

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE

MELINA RIBEIRO FERNANDES

IMPACTO METABÓLICO E FUNCIONAL DA POLPA LIOFILIZADA DE
BOCAIUVA EM ANIMAIS COM OBESIDADE

Campo Grande
2018

MELINA RIBEIRO FERNANDES

IMPACTO METABÓLICO E FUNCIONAL DA POLPA LIOFILIZADA DE BOCAIUVA EM ANIMAIS COM OBESIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Avellaneda Guimarães

Campo Grande
2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo seu amor que sempre me guiou! Ao mestre Jesus, por sua presença forte e especial em minha vida!

Ao meu filho Victor pelo seu carinho, apoio e também compreensão em todos os momentos em que estive ausente!

Ao meu esposo Nicolau pelo seu amor, companheirismo e incentivo incondicional nos meus objetivos!

Agradeço aos meus pais Marília e Nilo (*in memoriam*), que eu tenho a certeza que emanam luz e amor no meu caminho! Aos meus queridos tios Marta e Vicente que são meu porto seguro! E meus amados irmãos Darrier e Danilo e minha cunhada Cris que estão sempre na torcida!

A minha orientadora Profa. Rita, eu agradeço imensamente pela oportunidade, ensinamentos, apoio, confiança e seu constante encorajamento e presença em todos os momentos!

A Profa. Karine por toda sua disponibilidade em partilhar suas experiências, ensinamentos e dedicação durante toda a pesquisa!

A Profa. Priscila por sua contribuição para o enriquecimento desse projeto.

A todos os colegas que trabalham na UFMS, meu eterno agradecimento por me auxiliarem, seja durante as análises, na experimentação e em muitas dúvidas que surgiram durante essa trajetória, em especial os técnicos do DTA Osmar, Camila e Márcio; e as técnicas do biotério a querida Kelly e Adriana.

Agradeço as colegas da pós-graduação Sandra Mara e Priscila Figueiredo que contribuíram de forma muito solícita e preciosa!

Em especial, agradeço a minha parceira de pesquisa Karol, pela amizade que foi crescendo desde o primeiro dia de convivência, por toda disposição e cooperação nos momentos difíceis e cansativos, pelas aventuras no biotério (foram muitas ...) e claro nossos longos bate-papos, durante esses 2 anos, que permanecerão por toda vida!

Agradeço a todos os animais, que cederam suas vidas em prol do desenvolvimento dessa pesquisa!

Agradeço a CAPES e FUNDECT, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal da polpa de bocaiuva.	36
Tabela 2 - Composição das dietas	43
Tabela 3 - Composição centesimal da polpa liofilizada de bocaiuva (g.100g ⁻¹)	52
Tabela 4 - Determinação das fibras alimentares	54
Tabela 5 - Teores de ácidos graxos (%) do óleo polpa liofilizada	54
Tabela 6 - Composição das dietas experimentais.....	55
Tabela 7 - Peso inicial e final, ganho de peso, ingestão alimentar.....	56
Tabela 8 - Peso dos sítios de gorduras viscerais (g), peso do fígado (g) e índice de adiposidade (%)	59
Tabela 9 - Resultado bioquímico por método Folch analisado no fígado dos animais.....	61
Tabela 10 - Resultados dos parâmetros bioquímicos do soro dos animais.	61
Tabela 11 - Resultados referentes á glicemia dos animais avaliados neste estudo, ao final do tratamento, de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado.....	65
Tabela 12 - Resultados referentes á glicemia dos animais avaliados neste estudo, ao final do tratamento (curva final), de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado.....	63
Tabela 13- Resultados das alterações observadas no pâncreas dos animais.....	64
Tabela 14 - Resultados das alterações observadas no fígado dos animais.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O tecido adiposo expandido e a inflamação metabólica.	21
Figura 2 - Gordura visceral, resistência a insulina e DCV associadas no processo inflamatório.	24
Figura 3 - Mapa de biomas do Brasil.	32
Figura 4 - Palmeiras de bociuiva.	34
Figura 5 - Bociuiva e fruto partido ao meio.	35
Figura 6 - Polpa de bociuiva liofilizada.	41
Figura 7 - Divisão do grupo experimental com dietas	44
Figura 8 - Divisão do grupo experimental para o teste de toxicidade.	44
Figura 9 - Órgãos coletados dos animais no teste de toxicidade aguda.	45
Figura 10 - Morfologia do tecido fígado e pâncreas dos grupos experimentais	69
Figura 11 - Morfologia do tecido adiposo epididimal dos grupos experimentais.	71

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Ganho de peso mensal.....	58
Gráfico 2 - Teor de lipídeos hepáticos (mg/g)	60
Gráfico 3 - Glicemia dos animais, antes do início do tratamento, de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado.....	63
Gráfico 4 - Gráfico referente a glicemia, durante o tratamento (45 dias), de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado	64
Gráfico 5 – Medida dos adipócitos do tecido epididimal.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta

AGL – Ácidos graxos livres

AGS - Ácidos graxos saturados

ALA - Ácidos graxos α -linolênico

AMPK - Proteína quinase ativada

ATP - Adenosina trifosfato

DCNT - Doenças crônicas não transmissíveis

DCV - Doenças cardiovasculares

DHA - Ácido docosahexaenoico

DM2 - Diabetes mellitus tipo 2

EPA - Ácido eicosapentaenoico

FD – Fibra dietética

GH - Hormônio do crescimento (do inglês *growth hormone*)

HSL - Lipase hormônio-sensível

IDF – Federação Internacional de Diabetes

HDL – *High Density Lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade)

IL6 – Interleucina 6

IL1 – Interleucina 1

IMC - Índice de Massa Corporal

AL – Ácido graxo linoleico

LDL - *Low Density Lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade)

MCP1 - Proteína de quimioatração de monócitos

MUFA - Ácidos graxos monoinsaturados

NEFA - Ácidos graxos não esterificados

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCR - Proteína C-reativa

PUFA - Ácidos graxos polinsaturados

RBP-4 - Proteína 4 de ligação ao retinol

RCQ - Relação circunferência abdominal/quadril

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa

ω - 3 – Ômega 3

ω - 6 – Ômega 6

ω - 7 – Ômega 7

ω - 9 – Ômega 9

RESUMO

A obesidade é uma importante causa de agravo a saúde vista como uma doença crônica não transmissível (DCNT), tendo como principais comorbidades as doenças cardiovasculares, o diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão e até mesmo a esteatose hepática não alcoólica, são grandes causadoras de mortalidade em todo mundo. O estilo de vida saudável e a inclusão de alimentos funcionais são recomendações atualmente preconizadas para a prevenção e o controle das DCNT. A espécie *Acrocomia sp.*, é uma palmeira nativa da Região do Cerrado e Pantanal, que produz a bociuva, como é conhecida popularmente. Sua composição tem sido amplamente estudada, por conter fibras, ácidos graxos monoinsaturados como, o ácido graxo oleico, e carotenoides. Neste contexto o presente estudo objetivou elucidar o efeito protetor da polpa de bociuva liofilizada, concomitante a uma dieta hiperlipídica (rica em gorduras saturadas e colesterol) por 90 dias. Foram utilizados camundongos *Swiss* machos, com 56 dias de vida, separados aleatoriamente em 5 grupos experimentais, tratados com dieta AIN-93M isocalórica para o grupo controle (*SHAM*); e dieta *High fat* hiperlipídica acrescida de 1,25% colesterol, que compôs os grupos: *High fat* (HF); *high fat* Polpa 1% (HF P1%) acrescida de 1% de polpa de bociuva liofilizada; *high fat* Polpa 2% (HF P2%) acrescida de 2% de polpa de bociuva liofilizada; *high fat* Polpa 4% (HF P4%) acrescida de 4% de polpa de bociuva liofilizada. O consumo das dietas não foi influenciado pelo sabor do fruto em nenhuma das concentrações. Dentre os parâmetros analisados como o ganho de peso corporal, peso das gorduras viscerais, peso do fígado, os níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total, colesterol não HDL, não apresentaram diferença significativa entre os grupos tratados. Entretanto o tratamento com a polpa de bociuva evidenciou um aumento significativo nos parâmetros bioquímicos de colesterol HDL no soro comparado aos grupos *SHAM* e HF. Na avaliação do tecido epididimal, os grupos tratados com polpa de bociuva evidenciaram tamanhos menores de depósitos de gordura comparados ao grupo HF e similar ao controle *SHAM*. A dieta com 4% de bociuva reduziu a glicose no soro dos animais comparado aos grupos tratados HFP1% e HFP2%, e ainda reduziu o teor de lipídeo hepático comparado aos grupos HF,

HFP1% e HFP2%. Infere-se, portanto, que os componentes predominantes na bocaiuva, particularmente as fibras e os ácidos graxos monoinsaturados, promoveram efeito benéfico nesses parâmetros, levando em consideração a exposição simultânea a uma alimentação rica em gordura saturada e colesterol, como advém à dieta ocidental.

Palavras-chave: *Acrocomia* sp., frutos exóticos, Bioma brasileiro, dieta hiperlipídica, liofilização.

ABSTRACT

Obesity is an important cause of health impairment seen as a chronic noncommunicable disease (NCDs). Its main comorbidities are cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus, hypertension and even nonalcoholic hepatic steatosis, which are great cause of mortality all around the world. The healthy lifestyle and the inclusion of functional foods are currently recommended for the prevention and control of NCDs. The specie *Acrocomia sp.*, is a palm tree native of the Region of the Cerrado and Pantanal, that produces the bocaiuva, as it is popularly known. Its composition has been widely studied, because it contains fibers, monounsaturated fatty acids such as oleic fatty acid, and carotenoids. In this context, the present study aimed to elucidate the protective effect of lyophilized bocaiúva pulp, concomitant with a hyperlipid diet (rich in saturated fats and cholesterol) for 90 days. Male Swiss mice, 56 days old, were randomly assigned to 5 experimental groups treated with isocaloric AIN-93M diet for the control group (SHAM); and high fat diet with 1.25% cholesterol, which composed the groups: High fat (HF); high fat Pulp 1% (HF P1%) plus 1% freeze-dried bocaiuva pulp; high fat Pulp 2% (HF P2%) plus 2% freeze-dried bocaiuva pulp; high fat Pulp 4% (HF P4%) plus 4% freeze-dried bocaiuva pulp. The consumption of the diets was not influenced by the fruit flavor in any of the concentrations. Among the analyzed parameters such as body weight gain, visceral fat weight, liver weight, serum triglyceride levels, total cholesterol, non-HDL cholesterol, did not present a significant difference between the treated groups. However, treatment with bocaiuva pulp evidenced a significant increase in the biochemical parameters of serum HDL cholesterol compared to the SHAM and HF groups. The evaluation of the epididymal tissue, the groups treated with oral pulp showed smaller sizes of fat deposits compared to the HF group and similar to the SHAM control. The 4% bocaiuva diet reduced the serum glucose of the animals compared to the treated groups HFP1% and HFP2%, and also reduced the hepatic lipid content compared to the HF, HFP1% and HFP2% groups. It is inferred, therefore, that the predominant components in the bocaiuva, particularly the fibers and the monounsaturated fatty acids, promoted a beneficial effect in these parameters, considering the

simultaneous exposure to a diet rich in saturated fat and cholesterol, as in the western diet.

