóxicas, incluindo inflamação, estresse metabólico/oxidativo, estresse do retículo endoplasmático, estresse amiloide, entre outros. Um cenário que potencializa o comprometimento da integridade das ilhotas e, com isso, sua funcionalidade (Christensen *and* Gannon, 2019).

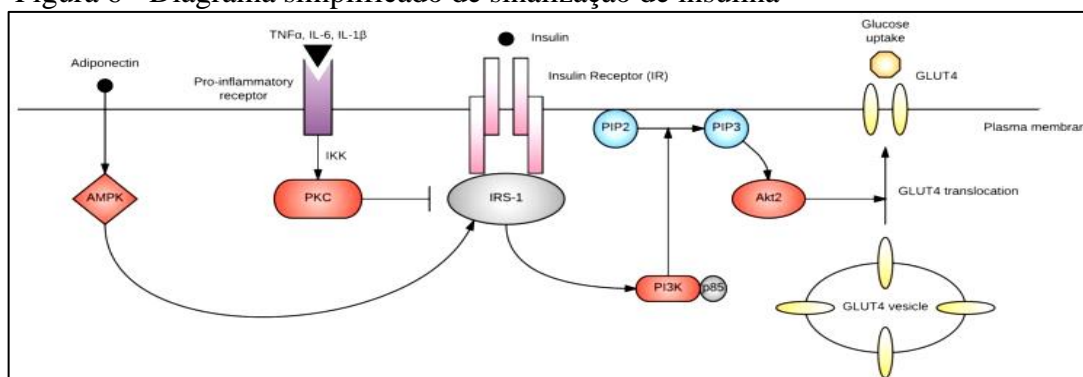
Um mau funcionamento dos circuitos de feedback entre a ação da insulina e sua secreção, resulta em níveis anormalmente elevados de glicose no sangue (Stumvoll *et al.* 2005; Brown *and* Matveyenko, 2022). Por outro lado, a RI contribui para o aumento da produção de glicose no fígado e diminuição da captação de glicose no músculo, fígado e tecido adiposo (Halban *et al.* 2014).

Mesmo que ambos os processos ocorram no início da patogênese e contribuam para o desenvolvimento da doença, a disfunção das células  $\beta$  geralmente é mais grave do que a RI. No entanto, quando ambos estão presentes, a hiperglicemia é amplificada levando à progressão do DM2 (Czech, 2017; Wen *et al.* 2022).

Estudos sugerem que a RI começa no tecido muscular com alteração inflamatória imunomediada e excesso de ácidos graxos livres (AGL) circulantes causando deposição ectópica de lipídios seguindo um ciclo que perpetua o agravo da doença (Stahl *et al.* 2019).

A RI do músculo esquelético é considerada o fator extra pancreático mais importante na progressão da doença (Petersen *and* Shulman, 2002; Hu *et al.* 2020). Sob condições fisiológicas, a insulina estimula a síntese de glicogênio muscular aumentando a captação de glicose do plasma. Após a ligação da insulina ao seu receptor nas células musculares, o GLUT4 é translocado dos compartimentos intracelulares para a membrana plasmática. Este processo possibilita a captação de glicose sanguínea reduzindo seus níveis circulantes no plasma (Sato, 2014; Corkey *et al.* 2021). A Figura 6 a seguir é capaz de ilustrar resumidamente essas reações:

Figura 6 - Diagrama simplificado de sinalização de insulina



Nota: Receptor de insulina (IR); Substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1); Substrato 1 do receptor de insulina (AMPK); Proteína quinase C (PKC); I $\kappa$ B quinase (IKK); Fosfoinosítideo 3-quinase (PI3K); Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP); Proteína quinase B (AKT); Transportador de glicose 4 (GLUT 4).  
Fonte: Plows *et al.* 2018.

Resumidamente, o diagrama acima (Figura 6) ilustra parte da cascata de sinalização ativada pela ligação da insulina ao receptor de insulina (IR) ativando seu substrato IRS-1. A adiponectina também possui a capacidade de ativar esse mesmo IRS-1 através da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), enquanto as citocinas pró-inflamatórias ativam a proteína quinase C (PKC) via I $\kappa$ B quinase (IKK), inibindo o IRS-1. O IRS-1 é fundamental para ativar a PI3K, responsável por fosforilar PIP2 em PIP3 dando sequência à via. A PIP3 ativa a AKT2 que promove a translocação de GLUT4 e, finalmente, a captação de glicose pela célula (Plows *et al.* 2018).

Mutações que reduzem a expressão do receptor de insulina, das proteínas intermediárias ou do GLUT4, bem como qualquer defeito na via de sinalização ou ação da insulina em seu receptor, compromete a captação de glicose pelo músculo, favorecendo um estado hiperglicêmico (Czech, 2017).

A ativação da ação da enzima tirosina quinase IR é essencial para a ação da insulina no metabolismo da glicose. A ligação da insulina à subunidade  $\alpha$  do receptor de insulina causa a fosforilação da subunidade  $\beta$  em vários resíduos de tirosina e permite a sinalização mediada pela insulina. Assim, alterações em qualquer um dos principais locais de fosforilação pode prejudicar a atividade dessa proteína e comprometer a ação da insulina nos tecidos (DeFronzo, 1987; Freeman *and* Pennings, 2021)

O tecido adiposo, outro tecido alvo importante desse hormônio, é metabolicamente dinâmico e capaz de sintetizar uma ampla gama de compostos biologicamente ativos que regulam a homeostase metabólica em nível sistêmico (Czech, 2020). A leptina, hormônio anorexígeno produzido no tecido adiposo, é liberada para circular na proporção da massa de gordura corporal e atua na regulação a longo prazo da ingestão de alimentos. Funcionando como um mecanismo de feedback que tem como alvo o sistema nervoso central, dessa forma a leptina age inibindo a fome, regulando o apetite, o peso corporal e a homeostase energética (Klok *et al.* 2007; Hernández *et al.* 2020; Zhang *et al.* 2022).

Os complexos mecanismos moleculares da resistência à leptina na obesidade não são totalmente compreendidos, mas parecem ser semelhantes à RI (Hernández *et al.* 2020). Várias teorias têm sido propostas para explicar tal condição, como as de que esse estado pode ser atribuído a alterações e falhas na ligação do receptor da leptina ou a uma deficiência em seu sistema de transporte para o hipotálamo ocasionando níveis cronicamente elevados desse hormônio livre e ativo circulante, caracterizando a hiperleptinemia. Essa alteração compromete sua função anorexígena, fazendo com que a fome esteja ainda mais presente em indivíduos com

alto índice de adiposidade prejudicando a regulação do apetite e ainda mais o controle de peso (Russo *et al.* 2021; Yeung *and* Tadi, 2022).

Já a insulina atua no tecido adiposo de duas maneiras diferentes: (1) estimulando a captação de glicose e a síntese de triglicerídeos (TAG); e (2) suprimindo a hidrólise de TAG, induzindo a captação de AGL e glicerol da circulação (Gastaldelli *et al.* 2017; Czech, 2020).

No tecido adiposo saudável, a insulina estimula a captação de glicose e a síntese de TAG, induz a captação de AGL e diminui a inflamação mediada por macrófagos. O tecido adiposo hipertrófico leva à diminuição da captação de glicose e aumenta a liberação de AGL, hipóxia e inflamação (Pearson *et al.* 2016).

A liberação aumentada desses AGL ocasiona seu acúmulo em outros tecidos, como músculo ou fígado, mesmo na presença de altos níveis de insulina (Czech, 2020). No caso do fígado, esse acúmulo acarreta também em prejuízo na sinalização da insulina, promovendo gliconeogênese hepática e agravando ainda mais a hiperglicemia (Rosen *and* Spiegelman, 2006; Corkey *et al.* 2021).

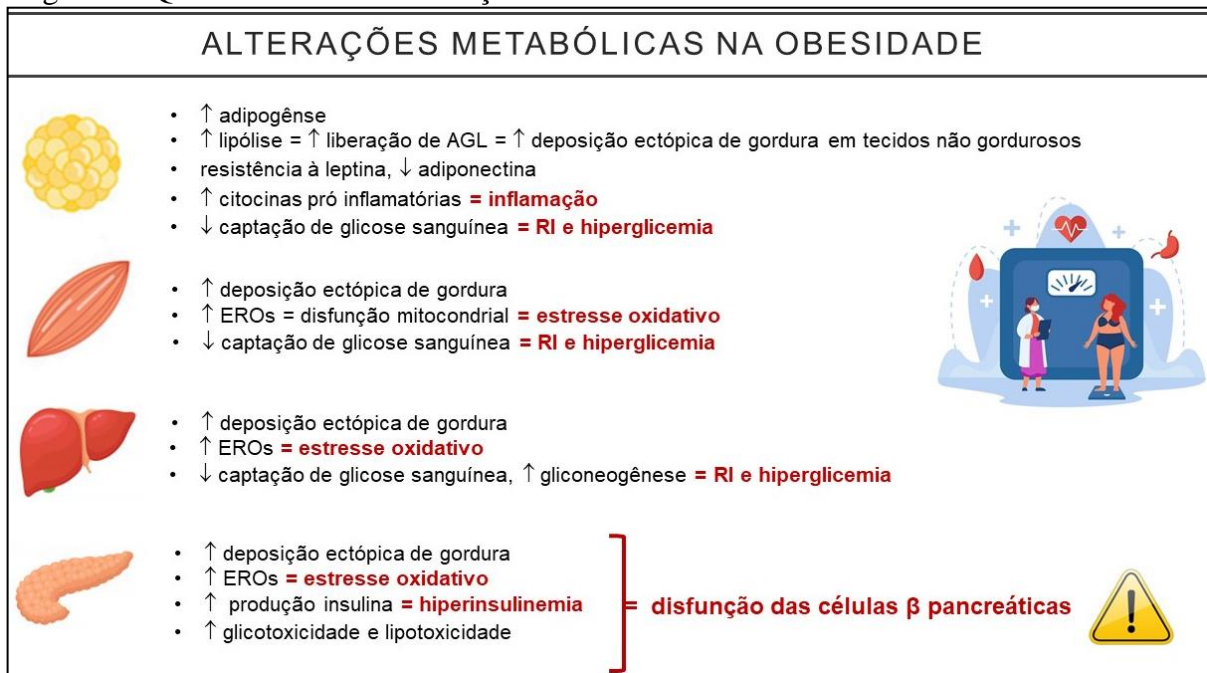
No fígado, a insulina não apenas regula a produção/utilização de glicose, mas também afeta o metabolismo lipídico de forma mais ampla (Leclercq *et al.* 2007).

Em estados fisiológicos, a ação combinada de glucagon e insulina permite a regulação precisa da produção hepática de glicose. Enquanto o glucagon induz a produção de glicose no fígado, a insulina atua como um potente inibidor quando a glicemia no sangue é elevada, ativando vias de glicogênese e armazenando glicose como glicogênio (Cherrington *et al.* 2007; Finan *et al.* 2020).

Semelhante ao caso em tecidos sensíveis à insulina, em estado de RI, os níveis de insulina circulante são incapazes de provocar uma resposta metabólica apropriada nas células hepáticas (Meshkani *and* Adeli, 2009).

Na presença de ingestão calórica, a insulina reduz a produção hepática de glicose por meio da inibição da glicogenólise, limitando o aumento dos níveis glicêmicos pós-prandial. Com a RI, esse mecanismo de feedback é prejudicado e a produção hepática de glicose continua a aumentar, mesmo quando a glicemia está elevada. A glicotoxicidade consequente da hiperglicemia contribui ainda mais para o avanço dessa condição patológica (Freeman *and* Pennings, 2021).

Figura 7 - Quadro resumo das alterações metabólicas na obesidade



Fonte: O autor, 2022.

Sendo assim, como demonstrado na Figura 7 acima, um ciclo se forma: com consumo constante e excessivo de calorias, a captação de glicose pelo músculo, responsável por até 70% da captação tecidual de glicose, excede sua capacidade e o excesso desse substrato é direcionado ao fígado, onde inicia o processo de lipogênese. Associado a isso, a resistência à insulina no tecido adiposo causa hipertrofia dos adipócitos, resultando em aumento dos AGL circulantes e exacerbando ainda mais a resistência à insulina no tecido muscular e a hiperinsulinemia plasmática. O aumento dessa via de lipólise do tecido adiposo e da via de lipogênese no tecido hepático estimula a produção TAG e AGL, ocasionando deposição ectópica de gordura no fígado, no músculo e no tecido adiposo. Como resultado, a resistência à insulina aumenta, bem como a produção de marcadores inflamatórios e a esteatose em tecidos importantes como pâncreas e fígado (Leclercq *et al.* 2007; Meshkani and Adeli, 2009; Christensen and Gannon, 2019; Freeman and Pennings, 2021; Corkey *et al.* 2021)

## 1.2 Modelo experimental de obesidade

Nos últimos anos, ocorreu uma mudança no padrão de vida global, com um aumento na ingestão de alimentos ricos em calorias e gorduras e um aumento da inatividade física devido à

natureza cada vez mais sedentária de muitas formas de trabalho, mudanças nos modos de transporte e aumento da urbanização (WHO, 2021).

Esse padrão da dieta ocidental altamente calórica contendo grandes quantidades de gorduras e carboidratos, elevam a glicose e lipoproteínas no sangue (Choudhury *et al.* 2021) causando um aumento nas concentrações de espécies reativas de oxigênio (EROS) que, por sua vez, levam a uma produção anormal de citocinas inflamatórias. Dado que a inflamação é um reconhecido indutor de estresse oxidativo, ocorre uma interação sinérgica entre os dois processos após uma refeição hipercalórica, com consequente amplificação dos efeitos nocivos pós-prandial (Mathieu *et al.* 2009; Choudhury *et al.* 2021). O aumento sustentado nos níveis de EROS contribui significativamente para a patogênese da RI (Stahl *et al.* 2019).

Obesidade, esteatose hepática e diabetes tipo 2 são as principais doenças parcialmente atribuídas à energia provenientes de dietas hiperlipídicas (Rial *et al.*, 2019). Muitos pesquisadores buscam maneiras de reduzir os danos associados a essas doenças e, por isso, é fundamental entender melhor o seu desenvolvimento (Li *et al.*, 2020).

Muitos dos aspectos da obesidade podem ser induzidos em modelos experimentais em que os animais apresentam elevada predisposição para o ganho de peso, dislipidemia e resistência à insulina, como os camundongos C57BL/6J submetidos à dieta hiperlipídica. O modelo que mais se aproxima da obesidade humana é aquele que se baseia em uma alimentação rica em gorduras, as chamadas *high-fat* ou dietas hiperlipídicas, pois demonstram especificamente o papel da dieta no desenvolvimento da doença e de suas alterações metabólicas (Rial *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Frieler *et al.* 2021).

Figura 8 - Camundongo C57BL/6



Fonte: *Laboratory Animal Resource Bank.*



A linhagem do camundongo C57BL/6 apresenta uma enorme semelhança fenotípica com humanos e é fortemente suscetível ao desenvolvimento da obesidade que pode levar às alterações metabólicas como resistência insulínica, hiperinsulinemia, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão. É considerado o padrão ouro para modelo experimental de obesidade visto que animais desta linhagem apresentam um fenótipo obeso quando são alimentados com dietas hiperlipídicas e hipercalóricas, enquanto animais submetidos a uma dieta pobre em lipídeos e calorias permanecem normais (Mekada *et al.* 2009; Li *et al.*, 2020).

### 1.3 Metformina

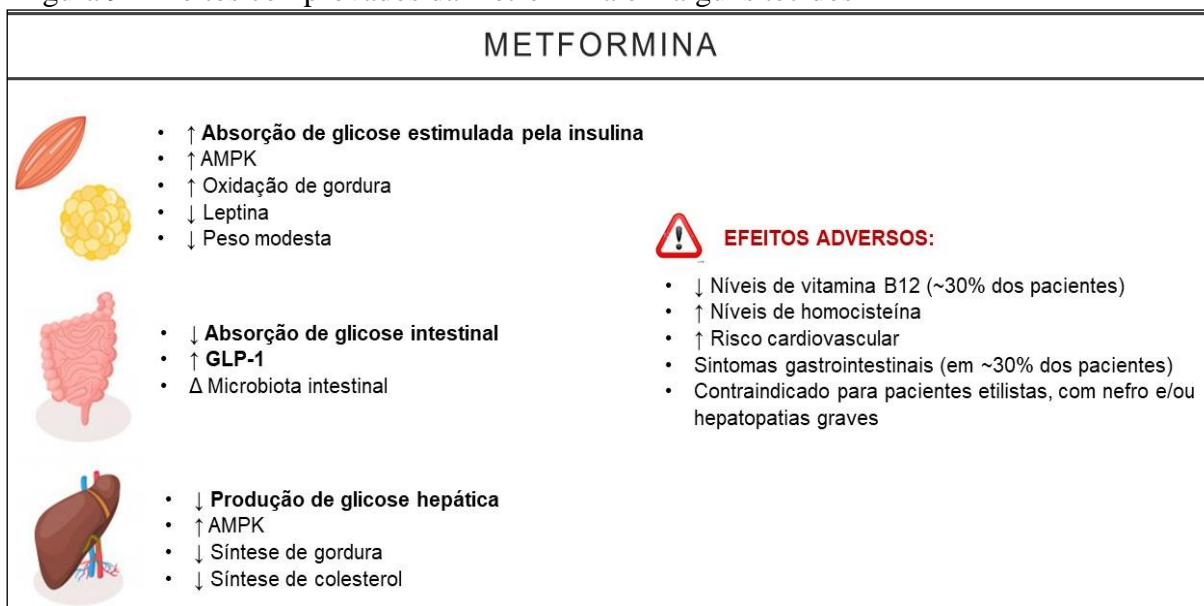
Mais de 60 anos após seu primeiro uso clínico, a metformina, ainda é o agente oral anti-hiperglicêmico (sensibilizante à insulina) mais amplamente utilizado, graças à sua segurança e eficácia a longo prazo bem estabelecidas na ciência (Infante *et al.* 2021).

Aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA), agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA em 1994 (Corcoran *and* Jacobs, 2022), é recomendada como o medicamento de primeira linha para redução da glicose na maioria das diretrizes clínicas para manejo do DM2, sendo prescrita para mais de 100 milhões de pessoas em todo o mundo, incluindo pacientes com RI, pré-diabetes e síndrome dos ovários policísticos (SOP) (Ito *et al.* 2010; Infante *et al.* 2021).

Além disso, nos últimos anos, vários estudos apresentaram evidências sugerindo outros possíveis efeitos desse fármaco como capacidade de ação antitumoral, antienvhecimento e neuroprotetora (Wang *et al.* 2017). Quanto à capacidade de induzir a perda de peso, seu potencial é considerado modesto (Corcoran *and* Jacobs, 2022).

A metformina é um fármaco hipoglicemiante da classe das biguanidas que tem como principais mecanismos de ação a redução da produção de glicose hepática (gliconeogênese), a redução da absorção intestinal de glicose e a melhora da sensibilidade à insulina que resulta em uma redução das concentrações desse substrato no sangue sem causar hipoglicemia evidente (Grzybowska *et al.* 2011; Cozma *et al.* 2022). A Figura a seguir, demonstra alguns de seus efeitos no longo prazo:

Figura 9 - Efeitos comprovados da metformina em alguns tecidos



Fonte: O autor, 2022.

Já se sabe que a inibição da via de gliconeogênese ocasionada por esse fármaco ocorre através da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) (Matthaei *and* Greten, 1991; Drzewoski *and* Hanefeld, 2021) que desempenha um papel importante na regulação do metabolismo energético sendo extremamente relevante na manutenção da homeostase da glicose (Guigas *and* Viollet, 2016; Pomilio *et al.* 2022). A ativação duodenal dessa proteína é essencial para a secreção de GLP1 nas células L do intestino e é necessária para o efeito hipoglicemiante agudo da metformina quando administrada por via oral (Duca *et al.* 2015; Drzewoski *and* Hanefeld, 2021).

O início da ação desse medicamento ocorre cerca de 3 horas após a administração do fármaco com meia-vida de 20 horas. A metformina não é metabolizada no fígado, nem possui ligação proteica substancial. É eliminada pelos rins, principalmente inalterada, e o monitoramento da função renal é fundamental (Guigas *and* Viollet, 2016;), sendo contraindicada em pacientes com disfunção renal grave e/ou com insuficiência hepática (Hsu *et al.* 2017; Drzewoski *and* Hanefeld, 2021; ADA, 2022).

A metformina é geralmente bem tolerada, mas ainda existem alguns efeitos colaterais. Os efeitos gastrointestinais, incluindo diarreia, náusea e vômito, são os mais comuns e ocorrem tipicamente em até 30% dos pacientes que fazem uso (Wang *et al.* 2017). Com menos frequência, alguns pacientes apresentam desconforto torácico, cefaleia, sudorese, hipoglicemia e fraqueza. Níveis diminuídos de vitamina B12 também estão associados ao uso contínuo e de longo prazo, exigindo que sejam monitorados principalmente em pacientes anêmicos ou com

neuropatia periférica. A suplementação dessa vitamina pode ser de extrema necessidade (Drzewoski *and* Hanefeld, 2021; ADA, 2022).

O risco mais grave, porém, considerado raro é o de acidose láctica que ocorre quando o lactato se acumula no corpo e não pode ser eliminado facilmente, levando à acidose metabólica. Essa diminuição do pH sanguíneo pode causar sinais e sintomas inespecíficos, incluindo mal-estar e desconforto respiratório. Os fatores de maior risco incluem casos de toxicidade do medicamento, pacientes com insuficiência hepática e/ou renal, idosos, hipóxia e alcoolismo (Hsu *et al.* 2017). Os pacientes devem ser aconselhados a não consumir álcool em excesso enquanto estiverem sob prescrição de metformina. Embora esse efeito colateral seja raro, a acidose láctica pode causar hipotensão, hipotermia e morte (Corcoran *and* Jacobs, 2022).

Apesar do uso clínico há mais de 60 anos como medicamento antidiabético, muitos mecanismos celulares pelos quais a metformina exerce suas ações permanecem obscuros. Sabe-se que os tratamentos farmacológicos não são completamente bem sucedidos quando utilizados isoladamente para controle das múltiplas complicações resultantes da obesidade (Wong *et al.* 2021; Zhang *et al.* 2022). Por isso, é importante o desenvolvimento de tratamentos naturais, além dos medicamentos geralmente prescritos, para reduzir os impactos causados pelo uso contínuo e crescente desses fármacos (Aein *et al.* 2021).

#### 1.4 Polifenóis

Apesar de uma variedade de medidas cirúrgicas e farmacológicas disponíveis, ainda não existem tratamentos de controle de peso eficientes e sem riscos. Modificação do estilo de vida, mudanças na dieta e redução do sedentarismo são considerados atualmente a melhor alternativa. A fitoterapia, que é uso de substâncias derivadas de plantas no tratamento de doenças, tem se mostrado cada vez mais efetiva e promissora (Wong *et al.* 2021; Pérez-Torres *et al.* 2021).

Alguns extratos vegetais atuam como agentes antiobesidade e sua suplementação pode auxiliar na perda de peso e na melhora da inflamação através da neutralização de EROs. Os polifenóis constituem os fitoquímicos de origem vegetal mais abundantes (González-Castejón *and* Rodriguez-Casado, 2011) e são considerados excelentes agentes terapêuticos na prevenção de doenças crônicas devido a sua forte ação antioxidante e atividade anti-inflamatória (Zielinska-Blizniewska *et al.* 2019; Mirzababaei *et al.* 2022). São encontrados principalmente em vegetais como frutas, legumes, cereais integrais e sementes (Savini *et al.* 2013).

Os polifenóis são classificados por categorias conforme sua estrutura química. Incluem ácidos fenólicos, estilbenos, flavonóides (flavonóis, flavanóis, antocianinas, flavanonas, flavonas e isoflavonas), chalconas, lignanas e curcuminóides (González-Castejón *and* Rodríguez-Casado, 2011; Pérez-Torres *et al.* 2021). Os mecanismos de ação dessas substâncias ainda não estão totalmente esclarecidos, mas sabe-se que cada tipo de polifenol produz diferentes efeitos fisiológicos dependendo de sua estrutura química, biodisponibilidade e de seu metabolismo (Zielinska-Blizniewska *et al.* 2019; Mirzababaei *et al.* 2022).

#### 1.4.1 Extrato hidroalcoólico do caroço do açaí (ASE)

O açaí (*Euterpe oleracea* Martius) é um fruto originário da Amazônia que vem ganhando destaque por conta de seu conteúdo de compostos fenólicos. Estudos demonstram que a polpa do açaí é rica em epicatequinas, catequinas, homoorientina, orientina, isovitexina e antocianinas, sendo as mais abundantes cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo (Baptista *et al.*, 2021; Figueiredo *et al.*, 2022). Por conta de suas propriedades antioxidantes, antiparasitárias e anticarcinogênicas, o açaí ganhou o apelido de “superfruta” e tem atraído cada vez mais atenção no mercado global (Yamaguchi *et al.* 2015).

Essa fruta é popularmente consumida em regiões do Brasil, Suriname e Colômbia e amplamente disponível no mercado internacional. A espécie vegetal pertencente à família botânica *Arecaceae* consiste em uma palmeira de múltiplos caules. Os troncos das árvores possuem alturas entre 3 e 20 metros, e diâmetros de 7 a 18 centímetros. O fruto apresenta cor arroxeada, diâmetro de cerca de 13,5 milímetros, peso de cerca de 2 gramas (Figura 10) e tem sua maturação completa em até 175 dias. Seu caroço apresenta cor bege e representa até 83% do peso do fruto (Figura 11). Apesar do consumo do açaí ser amplamente difundido no Brasil sob a forma de sucos, sorvetes e bebidas, o caroço é usualmente desprezado e pode representar um impacto ambiental importante (Brasil, 2010; Yamaguchi *et al.* 2015).

Figura 10 - Imagem ilustrativas do fruto do açaí



Nota: A imagem ilustra a inflorescência de um açaizeiro.  
Fonte: Brasil, 2010.

Figura 11 - Imagem ilustrativas do caroço do açaí



Nota: A imagem ilustra a membrana fibrosa que reveste o caroço do fruto.  
Fonte: Brasil, 2010.

Muitos trabalhos têm demonstrado os efeitos benéficos da utilização da polpa desse fruto. Entretanto, nosso grupo tem realizado estudos com o extrato hidroalcólico do caroço do açaí (ASE), que é rico em polifenóis como epicatequinas, catequinas e proantocianidinas (Moura *et al.*, 2012, de Oliveira *et al.*, 2015), sendo o conteúdo de fenólicos totais na polpa e no caroço cerca de 18 e 25%, respectivamente (Rodrigues *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2012).

Muitos estudos realizados pelo nosso grupo demonstraram que o extrato hidroalcólico do caroço do açaí (ASE), frente aos outros tipos de extratos, tem diversos mecanismos de ação. Além de uma maior concentração de polifenóis presentes, o extrato feito com o caroço também apresentou maior capacidade vasodilatadora quando comparado ao extrato da polpa (Rocha *et al.*, 2007).

Em nossos estudos, o ASE foi capaz de aumentar a formação de óxido nítrico, prevenir a redução da vasodilatação induzida pela acetilcolina bem como o remodelamento vascular. Esses achados comprovam um efeito anti-hipertensivo e preventivo na disfunção endotelial e alterações estruturais vasculares em modelo experimental de hipertensão, que provavelmente é mediado por suas ações vasodilatadora endotélio-dependente e antioxidante (Rocha *et al.*, 2007; Rocha *et al.*, 2008; da Costa *et al.*, 2012; da Costa *et al.*, 2017).

Em outros estudos de nosso grupo, os animais tratados com ASE apresentaram menor dano oxidativo, maior expressão e atividade de enzimas antioxidantes além de uma menor expressão de proteínas envolvidas na inflamação. Esses dados comprovam sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória (Rocha *et al.*, 2007; Rocha *et al.*, 2008; da Costa *et al.*, 2012; de Moura *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2020)

O ASE também apresentou efeito antiobesogênico e hipolipidêmico, sendo capaz de prevenir o ganho de peso, o índice de adiposidade e a dislipidemia. Animais tratados com o extrato apresentaram níveis reduzidos de colesterol total e triglicérides em plasma e no fígado e também uma melhora importante na esteatose hepática (de Oliveira *et al.*, 2010; de Oliveira *et al.*, 2015; de Bem *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2020)

Seu efeito hipoglicemiante e antidiabético também foi bem elucidado. Nossos estudos demonstram que o ASE foi capaz de melhorar a intolerância à glicose medida pelo HOMA IR e os níveis de glicemia em ratos e camundongos. Alguns estudos comprovaram que esse efeito pode estar relacionado ao seu grande potencial antioxidante e também a sua capacidade em aumentar a expressão de proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina (de Oliveira *et al.*, 2010; de Bem *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2020).

Estudos recentes realizados pelo nosso grupo foram capazes de demonstrar pela primeira vez, os efeitos terapêuticos do ASE em camundongos obesos com esteatose hepática e com alterações cardiovasculares, proporcionando melhora nessas alterações além de todos os seus efeitos já citados anteriormente (Tavares *et al.* 2020; de Moraes Arnoso *et al.* 2022).

Diante de tantos benefícios, o ASE tem demonstrado grande potencial como uma estratégia natural para o tratamento da obesidade e de suas comorbidades. Portanto, pretendemos estudar, pela primeira vez, o efeito do tratamento terapêutico com ASE sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas, buscando novos alvos biológicos e/ou farmacológicos para ação do presente extrato.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Estudar o efeito terapêutico do ASE sobre o metabolismo glicídico, as alterações metabólicas, hepáticas e pancreáticas em camundongos C57BL/6 obesos submetidos à dieta hiperlipídica e comparar com a Metformina (MET).

### 2.2 Objetivos específicos

Avaliar se o tratamento terapêutico de animais obesos com o ASE e com a MET foi capaz de modificar:

- a) A ingestão alimentar;
- b) O peso corporal;
- c) O índice de adiposidade;
- d) A glicemia;
- e) O teste oral de tolerância a glicose (TOTG);
- f) Os níveis plasmáticos de leptina, GLP1 e alanina aminotransferase (ALT);
- g) O perfil lipídico;
- h) O glicogênio hepático;
- i) A morfologia do pâncreas e do fígado;
- j) A esteatose pancreática e hepática;
- k) Os níveis pancreáticos de insulina.



### 3 METODOLOGIA

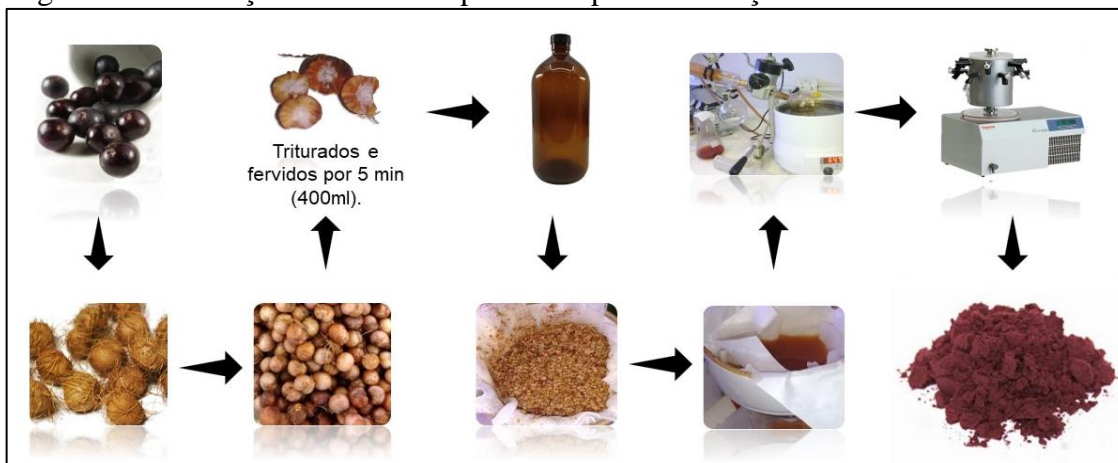
#### 3.1 Obtenção do ASE

Os frutos de açaí foram provenientes de Belém do Pará, fornecidos pelo professor Pergentino José Cunha Souza, vinculado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará. O processo de obtenção do ASE, conforme Rocha *et al.* (2007), foi reproduzido previamente através da lavagem do açaí e separação do caroço e da polpa. Em seguida, foi feita a pesagem de 200g de caroço de açaí que foi triturado e fervido por um período de 5 minutos em 400 mL de água destilada.

Após a fervura, o decoto é deixado para resfriar e extraído com etanol durante 10 dias, aproximadamente. Após essa etapa, o extrato hidroalcolólico é filtrado em papel filtro e, sob baixa pressão, a fase líquida é evaporada e liofilizada na temperatura de 50°C a 60°C, tendo assim, todo o etanol e toda a água presentes no extrato, evaporados. O liofilizado é mantido em temperatura ambiente até o dia de uso quando é diluído em água destilada na concentração pretendida.

Após o preparo de todos os extratos, o seu potencial vasodilatador foi verificado através da reatividade vascular. O seu conteúdo polifenólico também foi medido pelo método de *Folin Ciocalteu*. Essas medidas são utilizadas para controle de qualidade e viabilidade do extrato para a posterior utilização (de Oliveira *et al.*, 2010). A Figura 12 ilustra resumidamente o passo a passo do protocolo:

Figura 12 - Ilustração resumida do protocolo para a obtenção do ASE



Fonte: O autor, 2022.

### 3.2 Diluição do fármaco Metformina

Um comprimido do fármaco Metformina (*Pharma Nostra*, RJ, Brasil, 300mg/kg) foi macerado por dia, diluído em 10 mL de água filtrada e administrado aos animais

### 3.3 Animais Experimentais

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, protocolo: N° CEUA/011/2021.

Foram utilizados 60 camundongos machos da linhagem C57BL/6 com 12 semanas de idade. Os animais foram provenientes do CEMIB/UNICAMP, alocados no Biotério do Departamento de Farmacologia e Psicobiologia do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, do Hospital Universitário Pedro Ernesto, para experimentação. Mantidos em caixas de polipropileno identificadas, contendo 3 animais, em temperatura média de 23°C, umidade de 60%. O ciclo de claro-escuro foi de 12 horas, com presença de luz a partir das 6 horas da manhã, tendo livre acesso à ração e água.

Os camundongos foram divididos em dois grupos, durante 10 semanas para indução da obesidade:

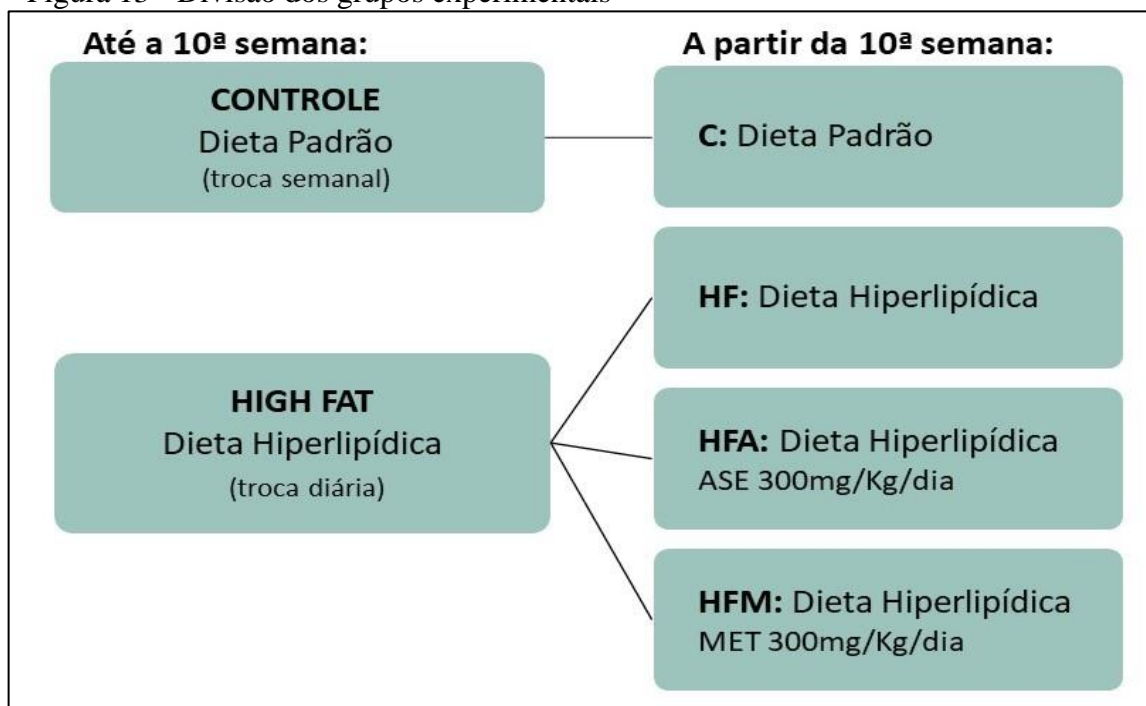
- **Grupo Controle (C, n=15):** animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) com 10% da energia (kcal) proveniente de lipídeos;
- **Grupo Hiperlipídico (HF, n=45):** animais alimentados com dieta hiperlipídica (AIN-93M modificada) com 60% da energia (kcal) proveniente de lipídeos, majoritariamente banha de porco, de acordo com Oliveira *et al.* (2010, 2015);

Após 10 semanas de utilização das dietas padrão e hiperlipídica, os camundongos foram subdivididos em 4 grupos:

- **C:** animais alimentados com dieta padrão (AIN-93M) e sem tratamento por mais 4 semanas;
- **HF:** animais alimentados com dieta hiperlipídica (AIN-93M modificada 60%) e sem tratamento por mais 4 semanas;

- **HFA:** animais alimentados com dieta hiperlipídica (AIN-93M modificada 60%) e tratados com ASE (300 mg/ kg/dia) por mais 4 semanas;
- **HFM:** animais alimentados com dieta hiperlipídica (AIN-93M modificada 60%) e tratados com Metformina (300 mg/Kg/dia) por mais 4 semanas

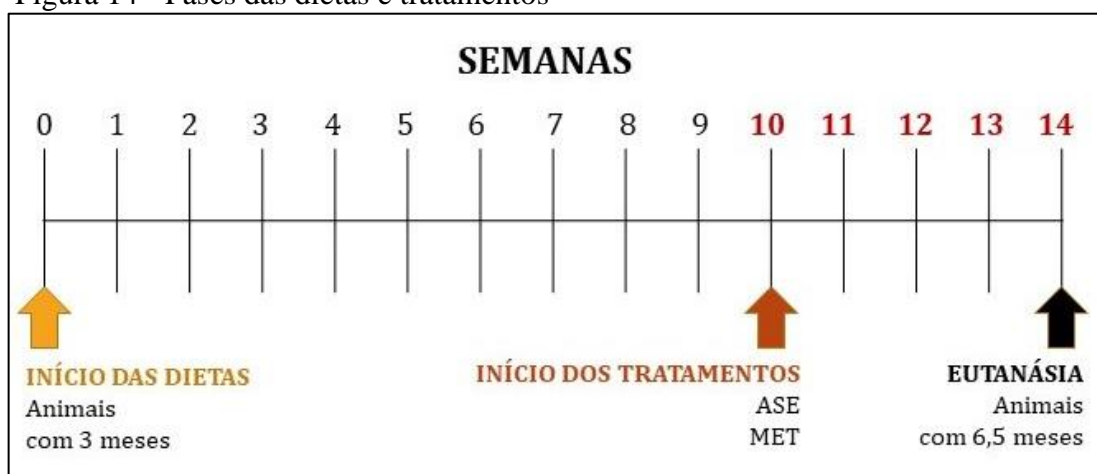
Figura 13 - Divisão dos grupos experimentais



Fonte: O autor, 2022.

Os fármacos foram administrados por gavagem orogástrica nas quantidades descritas acima. E os animais que não receberam tratamento, foram gavados com o mesmo veículo para que fossem submetidos ao mesmo tipo de estresse que os outros. Os tratamentos foram iniciados na 10ª semana e finalizados na 14ª semana e as doses utilizadas foram baseadas em estudos de mesmo modelo (de Oliveira *et al.*, 2010; de Oliveira *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2016; Lin *et al.*, 2017; Gu *et al.* 2022). Após esse período, os animais foram submetidos à eutanásia para coleta dos tecidos para as diferentes análises. A figura a seguir ilustra todas as fases do protocolo experimental:

Figura 14 - Fases das dietas e tratamentos



Fonte: O autor, 2022.

### 3.4 Dietas Experimentais

Neste estudo foram utilizados dois tipos de dieta: uma padrão e uma hiperlipídica para o ganho de peso corporal, durante 14 semanas. As dietas experimentais foram confeccionadas e balanceadas pela Rhoster® (Rhoster, SP, Brasil).

A composição nutricional das rações comerciais, segundo informações do próprio fabricante, está descrita na Tabela 2 a seguir:

Tabela 2 - Composição das dietas

NUTRIENTE (U/Kg dieta)	DIETA PADRÃO	DIETA HIPERLIPÍDICA
Caseína (g)	140	190
Amido de milho (g)	620,7	250,7
Sacarose (g)	100	100
Óleo de soja (g)	40	40
<b>Banha (g)</b>	-	<b>320</b>
Fibras (g)	50	50
Mistura de minerais (g)	35	35
Mistura de vitaminas (g)	10	10
L-cistina (g)	1,8	1,8
Colina (g)	2,5	2,5
<b>Energia (kcal)</b>	<b>3.800</b>	<b>5.400</b>
Carboidratos (%)	76	26
Proteína (%)	14	14
<b>Lipídio (%)</b>	<b>10</b>	<b>60</b>

Fonte: RHOSTER, SP, Brasil.

### 3.5 Ingestão alimentar

A dieta controle, peletizada, foi ofertada uma vez por semana. A oferta de ração foi pesada em uma balança digital (Shimadzu, UX4200H - precisão 0,01g) e após uma semana, foram recolhidas as sobras, pesadas na mesma balança e a diferença para o peso ofertado foi considerado como o total ingerido por caixa. A ingestão por animal foi calculada como o total ingerido por caixa, dividido pelo número de animais da caixa.

Para a dieta hiperlipídica foi feito o mesmo procedimento, porém, a troca e mensuração foram feitas diariamente, pois trata-se de uma dieta que oxida mais rapidamente. A ingestão calórica individual diária foi calculada de acordo com as respectivas dietas (dieta padrão: 3,8 kcal/g, dieta hiperlipídica: 5,4 kcal/g), a partir da média de consumo individual diário, de acordo com as informações nutricionais oferecidas pelo fabricante (Rhoster®, São Paulo) (Tabela 2). Para tal mensuração foi utilizada a seguinte fórmula, onde ICMD é a ingestão calórica média diária:

$$(\text{Ração ofertada} - \text{Sobra}) \times \text{Calorias da dieta} / \text{Número de animais} = \text{ICMD} \dots \dots \dots (1)$$

### 3.6 Peso corporal

O registro do peso corporal foi realizado a cada 7 dias com a utilização de uma balança digital (Shimadzu, UX4200H - precisão 0,01g). Em cada grupo, a média do peso corporal foi calculada até o final do tratamento para análise estatística.

### 3.7 Eutanásia e remoção de tecidos

Após 14 semanas, os camundongos foram eutanasiados por decapitação, precedida por jejum de 6 horas. O sangue extravasado foi coletado em *eppendorfs* heparinizados e o plasma centrifugado (4°C a 4.500 RPM por 15 minutos) e armazenados a -80°C para posterior análise.

Os tecidos foram coletados, pesados e armazenados conforme protocolo para análises futuras. O tecido pancreático e uma parte do fígado foram imediatamente imersos em formalina (1.27 mol/L formaldeído, 0.1 M tampão fosfato-salina, pH 7,2). A outra parte do fígado foi congelado em nitrogênio líquido e depois mantido a -80°C.

### 3.8 Índice de adiposidade

O cálculo do índice de adiposidade foi obtido através da média geral obtida da divisão dos pesos dos tecidos adiposos de todos os compartimentos (retroperitoneal, epididimário e subcutâneo) pela massa corporal total do animal.

### 3.9 Análises bioquímicas

#### 3.9.1 Glicemia

A glicemia foi aferida com os animais em jejum por um período de 6 horas, antes da gavagem do respectivo dia, através do glicosímetro digital (Accu-Chek-Active, Roche®) e mediante a uma pequena incisão na calda para obtenção do sangue necessário para avaliação glicêmica.

As coletas e dosagens foram realizadas em três momentos: no primeiro dia do protocolo experimental, ao final da 10ª semana e no último dia de tratamento. As concentrações foram expressas em mg/dL.

#### 3.9.2 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) foi realizado após 4 semanas de tratamento em todos os grupos de acordo o método descrito por Oliveira *et al.* (2010). Os animais ficaram

em jejum por 6 horas e a glicose (2 g/kg) foi administrada por gavagem orogástrica no tempo 0, após a primeira coleta de sangue. O sangue foi coletado da cauda nos tempos 0, 15, 30, 90 e 120 minutos. A concentração de glicose no sangue foi determinada com um glicosímetro digital (*Accu-Chek-Active*, Roche®) com concentrações expressas em mg/dL e a área sob a curva (AUC; milimolar por minuto) foi calculada.

### 3.9.3 Leptina e GLP-1 plasmáticos

Para a dosagem de leptina, foi utilizado o kit comercial da *PreproTech* (Cranbury, EUA) e as concentrações plasmáticas foram expressas em pg/mL. Já o GLP1 foi dosado em kit comercial da Merck (*St. Louis*, EUA) com concentrações expressas em pmol/L. Para ambos, foram utilizadas amostras de plasma analisadas em kits de Elisa, seguindo as instruções de cada fabricante.

### 3.9.4 Perfil lipídico e ALT

Os triglicerídeos, o colesterol total (CT) e a alanina aminotransferase (ALT) foram avaliados no plasma conforme protocolo através de kit comercial (Bioclin, Minas Gerais, Brasil) que se baseia em método colorimétrico. As concentrações plasmáticas foram expressas no perfil lipídico em mg/dL e na enzima hepática em U/L. Todas as medidas foram tomadas com base nas instruções do fabricante.

### 3.9.5 Glicogênio hepático

Após os animais serem eutanasiados, os fígados foram isolados e pesados para análise posterior. As concentrações de glicogênio foram determinadas por um ensaio enzimático usando um kit da Sigma (Sigma-Aldrich, *St. Louis*, EUA).

Resumidamente, para 10 mg de fígado foi adicionado 100 µl de água no gelo e, em seguida, foi feito um homogenato deste tecido no homogeneizador digital ultra turrax (Ika, Alemanha). As amostras foram fervidas por 5 minutos para inativar as enzimas e centrifugadas a 13.000 rpm por 5 minutos para remover o material insolúvel. O sobrenadante foi retirado e as amostras foram avolumadas para 50 µL com Tampão de Hidrólise. Em seguida, todo o protocolo foi realizado com base nas instruções do fabricante. As concentrações plasmáticas foram expressas em µg/µL.

### 3.10 Análises histológicas

Fragmentos aleatórios de pâncreas e todos os lobos do fígado foram retirados de todos os camundongos de cada grupo experimental estudado e foram fixados em formalina de Millong (formaldeído 37- 40% 100 mL, NaOH 4,2 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 18,6 g em 1 L de água destilada). Os fragmentos fixados passaram por diferentes banhos de álcool e de xilol, sendo posteriormente embebidos em *Paraplast Plus* para realização de cortes não seriados de 5 µm. Os cortes foram alocados em lâminas histológicas para a coloração com Hematoxilina e Eosina a fim de identificar a arquitetura dos tecidos por microscopia óptica (Bancroft *and* Stevens, 1990). Foram capturadas dez imagens digitais aleatórias por animal para avaliar a esteatose e a morfologia geral do pâncreas e do fígado.

A avaliação da esteatose foi realizada através do método de contagem de pontos (Weibel, 1979). O sistema-teste contém uma grade com cinquenta pontos (PT) para análise de esteatose pancreática e trinta e seis pontos para análise de esteatose hepática. A densidade de volume (V<sub>v</sub>) foi estimada pela fórmula:

$$V_v [\text{esteatose}] = PP [\text{esteatose}] / PT [\text{tecido alvo}] \dots \dots \dots (2)$$

Onde PP é o número de pontos que estão sobre gotículas de gordura no tecido e PT é o número de pontos total do sistema-teste. É um dado de fácil análise e seus valores são representados em percentual (%).

Todas as imagens foram salvas em formato JPG, cor 36-bit, 1.360x1.024 pixels e fotografadas com câmera Olympus DP71 Olympus BX40 acoplada ao microscópio de fluorescência utilizando lente de aumento de 20x (Olympus, Tokyo, Japão). As análises foram



realizadas com o programa *Image-Pro Plus* versão 4.5.0.29 (*Media Cybernetics, Silver Spring, EUA*)

### 3.11 Imunohistoquímica de pâncreas

Os cortes histológicos de 5 µm de tecido pancreático passaram pelo processo de desparafinização e reidratação. Posteriormente, foram incubados com água oxigenada 0,3% por 15 minutos e, em seguida, submersos em tampão citrato a 60°C. Para bloquear ligações inespecíficas, os cortes foram incubados com horse serum por 25 minutos, depois incubados overnight a 4°C com anticorpo primário de insulina (SC-9168, Santa Cruz *Biotechnology Inc.*; CA, EUA) diluídos em tampão fosfato salino (PBS - 1,38g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 6,96g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7,2g NaCl, pH 7.2) na concentração de 1:100.

No dia seguinte, foram incubados com anticorpo secundário em temperatura ambiente por 25 minutos seguidos de incubação com estreptavidina por 25 minutos. Após essas etapas, os cortes foram incubados com diaminobenzidina (DAB) (K3466, DAB; *Universal Dako Cytomation, Glostrup, Denmark*), lavados em água destilada e corados com hematoxilina.

O *horse serum*, anticorpo secundário e estreptavidina utilizados compõem o kit *Vectastain® Universal Quick HRP R.T.U kit* (*Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA*).

Foram obtidas imagens de 4 animais por grupo, média de 5 imagens aleatórias por animal, totalizando 20 imagens por grupo. As imagens foram obtidas em um microscópio óptico Olympus BX40 com câmera Olympus DP71, utilizando lente de aumento 20x.

A quantificação (Chlipala *et al.*, 2019) foi determinada com uma seleção de limiar de densidade aplicada à área positiva de insulina, estimando a porcentagem da ilhota marcada com DAB (em marrom). Para isso, foi utilizado o software *Image-Pro Plus*, versão 7.1 (*Media Cybernetics, Rockville, EUA*).

### 3.12 Análise estatística

Os resultados foram analisados por *one way analysis of variance* (ANOVA), com pós-teste Tukey para todas as análises, sendo consideradas significativas as diferenças quando  $p <$

0,05. Para a geração dos gráficos e para realizar as análises estatísticas, foi utilizado o *software GraphPad Prism 6* (*GraphPad Software, CA, EUA*). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média.