Key words: *Acrocomia sp.*, exotic fruits, Brazilian biome, high fat diet, freeze drying.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. Revisão de literatura.....	17
2.1. Transição nutricional e doenças crônicas não transmissíveis	17
2.2. Fisiopatologia da obesidade e inflamação	19
2.3. Lipídeos	25
2.3.1 Metabolismo lipídico e ácidos graxos da dieta	25
2.3.2 Ácidos graxos na alimentação	26
2.4. Fibras	28
2.5. Modelos experimentais e dieta hiperlipídica	30
2.6. Cerrado brasileiro	32
2.7. Bocaiuva	33
2.7.1. O fruto	33
2.7.2. Composição centesimal	36
2.7.3. Estudos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	36
2.8. Conservação por liofilização	38
3. Objetivo Geral	40
3.1. Objetivos Específicos	40
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1. Obtenção da matéria-prima e secagem por liofilização	41
4.2. Análises da polpa de bocaiuva liofilizada	42
4.2.1. Composição química	42
4.2.2. Teor de ácidos graxos	42
4.3. Composição das dietas	43
4.4. Animais	44
4.4.1. Preceitos éticos	44
4.5. Teste de toxicidade aguda	45
4.5.1. Preparo do extrato	46
4.5.2. Preparo da dose e gavagem	46
4.5.3. Controle do peso e consumo alimentar	46
4.6. Delineamento experimental	47
4.6.1. Monitoramento do peso corporal	48

4.6.2.	Avaliação do consumo alimentar e eficácia alimentar	48
4.6.3.	Teste oral de tolerância a glicose	48
4.6.4.	Parâmetros bioquímicos	49
4.6.5.	Lipídeos hepáticos.....	49
4.6.6.	Histologia do tecido adiposo epididimal, fígado e pâncreas	50
4.7.	Análise estatística.....	51
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1.	Caracterização química e teor de ácidos graxos da polpa de bocaiuva liofilizada.....	52
5.2.	Composição de macronutrientes das dietas	55
5.3.	Teste de toxicidade aguda.....	56
5.4.	Experimento animal	56
6.	CONCLUSÃO	72
7.	REFERÊNCIAS	73
8.	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL – UFMS	90
9.	ANEXO B – TESTE HIPOCRÁTICO: TOXICIDADE DE DROGAS POR ANÁLISE COMPROTAMENTAL	91
10.	ANEXO C- RESULTADOS DO TESTE DE TOXICIDADE AGUDA.....	92
11.	CAPÍTULO DE LIVRO	93

1. INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são relatadas como um dos principais problemas de saúde nos últimos séculos. Os fatores proeminentes são comportamentais, tais como dieta não saudável, inatividade física, uso prejudicial de álcool e tabaco (WHO, 2015). Com isso causas de mortes por doenças cardiovasculares (DCV), câncer, diabetes e doença pulmonar crônica têm aumentado consideravelmente (WHO, 2017).

A obesidade e concentrações elevadas de colesterol total sanguíneo são fatores de risco importantes para DCNT. A expansão do tecido adiposo, que ocorre na obesidade, estimula a ação mediadora das adipocinas com órgãos metabólicos (fígado, músculo, pâncreas, coração) e o sistema nervoso central, contribuindo para o funcionamento anormal desses órgãos, alteração das células imunes e inflamação desses tecidos, bem como o aumento da presença de citocinas pró-inflamatórias (TNF α e IL6) (CAO, 2014).

Portanto, o hábito alimentar é um fator determinante na saúde, com evidências científicas cada vez mais nítidas que alterações na dieta têm fortes efeitos, tanto positivos como negativos. Variações da dieta habitual de indivíduos podem impactar na saúde, e também podem estimar se o indivíduo desenvolverá no futuro doenças como câncer, DCV e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (WHO, 2003).

Dados de pesquisas recentes indicam que dietas ricas em fibras, gorduras insaturadas e carboidratos de baixo índice glicêmico associam-se a um menor risco de DCV E DM2 (BADMON; CHAGAS; CHIVA, 2017; ERRAZURIS *et al.*, 2017; TAY *et al.*, 2014).

Neste contexto diversas espécies frutíferas do Cerrado brasileiro apresentam-se como importantes fontes de fibras, ácidos graxos essenciais, proteínas, vitaminas e minerais, e devido ao cultivo regional desses frutos, torna-se de fácil aceitação popular (ARRUDA *et al.*, 2012; DE SOUZA *et al.*, 2012).

A espécie *Acrocomia sp.*, uma palmeira nativa da Região do Cerrado e Pantanal, apresenta ampla distribuição geográfica nas Américas. Esta é

pertencente à família Arecaceae, conhecida popularmente como bocaiuva e macauba, entretanto, o nome comum desta palmeira varia de acordo com a Região onde é encontrada, podendo também ser chamada de coco baboso, coco-de-espinho, macaíba, macaibeira, macajuba, macaúva, chiclete-de-baiano, dentre outros (ALMEIDA *et al.*, 1998).

A polpa da bocaiuva apresenta elevado teor de fibras, cujo consumo de 100 g fornece 55% das necessidades diárias de fibra alimentar (25 g/dia). Além disso, contém alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (66,88%) e polinsaturados (7,62%) (BRASIL, 2014a; ESTEFAN, 2010; HIANE, 2005) e também de betacaroteno, como principal precursor de vitamina A (RAMOS *et al.*, 2008).

Dentre essas características da bocaiuva, como um alimento fonte de nutrientes essenciais, o presente estudo visa avaliar a composição da polpa de bocaiuva após o processamento de secagem por liofilização, verificando seus efeitos no consumo regular em diferentes concentrações, associada à dieta hiperlipídica em modelos animais.

2. Revisão de literatura

2.1. Transição nutricional e doenças crônicas não transmissíveis

A alimentação de diferentes culturas tem sido modificada muito rapidamente em todo o mundo, como parte de um hábito alimentar que também se transformou. Dentro de um processo mais amplo relacionado com a evolução industrial, a alimentação, e as inúmeras expressões culturais, também têm sido influenciadas por este processo acelerado (ATKINS *et al.*, 2016).

A globalização do comércio e a automatização de muitas atividades contribuíram para uma intensa promoção de facilidades a produtos não saudáveis, que foram inclusos na alimentação cotidiana, ocorrendo então, isenção da conscientização da população sobre os efeitos nocivos destes fatores de risco para a saúde (BOJORQUEZ *et al.*, 2015).

Considerando-se que as mudanças caminharam na direção da “dieta ocidental” (rica em gorduras, especialmente as de origem animal, açúcares, alimentos refinados e reduzidos em carboidratos complexos e fibras), iniciaram em países desenvolvidos, muito evidente nos Estados Unidos, de forma lenta, ainda na segunda metade do século XIX e durante o século XX. Estas mudanças nos países em desenvolvimento ocorreram há bem menos tempo, porém aconteceram significativamente mais rápidas (JANSSEN *et al.*, 2017; MONTEIRO *et al.*, 1995).

Referida como transição nutricional, as alterações que ocorrem em diversos setores da sociedade, como por exemplo, alterações econômicas, sociais e demográficas, refletem na composição corporal de uma população (POPKIN, 2009). No Brasil, a transição nutricional foi constatada com a diminuição progressiva da desnutrição e o aumento do sobrepeso, independente de idade, sexo ou classe social (BRASIL, 2006; SILVA *et al.*, 2016).

A tendência das sociedades desenvolvidas de comer muito além do que seria necessário, para o organismo, está bem relacionada com os números de indivíduos com sobrepeso e vem aumentando a cada ano (DE JESUS SILVA, 2017).

O consumo de alimentos de maior densidade calórica e baixo valor nutritivo prevalece na decisão de consumo dos indivíduos. Esse comportamento desfavorável do padrão alimentar saudável contribui para o aumento da prevalência da obesidade, como também de doenças crônicas associadas a dietas com alta densidade energética (DE JESUS SILVA, 2017).

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são doenças multifatoriais, as quais destacam-se as doenças cardiovasculares (DCV) (hipertensão arterial sistêmica – HAS, aterosclerose, infarto agudo do miocárdio), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), diversos tipos de cânceres e doenças respiratórias crônicas que possuem como fatores de riscos intermediários a obesidade, dislipidemia e resistência à insulina (OUCHI *et al.*, 2011; WHO, 2015).

As dislipidemias que se caracterizam pelo aumento dos níveis séricos de colesterol total e de colesterol-LDL (do inglês *Low Density Lipoprotein*) e diminuição do colesterol-HDL (do inglês *High Density Lipoprotein*) estão entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, as quais corresponderam a 31% das causas de óbito no Brasil em 2011 (RIBEIRO, 2016).

Uma projeção realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que em 2025 serão cerca de 2,3 bilhões de adultos com sobrepeso e 700 milhões de obesos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2015). Em 2006, o índice de sobrepeso na população adulta no Brasil era 43%. Esse índice aumentou para 52,5%, dos quais 17,9% eram de pessoas obesas. Além disso, as doenças crônicas, como a síndrome metabólica (SM), são responsáveis por 72% dos óbitos no país (BRASIL, 2014a).

A Federação Internacional de Diabetes (IDF) em 2014 apontou um contingente de 387 milhões de pessoas com a doença no mundo, uma prevalência global de 8,3%, e com expectativa de aumento de 53% até 2035. Nas Américas Central e do Sul, 24,8 milhões de pessoas têm a doença, podendo chegar a 38,5 milhões em 2035 (aumento de 53%). Desse total, estima-se que 11,9 milhões sejam brasileiros entre 20-79 anos e que, em 2035, 19,2 milhões de pessoas no Brasil terão a doença (International Diabetes Federation, 2014).

2.2. Fisiopatologia da obesidade e inflamação

A obesidade se caracteriza pelo peso corporal desproporcional para a altura, e predominante acúmulo de gordura na região abdominal. A magnitude da obesidade incide na sua relação direta com outros fatores de risco cardiovasculares, resistência à insulina, dislipidemia e esteatose hepática não alcoólica (do inglês *Nonalcoholic Fatty Liver Disease* - NAFLD) (WILLIAMS *et al.*, 2015).

Para o diagnóstico de obesidade é realizado o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) e as medidas antropométricas. O cálculo do IMC é recomendado pela OMS para os estudos em populações e consiste no peso em quilos (kg) dividido pela altura em metros quadrados (m²). O resultado é observado na tabela de classificação que varia de baixo peso (para valores abaixo de 18,5 kg/m²) até obesidade grau III (para valores iguais e/ou acima de 40 kg/m²) (BRASIL, 2006). O IMC apesar de ser um bom indicador não se correlaciona totalmente com a gordura corporal, desta forma, para medir a massa gordurosa e a distribuição da gordura é necessário se realizar a antropometria que pode ser feita por: medição da espessura das pregas cutâneas, bioimpedância, ultrassonografia, tomografia computadorizada, densitometria, ressonância magnética, relação circunferência abdominal/quadril (RCQ) ou pela medida da circunferência abdominal (DIRETRIZES BRASILEIRAS DA OBESIDADE, 2009-2010; FOSBOL; ZERAHN, 2015).

Para cada 10 % de aumento no peso corporal, há aumento na incidência de doenças coronarianas em aproximadamente 20 %, além da elevação no colesterol plasmático em torno de 12 mg/dL (BLUMENKRANTZ, 2014). O aumento da gordura visceral está fortemente associado ao acúmulo de gordura na forma de triglicerídeos no fígado, capaz de iniciar a ação de marcadores inflamatórios e estresse oxidativo predispondo a NAFLD (ANGULO; LINDOR, 2002).

A regulação do balanço energético resulta de uma variedade de estímulos aferentes que são processados no sistema nervoso central (SNC) e respostas eferentes, reguladoras do apetite e saciedade. Desequilíbrios nutricionais acometem alterações hormonais e hipotalâmicas tais como, os hormônios,

proteínas e citocinas (JAUCH-CHARA; OLTMANNS, 2014; SELLAYAH; CAGAMPANG; COX, 2014).

O cortisol atua no controle da inflamação, do estresse crônico e da glicose sanguínea. Em níveis aumentados o ganho de peso é comumente confirmado (DALLMAN, 2010; MOORE; CUNNINGHAM, 2012). A serotonina é produzida durante o sono profundo, geralmente quando o cortisol está em declínio. Em situações de estresse, ansiedade e até mesmo bulimia a serotonina se encontra em baixos níveis no organismo, por ser um marcador bioquímico do humor, e influência na diminuição da sensação de saciedade, aumenta o apetite, controla a ingestão de carboidratos e gorduras. O nível de serotonina é importante no tratamento da obesidade, visto que em equilíbrio, intensifica a saciedade pós-ingestão e pós-absorção dos alimentos (RIPKEN *et al.*, 2016; ST-ONGE; MIKIC; PIETROLUNGO, 2016).

A grelina é forte estimuladora da liberação do hormônio do crescimento GH (do inglês *growth hormone*), nas células somatotróficas da hipófise e do hipotálamo, participa também do controle da secreção ácida e da motilidade gástrica, influenciando sobre a função endócrina, pancreática e metabolismo da glicose e ainda ações cardiovasculares e efeitos antiproliferativos em células neoplásicas (DATE, 2000; KAMEGAI, 2001).