## 4 RESULTADOS

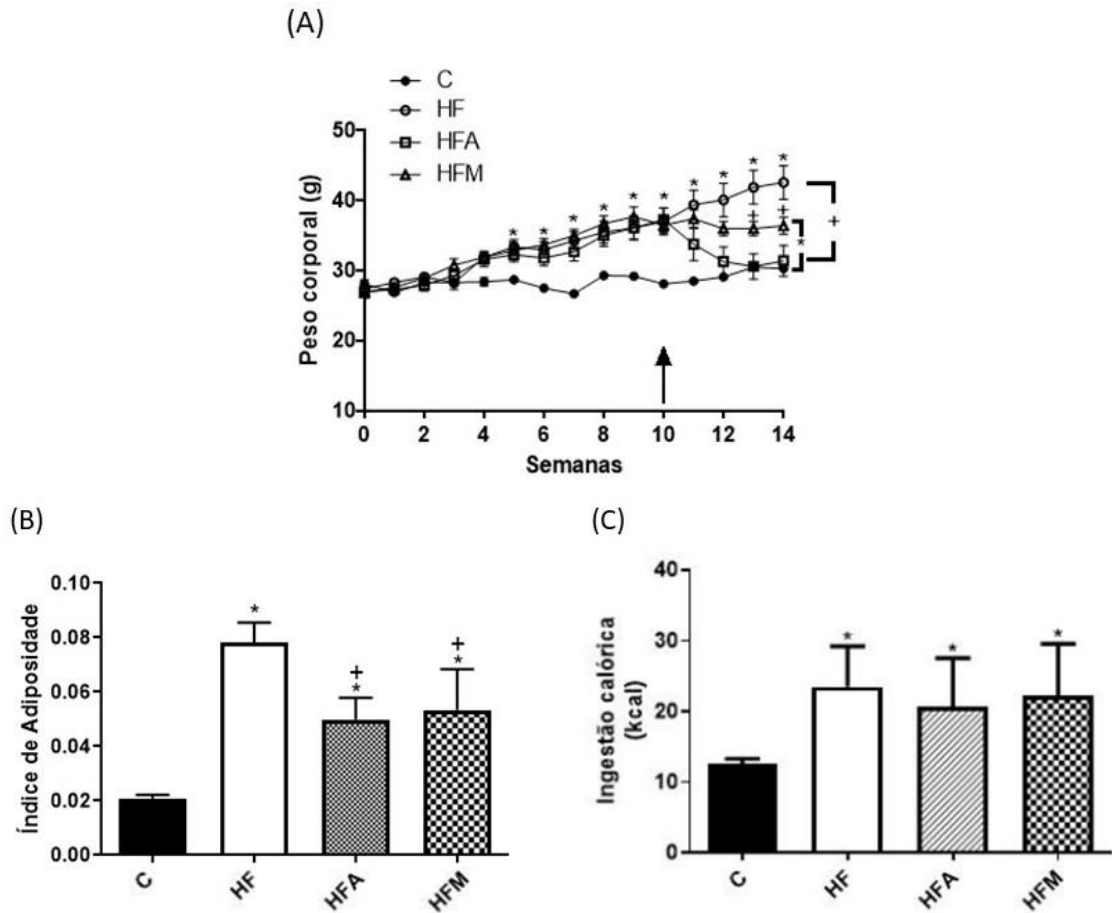
### 4.1 Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre o peso corporal, o índice de adiposidade e a ingestão alimentar

Inicialmente, os animais não demonstraram diferença significativa nos pesos corporais entre os grupos experimentais. A partir da 5ª semana, foi observada diferença estatística significativa no ganho de peso ( $p < 0,05$ ) entre os grupos que receberam dieta padrão (C) e dieta hiperlipídica (HF, HFA e HFM). Após a 10ª semana, com o início dos tratamentos, já é possível notar que os grupos tratados (HFA e HFM) começaram a apresentar redução do peso. Entretanto, essa redução do peso corporal só foi significativa ( $p < 0,05$ ), a partir da 13ª semana, quando comparamos os grupos tratados com o grupo HF. A diferença significativa em relação ao grupo HF foi a partir da 13ª semana. É importante enfatizar que apenas o grupo que recebeu o tratamento com ASE, foi capaz de apresentar valores de peso corporal próximos ao grupo controle (Figura 15A).

O resultado do índice de adiposidade demonstrou que os grupos tratados com ASE e MET apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao HF. No entanto, ainda que tenham apresentado um bom desempenho, esses valores não reduziram ao ponto dos grupos tratados (HFA e HFM) se equipararem ao grupo C, apresentando também uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo que não foi induzido à obesidade (Figura 15B).

Quanto à ingestão calórica, os animais dos grupos HF, HFA e HFM respectivamente ingeriram em média 87%, 64% e 77% mais calorias do que os animais do grupo C. Os grupos hiperlipídicos (HF, HFA e HFM) apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao controle, porém não entre si. Sendo assim, nem o ASE e nem a MET tiveram influência considerável na ingestão alimentar dos animais ao longo dos tratamentos (Figura 15C).

Figura 15 - Peso médio ao longo do tempo (A), índice de adiposidade (B) e ingestão calórica média (C) dos grupos C, HF, HFA e HFM



Nota: Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão,  $n=15$  para todos os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM. A seta preta indica o início do tratamento com ASE e MET.

## 4.2 Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre as análises bioquímicas

### 4.2.1 Homeostase glicêmica

A glicemia inicial, realizada no início do protocolo experimental não mostrou diferença significativa entre os animais. Logo após, os animais receberam suas respectivas rações e foram alimentados até a 10ª semana. Antes do início dos tratamentos (na 10ª semana), foi realizada uma nova dosagem glicêmica. Nesse momento, os animais que receberam dieta hiperlipídica (HF, HFA e HFM) e foram induzidos à obesidade apresentaram valores hiperglicêmicos ( $p < 0.05$ ) em relação ao grupo controle com dieta padrão (Tabela 3). Ao final do protocolo (na

14ª semana), os animais foram submetidos a nova avaliação a fim de verificar o efeito dos tratamentos. Após 4 semanas, os grupos tratados (HFA e HFM) demonstraram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) de glicemia quando comparados ao grupo HF com destaque para o grupo tratado com ASE que, apesar de não demonstrar diferença estatística significativa, apresentou um desempenho ainda melhor que o grupo tratado com o fármaco de efeito hipoglicemiante (MET) ( $p < 0,05$ , Tabela 3).

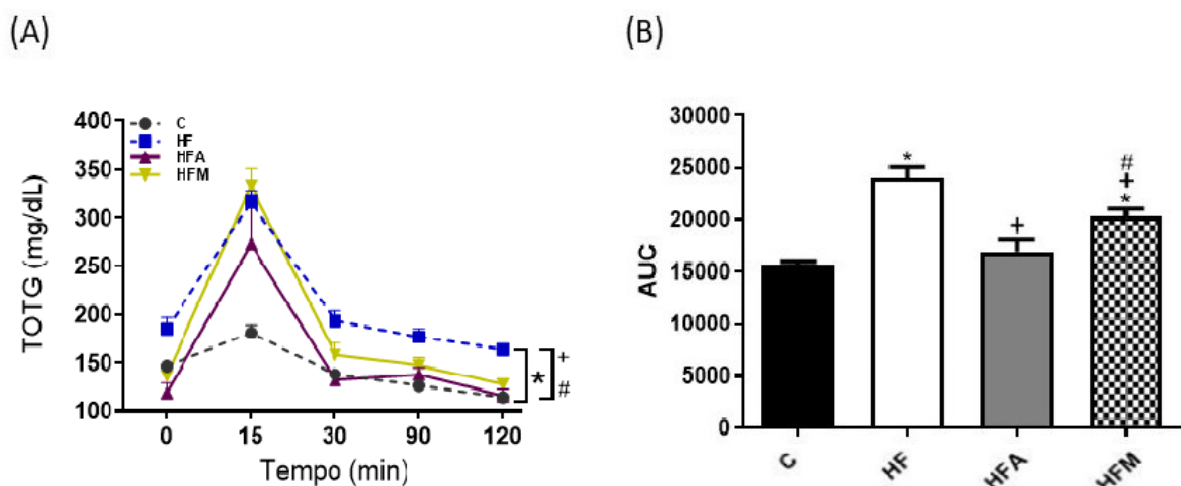
O TOTG realizado ao final da 14ª semana (Figura 13), demonstrou resultados semelhantes. O tratamento com ASE demonstrou um efeito hipoglicemiante significativo ( $p < 0,05$ ) tanto em relação ao grupo HF quanto ao grupo tratado com MET, demonstrando um desempenho melhor no controle da homeostase glicêmica.

Tabela 3 - Níveis glicêmicos inicial, pré-tratamento e final dos grupos C, HF, HFA e HFM

	C	HF	HFA	HFM
<b>Glicemia Inicial (mg/dL)</b>	147.7 ± 3.5	142.4 ± 4.4	144.5 ± 4.4	137.6 ± 5.4
<b>Glicemia Pré-tratamento (mg/dL)</b>	131.2 ± 10.3	189.7 ± 11.8*	197.9 ± 7.1*	203.2 ± 9.6*
<b>Glicemia Final (mg/dL)</b>	<b>144.1 ± 3.3</b>	<b>190.8 ± 12.2*</b>	<b>118.6 ± 10.4<sup>+</sup></b>	<b>136.6 ± 7.9<sup>+</sup></b>

Nota: Os valores estão expressos como média ± erro padrão, n=15 para todos os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

Figura 16 - Teste oral de tolerância à glicose (A) e área sob a curva do TOTG (B) dos grupos C, HF, HFA e HFM



Nota: Os valores estão expressos como média ± erro padrão, n = 5-12 para os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

#### 4.2.2 Leptina e GLP-1

A dosagem da leptina plasmática demonstrou que o grupo HF apresentou níveis circulantes significativamente elevados ( $p < 0,05$ ) desse hormônio em relação ao grupo controle. Os tratamentos com ASE e MET foram capazes de reduzir ( $p < 0,05$ ) esses valores, apresentando diferença significativa em relação ao grupo HF com destaque para o grupo do fármaco (HFM) que demonstrou um melhor desempenho. Esses números caracterizam o quadro de hiperleptinemia típico da obesidade sem controle de peso como representado pelo o grupo HF (Tabela 4).

A dosagem do GLP1 não apresentou diferença significativa entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 4 - Níveis plasmáticos de Leptina e GLP-1 dos grupos C, HF, HFA e HFM

	<b>C</b>	<b>HF</b>	<b>HFA</b>	<b>HFM</b>
<b>Leptina (pg/mL)</b>	<b>686.1 ± 131.6</b>	<b>1095 ± 108.1*</b>	<b>350.4 ± 44.1<sup>+</sup></b>	<b>79.5 ± 29.4*<sup>+</sup></b>
<b>GLP-1 (pmol/L)</b>	<b>23 ± 0.9</b>	<b>19.9 ± 0.9</b>	<b>20.4 ± 1.1</b>	<b>21.5 ± 0.9</b>

Nota: Os valores estão expressos como média ± erro padrão, n = 5-12 para os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

#### 4.2.3 Colesterol Total e TAG

O resultado do colesterol total e TAG demonstrou que o grupo no qual foi induzida a obesidade e que não recebeu tratamento (HF) houve a caracterização da dislipidemia apresentando tanto colesterol total (CT) quanto triglicérides (TAG) elevados ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle. O grupo tratado com ASE demonstrou uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo HF e ao grupo tratado com metformina nos valores de CT, porém essa redução não foi estatisticamente significativa nos valores de TAG. Apenas o HFM foi capaz de promover uma redução significativa do TAG em relação ao grupo sem tratamento (HF) (Tabela 5).

Tabela 5 - Níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos dos grupos C, HF, HFA e HFM

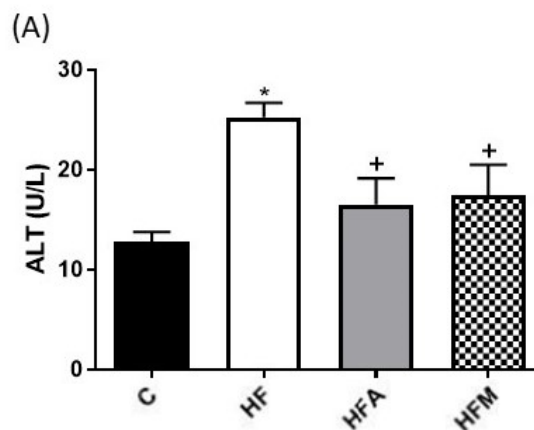
	C	HF	HFA	HFM
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	<b>110.2 ± 2.8</b>	<b>200.3 ± 12.6*</b>	<b>148.3 ± 6.2<sup>+</sup></b>	<b>177.7 ± 8.2*<sup>#</sup></b>
<b>TAG (mg/dL)</b>	<b>16.1 ± 0.5</b>	<b>22.2 ± 1.2*</b>	<b>17.8 ± 1.4</b>	<b>16.3 ± 1.1<sup>+</sup></b>

Nota: Os valores estão expressos como média ± erro padrão, n = 5-12 para os grupos. \*p < 0,05 em relação ao grupo C, +p < 0,05 em relação ao grupo HF e #p < 0,05 em relação ao grupo HFM.

#### 4.2.4 Alanina aminotransferase (ALT)

A enzima hepática alanina aminotransferase dosada em plasma foi significativamente maior (p < 0,05) no grupo HF em comparação com o grupo controle e os grupos tratados (HFA e HFM). A ALT encontra-se no citosol de hepatócitos e níveis aumentados no plasma podem indicar deterioração na integridade da membrana plasmática dos hepatócitos caracterizando um possível dano hepático no grupo com obesidade não tratado (HF) (Figura 17).

Figura 17 - Dosagem de alanina aminotransferase (ALT) dos grupos C, HF, HFA e HFM (A)

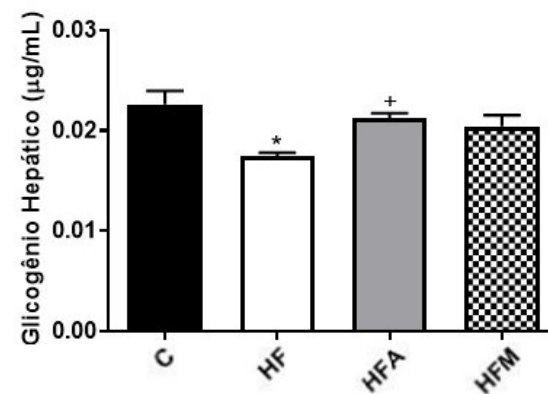


Nota: Os valores estão expressos como média ± erro padrão, n = 5-12 para os grupos. \*p < 0,05 em relação ao grupo C, +p < 0,05 em relação ao grupo HF e #p < 0,05 em relação ao grupo HFM.

#### 4.3 Efeito dos tratamentos com ASE e MET sobre o glicogênio hepático

Os resultados da dosagem de glicogênio hepático demonstraram que o grupo HF apresentou valores reduzidos ( $p < 0,05$ ) quando comparados ao grupo tratado com ASE e ao grupo controle, caracterizando um possível comprometimento nessa via metabólica no fígado. O grupo tratado com metformina (HFM) não apresentou essa mesma diferença significativa demonstrada pelo grupo HFA (Figura 18A).

Figura 18 - Dosagem de glicogênio hepático dos grupos C, HF, HFA e HFM (A)



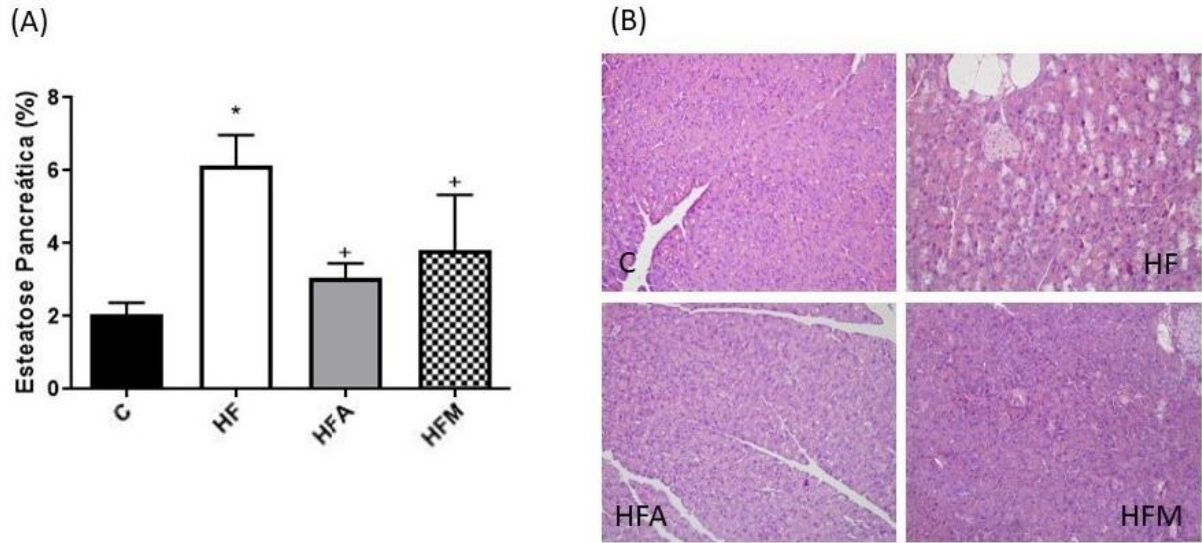
Nota: Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão,  $n = 5-12$  para os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

#### 4.4 Efeito dos tratamentos sobre a esteatose pancreática e hepática

Como resultado temos que, no pâncreas, as imagens (Figura 19A e 19B) evidenciaram uma maior quantidade ( $p < 0,05$ ) de gotículas de lipídios nos tecidos do grupo HF quando comparado ao controle, caracterizando um quadro de esteatose pancreática. Os tratamentos com ASE e metformina reduziram ( $p < 0,05$ ) o conteúdo lipídico médio dos grupos tratados (HFA e HFM) em relação ao grupo HF, não sendo encontrada após o tratamento, diferença significativa com o grupo controle.



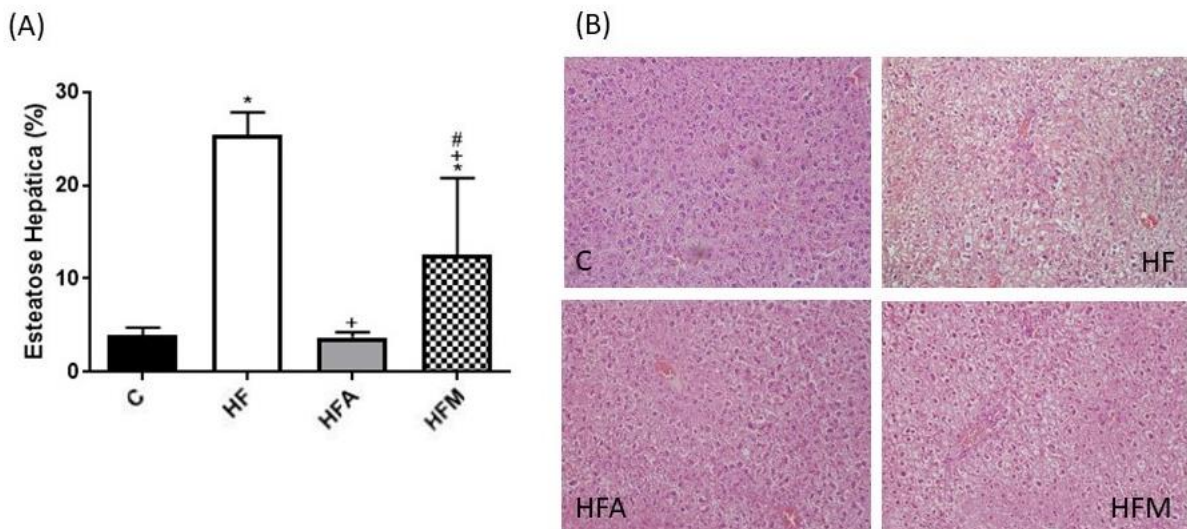
Figura 19 - Gráfico quantitativo de esteatose pancreática (A) e imagens ilustrativas de esteatose pancreática (B) dos grupos C, HF, HFA e HFM



Nota: Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão,  $n = 5$  para os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

No fígado, as imagens (Figura 20A e 20B) demonstraram uma grande quantidade de gotículas lipídicas ( $p < 0,05$ ) nos tecidos do grupo HF que, em relação ao controle, evidenciando uma elevada diferença entre esses grupos. Os grupos tratados (HFA e HFM), apresentaram uma redução ( $p < 0,05$ ) dessa deposição de gordura em relação ao grupo HF em relação ao HF, porém o ASE demonstrou um efeito muito mais significativo no controle desse acúmulo de gordura, tanto quando comparado ao grupo HF quanto ao grupo tratado com metformina.

Figura 20 - Gráfico quantitativo de esteatose hepática (A) e imagens ilustrativas de esteatose hepática (B) dos grupos C, HF, HFA e HFM

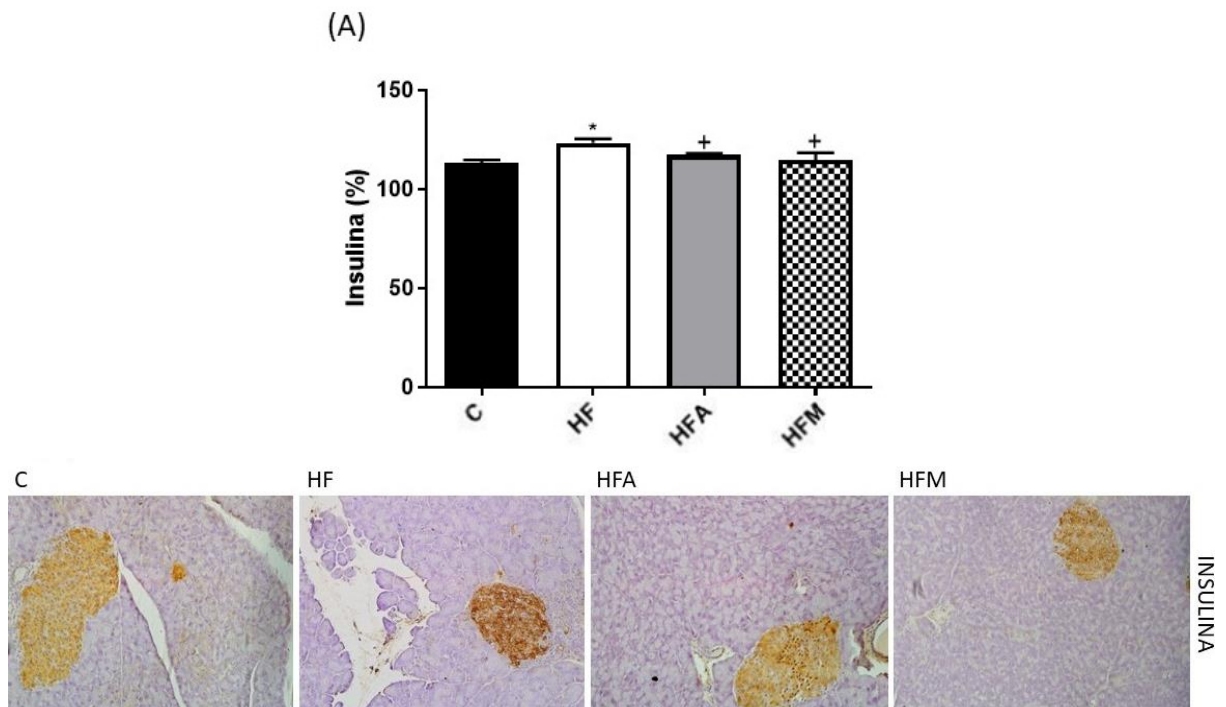


Nota: Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão,  $n = 5$  para os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

#### 4.5 Efeito dos tratamentos sobre a expressão de insulina no pâncreas

A imunomarcção da insulina demonstrou que o grupo HF apresentou níveis significativamente elevados ( $p < 0,05$ ) de insulina, sugerindo uma hiperinsulinemia muito característica na RI induzida pela obesidade (Figura 20A). Os grupos tratados (HFA e HFM) demonstraram níveis reduzidos ( $p < 0,05$ ) de expressão de insulina, com destaque para o HFA que mais se aproximou do grupo controle (Figura 21A).

Figura 21 - Gráficos quantitativos de imunomarcção de insulina no tecido pancreático e imagens ilustrativas da imunomarcção de insulina dos grupos C, HF, HFA e HFM (A)



Nota: Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão,  $n = 5$  para os grupos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo C, + $p < 0,05$  em relação ao grupo HF e # $p < 0,05$  em relação ao grupo HFM.

## 5 DISCUSSÃO

Em relação aos parâmetros avaliados anteriormente, os animais do grupo HF sem tratamento apresentaram aumento de peso corporal, maior índice de adiposidade, dislipidemia, hiperglicemia, hiperleptinemia, alteração de ALT, redução de glicogênio hepático, esteatose pancreática e hepática. Sendo assim, entende-se que os fenótipos relacionados à obesidade e RI foram desenvolvidos no presente modelo experimental alimentados com dieta hiperlipídica conforme bem demonstrado na literatura (Mekada *et al.* 2009; Rial *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Frieler *et al.* 2021)

Os polifenóis, metabólitos secundários de plantas com propriedades antioxidantes, estão envolvidos na defesa contra radiação ultravioleta e insultos patogênicos nas plantas e têm sido sugeridos, em humanos, como protetores contra diversas doenças como a obesidade e suas comorbidades associadas (Rodriguez-Ramiro *et al.*, 2016).

Nossos resultados comprovam, em alguns aspectos analisados, a capacidade terapêutica do ASE rico em polifenóis como epicatequinas, catequinas e proantocianidinas (Rodrigues *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015) nas alterações metabólicas relacionadas a essa doença e compara com o fármaco Metformina.

Entre as ações atribuídas a esses compostos bioativos está a redução do ganho de peso (Gwon *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2021; Lim *et al.*, 2022). No presente modelo experimental, os tratamentos demonstraram efetividade no controle de massa corporal e, conseqüentemente, na redução de adiposidade. O ASE demonstrou uma capacidade ainda maior no controle do ganho de peso quando comparado a metformina.

Quanto à ingesta alimentar, ainda que os resultados não tenham demonstrado uma diferença significativa no consumo calórico entre os grupos superalimentados (HF, HFA e HFM), houve uma redução modesta do grupo HFA que consumiu 37% a menos em relação ao grupo HF e 20% a menos que o HFM. Esses dados podem estar relacionados aos níveis plasmáticos de leptina, hormônio que age diretamente na saciedade.

Nossos resultados encontraram níveis significativamente elevados de leptina no grupo HF quando comparado aos demais (C, HFA e HFM) caracterizando hiperleptinemia e, possivelmente, resistência à sua ação anorexígena. Esses dados podem justificar a maior ingestão alimentar desse grupo. Enquanto que o HFA demonstrou concentrações plasmáticas próximas ao controle e, com isso, uma ingestão calórica menor entre os animais hiperalimentados. Já o grupo tratado com metformina, apresentou quantidade reduzida de

leptina plasmática, o que pode ter prejudicado, ainda que minimamente, a saciedade desses animais tratados.

Esse efeito antiobesogênico do ASE já foi comprovado em diversos outros estudos (de Oliveira *et al.*, 2010; de Oliveira *et al.*, 2015; de Moraes Arnoso *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2020; Tavares *et al.*, 2020), assim como sua capacidade em reduzir os níveis de leptina como demonstrado por de Bem *et al.* (2018).

É importante ressaltar que a obesidade não está associada apenas ao ganho de peso e acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo, mas também em tecidos como pâncreas, fígado e músculo. Evidências sugerem que o acúmulo ectópico de gordura nesses órgãos, considerados tecidos não adiposos, pode causar secreção anormal de lipídios e fatores inflamatórios, prejuízos no funcionamento do órgão e levar ao desenvolvimento de RI (Yu and Wang, 2017; Meex *et al.*, 2019; Kunovský *et al.*, 2021).

O pâncreas é um dos órgãos endócrinos mais importantes envolvidos no metabolismo dos glicolipídeos. Há evidências robustas indicando que a infiltração de gordura pancreática pode introduzir efeitos adversos no metabolismo sistêmico e, aparentemente, também está envolvida na patogênese do DM2 (Wagner *et al.*, 2022). Evidências de cultura de células e estudos em animais sugerem que a gordura excessiva no pâncreas inibe a secreção de insulina ou acelera a apoptose nas células  $\beta$  pancreáticas por meio de vários mecanismos, incluindo a liberação de ácidos graxos livres locais, fatores pró-inflamatórios e vasoativos, acúmulo de metabólitos de triglicerídeos e estresse oxidativo (Lu *et al.* 2019; Wen *et al.* 2022)

Inicialmente, a resistência à insulina pode ser superada pelo aumento da produção desse hormônio pelo pâncreas, resultando em hiperinsulinemia. No entanto, durante a progressão para o diabetes mellitus tipo 2, ocorre insuficiência pancreática, comprometendo sua capacidade de produzir esse hormônio. Curiosamente, também foi demonstrado que o acúmulo de lipídios no pâncreas precede essa disfunção (Shah *et al.*, 2022).

Em nosso modelo experimental, o acúmulo de gordura no tecido pancreático foi bem demonstrado nos animais que receberam dieta hiperlipídica (HF, HFA e HFM) em relação ao grupo controle. Os resultados da imunomarcagem de insulina em células betas também foram coerentes nos animais sem tratamento (HF) nos quais foi induzida a obesidade, sugerindo uma possível hiperinsulinemia característica da RI e na patogênese da DM2. Os animais tratados apresentaram um percentual reduzido de gordura no pâncreas (HFA e HFM) quando comparado ao grupo HF.

Pela primeira vez, avaliamos o efeito do ASE no pâncreas e seus resultados foram novamente promissores. O grupo HFA apresentou uma deposição ectópica de gordura

significativamente menor quando comparado ao grupo HF, superando o efeito terapêutico da metformina no controle da esteatose.

Esses resultados podem ter contribuído para o controle glicêmico dos grupos durante o período de tratamento. Nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica (HF, HFA e HFM), encontramos níveis elevados de glicose plasmática no período pré-tratamento quando comparados ao grupo controle alimentado com dieta padrão. Ao final de 4 semanas de tratamento, podemos perceber uma redução importante e significativa da glicemia de jejum dos grupos HFA e HFM em comparação ao HF.

O teste oral de tolerância a glicose (TOTG) realizado ao final do protocolo experimental, demonstrou o mesmo efeito nos grupos que receberam tratamento com ênfase para o grupo HFA que apresentou um controle glicêmico ainda melhor que o grupo tratado com a metformina ( $p < 0,05$ ). Esses valores comprovam uma melhora na sensibilidade à insulina e, conseqüentemente, na RI presente na obesidade. Isso pode estar relacionado a alguns efeitos encontrados em estudos anteriores em nosso grupo. De Bem *et al.* (2018) e Santos *et al.* (2020) demonstraram que o ASE foi capaz de aumentar a expressão de receptores de insulina bem como de proteínas envolvidas na cascata de sinalização em tecido adiposo e músculo esquelético em modelo de DM2 e obesidade. O aumento dessas proteínas pode favorecer a ação desse hormônio e conseqüentemente a redução da glicemia.

Quanto à expressão de insulina nas ilhotas por imuno-histoquímica, o grupo HF teve níveis quantificados desse hormônio superiores quando comparados ao grupo controle e aos grupos tratados com Metformina e ASE. Esse hormônio tem como principal função manter a homeostase glicêmica.

Outro hormônio fundamental nesse processo e com inúmeros outros efeitos metabólicos é o peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP1). O GLP1 capaz de estimular a síntese e secreção de insulina pós-prandial das células  $\beta$  pancreáticas e melhorar a resistência à insulina (Holter *et al.*, 2022).

Nossos resultados não tiveram diferença significativa de GLP1 entre os grupos analisados. Isso pode ser justificado pelo período longo de 6 horas de jejum que os animais foram submetidos pré-eutanásia. A secreção desse hormônio é estimulada principalmente pela presença de nutrientes no lúmen intestinal no estado pós prandial como carboidratos, gorduras e proteínas (Fehmann *and* Habener, 1992; Holter *et al.*, 2022). Além disso, estudos relatam que em camundongos, esse metabólito é eliminado em poucos minutos devido à clivagem endoproteolítica pela neutral endopeptidase 24.11 (NEP 24.11). Portanto, a medição precisa da secreção de GLP1 em camundongos requer ensaios para metabólitos de NEP 24.11. Os testes

de ELISAs convencionais tem se mostrado inadequados em fornecer uma dosagem fidedigna. (Windeløv *et al.*, 2017; Esser *et al.*, 2022).

Estudos anteriores que já elucidaram o potencial do ASE em reduzir a glicemia de jejum em animais nos quais houve a indução de obesidade com dieta hiperlipídica (de Oliveira *et al.*, 2010; de Oliveira *et al.*, 2015; de Bem *et al.*, 2018; de Moraes Arnosso *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2020; Tavares *et al.*, 2020), no entanto, estamos pela primeira vez comparando esses efeitos com a ação do hipoglicemiante oral mais receitado atualmente no manejo da hiperglicemia e no tratamento do DM2 (Infante *et al.* 2021; Corcoran *and* Jacobs, 2022; Cozma *et al.* 2022).

O acúmulo de gordura intra-hepática (GIH), resultado da deposição intracelular de triglicerídeos no fígado, é promovido pela disfunção do tecido adiposo corporal e pela RI (van Herpen *and* Schrauwen-Hinderling, 2007; Meex *et al.*, 2019). A infiltração de gordura superior a 5%, na ausência de abuso de álcool, caracteriza doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). O acúmulo de GIH está associado a enzimas hepáticas elevadas, resistência à insulina, diabetes tipo 2, risco cardiovascular e malignidades extra-hepáticas (Younossi *et al.*, 2016; Méndez *and* Medina, 2021).

Nossos animais alimentados com dieta hiperlipídica (HF, HFA e HFM) apresentaram uma maior deposição ectópica de gordura quando comparado ao grupo controle, bem como níveis de colesterol total e triglicerídeos plasmáticos elevados. O grupo HF apresentou 16,5% de infiltração gordurosa no tecido hepático, caracterizando DHGNA. O grupo tratado com ASE teve uma redução muito significativa dessa esteatose quando comparado ao grupo tratado com metformina. Sendo assim, apenas o extrato foi capaz de tratar essa esteatose hepática comum no estado de obesidade e supernutrição, se aproximando dos valores apresentados pelo grupo controle.

Sabe-se que o excesso de gordura visceral é capaz de prejudicar a capacidade funcional do órgão. A ALT é uma enzima hepática considerada um marcador muito específico para lesão no fígado, podendo sinalizar deterioração da membrana plasmática dos hepatócitos (Wang *et al.*, 2022). Não é surpresa que os níveis dessa enzima estejam aumentados no grupo HF não tratado que apresentou também um maior nível de esteatose tecidual. Já os animais tratados (HFA e HFM), tiveram seus níveis reduzidos no plasma.

O metabolismo de glicogênio também foi fortemente comprometido no grupo HF, apresentando níveis menores no tecido quando comparados aos demais grupos do protocolo experimental (C, HFA e HFM). Sabe-se que a via de glicogênese é ativada no fígado pela insulina, um hormônio anabólico, em estado hiperglicêmico (Schwartz *et al.* 2016; Khin *et al.* 2021). O estado de RI bem estabelecido nesse grupo pode ter comprometido a ação desse

hormônio prejudicando assim, a conversão da glicose em excesso no sangue em glicogênio hepático.

Quanto à dislipidemia, ambos os tratamentos foram capazes de diminuir triglicérides, porém apenas o ASE foi capaz de controlar o aumento de colesterol total apresentado pelos grupos alimentados com dieta hipelipídica (HF e HFM).

Diversos estudos feitos em nosso laboratório já foram capazes de demonstrar o efeito do ASE no controle da DHGNA e da dislipidemia em modelo de obesidade. Nossos resultados comprovam que o extrato possui capacidade de reduzir substancialmente as alterações metabólicas e a esteatose hepática induzidas pela dieta HF, reduzindo a lipogênese, aumentando a excreção de colesterol e reduzindo dano hepático (de Oliveira *et al.*, 2010; de Oliveira *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2020; Tavares *et al.*, 2020; de Moraes Arnoso *et al.*, 2020).

Pesquisas realizadas em nosso laboratório também demonstraram que o ASE tem a capacidade de aumentar a concentração de adiponectina plasmática no mesmo modelo animal, podendo assim, regular o peso corporal destes animais. Esse aumento da adiponectina plasmática gera maior ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e maior oxidação de ácidos graxos, conseqüentemente, promove maior controle do peso corporal e menor acúmulo de gordura (de Oliveira *et al.*, 2015). Outros estudos demonstraram que o ASE reduz a adipogênese e suprime o acúmulo de lipídios no modelo *in vivo* e nos adipócitos, reforçando nossos resultados (de Oliveira *et al.*, 2015). No entanto, ainda não foi evidenciado por qual mecanismo o ASE atua promovendo estes benefícios.

A redução da obesidade e de suas comorbidades pode ser explicada pela ação dos polifenóis em melhorar várias vias metabólicas no organismo (Méndez *and* Medina, 2021).