A ação direta da adiponectina na obesidade dispõe principalmente à inibição da via proteína quinase ativada (AMPK), resultando na inibição da enzima acetil-CoA carboxilase, que ativa a síntese de ácidos graxos. A inibição da síntese e o aumento da oxidação dos ácidos graxos leva à diminuição de depósito lipídico e de ingestão alimentar (COLES, 2016). Por sua vez, a sua ação antiinflamatória, antioxidante e antiaterosclerótica diminui as comorbidades associadas à obesidade, resistência à insulina e doenças cardiovasculares (EBRAHIMI *et al.*, 2015).

A leptina é responsável pelo controle da ingestão alimentar, atuando em células neuronais do hipotálamo no SNC. Sua ação no sistema nervoso central (hipotálamo), em mamíferos, promove a redução da ingestão alimentar e o aumento do gasto energético, além de regular a função neuroendócrina e o

metabolismo da glicose e de lipídeos (Figura 1). A expressão da leptina é controlada por diversas substâncias, como a insulina, os glicocorticoides e as citocinas pró-inflamatórias (IL6, TNF α , IL1) (CAO, 2014; FRIEDMAN; HALAAS, 1998; SANDOVAL; DAVIS, 2003). O gene da leptina (cromossomo 7q31) é produzido particularmente pelo adiposo branco (FRIEDMAN; HALAAS 1998).

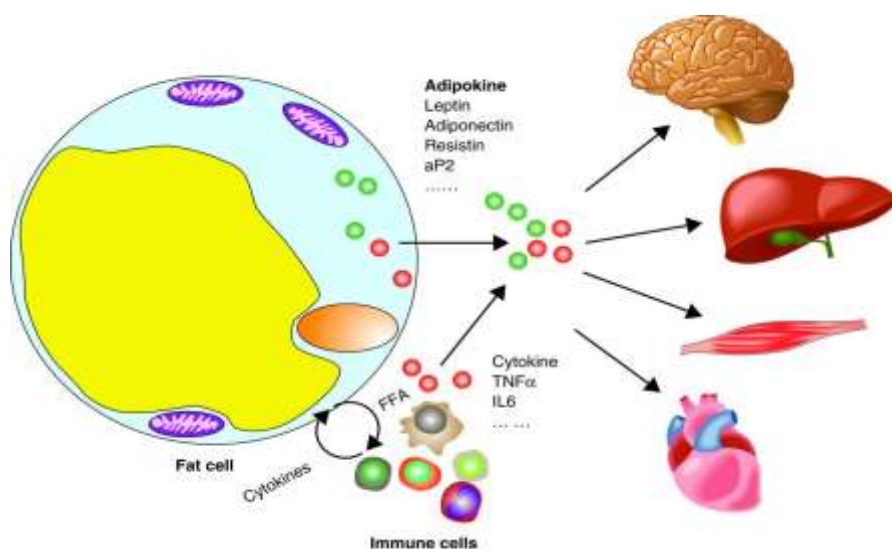


Figura 1 - O tecido adiposo expandido e a inflamação metabólica.

Fonte: CAO, 2014.

Estudos têm demonstrado que a leptina tem ação direta sobre a secreção de insulina. Ela pode inibir a secreção de insulina pela ativação dos canais de potássio dependentes de ATP (adenosina trifosfato) ou via interação com a sinalização da proteína AMP quinase A. Evidências sugerem que a leptina promove a oxidação de triacilgliceróis do tecido adiposo e reduz a acumulação de gordura, inibindo a lipogênese e estimulando a lipólise (CAO, 2014; YADAV *et al.*, 2013; SEUFERT, 1999; AHREN, 1999). A leptina reduz o apetite a partir da inibição da formação de neuropeptídeos relacionados ao apetite, como o neuropeptídeo Y (FRIEDMAN; HALAAS, 1998).

O neuropeptídeo orexigênico ou NPY é responsável em promover a atividade lipogênica enzimática, onde reduz a atividade do sistema nervoso simpático e inibe a lipólise, além de estar envolvido no processo de compulsão alimentar noturna. Em obesos com resistência à insulina a atividade do neuropeptídeo o NPY é aumentada (LONG *et al.*, 2015; MANGGE *et al.*, 2014).

No contexto destas alterações hormonais que acometem a obesidade, o tecido adiposo visceral localizado próximo ou no interior dos órgãos da cavidade abdominal, desempenha importante papel na patogênese da doença cardiovascular, através da produção e secreção de diversos mediadores pró-inflamatórios, representando um maior risco para o desenvolvimento de DCV e DM2, e consequentemente, uma maior mortalidade (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007; SHUSTER *et al.*, 2012).

O tecido adiposo subcutâneo compreende os depósitos de gordura situados abaixo da pele, na região abdominal, femural e glúteo. Este apresenta maior secreção de fatores anti-inflamatórios, tais como a adiponectina (BASTARD *et al.*, 2006).

O tecido adiposo pode ainda ser identificado em tecido adiposo castanho/marrom ou tecido adiposo branco (WAKI, 2007). O tecido adiposo marrom tem como principal característica a regulação da temperatura corporal e apresenta grande número de mitocôndrias, principais responsáveis pela oxidação de ácidos graxos e produção de calor (HARMS; SEALE, 2013; FONSECA-ALANIS, 2007).

Estudos experimentais mostraram a capacidade termogênica do tecido marrom verificando-se que houve preservação do balanço energético, limitando o ganho de peso em roedores em resposta ao excesso de calorias ingeridas na dieta de cafeteria, (ROTHWELL; STOCK, 1979), regulando ainda a glicose e a sensibilidade à insulina (STANFORD *et al.*, 2013), induzindo a um processo de termogênese corporal adaptativa, levando ao aumento do gasto energético corporal, protegendo contra a obesidade e suas comorbidades (WU; COHEN; SPIEGELMAN, 2013).

O tecido adiposo branco presente na região subcutânea e visceral é um tecido heterogêneo, composto de vários tipos de células: adipócitos maduros, pré-adipócitos, fibroblastos, células endoteliais, histiócitos e macrófagos; além de ser exclusivamente de armazenamento de energia como triacilgliceróis, tem reconhecido papel crucial na regulação do metabolismo energético devido à sua capacidade de sintetizar proteínas bioativas (adipocinas) com funções reguladoras

de funções endócrinas (WAKI, 2007; CANCELLO, 2006). É interessante ressaltar que, durante seu desenvolvimento, a célula jovem contém múltiplas gotículas de lipídios, que se aglutinam para formar uma inclusão lipídica unitária com o amadurecimento celular. Os adipócitos brancos maduros são células grandes, muitas vezes maiores que hemácias, fibroblastos e células do sistema imune, e podem alterar acentuadamente seu tamanho (volume e diâmetro) conforme a quantidade de triacilglicerol acumulada, chegando a ocupar até 85% do volume do tecido (ZHANG; RAO; LI, 2015; POND, 2001).

A expansão da massa gorda na obesidade ocorre via hipertrofia e/ou hiperplasia dos adipócitos presentes no tecido adiposo. A hiperplasia resulta principalmente da proliferação e subsequente diferenciação dos pré-adipócitos, enquanto a hipertrofia resulta do excesso de estoque lipídico dentro dos adipócitos. Além de conter adipócitos e pré-adipócitos, o tecido adiposo contém células imunes como macrófagos e linfócitos que ajudam a manter as funções metabólicas normais do tecido adiposo (ARNER *et al.*, 2010; QIAN, 2013).

Os adipócitos apresentam propriedades semelhantes as do sistema imunológico, envolvendo a produção de mediadores pró-inflamatórios, anti-inflamatórios e ativação do sistema completo (ZANGH; RAO; LI, 2015).

Normalmente uma inflamação de baixo grau é encontrada principalmente no tecido adiposo. Essa inflamação é caracterizada pelas mudanças nas células imunes dando origem a adipocinas alteradas (Figura 2) (CANNON 2004). Existem mais de cinquenta tipos de adipocinas, as quais desempenham funções autócrinas, parácrinas ou endócrinas, interferindo no metabolismo de lipídios e de glicose e contribuindo para o desenvolvimento de resistência à insulina, doenças cardiovasculares e processos inflamatórios (FONSECA; ALANIS, 2007; GREENBERG, 2006; MAŁGORZEWICZ *et al.*, 2014).

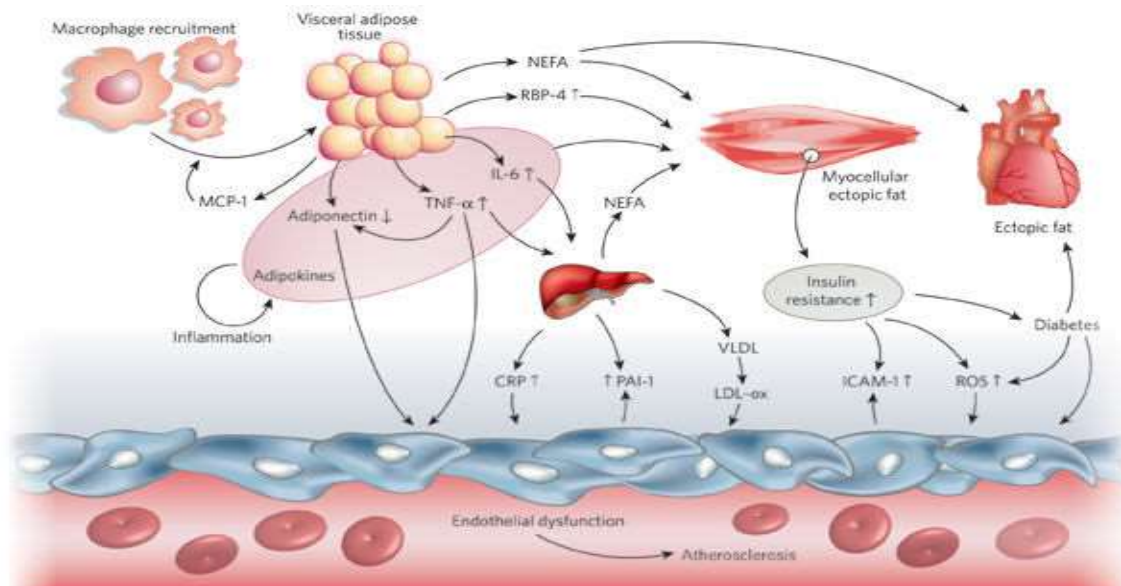


Figura 2 - Gordura visceral, resistência a insulina e DCV associadas no processo inflamatório. A adiponectina diminuída, TNF-alfa e IL6 aumentadas, contribuem para a inflamação e a disfunção endotelial do tecido adiposo, elas são segregadas do tecido adiposo após o agrupamento dos macrófagos pela MCP-1 inflamatória. O TNF α , IL6 e PCR em conjunto com o inibidor do ativador do plasminogênio- 1 (PAI-1) atuam na inflamação e seus efeitos indiretos levam ao estresse oxidativo. A resistência à insulina induzida por citocinas (IL-6 $\uparrow$, TNF-alfa $\uparrow$ e adiponectina $\downarrow$), NEFA (ácidos graxos não esterificados), RBP-4 (proteína 4 de ligação ao retinol) e níveis aumentados de produtos de células endoteliais como ICAM- 1 também podem induzir o estresse oxidativo e subsequente disfunção endotelial (PAI-1 e ICAM-1). Fonte: VAN GAAL; MERTENS; CHRISTOPHE (2006).

Contudo, o quadro de inflamação de baixo grau do tecido adiposo branco está relacionado com a obesidade e as DCNT. Visto que em parâmetros bioquímicos pode se associar elevada síntese e liberação de marcadores pró-inflamatórios, como PCR, TNF-alfa e IL-6, IL-1 β (VAN GAAL; MERTENS; CHRISTOPHE, 2006), simultaneamente à diminuição nas concentrações circulantes de marcadores anti-inflamatórios como adiponectina e IL-10. O que leva a perceber uma interação entre sistema imunológico, especialmente a resposta inflamatória, e o metabolismo celular em diferentes condições (OHASHI *et al.*, 2014).

2.3. Lipídeos

2.3.1 Metabolismo lipídico e ácidos graxos da dieta

A composição de lípidos séricos pode ser usada não só como um biomarcador para se mensurar o perfil lipídico de um indivíduo, mas também como um indicador da pré-disposição de doenças crônicas, já que composição alterada de ácidos graxos séricos tem sido relacionada à maior incidência de transtornos metabólicos e doenças coronarianas (RAATZ *et al.*, 2013).