Recentemente, mais e mais extratos ou compostos derivados de plantas foram avaliados como tendo atividades antidiabéticas e agindo na manutenção da normoglicemia bem como atuando com efeitos antiobesogênicos e no controle de todas as alterações demonstradas no presente trabalho enfatizando o enorme potencial desses compostos bioativos no tratamento de doenças crônicas não transmissíveis (Subhasree *et al.*, 2015; He *et al.*, 2019; Tang *et al.*, 2019; Herranz-López *et al.*, 2019; Leverrier *et al.*, 2019; Zielinska-Blizniewska *et al.* 2019; Balsan *et al.*, 2019; Jugran *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2021; Méndez *and* Medina, 2021; Zaky *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022; Mirzababaei *et al.* 2022).

Graças à sua segurança e eficácia estendida, os compostos vegetais são considerados alternativas aos medicamentos tradicionais para o tratamento da obesidade ou como base para o desenvolvimento de novos agentes farmacêuticos (Pérez-Torres *et al.* 2021).

Estudos prévios do nosso grupo demonstraram um efeito preventivo do ASE em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. Entretanto, demonstramos pela primeira vez, um efeito terapêutico do extrato sobre essas mesmas alterações metabólicas em novos tecidos. Os resultados apresentados no presente trabalho reforçam a teoria de que o ASE poderia ser uma estratégia potencial para modular a RI e comorbidades características da obesidade, apresentando grande potencial como alternativa terapêutica farmacológica eficiente no controle dessas alterações visto que os tratamentos atuais estão associados a diversos efeitos colaterais.

Em muitos de nossos resultados, os efeitos do extrato foram mais significativos do que da metformina. Os principais mecanismos de ação do fármaco estão relacionados a seu efeito hipoglicemiante, agindo na redução da produção de glicose hepática (gliconeogênese), na redução da absorção intestinal de glicose e na melhora da sensibilidade à insulina (Cozma *et al.* 2022; Drzewoski *and* Hanefeld, 2021). No entanto, esses resultados modestos podem estar relacionados ao tempo de tratamento aos quais os animais foram submetidos. É possível que 4 semanas não tenha sido suficiente para que todos os benefícios já comprovados da metformina fossem demonstrados no atual modelo experimental.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ingestão de uma dieta rica em lipídeos durante um determinado período foi capaz de induzir obesidade e alterações metabólicas, tais como, dislipidemia, hiperglicemia, hiperleptinemia, alteração de ALT, redução de glicogênio hepático, esteatose pancreática e hepática. Nossos resultados nos permitiram concluir que ambos os tratamentos foram capazes de melhorar diversos marcadores associados ao ganho de peso excessivo. O tratamento com ASE foi capaz de reduzir o peso corporal, o índice de adiposidade, os níveis de colesterol total, glicose, leptina e ALT no plasma além de reduzir a imunomarcagem de insulina nas ilhotas. O ASE também se mostrou eficaz na redução de esteatose pancreática e hepática e aumentou o glicogênio hepático, apresentando resultados em alguns desses pontos ainda mais promissores do que os da metformina utilizada para comparação. Este efeito é provavelmente mediado pelos polifenóis presentes no extrato do caroço do açaí. Evidências recentes demonstraram que esses compostos têm um efeito antiobesogênico significativo e são capazes de melhorar a função dos órgãos envolvidos no controle metabólico. Diante desses estudos pré-clínicos, o ASE mostrou-se bastante promissor, expandindo a viabilidade de administração oral do mesmo no tratamento de alterações associadas à obesidade e à RI a fim de manter a homeostase glicêmica e amenizar os impactos relacionados à doença.

## REFERÊNCIAS

ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE, DRAZNIN B, ARODA VR, BAKRIS G, BENSON G, BROWN FM, FREEMAN R, GREEN J, HUANG E, ISAACS D, KAHAN S, LEON J, LYONS SK, PETERS AL, PRAHALAD P, REUSCH JEB, YOUNG-HYMAN D. 9. **Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2022.** *Diabetes Care.* 2022 Jan 1;45(Suppl 1):S125-S143. doi: 10.2337/dc22-S009. PMID: 34964831.

AEIN A, OMIDI N, KHATAMI F, SAMAT S, KHORGAMI MR. **Development, Implementation, and Evaluation of an Educational Package to Control the Biomedical Profile of Metabolic Syndrome.** *Int J Prev Med.* 2021 Mar 29; 12:31. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM\_434\_20. PMID: 34249280; PMCID: PMC8218797.

BALSAN G, PELLANDA LC, SAUSEN G, GALARRAGA T, ZAFFARI D, PONTIN B, PORTAL VL. **Effect of yerba mate and green tea on paraoxonase and leptin levels in patients affected by overweight or obesity and dyslipidemia: a randomized clinical trial.** *Nutr J.* 2019 Jan 19;18(1):5. doi: 10.1186/s12937-018-0426-y. PMID: 30660196; PMCID: PMC6339368.

BANCROFT JD, STEVEN A. **Theory & practice of histological technique** - 1990 (3 rd ed.). N.Y: Churdchill Livingstone.

BAPTISTA SL, COPETTI CLK, CARDOSO AL, DI PIETRO PF. **Biological activities of açai (Euterpe oleracea Mart.) and juçara (Euterpe edulis Mart.) intake in humans: an integrative review of clinical trials.** *Nutr Rev.* 2021 Nov 10;79(12):1375-1391. doi: 10.1093/nutrit/nuab002. PMID: 33555024.

BELLOU V, BELBASIS L, TZOULAKI I, EVANGELOU E. **Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses.** *PLoS One.* 2018 Mar 20;13(3):e0194127. doi: 10.1371/journal.pone.0194127. PMID: 29558518; PMCID: PMC5860745.

BLACHIER F, MALAISSE WJ. **Effect of exogenous ATP upon inositol phosphate production, cationic fluxes and insulin release in pancreatic islet cells.** *Biochim Biophys Acta.* 1988 Jun 30;970(2):222-9. doi: 10.1016/0167-4889(88)90182-6. PMID: 2454675.

BOLAND BB, RHODES CJ, GRIMSBY JS. **The dynamic plasticity of insulin production in  $\beta$ -cells.** *Mol Metab.* 2017 May 4;6(9):958-973. doi: 10.1016/j.molmet.2017.04.010. PMID: 28951821; PMCID: PMC5605729.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo, processamento, padronização e comercialização do açai na Amazônia.** Fortaleza, 2010. 113 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Obesidade e desnutrição.** 2022. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/obesidade\\_desnutricao.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/obesidade_desnutricao.pdf). Acesso em: 14 ago. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. 2021, Brasília, DF, 2022.

BROWN MR, MATVEYENKO AV. **It's What and When You Eat: An Overview of Transcriptional and Epigenetic Responses to Dietary Perturbations in Pancreatic Islets**. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Mar 10; 13:842603. doi: 10.3389/fendo.2022.842603. PMID: 35355560; PMCID: PMC8960041.

BUNNEY PE, ZINK AN, HOLM AA, BILLINGTON CJ, KOTZ CM. **Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet**. *Physiol Behav*. 2017 Jul 1; 176:139-148. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.03.040. Epub 2017 Mar 28. PMID: 28363838; PMCID: PMC5510739.

CAMPBELL JE, NEWGARD CB. **Mechanisms controlling pancreatic islet cell function in insulin secretion**. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021 Feb;22(2):142-158. doi: 10.1038/s41580-020-00317-7. Epub 2021 Jan 4. PMID: 33398164; PMCID: PMC8115730.

CAPOZZI ME, SVENDSEN B, ENCISCO SE, LEWANDOWSKI SL, MARTIN MD, LIN H, JAFFE JL, COCH RW, HALDEMAN JM, MACDONALD PE, MERRINS MJ, D'ALESSIO DA, CAMPBELL JE.  **$\beta$  Cell tone is defined by proglucagon peptides through cAMP signaling**. *JCI Insight*. 2019 Mar 7;4(5):e126742. doi: 10.1172/jci.insight.126742. PMID: 30720465; PMCID: PMC6483521.

CHERRINGTON AD, MOORE MC, SINDELAR DK, EDGERTON DS. **Insulin action on the liver in vivo**. *Biochem Soc Trans*. 2007 Nov;35(Pt 5):1171-4. doi: 10.1042/BST0351171. PMID: 17956305.

CHLIPALA EA, BENDZINSKI CM, DORNER C, SARTAN R, COPELAND K, PEARCE R, DOHERTY F, BOLON B. **An Image Analysis Solution For Quantification and Determination of Immunohistochemistry Staining Reproducibility**. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2020 Jul;28(6):428-436. doi: 10.1097/PAI.0000000000000776. PMID: 31082827; PMCID: PMC7368846.

CHRISTENSEN AA, GANNON M. **The Beta Cell in Type 2 Diabetes**. *Curr Diab Rep*. 2019 Aug 9;19(9):81. doi: 10.1007/s11892-019-1196-4. PMID: 31399863.

CHOUDHURY M, GILBERTSON M, LAGADIC-GOSSMANN D, HOWARD S, LIND L, TOMLINSON CR, VONDRACEK J, HEINDEL JJ. **Obesity I: Overview and molecular and biochemical mechanisms**. *Biochem Pharmacol*. 2022 May; 199:115012. doi: 10.1016/j.bcp.2022.115012. Epub 2022 Apr 5. PMID: 35393120; PMCID: PMC9050949.

CORCORAN C, JACOBS TF. **Metformin**. 2022 May 2. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan—. PMID: 30085525.

CORKEY BE, DEENEY JT, MERRINS MJ. **What Regulates Basal Insulin Secretion and Causes Hyperinsulinemia?** *Diabetes*. 2021 Oct;70(10):2174-2182. doi: 10.2337/dbi21-0009. PMID: 34593535; PMCID: PMC8576498.

COZMA GV, APOSTU A, MACASOI I, DEHELEAN CA, CRETU OM, DINU S, GAIȚĂ D, MANEA A. **In Vitro and In Ovo Evaluation of the Potential Hepatoprotective Effect of Metformin.** *Medicina (Kaunas)*. 2022 May 25;58(6):705. doi: 10.3390/medicina58060705. PMID: 35743967; PMCID: PMC9228172.

CUÍÑAS A, GARCÍA-MORALES V, VIÑA D, GIL-LONGO J, CAMPOS-TOIMIL M. **Activation of PKA and Epac proteins by cyclic AMP depletes intracellular calcium stores and reduces calcium availability for vasoconstriction.** *Life Sci*. 2016 Jun 15; 155:102-9. doi: 10.1016/j.lfs.2016.03.059. Epub 2016 Apr 30. PMID: 27142830.

CZECH MP. **Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes.** *Nat Med*. 2017 Jul 11;23(7):804-814. doi: 10.1038/nm.4350. PMID: 28697184; PMCID: PMC6048953.

CZECH MP. **Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes.** *Mol Metab*. 2020 Apr; 34:27-42. doi: 10.1016/j.molmet.2019.12.014. Epub 2020 Jan 7. PMID: 32180558; PMCID: PMC6997501.

DA COSTA CA, DE OLIVEIRA PR, DE BEM GF, DE CAVALHO LC, OGNIBENE DT, DA SILVA AF, DOS SANTOS VALENÇA S, PIRES KM, DA CUNHA SOUSA PJ, DE MOURA RS, RESENDE AC. **Euterpe oleracea Mart. derived polyphenols prevent endothelial dysfunction and vascular structural changes in renovascular hypertensive rats: role of oxidative stress.** *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2012 Dec;385(12):1199-209. doi: 10.1007/s00210-012-0798-z. Epub 2012 Oct 9. PMID: 23052352.

DA COSTA CA, OGNIBENE DT, CORDEIRO VSC, DE BEM GF, SANTOS IB, SOARES RA, DE MELO CUNHA LL, CARVALHO LCRM, DE MOURA RS, RESENDE AC. **Effect of Euterpe oleracea Mart. Seeds Extract on Chronic Ischemic Renal Injury in Renovascular Hypertensive Rats.** *J Med Food*. 2017 Oct;20(10):1002-1010. doi: 10.1089/jmf.2017.0011. Epub 2017 Jun 26. PMID: 28650699.

DE BEM GF, DA COSTA CA, DE OLIVEIRA PR, CORDEIRO VS, SANTOS IB, DE CARVALHO LC, SOUZA MA, OGNIBENE DT, DALEPRANE JB, SOUSA PJ, RESENDE AC, DE MOURA RS. **Protective effect of Euterpe oleracea Mart (açai) extract on programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during pregnancy.** *J Pharm Pharmacol*. 2014 Sep;66(9):1328-38. doi: 10.1111/jphp.12258. Epub 2014 Apr 14. PMID: 24725099.

DE BEM GF, COSTA CA, SANTOS IB, CRISTINO CORDEIRO VDS, DE CARVALHO LCRM, DE SOUZA MAV, SOARES RA, SOUSA PJDC, OGNIBENE DT, RESENDE AC, DE MOURA RS. **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*. 2018 Jun 19;13(6):e0199207. doi: 10.1371/journal.pone.0199207. PMID: 29920546; PMCID: PMC6007924.

DEFRONZO RA. **Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM.** *Diabetes*. 1988 Jun;37(6):667-87. doi: 10.2337/diab.37.6.667. PMID: 3289989.

DE MOURA RS, FERREIRA TS, LOPES AA, PIRES KM, NESI RT, RESENDE AC, SOUZA PJ, SILVA AJ, BORGES RM, PORTO LC, VALENCA SS. **Effects of Euterpe oleracea Mart. (AÇAÍ) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse.** *Phytomedicine*. 2012 Feb 15;19(3-4):262-9. doi: 10.1016/j.phymed.2011.11.004. Epub 2011 Dec 3. PMID: 22138278.

DE MOURA RS, RESENDE ÂC. **Cardiovascular and Metabolic Effects of Açaí, an Amazon Plant.** *J Cardiovasc Pharmacol*. 2016 Jul;68(1):19-26. doi: 10.1097/FJC.0000000000000347. PMID: 26657713.

DE MORAES ARNOSO BJ, MAGLIACCIO FM, DE ARAÚJO CA, DE ANDRADE SOARES R, SANTOS IB, DE BEM GF, FERNANDES-SANTOS C, OGNIBENE DT, DE MOURA RS, RESENDE AC, DALEPRANE JB, COSTA CAD. **Açaí seed extract (ASE) rich in proanthocyanidins improves cardiovascular remodeling by increasing antioxidant response in obese high-fat diet-fed mice.** *Chem Biol Interact*. 2022 Jan 5; 351:109721. doi: 10.1016/j.cbi.2021.109721. Epub 2021 Oct 27. PMID: 34715092.

DE OLIVEIRA PR, DA COSTA CA, DE BEM GF, DE CAVALHO LC, DE SOUZA MA, DE LEMOS NETO M, DA CUNHA SOUSA PJ, DE MOURA RS, RESENDE AC. **Effects of an extract obtained from fruits of Euterpe oleracea Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet.** *J Cardiovasc Pharmacol*. 2010 Dec;56(6):619-26. doi: 10.1097/FJC.0b013e3181f78da4. PMID: 20838232.

DE OLIVEIRA PR, DA COSTA CA, DE BEM GF, CORDEIRO VS, SANTOS IB, DE CARVALHO LC, DA CONCEIÇÃO EP, LISBOA PC, OGNIBENE DT, SOUSA PJ, MARTINS GR, DA SILVA AJ, DE MOURA RS, RESENDE AC. **Euterpe oleracea Mart. Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion.** *PLoS One*. 2015 Dec 2;10(12):e0143721. doi: 10.1371/journal.pone.0143721. PMID: 26630290; PMCID: PMC4668108.

DOLENŠEK J, RUPNIK MS, STOŽER A. **Structural similarities and differences between the human and the mouse pancreas.** *Islets*. 2015;7(1):e1024405. doi: 10.1080/19382014.2015.1024405. PMID: 26030186; PMCID: PMC4589993.

DRZEWOSKI J, HANEFELD M. **The Current and Potential Therapeutic Use of Metformin-The Good Old Drug.** *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Feb 5;14(2):122. doi: 10.3390/ph14020122. PMID: 33562458; PMCID: PMC7915435.

DUCA FA, CÔTÉ CD, RASMUSSEN BA, ZADEH-TAHMASEBI M, RUTTER GA, FILIPPI BM, LAM TK. **Metformin activates a duodenal Ampk-dependent pathway to lower hepatic glucose production in rats.** *Nat Med*. 2015 May;21(5):506-11. doi: 10.1038/nm.3787. Epub 2015 Apr 6. Erratum in: *Nat Med*. 2016 Feb;22(2):217. PMID: 25849133; PMCID: PMC6104807.

EKNOYAN G. **A history of obesity, or how what was good became ugly and then bad.** *Adv Chronic Kidney Dis*. 2006 Oct;13(4):421-7. doi: 10.1053/j.ackd.2006.07.002. PMID: 17045228.

ESSER N, MONGOVIN SM, PARILLA J, BARROW BM, MUNDINGER TO, FOUNTAINE BS, LARMORE MJ, CASTILLO JJ, AKTER R, HULL RL, ZRAIKA S. **Neprilysin inhibition improves intravenous but not oral glucose-mediated insulin secretion via GLP-1R signaling in mice with  $\beta$ -cell dysfunction.** *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2022 Mar 1;322(3):E307-E318. doi: 10.1152/ajpendo.00234.2021. Epub 2022 Feb 7. PMID: 35128957; PMCID: PMC8917916.

FEHMANN HC, HABENER JF. **Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells.** *Endocrinology.* 1992 Jan;130(1):159-66. doi: 10.1210/endo.130.1.1309325. PMID: 1309325.

FIGUEIREDO AM, CARDOSO AC, PEREIRA BLB, SILVA RAC, RIPA AFGD, PINELLI TFB, OLIVEIRA BC, RAFACHO BPM, ISHIKAWA LLW, AZEVEDO PS, OKOSHI K, FERNANDES AAH, ZORNOFF LAM, MINICUCCI MF, POLEGATO BF, PAIVA SAR. **Açaí supplementation (*Euterpe oleracea* Mart.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats through different mechanistic pathways.** *PLoS One.* 2022 Mar 4;17(3):e0264854. doi: 10.1371/journal.pone.0264854. PMID: 35245316; PMCID: PMC8896726.