Os lipídeos são compostos praticamente insolúveis em água (apolares), com características nutricionais no aporte calórico de 9 kcal/g, realizam o transporte de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), além de suprir com os ácidos graxos essenciais, dos quais compreendem os ácidos graxos livres (AGL), fosfolipídeos, monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos (neutros) (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Em geral a digestão dos lipídios, ocorre no duodeno, por meio da ação de enzimas como a lipase pancreática a qual promove a emulsificação (quebra das moléculas maiores de gorduras em ácidos graxos livres e monoglicerídeos), aumentando a superfície de contato. Os ácidos graxos livres e monoglicerídeos formarão complexos com os ácidos biliares, denominados micelas, para facilitar a passagem dos lipídeos pelo intestino até as células da borda em escova, onde serão absorvidos, reagrupados em triglicerídeos e transportados com fosfolipídeos, colesterol e lipoproteínas, formando quilomícrons (QM), passando pela corrente sanguínea e depositados no fígado (DALLMEIER; KOENIG, 2014; LINTON *et al.*, 2015).

A liberação de AGL para a circulação sanguínea (a partir da hidrólise de triglicerídeos) formam complexos com a albumina do sangue e são absorvidos como fonte de produção de energia por diversos órgãos, principalmente músculo esquelético e miocárdio (SWIERCZYNSKI; SLEDZINSKI, 2012). A liberação excessiva desses AGL no sangue, como ocorre na obesidade, contribui para o desenvolvimento de doenças metabólicas através dos seus efeitos lipotóxicos em outros órgãos como no fígado, nos rins e no pâncreas, corroborando, para a

resistência à insulina e prejudicando o metabolismo da glicose (PASSOS *et al.*, 2016).

Neste percurso, os lipídeos associados a proteínas, dão origem as lipoproteínas, que realizam o transporte dos mesmos no plasma sob forma de colesterol e triglicerídeos. O tamanho e composição das lipoproteínas são diversos, tais como, os quilomícrons com maior densidade e tamanho; VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e LDL apresentam mais proteínas em relação aos lipídeos; HDL possui partículas mais densas. Proteínas ligadas à superfície das lipoproteínas compreendem as apolipoproteínas e podem intervir em mecanismos celulares ou em reações enzimáticas. Com efeito antioxidante e anti-inflamatório, a apolipoproteína 1 (APO-1) e a apolipoproteína B (APO-B), encontram-se presente na superfície de toda a família de lipoproteínas aterogênicas (lipoproteínas não-HDL) e representam bons marcadores de risco de DCV do que o colesterol total e LDL-colesterol (DALLMEIER; KOENIG, 2014)

2.3.2. Ácidos graxos na alimentação

Os lipídeos ingeridos na dieta podem refletir no acúmulo de gordura corporal, indicando importante concomitância entre percentual de gordura corporal e percentual de gordura saturada e monoinsaturada contida na alimentação (ROMIEU, 2010; SU *et al.*, 2014).

Os ácidos graxos são classificados em ácidos graxos polinsaturados (PUFA), ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) ácidos graxos saturados (AGS). Dentre os PUFA, existem duas classes principais: os ácidos graxos polinsaturados ômega 3 (ω -3) e ácidos graxos polinsaturados ômega-6 (ω -6) (TAPSELL *et al.*, 2013).

Os AGS são provenientes principalmente de gordura de origem animal e de alguns frutos como, por exemplo, abacate e coco. Os PUFA da família n-3 e n-6 os quais são insaturados recebem a denominação de “ácidos graxos essenciais”, visto que não são sintetizados no organismo dos seres humanos e animais mamíferos, pois não possuem as enzimas necessárias para produzir os ácidos graxos da

família n-3, o alfa-linolênico (ALA) e o ácido graxo linoleico (AL) da família n-6, sendo assim, devendo ser exclusivamente fornecidos pela dieta. Exemplos de alimentos fonte de n-3 são os peixes marinhos como sardinhas, salmão e anchovas; fontes de n-6 óleos vegetais, como azeite, canola, girassol (LORENTE-CEBRIAN, 2013; TAPIERO *et al.*, 2002).

O AL (C18:2 n-6, 9,12-octadecadienoico) é metabolicamente convertido em ácido araquidônico (C20:4 n-6, 5,8,11,14- eicosatetraenoico). O AL está presente em alimentos de origem animal, como leite, carne e ovos, e em óleos vegetais, como cártamo, girassol e soja (MARTIN *et al.*, 2006).

O ALA (18:3 n-3, *cis*-9,12,15 - octadecatrienoico), é precursor de importantes ácidos graxos da família n-3, como o ácido eicosapentaenoico - EPA (C20:5 n-3, *cis* 5,8,11,14,17) e ácido docosahexaenoico - DHA (C22:6 n-3, *cis* 4,7,10,13,16,19), os quais são formados no organismo (ALABDULKARIM *et al.*, 2012). A eficiência da conversão no organismo de ALA em EPA e de ALA em DHA é baixa e estimada em cerca de 8%-21% e de 0%-9%, respectivamente, sendo bastante variável e modulada por diversos processos, incluindo estado fisiológico, dieta, idade e sexo (MCMAHON, 2014). O ALA é presente em diversas sementes, nozes, e em óleos vegetais, como o óleo de linhaça, chia, canola, soja e vegetais folhosos verdes escuros; enquanto o EPA e DHA são encontrados em algas, animais marinhos, óleo de peixes, devido à ingestão de algas marinhas (ALABDULKARIM *et al.*, 2012).

O ácido graxo oleico - MUFA (n-9 ou ω -9), adicionado na dieta resultou em redução do colesterol total, do LDL-colesterol em adultos (MATTSON; GRUNDY, 1985; JONES *et al.*, 2014,) e da pressão arterial em ratos hipertensos (TERÉS *et al.*, 2008). Outro ácido graxo monoinsaturado, o ácido palmitoleico (C16:1 (9) ω -7 ou ω -7 apresenta efeitos benéficos em órgãos metabólicos, como exemplo no fígado e no músculo, foi capaz de melhorar a sensibilidade à insulina, no tecido adiposo aumentou a lipólise e reduziu a lipogênese nos adipócitos (CAO *et al.*, 2008; BOLSONI-LOPES *et al.*, 2013).

Estudos mostram que ácidos graxos monoinsaturados reduzem a adiposidade e promovem a sensibilidade à insulina em obesos (DUE *et al.*, 2008;

PANIAGUA *et al.*, 2007), e reduzem a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 (GARCIA-ESCOBAR *et al.*, 2010) e IL-1 β (FINUCANE *et al.*, 2015). Outros estudos observaram que dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados diminuíram a expressão de lipoproteína lipase e aumentaram a fosforilação da lipase hormônio-sensível (HSL), mostrando atuação desses ácidos graxos no aumento da lipólise e diminuição do estoque de lipídios no tecido adiposo (LIAO *et al.*, 2010; GARCIA-ESCOBAR *et al.*, 2008; SORIGUER *et al.*, 2003).

Pesquisas com frutos que são ricos em ω -7 e ω -9 na dieta vêm apresentando resultados promissores na prevenção de dislipidemias e obesidade. Segundo Griel *et al.* (2008), a noz da Macadâmia apresenta uma proporção de ácido oleico variando entre 54 a 68%, e o ácido graxo palmitoleico variando entre 16 a 23% na sua composição e demonstrou que a ingestão desse fruto diminui os níveis de colesterol e triglicerídeos séricos, além de reduzir o risco de desenvolver doenças cardiovasculares (GRIEL *et al.*, 2008) e normalizar níveis de colesterol HDL e LDL (GARG; BLAKE; WILLS, 2003).

2.4. Fibras

De acordo com guia alimentar para a população brasileira, o consumo de fibras deve ser de 25 g por dia e 400 g de frutas e vegetais, equivalendo três porções de frutas e três porções de vegetais diariamente (BRASIL, 2015).

A fibra alimentar, também denominada fibra dietética (FD), é resistente à ação das enzimas digestivas humanas sendo constituída de polímeros de carboidratos, com três ou mais unidades monoméricas, e mais a lignina, um polímero de fenilpropano (ANDERSON, 2009; HOWLETT, 2010). Os componentes da fibra alimentar dividem-se nos grupos: polissacarídeos não amido, oligossacarídeos, carboidratos análogos (amido resistente e maltodextrinas resistentes), lignina, compostos associados à fibra alimentar (compostos fenólicos, proteína de parede celular, oxalatos, fitatos, ceras, cutina e suberina) e fibras de origem animal (quitina, quitosana, colágeno e condroitina) (TUNGLAND, 2002).

Com base na solubilidade, podem ser classificadas em fibras solúveis e insolúveis (TSUJI, 2001). As fibras solúveis incluem as pectinas, gomas, mucilagens e polissacarídeos de armazenamento, sendo estas altamente fermentáveis e com maior grau de polimerização são mais resistentes à fermentação sacarolítica, resultando em fermentação prolongada, expandindo para o cólon distal e por isso geram maiores quantidades de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Entre as fibras insolúveis estão a celulose, as hemiceluloses e a lignina, com fermentabilidade baixa, e estão mais associadas ao aumento da massa fecal e à diminuição do tempo de trânsito colônico (BAGHURST; BAGHURST; RECORD, 2014; ROSE, 2007).

A ingestão regular de fibras está relacionada a vários efeitos metabólicos benéficos, incluindo o aumento da saciedade, redução da taxa de absorção de carboidrato, modulação da microbiota intestinal, e aumento de produtos da fermentação, tais como o butirato (PAPATHANASOPOULOS, 2010).

Segundo Ho (2015), a saciedade é diferente para cada tipo de FD em relação as suas propriedades físico-químicas e ações no trato gastrointestinal. As que melhor possuem características sacietógenas são as fibras viscosas como pectinas e as beta-glucanas, ambas adicionadas em bebidas líquidas podem fornecer quantidade adequada de FD e promover maior saciedade. Exemplo de enriquecimento de bebidas com beta-glucanas foi realizado no estudo de Lyly *et al.* (2009), em que foi adicionado farelo de aveia e observou-se nas 3 horas seguintes aumento da saciedade regulado pelo hormônio colecistoquinina que retardou o esvaziamento gástrico.

A fermentação das fibras no intestino produz alguns gases e ácidos graxos de cadeia curta que possuem efeitos locais e sistêmicos. Dois dos ácidos graxos produzidos, acetato e propionato, passam pela veia porta e chegam ao fígado regulando o metabolismo lipídico, inclusive do colesterol (ALEIXANDRE, 2016). Essa fermentação permite a recuperação de energia de fontes alimentares que não foram digeridas no intestino delgado, e estima-se que este processo contribua com 5 a 15% do requerimento calórico total em humanos (HAMER *et al.*, 2008). No intestino grosso, as bifidobactérias fermentam os carboidratos não digeridos no intestino delgado, como a inulina e os frutoligossacarídeos, formando gases

(hidrogênio, oxigênio, dióxido de carbono, amônia e metano) e produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente butirato, utilizado preferencialmente como fonte de energia pelos colonócitos (ALEXIOU, 2008).

O butirato possui efetiva capacidade inibidora da secreção de citocinas pro-inflamatórias, como TNF-alfa, IL-1 β e IL-6, além de induzir a produção da citocina anti-inflamatória IL-10 (LIN *et al.*, 2012) em macrófagos, que exercem papel chave na aterogênese (AGUILAR, 2014). A produção de óxido nítrico (NO) induzida por óxido nítrico sintase induzível (iNOS) por macrófagos está envolvida em várias disfunções no sistema vascular (KAJITA *et al.*, 2011). Contudo, a iNOS também está associada à oxidação de LDL e formação de células espumosas na aterogênese (LI *et al.*, 2002)

Um estudo de Guo (2016) utilizou fibras do resíduo do chá de *Camellia sinensis*, em camundongos alimentados com dieta rica em colesterol, tiveram melhoras significativas no perfil de lipídios séricos e hepáticos diminuindo fatores de risco para DCV, relacionando esse efeito a combinação da fibra dietética e polifenóis.