FINAN B, CAPOZZI ME, CAMPBELL JE. **Repositioning Glucagon Action in the Physiology and Pharmacology of Diabetes.** *Diabetes.* 2020 Apr;69(4):532-541. doi: 10.2337/dbi19-0004. Epub 2019 Jun 9. PMID: 31178432; PMCID: PMC7085250.

FREEMAN AM, PENNING S N. **Insulin Resistance.** 2022 Jul 4. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 29939616.

FRIELER RA, VIGIL TM, SONG J, LEUNG C, LUMENG CN, MORTENSEN RM. **High-fat and high-sodium diet induces metabolic dysfunction in the absence of obesity.** *Obesity (Silver Spring).* 2021 Nov;29(11):1868-1881. doi: 10.1002/oby.23264. Epub 2021 Sep 21. PMID: 34549547; PMCID: PMC8571049.

GAISANO HY. **Recent new insights into the role of SNARE and associated proteins in insulin granule exocytosis.** *Diabetes Obes Metab.* 2017 Sep;19 Suppl 1:115-123. doi: 10.1111/dom.13001. PMID: 28880475.

GASTALDELLI A, GAGGINI M, DEFRONZO RA. **Role of Adipose Tissue Insulin Resistance in the Natural History of Type 2 Diabetes: Results From the San Antonio Metabolism Study.** *Diabetes.* 2017 Apr;66(4):815-822. doi: 10.2337/db16-1167. Epub 2017 Jan 4. PMID: 28052966.

GONZÁLEZ-CASTEJÓN M, RODRIGUEZ-CASADO A. **Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity: a review.** *Pharmacol Res.* 2011 Nov;64(5):438-55. doi: 10.1016/j.phrs.2011.07.004. Epub 2011 Jul 21. PMID: 21798349.

GRZYBOWSKA M, BOBER J, OLSZEWSKA M. **Metformin - mechanisms of action and use for the treatment of type 2 diabetes mellitus.** *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2011 May 6; 65:277-85. Polish. doi: 10.5604/17322693.941655. PMID: 21677353.

GU C, LOUBE J, LEE R, BEVANS-FONTI S, WU TD, BARMINE JH, JUN JC, MCCORMACK MC, HANSEL NN, MITZNER W, POLOTSKY VY. **Metformin Alleviates Airway Hyperresponsiveness in a Mouse Model of Diet-Induced Obesity.** *Front Physiol.* 2022 Apr 29;13:883275. doi: 10.3389/fphys.2022.883275. PMID: 35574481; PMCID: PMC9098833.

GUERRINI A. **Obesity and Depression in the Enlightenment: The Life and Times of George Cheyne.** Series for Science and Culture. University of Oklahoma Press, 2000. 304 p. v. 3. ISBN 978-0806131597.

GUIGAS B, VIOLLET B. **Targeting AMPK: From Ancient Drugs to New Small-Molecule Activators.** *Exp Suppl.* 2016; 107:327-350. doi: 10.1007/978-3-319-43589-3\_13. PMID: 27812986.

GWON SY, AHN JY, KIM TW, HA TY. **Zanthoxylum piperitum DC ethanol extract suppresses fat accumulation in adipocytes and high fat diet-induced obese mice by regulating adipogenesis.** *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2012;58(6):393-401. doi: 10.3177/jnsv.58.393. PMID: 23419397.

HALBAN PA, POLONSKY KS, BOWDEN DW, HAWKINS MA, LING C, MATHER KJ, POWERS AC, RHODES CJ, SUSSEL L, WEIR GC.  **$\beta$ -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment.** *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Jun;99(6):1983-92. doi: 10.1210/jc.2014-1425. Epub 2014 Apr 8. PMID: 24712577; PMCID: PMC5393482.

HARVEY J. **Food for Thought: Leptin and Hippocampal Synaptic Function.** *Front Pharmacol.* 2022 Jun 17; 13:882158. doi: 10.3389/fphar.2022.882158. PMID: 35784728; PMCID: PMC9247348.

HE JH, CHEN LX, LI H. **Progress in the discovery of naturally occurring anti-diabetic drugs and in the identification of their molecular targets.** *Fitoterapia.* 2019 Apr; 134:270-289. doi: 10.1016/j.fitote.2019.02.033. Epub 2019 Mar 3. PMID: 30840917.

HERRANZ-LÓPEZ M, OLIVARES-VICENTE M, BOIX-CASTEJÓN M, CATURLA N, ROCHE E, MICOL V. **Differential effects of a combination of Hibiscus sabdariffa and Lippia citriodora polyphenols in overweight/obese subjects: A randomized controlled trial.** *Sci Rep.* 2019 Feb 28;9(1):2999. doi: 10.1038/s41598-019-39159-5. PMID: 30816148; PMCID: PMC6395806.

HENQUIN JC. **Regulation of insulin secretion: a matter of phase control and amplitude modulation.** *Diabetologia.* 2009 May;52(5):739-51. doi: 10.1007/s00125-009-1314-y. Epub 2009 Mar 14. PMID: 19288076.

HENSTRIDGE DC, ABILDGAARD J, LINDEGAARD B, FEBBRAIO MA. **Metabolic control and sex: A focus on inflammatory-linked mediators.** *Br J Pharmacol.* 2019 Nov;176(21):4193-4207. doi: 10.1111/bph.14642. Epub 2019 Apr 21. PMID: 30820935; PMCID: PMC6877797.

HERNÁNDEZ MORANTE JJ, DÍAZ SOLER I, MUÑOZ JSG, SÁNCHEZ HP, BARBERÁ ORTEGA MDC, MARTÍNEZ CM, MORILLAS RUIZ JM. **Moderate Weight Loss**

**Modifies Leptin and Ghrelin Synthesis Rhythms but Not the Subjective Sensations of Appetite in Obesity Patients.** *Nutrients*. 2020 Mar 27;12(4):916. doi: 10.3390/nu12040916. PMID: 32230732; PMCID: PMC7230904.

HOLTER MM, PHUONG DJ, LEE I, SAIKIA M, WEIKERT L, FOUNTAIN S, ANDERSON ET, FU Q, ZHANG S, SLOOP KW, CUMMINGS BP. **14-3-3-zeta mediates GLP-1 receptor agonist action to alter  $\alpha$  cell proglucagon processing.** *Sci Adv*. 2022 Jul 22;8(29):eabn3773. doi: 10.1126/sciadv. abn3773. Epub 2022 Jul 22. PMID: 35867787; PMCID: PMC9307243.

HOSSAN T, KUNDU S, ALAM SS, NAGARAJAN S. **Epigenetic Modifications Associated with the Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus.** *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2019;19(6):775-786. doi: 10.2174/1871530319666190301145545. PMID: 30827271.

HOUKAMAU C, STRONGE S, WARBRICK I, DELL K, MIKA J, NEWTH J, SIBLEY C, KHA KL. **Cultural efficacy predicts body satisfaction for Māori.** *PLoS One*. 2021 Jun 23;16(6):e0253426. doi: 10.1371/journal.pone.0253426. PMID: 34161379; PMCID: PMC8221507.

HSU WH, HSIAO PJ, LIN PC, CHEN SC, LEE MY, SHIN SJ. **Effect of metformin on kidney function in patients with type 2 diabetes mellitus and moderate chronic kidney disease.** *Oncotarget*. 2017 Dec 17;9(4):5416-5423. doi: 10.18632/oncotarget.23387. PMID: 29435189; PMCID: PMC5797060.

HU F, QIU X, BU S. **Pancreatic islet dysfunction in type 2 diabetes mellitus.** *Arch Physiol Biochem*. 2020 Jul;126(3):235-241. doi: 10.1080/13813455.2018.1510967. Epub 2018 Oct 6. PMID: 30293453.

HUANG MQ, ZHOU CJ, ZHANG YP, ZHANG XQ, XU W, LIN J, WANG PJ. **Salvianolic Acid B Ameliorates Hyperglycemia and Dyslipidemia in db/db Mice through the AMPK Pathway.** *Cell Physiol Biochem*. 2016;40(5):933-943. doi: 10.1159/000453151. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27941340.

INFANTE M, LEONI M, CAPRIO M, FABBRI A. **Long-term metformin therapy and vitamin B12 deficiency: An association to bear in mind.** *World J Diabetes*. 2021 Jul 15;12(7):916-931. doi: 10.4239/wjd. v12.i7.916. PMID: 34326945; PMCID: PMC8311483.

ITO H, ISHIDA H, TAKEUCHI Y, ANTOKU S, ABE M, MIFUNE M, TOGANE M. **Long-term effect of metformin on blood glucose control in non-obese patients with type 2 diabetes mellitus.** *Nutr Metab (Lond)*. 2010 Nov 12; 7:83. doi: 10.1186/1743-7075-7-83. PMID: 21070671; PMCID: PMC2991324.

JEVON D, DENG K, HALLAHAN N, KUMAR K, TONG J, GAN WJ, TRAN C, BILEK M, THORN P. **Local activation of focal adhesion kinase orchestrates the positioning of presynaptic scaffold proteins and Ca<sup>2+</sup> signalling to control glucose-dependent insulin secretion.** *Elife*. 2022 May 13;11:e76262. doi: 10.7554/eLife.76262. PMID: 35559734; PMCID: PMC9126582.



JUGRAN AK, RAWAT S, DEVKOTA HP, BHATT ID, RAWAL RS. **Diabetes and plant-derived natural products: From ethnopharmacological approaches to their potential for modern drug discovery and development.** *Phytother Res.* 2021 Jan;35(1):223-245. doi: 10.1002/ptr.6821. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32909364.

KHIN PP, LEE JH, JUN HS. **A Brief Review of the Mechanisms of  $\beta$ -Cell Dedifferentiation in Type 2 Diabetes.** *Nutrients.* 2021 May 10;13(5):1593. doi: 10.3390/nu13051593. PMID: 34068827; PMCID: PMC8151793.

KLEIN S, GASTALDELLI A, YKI-JÄRVINEN H, SCHERER PE. **Why does obesity cause diabetes?** *Cell Metab.* 2022 Jan 4;34(1):11-20. doi: 10.1016/j.cmet.2021.12.012. PMID: 34986330; PMCID: PMC8740746.

KLOK MD, JAKOBSDOTTIR S, DRENT ML. **The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review.** *Obes Rev.* 2007 Jan;8(1):21-34. doi: 10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x. PMID: 17212793.

KUMAR A, NEGI AS, CHAUHAN A, SEMWAL R, KUMAR R, SEMWAL RB, SINGH R, JOSHI T, CHANDRA S, JOSHI SK, SEMWAL DK. **Formulation and evaluation of SGLT2 inhibitory effect of a polyherbal mixture inspired from Ayurvedic system of medicine.** *J Tradit Complement Med.* 2022 Mar 22;12(5):477-487. doi: 10.1016/j.jtcme.2022.03.003. PMID: 36081821; PMCID: PMC9446025.

KUNOVSKÝ L, DÍTĚ P, JABANDŽIEV P, EID M, POREDŠKÁ K, VACULOVÁ J, SOCHOROVÁ D, JANEČEK P, TESAŘÍKOVÁ P, BLAHO M, TRNA J, HLAVSA J, KALA Z. **Causes of Exocrine Pancreatic Insufficiency Other Than Chronic Pancreatitis.**

*J Clin Med.* 2021 Dec 10;10(24):5779. doi: 10.3390/jcm10245779. PMID: 34945075; PMCID: PMC8708123.

LABORATORY ANIMAL RESOURCE BANK. **Strain Detail: C57BL/6-Dll3oma mice.** In: National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, 2022. Disponível em: [https://animal.nibiohn.go.jp/e\\_oma.html](https://animal.nibiohn.go.jp/e_oma.html). Acesso em: 8 set. 2022.

LAURENTI MC, ARORA P, DALLA MAN C, ANDREWS JC, RIZZA RA, MATVEYENKO A, BAILEY KR, COBELLI C, VELLA A. **The relationship between insulin and glucagon concentrations in non-diabetic humans.** *Physiol Rep.* 2022 Jul;10(13):e15380. doi: 10.14814/phy2.15380. PMID: 35822422; PMCID: PMC9277417.

LECLERCQ IA, DA SILVA MORAIS A, SCHROYEN B, VAN HUL N, GEERTS A. **Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: mechanisms and consequences.** *J Hepatol.* 2007 Jul;47(1):142-56. doi: 10.1016/j.jhep.2007.04.002. Epub 2007 Apr 16. PMID: 17512085.

LEITNER DR, FRÜHBECK G, YUMUK V, SCHINDLER K, MICIC D, WOODWARD E, TOPLAK H. **Obesity and Type 2 Diabetes: Two Diseases with a Need for Combined Treatment Strategies - EASO Can Lead the Way.** *Obes Facts.* 2017;10(5):483-492. doi: 10.1159/000480525. Epub 2017 Oct 12. PMID: 29020674; PMCID: PMC5741209.

LEVERRIER A, DAGUET D, CALAME W, DHOYE P, KODIMULE SP. **Helianthus annuus Seed Extract Affects Weight and Body Composition of Healthy Obese Adults during 12 Weeks of Consumption: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Study.** *Nutrients*. 2019 May 15;11(5):1080. doi: 10.3390/nu11051080. PMID: 31096648; PMCID: PMC6566515.

LI J, WU H, LIU Y, YANG L. **High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR.** *Exp Anim*. 2020 Aug 5;69(3):326-335. doi: 10.1538/expanim.19-0148. Epub 2020 Mar 19. PMID: 32188837; PMCID: PMC7445062.

LI S, LI S, DING J, ZHOU W. **Visceral fat area and body fat percentage measured by bioelectrical impedance analysis correlate with glycometabolism.** *BMC Endocr Disord*. 2022 Sep 15;22(1):231. doi: 10.1186/s12902-022-01142-z. PMID: 36109703; PMCID: PMC9479287.

LIN CH, KUO YH, SHIH CC. **Eburicoic Acid, a Triterpenoid Compound from *Antrodia camphorata*, Displays Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects in Palmitate-Treated C2C12 Myotubes and in High-Fat Diet-Fed Mice.** *Int J Mol Sci*. 2017 Nov 2;18(11):2314. doi: 10.3390/ijms18112314. PMID: 29099085; PMCID: PMC5713283.

LIN X, LI H. **Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics.** *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Sep 6; 12:706978. doi: 10.3389/fendo.2021.706978. PMID: 34552557; PMCID: PMC8450866.

LU T, WANG Y, DOU T, XUE B, TAN Y, YANG J. **Pancreatic fat content is associated with  $\beta$ -cell function and insulin resistance in Chinese type 2 diabetes subjects.** *Endocr J*. 2019 Mar 28;66(3):265-270. doi: 10.1507/endocrj. EJ18-0436. Epub 2019 Jan 30. PMID: 30700664.

LIM HJ, LIM TJ, LEE JH, LEE JH, KIM MO, PARK JY, KIM JT, KIM MJ, JANG SH, CHOI SH. **Anti-obesity Effects of Dark Tea Extracts by Down-regulation of C/EBP $\alpha$  and PPAR $\gamma$ .** *In Vivo*. 2022 Jul-Aug;36(4):1753-1760. doi: 10.21873/invivo.12888. PMID: 35738599; PMCID: PMC9301435.

MATHIEU P, POIRIER P, PIBAROT P, LEMIEUX I, DESPRÉS JP. **Visceral obesity: the link among inflammation, hypertension, and cardiovascular disease.** *Hypertension*. 2009 Apr;53(4):577-84. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.110320. Epub 2009 Feb 23. PMID: 19237685.

MATTHAEI S, GRETEN H. **Evidence that metformin ameliorates cellular insulin-resistance by potentiating insulin-induced translocation of glucose transporters to the plasma membrane.** *Diabetes Metab*. 1991 May;17(1 Pt 2):150-8. PMID: 1718789.

MEEX RCR, BLAAK EE, VAN LOON LJC. **Lipotoxicity plays a key role in the development of both insulin resistance and muscle atrophy in patients with type 2 diabetes.** *Obes Rev*. 2019 Sep;20(9):1205-1217. doi: 10.1111/obr.12862. Epub 2019 Jun 26. PMID: 31240819; PMCID: PMC6852205.

MEKADA K, ABE K, MURAKAMI A, NAKAMURA S, NAKATA H, MORIWAKI K, OBATA Y, YOSHIKI A. **Genetic differences among C57BL/6 substrains.** *Exp Anim*. 2009 Apr;58(2):141-9. doi: 10.1538/expanim.58.141. PMID: 19448337.

MÉNDEZ L, MEDINA I. **Polyphenols and Fish Oils for Improving Metabolic Health: A Revision of the Recent Evidence for Their Combined Nutraceutical Effects.** *Molecules*. 2021 Apr 22;26(9):2438. doi: 10.3390/molecules26092438. PMID: 33922113; PMCID: PMC8122614.

MERRINS MJ, CORKEY BE, KIBBEY RG, PRENTKI M. **Metabolic cycles and signals for insulin secretion.** *Cell Metab*. 2022 Jul 5;34(7):947-968. doi: 10.1016/j.cmet.2022.06.003. Epub 2022 Jun 20. PMID: 35728586; PMCID: PMC9262871.

MESHKANI R, ADELI K. **Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease.** *Clin Biochem*. 2009 Sep;42(13-14):1331-46. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.05.018. Epub 2009 Jun 6. PMID: 19501581.

MIRZABABAEI A, TAHERI A, RASAEI N, MEHRANFAR S, JAMILI S, CLARK CCT, MIRZAEI K. **The relationship between dietary phytochemical index and resting metabolic rate mediated by inflammatory factors in overweight and obese women: a cross-sectional study.** *BMC Womens Health*. 2022 Jul 25;22(1):313. doi: 10.1186/s12905-022-01894-9. PMID: 35879706; PMCID: PMC9317090.