2.5. Modelos experimentais e dieta hiperlipídica

Para estudar os mecanismos de ação presentes na obesidade que induzem perturbações fisiológicas, é bem utilizado o modelo animal no ambiente de pesquisa. Neste contexto, é frequente principalmente roedores que desenvolvem a obesidade através de alterações genéticas ou através do consumo de uma dieta palatável e com elevado teor calórico, de forma a desenvolver a doença da maneira mais parecida com a gênese da obesidade em humanos. Devido às semelhanças fisiológicas e genéticas entre roedores e humanos, estudos com modelos animais possibilitam a compreensão de uma doença em seres humanos (ROSSINI, 2012).

A dieta hiperlipídica também conhecida como *Hight Fat* (HF) tem sido muito aplicada nos últimos anos, utilizando fontes de gordura, como banha de porco e óleo de soja, considerando diferentes concentrações de lipídeos na preparação. Nas dietas com proporção de 30% até 60% de lipídeos, a indução da obesidade é

alcançada na maioria dos estudos, independente das linhagens dos roedores. E nos experimentos com dietas com 30% de lipídeos, foi observado que camundongos obtiveram além do ganho de peso e da gordura epididimal, hiperglicemia e resistência à insulina (FERNANDES *et al.*, 2016).

Em comparativo às proporções de lipídeos em dietas HF e resposta inflamatória, Kim *et al.* (2012) avaliaram camundongos alimentados com dieta reduzida a 10% de gordura saturada e comparou com animais em uso de dieta *high fat* com 40% de gordura, encontraram maior quantidade de IL-1, IL-6 e TNF- α no plasma e cólon dos animais em dieta HF com 60% de gordura. Van *et al.* (2015) obtiveram maiores valores de TNF-alfa em camundongos alimentados com dieta HF (45% do total de calorias provindas de banha) quando comparados com camundongos alimentados de dieta reduzida em gordura (10% do total de calorias provindas de banha).

Estudos encontrados na literatura com camundongos C57BL/6J utilizaram tempo de seguimento maior que 15 semanas para indução da obesidade através de dieta HF (BOSE, 2008; GALLOU, 2007). Contudo em outro estudo com camundongos *Swiss* verificou-se que foi preciso somente 10 semanas para induzir a obesidade por meio de uma dieta HF (WHITE, 2013).

O uso camundongo em pesquisas experimentais deve-se principalmente ao fato de ser pequeno, muito prolífero, ter período de gestação curto e ser de fácil domesticação (ANDRADE, 2006). Entretanto, seu volume sanguíneo pode ser limitado para exames bioquímicos, o que dificulta as análises para alguns parâmetros, por conta disso, alguns pesquisadores optam pelo uso do rato.

Segundo Woodie e Blythe (2017), o acúmulo de gordura e o ganho de peso são influenciados pelo consumo elevado de dieta com alto teor de gorduras e relaciona com a dieta de estilo ocidental; e a resistência à insulina e triglicerídeos séricos elevados são mais impactados por altos níveis de frutose na dieta.

Para melhor compreensão de vários aspectos da obesidade, o uso de modelos animais na experimentação, sejam eles modificados geneticamente ou não, possibilita verificar o potencial de alimentos/nutrientes e sua atuação metabólica impactada na doença (COSTA, 2016).

2.6. Cerrado brasileiro

O conhecimento acerca de frutos consumidos por populações regionais, como fontes naturais de nutrientes e propriedades medicinais, são fatores que tem alavancado a pesquisa tanto em âmbito nacional como internacional (TOZIN, 2015; CANDIDO *et al*, 2015; LIMA, 2016, TEIXEIRA; 2017).

O Cerrado brasileiro é caracterizado em área como o segundo maior bioma da América do Sul, possui extensão territorial de aproximadamente 2 milhões de km², o que representa quase 25% da área total do Brasil. Esta extensão (Figura 3) corresponde apenas à área nuclear, se considerarmos as áreas de transição entre o Cerrado e os outros biomas que ele estabelece contato Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Caatinga e Pantanal e ainda as ilhas de Cerrado na Amazônia sua área total de ocorrência atinge aproximadamente 3 milhões de km², retratando quase 37% da superfície brasileira (DIAS, 1996; SANO; ROSA; BRITO, 2010).



Figura 3 - Mapa de biomas do Brasil.
Fonte: IBGE, 2004.

Em vista disso tem sido considerado um *hotspot* pela sua biodiversidade e vem ganhando cada vez mais publicações relacionadas a biodiversidade e principalmente pela riqueza de plantas e frutos exóticos (BORGES *et al.*, 2014).

2.7. Bocaiuva

2.7.1. O fruto

Acrocomia sp. popularmente conhecida por bocaiuva ou macauba, mas seu nome pode variar de acordo com a Região onde é encontrada, como coco baboso, coco-de-espinho, macaíba, macaibeira, macajuba, macauva, chiclete-de-baiano, dentre outros (ALMEIDA *et al.*, 1998). Muito presente nas Américas, como no México, Brasil, Paraguai e Argentina, sendo considerada a palmeira de maior dispersão no território brasileiro e com ampla distribuição nas áreas do Cerrado, Pantanal e Minas Gerais (AZEVEDO FILHO *et al.*, 2012; LORENZI, 2006). Existem quinze diferentes espécies de palmeiras do gênero *Acrocomia*, das quais dez são encontradas no Brasil (COSTA; SILVA; VALLE, 2009).

O gênero *Acrocomia* é caracterizado por duas espécies – *A. aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. e *A. hassleri* (B. Rodr.) W. J. Hahn, a diferença analisada está segundo o tamanho, sendo a primeira de maior porte. *A. aculeata* é distribuída mais comumente das regiões secas da América Tropical e *A. hassleri* no Cerrado Brasileiro e Paraguai (HENDERSON *et al.*, 1995). Seus frutos possuem grande potencial oleaginoso, o que a representa uma importância econômica, podendo ser utilizada nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e de biodiesel.

As palmeiras de bocaiuva (Figura 4) possuem porte alongado, com estirpe atingindo de 10 a 15 m de altura e 20 a 30 cm de diâmetro. Apresenta folhas verdes com comprimento de 4 a 5 m, com aspecto plumoso à copa, além disso, possuem aproximadamente, 130 folíolos de cada lado e espinhos na região central. As inflorescências são amareladas e suspensas, com 50 a 80 cm de comprimento, e os cachos de frutos de tom marrom-amarelado. As flores possuem coloração amarelo-claro, e são unissexuais, ambos os sexos aparecem em uma mesma

inflorescência, em que as flores femininas nascem na base da inflorescência e as masculinas no topo (LORENZI, 2006).



Figura 4 - Palmeiras de bocaiuva.

Fonte: o próprio autor.

O fruto (Figura 5) é uma drupa comestível com formato esférico ou ligeiramente achatado, cujo diâmetro varia de 2,5 a 5,0 cm. Apresenta epicarpo (casca) com tonalidade variando do amarelo ao amarelo esverdeado; mesocarpo (polpa) comestível de sabor adocicado, fino, fibroso, mucilaginoso, de coloração amarela clara a laranja escura; endocarpo (tegumento) escuro, duro e denso, vigorosamente aderido à polpa, contendo de uma a quatro sementes oleaginosas (amêndoa) e comestíveis.



Figura 5 - Bocaiuva e fruto partido ao meio

Fonte: o próprio autor.

A frutificação ocorre durante o ano todo e os frutos amadurecem em 13 ou 14 meses, principalmente, entre setembro e fevereiro. Quando maduro, o fruto emite aroma característico e a casca se desprende facilmente da polpa (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2006). Os frutos são constituídos por aproximadamente 20 % de casca, 40 % de polpa, 33 % de endocarpo e 7 % de amêndoa (FARIA, 2010).

Polpa e amêndoa podem ser caracterizadas como um produto de baixa acidez (aproximadamente com pH de 5,48), favorecendo suas características sensoriais, o que torna seu sabor mais agradável ao paladar (MOOZ; CASTELUCCI; SPOTO, 2012). A sua polpa e amêndoa são muito consumidas pela população local na sua forma *in natura* ou como farinha, sendo utilizada em diversos tipos de preparações como, por exemplo, em bolos, sorvetes e bebidas lácteas (RAMOS *et al.*, 2008).

A quantidade de polpa é uma característica importante, que reflete na valorização do extrativismo dos frutos. De acordo com Sanjinez-Argandoña e Chuba (2011), cada cacho produz aproximadamente 6,32 kg de polpa e 1,36 kg de endosperma (amêndoa). Levando-se em consideração sete cachos por planta, a produção média por ano de polpa e de amêndoa poderá atingir 44,24 kg e 9,52 kg, respectivamente. Estima-se, portanto, que 200 plantas por hectare (ha) produzirão 8.848 kg de polpa e 1.904 kg de amêndoa. O elevado aproveitamento da polpa e da amêndoa sugere que a exploração sustentável do fruto pode ser economicamente viável (LESCANO *et al.*, 2014).

2.7.2. Composição centesimal

A composição centesimal da bocaiuva (Tabela 1) é amplamente abordada na literatura.

Tabela 1 - Composição centesimal da polpa de bocaiuva

Análises	Hiane <i>et al.</i> (1990) (g/100 g em base úmida)	Ramos <i>et al.</i> (2008) (g/100 g em base úmida)	Coimbra <i>et al.</i> (2011) (g/100 g em base seca)	Lescano <i>et al.</i> (2015) (g/100 g em base úmida)
Centesimal				
Umidade	49,14±0,97	52,99±2,88	5,98±0,15	48,76±1,92
Lipídeos	16,50±4,33	8,14±1,45	28,94±0,83	23,62±1,10
Resíduo mineral fixo	1,71±0,31	1,51±0,06	2,17±0,02	1,86±0,23
Proteínas	1,97±0,25	1,50±0,04	6,72±0,45	5,31±0,77
Carboidratos totais	30,68	22,07±2,97	36,22	6,92±1,26
Fibras	-	13,76±4,07	20,26±0,28	13,89±1,00
Valor calórico total	-	167,67±2,56	-	-

*Valores apresentados em média ± desvio padrão.

2.7.3. Estudos *in vitro* e *in vivo*

Segundo Hiane *et al.* (1990), o perfil lipídico do óleo da polpa, 79% de ácidos graxos são insaturados e 21% de ácidos graxos são saturados e possui teores elevados de ácido oleico e ácido palmítico. Cujas características podem ser comparadas com o óleo de oliva (AOQUI, 2012). Em outro estudo de Hiane *et al.* (2005) foi determinado o perfil de ácidos graxos do óleo da polpa *in natura*, da amêndoa e da farinha obtida da polpa do fruto, concluindo que o óleo da polpa *in natura* e da farinha apresentaram alto teor de ácidos graxos insaturados, sendo predominante o ácido graxo oleico. Costa *et al.* (2012) relacionaram o potencial antimutagênico do óleo da polpa da *Acrocomia*, com seus altos teores de ácidos graxos monoinsaturados e compostos antioxidantes, demonstrando ação protetora frente a agentes indutores de danos ao DNA.

A coloração amarelo alaranjada da polpa de bocaiuva representa a presença de carotenoides em grande quantidade. Os carotenoides são os precursores da vitamina A que participa de importantes funções fisiológicas, tais como: formação, proteção e regeneração da pele e das mucosas, aumento do sistema imune e é importante para a manutenção da visão (KOPPER, 2009). O β -caroteno é o

principal carotenoide encontrado na polpa da bocaiuva, sendo cerca de 80% do total de carotenoides existentes no fruto (RAMOS *et al.*, 2008)

Em um estudo experimental com ratos Wistar (deficientes em vitamina A), no intuito de verificar a biodisponibilidade do β -caroteno da polpa de bocaiuva em relação ao β -caroteno puro, obteve-se como resultado que 7,3 μg de β -caroteno puro produz 1,0 μg de retinol hepático e 3,5 μg de β -caroteno da bocaiuva produz 1 μg de retinol hepático, sugerindo maior biodisponibilidade em menor quantidade (RAMOS, 2007).

Estudo realizado por Oliveira *et al.* (2006) demonstrou que o fruto da macauba é rico em minerais, apresentando em sua composição 1,725 mg/100 g de potássio, 680 mg/100 g de cálcio, 2,0 mg/100 g de manganês, 10,1 mg/100 g de ferro e 1,5 mg/100 g de zinco. De acordo com a Ingestão Diária Recomendada de referência (IDR), a polpa de bocaiuva é considerada um alimento rico em cobre, fonte de zinco e potássio para as crianças e fonte de cobre e potássio para os adultos (RAMOS, 2007).

Estefan *et al.* (2010) testaram em roedores o poder antiinflamatório do extrato seco de bocaiuva na dosagem de 300 mg/kg, e constatou que ocorreu a inibição significativa na redução de edemas, propondo que os compostos bioativos contribuíram de forma positiva na fase vascular da inflamação. Em outro estudo Lescano *et al.* (2015) analisaram a ação diurética e a atividade antiinflamatória do óleo da polpa de bocaiuva microencapsulado administrado por via oral em ratos wistar. O efeito na redução de edemas foi verificado ($p < 0,01$), bem como atividades diuréticas ($p < 0,01$), demonstrando também que a técnica de microencapsulação por coacervação complexa favoreceu a biodisponibilidade e a preservação de componentes bioativos presentes no óleo de bocaiuva.

Além disso, a polpa da bocaiuva possui elevado teor de fibras, cujo consumo de 100 g fornece 55 % das necessidades diárias de fibra alimentar (25 g/dia) e cerca de 8,4% das necessidades calóricas diárias de um adulto com uma dieta de 2000 kcal (BRASIL, 2014b). Para crianças também fornece quase metade (50 %) das necessidades diárias de fibras por dia, pois conforme a ingestão diária recomendada para crianças de 1 a 3 anos necessitam de 19 g/dia, 4 a 8 anos, 25

g/dia, meninos com 9 a 13 anos, 31 g/dia e meninas com idade entre 9 e 18 anos, 26 g/dia (OMS, 2007). Koper (2009) elaborou uma bebida a base de soja contendo farinha de bacaiuva (prebióticos) e *Lactobacillus acidophilus* (probióticos) e de acordo com a legislação brasileira, determinou a bebida caracterizada como fonte de fibras alimentares (> 3 g/100g) e ricos em vitamina A para crianças de 1 a 9 anos (> 15% VRD).

Calegari (2015) avaliou o potencial de aplicação dos óleos de polpa e amêndoa no setor de cosméticos para a pele humana, de forma a agregar valor de comercialização para os óleos e contribuir para o fortalecimento do processo de implantação da cultura da macauba, como um novo setor para o agronegócio brasileiro.

O conhecimento de alimentos que sejam nutricionalmente adequados para compor uma dieta é muito importante, na busca de prevenir e/ou combater deficiências nutricionais, DCNT e doenças degenerativas, que impactam na qualidade de vida. Assim, o presente trabalho tem como interface o estudo da qualidade da polpa liofilizada de bocaiuva, verificando-se o efeito no perfil lipídico e glicêmico, avaliando o seu potencial metabólico, em animais alimentados com dietas hiperlipídicas.

2.8. Conservação por liofilização

Os frutos em geral possuem excelentes características nutricionais, entretanto são altamente perecíveis e não estão disponíveis frescos em períodos de entressafra, para tanto, processos de melhor conservação das propriedades nutricionais, aparência, cor e sabor são muito utilizados como forma de aproveitamento para o consumo durante o ano todo (SHOFIAN, 2011).

Dentre as técnicas de desidratação de frutos a mais convencional é a secagem por calor (desidratação através de ar quente), muito utilizada por ser um método simples e acessível. Entretanto técnicas mais inovadoras como as radiativas (micro-ondas e infravermelho), conseguem reduzir o tempo do processo e o consumo de energia. Por outro lado, essas metodologias levam o aquecimento

de algumas substâncias sensíveis ao calor, podendo ocasionar, por exemplo, a degradação de substâncias oxidativas e desnaturação de proteínas. Matérias primas constituídas por substâncias sensíveis ao calor necessitam de técnicas de desidratação ocorridas a baixas temperaturas, como a liofilização (CAO *et al.*, 2016; JIANG *et al.*, 2014).

A liofilização (*freeze-drying*) trata-se de um processo em que a remoção da água por congelamento permite que o gelo passe do sólido para o vapor sem passar por uma fase líquida. Essa ausência de água líquida, ocasionada pelas baixas temperaturas, são capazes de restringir a migração de sólidos solúveis no interior do fruto, vedando reações de alterações químicas e predispondo a retenção de componentes aromáticos voláteis (RATTI, 2001; SILVA *et al.*, 2017).

Os efeitos da liofilização visando às propriedades físicas e químicas podem variar de acordo com fatores intrínsecos ao fruto e com propriedades extrínsecas relativas no processo. A cor dos frutos se mantém, a porosidade pode depender da velocidade de congelamento e a temperatura de transição vítrea do sólido seco compõe um importante parâmetro de otimização para o processo de congelamento e secagem. O processo também pode aumentar a capacidade de reidratação dos frutos (SERNA-COCK *et al.*, 2015). No entanto esse processo apresenta-se relativamente de custo elevado, sendo necessário determinar realmente a viabilidade de acordo com a matéria prima estudada (JIANG *et al.*, 2014).

Estudos no sentido de verificar o potencial de frutos liofilizados têm sido realizados no ambiente de pesquisa, visando um melhor processamento, de modo a estender a estabilidade em tempos prolongados de armazenamento e uma utilização mais proveitosa dos nutrientes (ATHMASELVI *et al.*, 2014; DE TORRES *et al.*, 2015; SKOCZEŃ-SŁUPSKA; GĘBCZYŃSKI; KUR, 2016).

OBJETIVOS

3. Objetivo Geral

Avaliar o efeito metabólico e funcional da polpa liofilizada de bocaiuva na dieta hiperlipídica em camundongos *Swiss* machos, bem como verificar os parâmetros bioquímicos, perfil de ácidos graxos séricos e perfil histológico.

3.1. Objetivos Específicos

- Determinar a composição química, o perfil de ácidos graxos e fibras da polpa de bocaiuva liofilizada;
- Verificar a toxicidade aguda do extrato aquoso de polpa de bocaiuva liofilizada nos animais;
- Avaliar o peso corporal, consumo alimentar e a eficiência alimentar dos animais;
- Discriminar os lipídeos séricos (colesterol total, HDL-colesterol, não-HDL colesterol e triglicerídeos) após o período de tratamento;
- Determinar o perfil glicêmico (glicemia de jejum e teste oral de intolerância a glicose);
- Analisar as gorduras do fígado (colesterol total e triglicerídeos) dos animais;
- Realizar a histologia do fígado, pâncreas e tecido epididimal.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção da matéria-prima e secagem por liofilização

Os frutos de bocaiuva (*Acrocomia sp.*) foram obtidos maduros no município de Aquidauana, no Estado de Mato Grosso do Sul, nos meses de outubro a dezembro de 2015. As coordenadas foram definidas utilizando GPS manual (latitude - 21° 28' 49" longitude - 56° 08' 17" W). As exsiccatas foram depositadas no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob número 54.032.

Os frutos foram selecionados, higienizados, pesados e posteriormente despulpados. Para propiciar um maior rendimento do fruto a extração da polpa foi realizada através de uma despulpadeira mecânica, com hélices em facas, utilizada para a despulpa de frutos como coco, o equipamento foi disponibilizado pelo Instituto de Física (INFI) da UFMS. A polpa foi armazenada até o momento da liofilização em freezer a -20°C. Para garantir que os constituintes do fruto estejam presentes para avaliar sua ação mediando a obesidade, a polpa foi liofilizada (Figura 6), utilizando-se liofilizador industrial LH0601-B, Terroni (CHIU *et al.*, 1970; LENQUISTE *et al.*, 2015). E posteriormente armazenadas em embalagens metalizadas, fechadas a vácuo e mantidas em freezer a -20° para garantir a integridade ao realizar as análises da amostra e o preparo das rações.



Figura 6 - Polpa de bocaiuva liofilizada. Fonte: o próprio autor.

4.2. Análises da polpa de bocaiuva liofilizada

4.2.1. Composição química

A composição iniciou pela extração de lipídeos da amostra, que foi desengordurada em extrator Soxhlet com hexano, verificando-se o teor de lipídeos, por gravimetria (BRASIL, 2005).

O teor de proteínas foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl, com fator de conversão de 6,25 (AOAC, 1997). A determinação de cinzas realizada em mufla a 550 °C até massa constante e a umidade determinada em estufa a 105 °C (AOAC, 1997; BRASIL, 2005).

Os carboidratos totais foram calculados pelo método de Lane-Eynon (BRASIL, 2005). E a determinação das fibras alimentares solúveis e insolúveis foi obtida conforme AOAC (1990) sob o n° 985.29, através do método enzimático e utilização de α -amilase (Termamyl®), digestão enzimática com protease (Alcalase®), amiloglicosidase (AMG®) adequados para a hidrólise e filtração alcoólica para extração dos resíduos fibrosos.

O valor energético total do fruto foi estimado considerando-se os fatores de conversão de Atwater de 4 kcal.g⁻¹ de proteína, 4 kcal.g⁻¹ de carboidrato e 9 kcal.g⁻¹ de lipídios (MERRIL; WATT, 1973).

4.2.2. Teor de ácidos graxos

Foi realizada a extração dos lipídeos a frio, por método Bligh e Dyer (1959) e pesada uma amostra do óleo de 100 mg e suspendida em 2 mL de hidróxido de sódio metanólico, permanecendo em banho-maria por 5 minutos, sendo posteriormente adicionado 6 mL da mistura esterificante para transforma-los em ésteres metílicos recebendo, por conseguinte 5mL de água destilada, passando por agitação manual. A extração dos ésteres foi feita por adição sucessiva de hexano (2 mL), retirando o sobrenadante para outro tubo e lavada com solução de bicarbonato de sódio (10 mL). Posteriormente evaporou-se o solvente e a solução filtrada foi armazenada em tubo ependorf para leitura em cromatógrafo modelo CG-

2010 Shimazu, coluna cromatográfica: BPX-70 com fase estacionária de 70% de cianopropil polisilfenileno-siloxano 30m, 0,25 um de espessura de filme e I.D. de 0,25 mm. O cálculo dos teores dos ácidos graxos foi feito por integração das áreas dos picos, e os resultados expressos em porcentagem (%) em área.

4.3. Composição das dietas

As dietas (Tabela 2) utilizadas para alimentar os animais foram elaboradas pela empresa Pragsoluções Serviços e Comércio Ltda-ME em JAÚ/SP, segundo protocolo de Reeves, Nielsen e Fahey (1993) da dieta AIN-93M de manutenção isocalórica para o grupo controle (*SHAM*); a dieta *High fat* (hiperlipídica) foi elaborada segundo o protocolo de Pimentel *et al.*, 2013, acrescida de 1,25% colesterol, que compôs os grupos: *High fat* (HF); *high fat* Polpa (HF P1%, HF P2%, HF P4%) acrescidas respectivamente de 1%, 2% e 4% de polpa de bocaiuva liofilizada. A adição da quantidade de polpa de bocaiuva na dieta foi descontada proporcionalmente na formulação de cada dieta, conforme sua composição química, nos seguintes ingredientes: amido, caseína comercial e óleo de soja. Em seguida as dietas foram preparadas em formato de *pellets*, e armazenadas em embalagem laminada a vácuo, mantida em refrigeração a 6 °C.

Tabela 2. Composição das dietas

Ingredientes*	AIN-93M	High fat	HF P1%	HF P2%	HF P4%
Amido	465,70	116,00	111,00	106,00	96,00
Sacarose	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Caseína comercial	140,00	200,0	199,58	199,15	198,30
Amido dextrinizado	155,00	132,00	132,00	132,00	132,00
Óleo de soja	40,00	40,00	37,65	35,30	30,60
Banha	-	312,00	312,00	312,00	312,00
Mix mineral AIN-M	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mix vitamínico	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Celulose	50,00	50,00	47,77	45,54	41,09
L-cistina	1,80	3,00	3,00	3,00	3,00
Bitartarato de colina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Terc butilhidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Colesterol	-	1,25	1,25	1,25	1,25
Polpa de bocaiuva liofilizada	-	-	10,00	20,00	40,00

*Valores expressos em gramas por quilo de ração.