MÜLLER TD, FINAN B, BLOOM SR, D'ALESSIO D, DRUCKER DJ, FLATT PR, FRITSCHÉ A, GRIBBLE F, GRILL HJ, HABENER JF, HOLST JJ, LANGHANS W, MEIER JJ, NAUCK MA, PEREZ-TILVE D, POCAI A, REIMANN F, SANDOVAL DA, SCHWARTZ TW, SEELEY RJ, STEMMER K, TANG-CHRISTENSEN M, WOODS SC, DIMARCHI RD, TSCHÖP MH. **Glucagon-like peptide 1 (GLP-1).** *Mol Metab*. 2019 Dec; 30:72-130. doi: 10.1016/j.molmet.2019.09.010. Epub 2019 Sep 30. PMID: 31767182; PMCID: PMC6812410.

NCD, Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). **Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults.** *Lancet*. 2017 Dec 16;390(10113):2627-2642. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32129-3. Epub 2017 Oct 10. PMID: 29029897; PMCID: PMC5735219.

PEARSON T, WATTIS JA, KING JR, MACDONALD IA, MAZZATTI DJ. **The Effects of Insulin Resistance on Individual Tissues: An Application of a Mathematical Model of Metabolism in Humans.** *Bull Math Biol*. 2016 Jun;78(6):1189-217. doi: 10.1007/s11538-016-0181-1. Epub 2016 Jun 15. PMID: 27306890; PMCID: PMC4949305.

PÉREZ-TORRES I, CASTREJÓN-TÉLLEZ V, SOTO ME, RUBIO-RUIZ ME, MANZANO-PECH L, GUARNER-LANS V. **Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity.** *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 11;22(4):1786. doi: 10.3390/ijms22041786. PMID: 33670130; PMCID: PMC7916866.

PETERSEN KF, SHULMAN GI. **Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus.** *Am J Cardiol*. 2002 Sep 5;90(5A):11G-18G. doi: 10.1016/s0002-9149(02)02554-7. PMID: 12231074.

PLOWS JF, STANLEY JL, BAKER PN, REYNOLDS CM, VICKERS MH. **The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus.** *Int J Mol Sci.* 2018 Oct 26;19(11):3342. doi: 10.3390/ijms19113342. PMID: 30373146; PMCID: PMC6274679.

POMILIO C, PÉREZ NG, CALANDRI I, CRIVELLI L, ALLEGRI R; ADNI ALZHEIMER'S DISEASE NEUROIMAGING INITIATIVE, SEVLEVER G, SARAVIA F. **Diabetic patients treated with metformin during early stages of Alzheimer's disease show a better integral performance: data from ADNI study.** *Geroscience.* 2022 Jun;44(3):1791-1805. doi: 10.1007/s11357-022-00568-6. Epub 2022 Apr 20. PMID: 35445359; PMCID: PMC9213579.

RIAL SA, JUTRAS-CARIGNAN A, BERGERON KF, MOUNIER C. **A high-fat diet enriched in medium chain triglycerides triggers hepatic thermogenesis and improves metabolic health in lean and obese mice.** *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2020 Mar;1865(3):158582. doi: 10.1016/j.bbalip.2019.158582. Epub 2019 Dec 5. PMID: 31812788.

ROCHA AP, CARVALHO LC, SOUSA MA, MADEIRA SV, SOUSA PJ, TANO T, SCHINI-KERTH VB, RESENDE AC, SOARES DE MOURA R. **Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat.** *Vascul Pharmacol.* 2007 Feb;46(2):97-104. doi: 10.1016/j.vph.2006.08.411. Epub 2006 Sep 1. PMID: 17049314.

ROCHA AP, RESENDE AC, SOUZA MAV, CARVALHO LCRM, SOUSA PJC, TANO T, CRIDDLE DN, PORTO LC, VALENÇA SS, SOARES DE MOURA R. **Antihypertensive effects and antioxidant action of a hydro-alcoholic extract obtained from fruits of Euterpe Oleracea Mart. (Açaí).** *J Pharmacol Toxicol*, 2008. v. 3, n. 6, p. 435-448.

RODEN M, SHULMAN GI. **The integrative biology of type 2 diabetes.** *Nature.* 2019 Dec;576(7785):51-60. doi: 10.1038/s41586-019-1797-8. Epub 2019 Dec 4. PMID: 31802013.

RODRIGUES RB, LICHTENTHÄLER R, ZIMMERMANN BF, PAPAGIANNPOULOS M, FABRICIUS H, MARX F, MAIA JG, ALMEIDA O. **Total oxidant scavenging capacity of Euterpe oleracea Mart. (açai) seeds and identification of their polyphenolic compounds.** *J Agric Food Chem.* 2006 Jun 14;54(12):4162-7. doi: 10.1021/jf058169p. PMID: 16756342.

RODRIGUEZ-RAMIRO I, VAUZOUR D, MINIHAINE AM. **Polyphenols and non-alcoholic fatty liver disease: impact and mechanisms.** *Proc Nutr Soc* 2016; 75:47–60. 10.1017/S0029665115004218

ROSEN ED, SPIEGELMAN BM. **Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis.** *Nature.* 2006 Dec 14;444(7121):847-53. doi: 10.1038/nature05483. PMID: 17167472; PMCID: PMC3212857.

RUSSELL C, WHELAN J, LOVE P. **Assessing the Cost of Healthy and Unhealthy Diets: A Systematic Review of Methods.** *Curr Nutr Rep.* 2022 Sep 9:1–18. doi: 10.1007/s13668-022-00428-x. Epub ahead of print. PMID: 36083573; PMCID: PMC9461400.

RUSSO B, MENDUNI M, BORBONI P, PICCONI F, FRONTONI S. **Autonomic Nervous System in Obesity and Insulin-Resistance-The Complex Interplay between Leptin and Central Nervous System.** *Int J Mol Sci.* 2021 May 14;22(10):5187. doi: 10.3390/ijms22105187. PMID: 34068919; PMCID: PMC8156658.

SAADEH M, FERRANTE TC, KANE A, SHIRIHAI O, CORKEY BE, DEENEY JT. **Reactive oxygen species stimulate insulin secretion in rat pancreatic islets: studies using mono-oleoyl-glycerol.** *PLoS One.* 2012;7(1):e30200. doi: 10.1371/journal.pone.0030200. Epub 2012 Jan 17. PMID: 22272304; PMCID: PMC3260220.

SAITO K, TAKAHASHI T, YAGINUMA N, IWAMA N. **Islet morphometry in the diabetic pancreas of man.** *Tohoku J Exp Med.* 1978 Jun;125(2):185-97. doi: 10.1620/tjem.125.185. PMID: 358494.

SAKULA A. **Paul Langerhans (1847-1888): a centenary tribute.** *J R Soc Med.* 1988 Jul;81(7):414-5. PMID: 3045317; PMCID: PMC1291675.

SANTOS IB, DE BEM GF, DA COSTA CA, DE CARVALHO LCRM, DE MEDEIROS AF, SILVA DLB, ROMÃO MH, DE ANDRADE SOARES R, OGNIBENE DT, DE MOURA RS, RESENDE AC. **Açaí seed extract prevents the renin-angiotensin system activation, oxidative stress and inflammation in white adipose tissue of high-fat diet-fed mice.** *Nutr Res.* 2020 Jul; 79:35-49. doi: 10.1016/j.nutres.2020.05.006. Epub 2020 May 21. PMID: 32610256.

SATOH T. **Molecular mechanisms for the regulation of insulin-stimulated glucose uptake by small guanosine triphosphatases in skeletal muscle and adipocytes.** *Int J Mol Sci.* 2014 Oct 16;15(10):18677-92. doi: 10.3390/ijms151018677. PMID: 25325535; PMCID: PMC4227239.

SCHWARTZ SS, EPSTEIN S, CORKEY BE, GRANT SF, GAVIN JR 3RD, AGUILAR RB. **The Time Is Right for a New Classification System for Diabetes: Rationale and Implications of the  $\beta$ -Cell-Centric Classification Schema.** *Diabetes Care.* 2016 Feb;39(2):179-86. doi: 10.2337/dc15-1585. PMID: 26798148; PMCID: PMC5317235.

SHAH MA, HARIS M, FAHEEM HI, HAMID A, YOUSAF R, RASUL A, SHAH GM, KHALIL AAK, WAHAB A, KHAN H, ALHASANI RH, ALTHOBAITI NA. **Cross-Talk between Obesity and Diabetes: Introducing Polyphenols as an Effective Phytomedicine to Combat the Dual Sword Diabetes.** *Curr Pharm Des.* 2022;28(19):1523-1542. doi: 10.2174/1381612828666220628123224. PMID: 35762558.

STAHL EP, DHINDSA DS, LEE SK, SANDESARA PB, CHALASANI NP, SPERLING LS. **Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Heart: JACC State-of-the-Art Review.** *J Am Coll Cardiol.* 2019 Mar 5;73(8):948-963. doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.050. PMID: 30819364.

STUMVOLL M, GOLDSTEIN BJ, VAN HAEFTEN TW. **Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy.** *Lancet.* 2005 Apr 9-15;365(9467):1333-46. doi: 10.1016/S0140-6736(05)61032-X. PMID: 15823385.

SUBHASREE N, KAMELLA A, KALIAPPAN I, AGRAWAL A, DUBEY GP. **Antidiabetic and antihyperlipidemic activities of a novel polyherbal formulation in high fat**

**diet/streptozotocin induced diabetic rat model.** Indian J Pharmacol. 2015 Sep-Oct;47(5):509-13. doi: 10.4103/0253-7613.165200. PMID: 26600639; PMCID: PMC4621671.

SWINBURN BA, SACKS G, HALL KD, MCPHERSON K, FINEGOOD DT, MOODIE ML, GORTMAKER SL. **The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments.** Lancet. 2011 Aug 27;378(9793):804-14. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60813-1. PMID: 21872749.

TANG GY, MENG X, GAN RY, ZHAO CN, LIU Q, FENG YB, LI S, WEI XL, ATANASOV AG, CORKE H, LI HB. **Health Functions and Related Molecular Mechanisms of Tea Components: An Update Review.** Int J Mol Sci. 2019 Dec 8;20(24):6196. doi: 10.3390/ijms20246196. PMID: 31817990; PMCID: PMC6941079.

TAVARES TB, SANTOS IB, DE BEM GF, OGNIBENE DT, DA ROCHA APM, DE MOURA RS, RESENDE AC, DALEPRANE JB, DA COSTA CA. **Therapeutic effects of açai seed extract on hepatic steatosis in high-fat diet-induced obesity in male mice: a comparative effect with rosuvastatin.** J Pharm Pharmacol. 2020 Dec;72(12):1921-1932. doi: 10.1111/jphp.13356. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32856322.

TULUC P, THEINER T, JACOBO-PIQUERAS N, GEISLER SM. **Role of High Voltage-Gated Ca<sup>2+</sup> Channel Subunits in Pancreatic  $\beta$ -Cell Insulin Release.** From Structure to Function. Cells. 2021 Aug 6;10(8):2004. doi: 10.3390/cells10082004. PMID: 34440773; PMCID: PMC8393260.

VAN HERPEN NA, SCHRAUWEN-HINDERLING VB. **Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity.** Physiol Behav 2008; 94:231–41. 10.1016/j.physbeh.2007.11.049

WAGNER R, ECKSTEIN SS, YAMAZAKI H, GERST F, MACHANN J, JAGHUTRIZ BA, SCHÜRMAN A, SOLIMENA M, SINGER S, KÖNIGSRÄINER A, BIRKENFELD AL, HÄRING HU, FRITSCH A, ULLRICH S, HENI M. **Metabolic implications of pancreatic fat accumulation.** Nat Rev Endocrinol. 2022 Jan;18(1):43-54. doi: 10.1038/s41574-021-00573-3. Epub 2021 Oct 20. PMID: 34671102.

WANG J, LIAO B, WANG C, ZHONG O, LEI X, YANG Y. **Effects of Antioxidant Supplementation on Metabolic Disorders in Obese Patients from Randomized Clinical Controls: A Meta-Analysis and Systematic Review.** Oxid Med Cell Longev. 2022 Sep 1;2022:7255413. doi: 10.1155/2022/7255413. PMID: 36092166; PMCID: PMC9459443.

WANG YW, HE SJ, FENG X, CHENG J, LUO YT, TIAN L, HUANG Q. **Metformin: a review of its potential indications.** Drug Des Devel Ther. 2017 Aug 22; 11:2421-2429. doi: 10.2147/DDDT.S141675. PMID: 28860713; PMCID: PMC5574599.

WEIBEL ER. Stereological Methods. Practical methods for biological morphometry. London: Academic Press, 1979. 415 p.

WEN Y, CHEN C, KONG X, XIA Z, KONG W, SI K, HAN P, VIVIAN LIU W, LI X. **Pancreatic fat infiltration,  $\beta$ -cell function and insulin resistance: A study of the young**

**patients with obesity.** *Diabetes Res Clin Pract.* 2022 May; 187:109860. doi: 10.1016/j.diabres.2022.109860. Epub 2022 Mar 31. PMID: 35367311.

WEWER ALBRECHTSEN NJ, PEDERSEN J, GALSGAARD KD, WINTHER-SØRENSEN M, SUPPLI MP, JANAH L, GROMADA J, VILSTRUP H, KNOP FK, HOLST JJ. **The Liver- $\alpha$ -Cell Axis and Type 2 Diabetes.** *Endocr Rev.* 2019 Oct 1;40(5):1353-1366. doi: 10.1210/er.2018-00251. PMID: 30920583.

WINDELØV JA, WEWER ALBRECHTSEN NJ, KUHRE RE, JEPSEN SL, HORNBURG D, PEDERSEN J, JENSEN EP, GALSGAARD KD, WINTHER-SØRENSEN M, ØRGAARD A, DEACON CF, MANN M, KISSOW H, HARTMANN B, HOLST JJ. **Why is it so difficult to measure glucagon-like peptide-1 in a mouse?** *Diabetologia.* 2017 Oct;60(10):2066-2075. doi: 10.1007/s00125-017-4347-7. Epub 2017 Jul 1. PMID: 28669086.

WHO, Consultation on Obesity & World Health Organization. **Obesity: preventing and managing the global epidemic.** Report of a WHO consultation, 2000.

WHO. **Obesity and overweight.** In: World Health Organization, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 28 ago. 2022.

WHO. **The global health observatory.** In: World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/theme-details/GHO/gho-nutrition>. Acesso em: 28 ago. 2022.

WONG EML, LEUNG DYP, TAM HL, WANG Q, YEUNG KW, LEUNG AYM. **The Effect of a Lifestyle Intervention Program Using a Mobile Application for Adults with Metabolic Syndrome, versus the Effect of a Program Using a Booklet: A Pilot Randomized Controlled Trial.** *Clin Interv Aging.* 2021 Apr 16; 16:633-644. doi: 10.2147/CIA.S303920. PMID: 33888981; PMCID: PMC8057802.

WORLD OBESITY FEDERATION. **World Obesity Atlas.** In World Obesity Federation, 2022. Disponível em: <https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-atlas-2022>. Acesso em: 20 mai. 2022.

WU Y, SUN H, YI R, TAN F, ZHAO X. **Anti-obesity effect of Liupao tea extract by modulating lipid metabolism and oxidative stress in high-fat-diet-induced obese mice.** *J Food Sci.* 2021 Jan;86(1):215-227. doi: 10.1111/1750-3841.15551. Epub 2020 Dec 9. PMID: 33300164.

YAMAGUCHI KK, PEREIRA LF, LAMARÃO CV, LIMA ES, DA VEIGA-JUNIOR VF. **Amazon acai: chemistry and biological activities: a review.** *Food Chem.* 2015 Jul 15; 179:137-51. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.055. Epub 2015 Feb 4. PMID: 25722148.

YEUNG AY, TADI P. **Physiology, Obesity Neurohormonal Appetite And Satiety Control.** 2021 Nov 14. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 32310366.

YOUNOSSI ZM, KOENIG AB, ABDELATIF D, FAZEL Y, HENRY L, WYMER M. **Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of**

**prevalence, incidence, and outcomes.** *Hepatology*. 2016 Jul;64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26707365.

YU TY, WANG CY. **Impact of non-alcoholic fatty pancreas disease on glucose metabolism.** *J Diabetes Investig*. 2017 Nov;8(6):735-747. doi: 10.1111/jdi.12665. Epub 2017 May 24. PMID: 28371475; PMCID: PMC5668526.

ZAKY AS, KANDEIL M, ABDEL-GABBAR M, FAHMY EM, ALMEHMADI MM, ALI TM, AHMED OM. **The Antidiabetic Effects and Modes of Action of the Balanites aegyptiaca Fruit and Seed Aqueous Extracts in NA/STZ-Induced Diabetic Rats.** *Pharmaceutics*. 2022 Jan 22;14(2):263. doi: 10.3390/pharmaceutics14020263. PMID: 35213996; PMCID: PMC8876146.

ZHANG LM, LIU Z, WANG JQ, LI RQ, REN JY, GAO X, LV SS, LIANG LY, ZHANG F, YIN BW, SUN Y, TIAN H, ZHU HC, ZHOU YT, MA YX. **Randomized controlled trial for time-restricted eating in overweight and obese young adults.** *iScience*. 2022 Aug 5;25(9):104870. doi: 10.1016/j.isci.2022.104870. PMID: 36034217; PMCID: PMC9400087.

ZIELINSKA-BLIZNIEWSKA H, SITAREK P, MERECZ-SADOWSKA A, MALINOWSKA K, ZAJDEL K, JABLONSKA M, SLIWINSKI T, ZAJDEL R. **Plant Extracts and Reactive Oxygen Species as Two Counteracting Agents with Anti- and Pro-Obesity Properties.** *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 14;20(18):4556. doi: 10.3390/ijms20184556. PMID: 31540021; PMCID: PMC6770307.