4.4. Animais

4.4.1. Preceitos éticos

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) PROPP/UFMS que está instituída no âmbito da Universidade Federal Mato Grosso do Sul (UFMS), de acordo com o protocolo nº 774/2016 (ANEXO A). Os animais fornecidos pelo Biotério Central da UFMS, para o experimento com as dietas experimentais foram 75 camundongos *Mus musculus* Swiss, machos, com 56 dias de vida e peso entre 25-35 gramas e para o teste de toxicidade, 10 animais, *Rattus norvegicus* Wistar, fêmeas, com 8 semanas de vida e peso entre 200-250 gramas.

Os animais foram alojados em gaiolas coletivas e mantidos sob condições de ciclo de luz controlado claro-escuro (12/12h) e temperatura de 24 ± 1 °C. O consumo de água e dieta sob sistema de livre acesso, *ad libitum*. Os grupos experimentais foram divididos segundo a Figura 7.

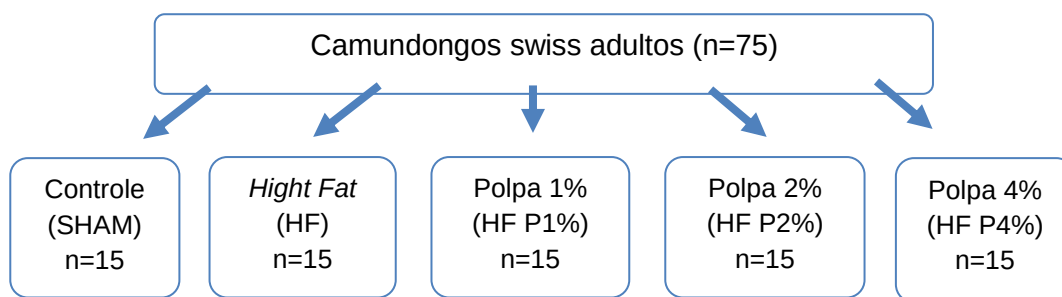


Figura 7 - Divisão do grupo experimental com dietas

E os grupos do experimento para o teste de toxicidade, divididos segundo a Figura 8.

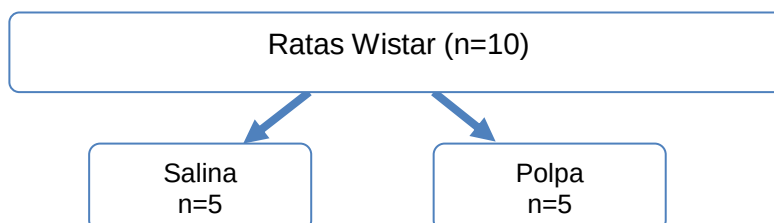


Figura 8 - Divisão do grupo experimental para o teste de toxicidade.

O teste da toxicidade iniciou primeiro e os grupos das dietas experimentais permaneceram sob adaptação da rotina de laboratório e dieta padrão para manutenção (AIN-93M).

4.5. Teste de toxicidade aguda

O teste de toxicidade aguda obedeceu aos procedimentos da *Organization for Economic Co-operation and Development* OECD (2008). O grupo das ratas (n=10), passaram pelo período de adaptação às condições laboratoriais por 5 dias antes do início do teste, em seguida o grupo controle recebeu solução salina e o grupo experimental recebeu extrato aquoso da polpa de bocaiuva. Os animais foram observados nos primeiros 30 minutos, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 12h e 24h, respectivamente e no decorrer dos 14 dias foi realizada a observação 1 vez ao dia (OECD, 2008). O teste hipocrático (ANEXO B) também foi realizado simultaneamente (MALONI; ROBICHAUD, 1962). Os animais foram submetidos a eutanásia, sendo inicialmente anestesiados (cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina, 75 e 10 mg/kg, respectivamente), seguido de exsanguinação. Foram retirados e pesados os seguintes órgãos (Figura 9): coração, pulmão, fígado, baço, pâncreas e rins.

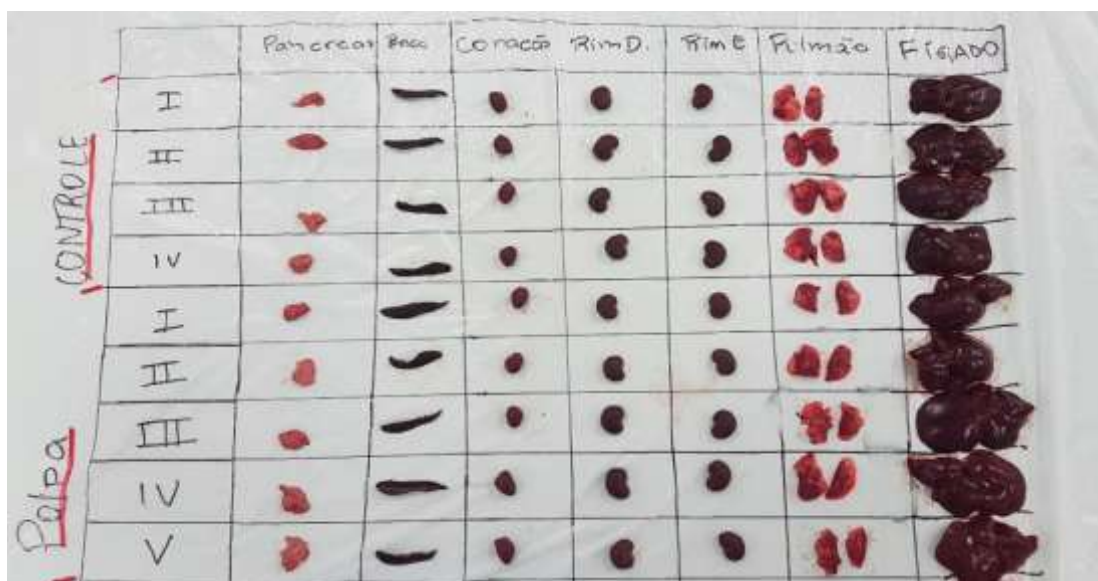


Figura 9 - Órgãos coletados dos animais no teste de toxicidade aguda.

4.5.1. Preparo do extrato

A polpa de bocaiuva liofilizada foi adicionada em água destilada na proporção de 1:3, sendo 100 gramas de amostra adicionada em 300 mL de água por 48 horas, e posteriormente filtrada, o resíduo contido no filtro foi desprezado. Em seguida foi feita a liofilização do conteúdo filtrado, até secagem e obtenção de pó, que foi armazenado em pote de vidro com tampa de rosca (FLORENCE *et al.*, 2014).

No dia do teste foi feito a diluição do extrato liofilizado com água destilada, de acordo com o peso corporal de cada animal.

4.5.2. Preparo da dose e gavagem

O volume para a gavagem foi calculado para 1,0 mL/ 100 g de peso corporal do animal em jejum. As doses foram preparadas pouco tempo antes da administração. O extrato e a solução salina administrados em uma única dose por sonda gástrica, utilizando agulha para gavagem em ratos. Os animais permaneceram em jejum por 4 horas antes da gavagem e posteriormente por mais 4 horas, sendo que a oferta da água foi livre todo o período.

4.5.3. Controle do peso e consumo alimentar

A avaliação do peso corporal dos animais foi verificada semanalmente em balança semi-analítica (BERNARDIS; PATTERSON, 1968).

A avaliação do consumo alimentar dos animais medida por gramas de ração/dia e mensurada a quantidade restante de alimento em cada gaiola, para avaliar o consumo pela diferença de peso da ração oferecida no dia anterior por animal (DE LUCA; ALEXANDRE; MARQUES, 1996).

4.6. Delineamento experimental

Após o período de adaptação da rotina em laboratório, os camundongos *Swiss* foram separados de forma aleatória e divididos em 5 grupos, distinguidos por:

Grupo controle (*Sham*): Animais tratados com dieta AIN-93M (n=15);

Grupo *high fat* (HF): Animais tratados com dieta hiperlipídica (n=15);

Grupo *high fat* polpa 1% (HF P1%): Animais tratados com dieta hiperlipídica e 1% de polpa de bocaiuva liofilizada (n=15);

Grupo *high fat* polpa 2% (HF P2%): Animais tratados com dieta hiperlipídica e 2% de polpa de bocaiuva liofilizada (n=15);

Grupo *high fat* polpa 4% (HF P4%): Animais tratados com dieta hiperlipídica e 4% de polpa de bocaiuva liofilizada (n=15);

Ainda, foi realizado o teste oral de tolerância a glicose antes do início do tratamento (tempo= 0) com as dietas experimentais, no meio (tempo= 45 dias) e ao final (tempo= 90 dias) de experimento.

Ao final do experimento os camundongos foram submetidos a jejum de 8 horas, anestesiados de forma inalatória por isoflurano e submetidos a eutanásia por exsanguinação pela veia porta. O sangue foi coletado e o soro foi separado por centrifugação para análise bioquímica. O fígado e os 5 sítios de gorduras (epididimal, omental, mesentérica, retroperitoneal, perirrenal) foram coletados e pesados em balança analítica (Bel®). O índice de adiposidade (IA) foi calculado de acordo com a equação 1 (Eq. 1) (TAYLOR; PHILLIPS, 1996):

$$IA = \frac{SOMA\ DOS\ TECIDOS\ ADIPOSOS}{PESO\ FINAL} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

4.6.1. Monitoramento do peso corporal

A avaliação do peso corporal dos animais foi verificada semanalmente em balança semi-analítica (Marca Marte-Modelo AS 5.500).

4.6.2. Avaliação do consumo alimentar e eficácia alimentar

O controle do consumo alimentar dos animais foi realizado 2 vezes por semana, medindo o consumo por gramas de ração/dia. Pesava-se a quantidade restante de alimento em cada gaiola, avaliando o consumo pela diferença de peso da ração oferecida no dia anterior por animal (DE LUCA; ALEXANDRE; MARQUES, 1996). A quantidade de energia ingerida ao dia foi calculada pelo valor da densidade energética de cada dieta. O coeficiente alimentar (CEA) (Equação 2) e o coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC) (Equação 3) foram calculados com as seguintes fórmulas (NERY *et al.*, 2011; SALERNO, 2014):

$$2) \text{ CEA} = \frac{\text{PF} - \text{PI}}{\text{TA}} \quad \text{Eq. 2}$$

$$3) \text{ CGPCC} = \frac{\text{PF} - \text{PI}}{\text{kcal}} \quad \text{Eq. 3}$$

PF: peso final (g); PI: peso inicial (g); TA: alimento total ingerido (g); kcal: calorias ingeridas.

4.6.3. Teste oral de tolerância a glicose

Todos os animais passaram por jejum de 6 horas e posteriormente foi verificada a glicemia de jejum via caudal (tempo= 0), com o uso de um glicosímetro G-Tech® (G-TECH Free, Infopia Co., Ltd Coréia do Sul). E receberam por gavagem a solução de D-glicose (Sigma Aldrich, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil), 2 g/kg de peso corporal. A leitura da glicemia foi realizada nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos após a aplicação da glicose (SANTOS *et al.*, 2008).

4.6.4. Parâmetros bioquímicos

As análises séricas de colesterol total, HDL-colesterol, não HDL colesterol, triglicerídeos e glicose foram realizados no Laboratório de Bioquímica do Curso de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição (Facfan) da UFMS, pelo método colorimétrico-enzimático, utilizando o kit enzimático Labtest®, (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil) específico para cada dosagem e a absorbância foi lida a 505 nm, realizada em leitor de ELISA (TP Reader, Thermo Plate, Brasil) (FLEG, 1973; HAGEN; HAGEN, 1962; CAREY; FELBRUEGGE; WESTGARD, 1974).

Os cálculos das concentrações séricas foram realizados conforme orientação dos kits Labtest®, com as seguintes equações (4,5,6):

$$4) COL e TRI = média da absorbância \frac{amostra}{padrão} \times 200 \quad \text{Eq. 4}$$

$$5) Col HDL = média da absorbância \frac{amostra}{padrão} \times 400 \quad \text{Eq. 5}$$

$$6) Glicose = média da absorbância \frac{amostra}{padrão} \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

A determinação do colesterol não-HDL foi calculada pela diferença do colesterol total e o HDL-colesterol (FLORENCE *et al.*, 2014).

4.6.5. Lipídeos hepáticos

A técnica para a extração dos lipídeos hepáticos foi pelo método Folch *et al.* (1957) e a determinação dos lipídeos totais, colesterol e triglicerídeos utilizando o kit enzimático Labtest® (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil).

O fígado foi descongelado, e coletado 50 mg de tecido, macerado homogeneizado em tubos de vidro tampado com 1900 µL de solução clorofórmio: metanol (2:1) por 3 minutos. Após a homogeneização foram adicionados 400 µL de metanol, jato forte, e os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi então transferido para tubos limpos previamente pesados. Em seguida foram acrescentados 800 µL de clorofórmio e 640 µL de NaCl 0,73%, jato

forte e realizada homogeneização lenta. Logo após as amostras foram novamente centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm. A fase superior foi desprezada e a parede interior de cada tubo foi lavada 3 vezes com 600 µL (por vez) de solução de Folch (3% de clorofórmio, 48% de metanol, 47% de água destilada e 2% de NaCl 0,2%). E então, os tubos foram colocados para secar em estufa a 60 °C. A quantidade de lipídeos extraída foi calculada pela diferença de peso entre o tubo após secagem (com lipídeos) e o tubo vazio (antes do experimento).

A partir dos lipídeos extraídos, eles foram suspensos novamente em 500 µL de isopropanol para iniciar a determinação dos níveis de colesterol total e triglicerídeos. Foram transferidos 10 µL da solução para os poços de microplacas de ELISA, e adicionados de 1000 µL do reagente do kit. A determinação da medida padrão foi realizada com 10 µL da solução padrão do kit, e submetidos em banho-maria por 10 minutos a 37 °C, seguido de leitura da absorbância a 505 nm em aparelho de ELISA Plate Analyzer ROBOTINIK® (JASCOLKA, 2010). E o cálculo de determinação do colesterol total e triglicerídeos, obedeceram a mesma fórmula (Equação 4) citada para os parâmetros bioquímicos do kit enzimático Labtest®.

4.6.6. Histologia do tecido adiposo epididimal, fígado e pâncreas

Fragmentos do tecido adiposo epididimal, fígado e pâncreas foram fixados em solução de formalina a 10% por 24 horas e depois mantidos em álcool 70% até o processamento histológico. Em seguida os espécimes foram desidratados em baterias de álcool e xilol, incluídos em parafina, cortados em micrótomo com espessura de 5 µm cada e corados por hematoxilina-eosina (TEIXEIRA et al., 2006; MORAIS, 2013).

A análise histológica do fígado e do pâncreas foi realizada por patologista com experiência na área. Para as análises do efeito do tratamento nos hepatócitos utilizou-se o sistema de Kleiner (2005), onde avaliou-se o grau de esteatose (< 5%, 5 a 33%, 34 a 66%, > 66%), esteatose microvesicular (ausente ou presente), inflamação lobular (Ausente, < 1 foco/campo, 2-4 focos/campo ou > 4 focos/campo), balonização (ausente, poucas células ou muitas células), hialino de Mallory (ausente ou presente), núcleo glicogenado (nenhum/raros ou alguns) e

apoptose (ausente ou presente). Na avaliação da arquitetura do pâncreas foram avaliadas alterações nas Ilhotas de Langerhans (sem alteração, atrofia discreta, atrofia, hipertrofia discreta e hipertrofia), ácinos pancreáticos (sem alteração, necrose/atrofia), e inflamação pela presença de células inflamatórias internamente (insulite) e na periferia (perinsulite) das ilhotas de Langerhans (PASINI, 2012; WANG et al., 2014; CHANDRAN et al., 2016).

Para a análise da área dos adipócitos do tecido adiposo epididimal, inicialmente foi realizada a captura de imagens utilizando o sistema de câmera digital LEICA DFC 495 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany,), integrado ao microscópio LEICA DM 5500B (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany,) com aumento de 20x. As imagens foram analisadas com auxílio do software LEICA Application Suite versão 4.0 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany,) e a média da área de 100 adipócitos por amostra foi determinada (PEREIRA et al., 2012).

4.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância para comparação entre os grupos, foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média. O teste ANOVA de uma via foi aplicado para comparação múltipla de resultados paramétricos, seguido de pós teste Tukey e, para comparação de dois grupos, teste *t* de *Student*. O teste de Kruskal-Wallis foi empregado para as variáveis numéricas que apresentarem distribuição não-normal. A análise foi complementada com teste de Dunn, se houvesse diferença estatística.

A comparação entre os grupos experimentais, em relação à área sob a curva glicêmica, tanto para a glicemia inicial, como para a glicemia final, foi realizada por meio do teste ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey (ROWE, 2007). O teste do qui-quadrado com correção de Bonferroni foi utilizado para a avaliação da associação das análises histológicas. O programa estatístico operado para as análises foi o SigmaPlot, versão 12.5, considerando um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização química e teor de ácidos graxos da polpa de bocaiuva liofilizada

A composição química da polpa de bocaiuva liofilizada está descrita na Tabela 3 e comparada a outros estudos com a polpa de bocaiuva em base seca (COIMBRA *et al.*, 2011) e a farinha de bocaiuva (KOPPER *et al.*, 2010). O teor de umidade mostrou-se reduzido quando comparado à polpa em base seca e a farinha de bocaiuva. O resíduo mineral fixo apresentou valores bem próximos entre eles. Os teores de proteínas e lipídeos da polpa liofilizada demonstraram menores valores comparados a polpa em base seca e aumentados quando comparados a farinha de bocaiuva. Entre valores encontrados para os carboidratos totais, a polpa liofilizada apresentou o maior teor. O que levou a concluir que a polpa liofilizada apresenta teores de carboidratos ($48,67 \text{ g.100g}^{-1}$), proteínas ($4,25 \text{ g.100g}^{-1}$) e valor energético total ($423,27 \text{ kcal/100g}$) que superaram os valores da farinha de bocaiuva para carboidratos ($35,75 \text{ g.100g}^{-1}$), proteínas ($3,18 \text{ g.100g}^{-1}$) e valor energético total ($381,08 \text{ kcal/100g}$), respectivamente, em 26% a mais de carboidrato, 25% a mais de proteína e 10% a mais de calorias.

Tabela 3 - Composição química da polpa liofilizada de bocaiuva, polpa em base seca e farinha da polpa.

Polpa de bocaiuva (100g^{-1})			
Componentes	Polpa liofilizada	Polpa em base seca (Coimbra <i>et al.</i> , 2011)	Farinha da Polpa (Kopper <i>et al.</i> , 2010)
Umidade	$1,11 \pm 0,04$	$5,98 \pm 0,15$	9,85
Resíduo mineral fixo	$3,34 \pm 0,01$	$2,17 \pm 0,02$	$3,47 \pm 0,06$
Proteínas	$4,25 \pm 0,33$	$6,72 \pm 0,45$	$3,18 \pm 0,04$
Lipídeos	$23,51 \pm 0,12$	$28,94 \pm 0,83$	$25,04 \pm 0,47$
Glicídios totais	$48,67 \pm 3,38$	36,22	35,75
Fibras totais	$22,90 \pm 0,04$	$20,26 \pm 0,28$	$22,71 \pm 0,87$
Valor calórico total (kcal)	423,27	432,00	381,08

*Dados apresentados com média $\pm$ desvio padrão.

Essa diferença pode ser associada ao percentual de umidade muito reduzido, justificado pelo processo de liofilização, onde a umidade foi removida a baixas temperaturas, ocorrendo o aumento da estabilidade dos compostos e a minimização de várias reações de degradação de nutrientes. A liofilização da polpa pode contribuir como forma de enriquecimento no aporte calórico, nutrientes para formulações de produtos alimentícios e de suplementação de fibras, conforme apresentado sua composição na Tabela 4.

Tabela 4 - Fibras alimentares da polpa liofilizada de bocaiuva

Polpa de bocaiuva (100g⁻¹)	
Fibras solúveis	10,35±0,32
Fibras insolúveis	12,54±0,36
Fibras totais	22,90±0,04

A desidratação por liofilização é uma técnica proveitosa de conservação de frutos, contribui no momento de produção excedente de frutos maduros que é durante a safra, com tal processo é possível disponibilizar o fruto a qualquer época do ano (SILVA *et al.*, 2017). Contudo foi apresentado que a polpa de bocaiuva liofilizada não obteve perdas nutricionais importantes entre os itens avaliados, visto que a técnica de liofilização prolonga a validade, reduz a contaminação, preserva os nutrientes e seu valor nutricional.

O teor de ácidos graxos (Tabela 5) do óleo da polpa apresentou condizente ao encontrado nos estudos de Hiane *et al.* (2005) e Lescano *et al.* (2015), principalmente nos valores de ácido palmítico (15,96 e 17,65) e oleico (65,87 e 70,28), respectivamente, que são os ácidos graxos mais predominantes na polpa de bocaiuva.

Tabela 5 - Teores de ácidos graxos (% em área) do óleo polpa liofilizada

Ácidos graxos	Óleo da polpa liofilizada (%)
Saturados (AGS)	
Butírico, C4:0	1,3230
Capróico, C6:0	0,1615
Caprílico, C8:0	0,1000
Láurico, C12:0	0,5440
Mirístico, C14:0	0,3086
Palmítico, C16:0	18,5113
Esteárico, C18:0	2,2029
TOTAL AGS	23,1513
Monoinsaturados AGMI	
Palmitoleico, C16:1	3,1157
Oleico, C18:1(n-9)	57,2177
Eicosenoico, C20:1 (n-9)	0,1414
TOTAL AGMI	60,4748
Poli-insaturados AGPI	
Linoleico, C18:2 (n-6)	5,5059
Linolênico, C18:3 (n-3)	0,9954
TOTAL AGPI	6,5013

* Ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos insaturados (AGMI), ácidos graxos poli-insaturados (AGPI).

Outros frutos da Região do Cerrado também apresentam uma concentração dos ácidos palmítico e oleico em sua composição, tais como respectivamente, o *Caryocar brasiliense* (pequi) (32,52 e 48,60%) (FARIA *et al.*, 2015); *Annona crassiflora* Mart. (araticum) (10,78 e 66,90%); *Butia capitata* Mart. (coquinho azedo) (18,81 e 48,07%) (LOPES *et al.*, 2012) respectivamente.

5.2. Composição de macronutrientes das dietas

Neste estudo considerando as qualidades nutricionais da polpa de bocaiuva, como alimento rico em calorias, fibras e ácidos graxos, como o ácido graxo oleico, o presente trabalho analisou o efeito desses nutrientes incorporados na dieta de modelos animais.

A composição dos macronutrientes das dietas experimentais (Tabela 6) foi calculada de acordo com a composição química dos ingredientes utilizados na formulação de cada dieta demonstra, portanto, diferentes quantidades de calorias, macronutrientes, colesterol e percentual de polpa liofilizada. Além disso, foram elaboradas conforme os objetivos propostos aos grupos experimentais, para manutenção de peso do grupo controle (SHAM), foi utilizada a dieta AIN93-M (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), e para ganho de peso dos grupos experimentais *high fat* (HF) foi utilizada a dieta *High Fat* (PIMENTEL *et al.*, 2013). O percentual de adição de colesterol na dieta *High Fat*, foi determinado com base em estudos que constatarem a descompensação do perfil lipídico em roedores (KAMADA *et al.*, 2013; CHOI *et al.*, 2012; ORELLANA *et al.*, 2014). E a adição de polpa de bocaiuva liofilizada foi incorporada nos percentuais 1%, 2% e 4%, por quilo de ração e denominados os grupos tratados: HF com 1% de polpa (HFP1%), HF com 2% de polpa (HFP2%), HF com 4% de polpa (HFP4%).

Tabela 6 - Composição das dietas experimentais

Composição	AIN-93M	HF	HF P1%	HF P2%	HF P4%
Energia (kcal/kg)	3380,0	5360,0	5360,0	5360,0	5360,0
Carboidratos (%)	72,00	34,80	34,80	34,80	34,80
Proteínas (%)	14,73	20,00	20,00	20,00	20,00
Lipídeos (%)	9,47	35,20	35,20	35,20	35,20
Fibras (%)	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Colesterol (%)	-	1,25	1,25	1,25	1,25
Calorias/g	3,78	5,36	5,36	5,36	5,36

*AIN-93M: dieta controle; HF: dieta *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: dieta *high fat* com 1% de polpa; HFP2%: dieta *high fat* com 2% de polpa; HFP4%: dieta *high fat* com 4% de polpa.

5.3. Teste de toxicidade aguda

A realização do teste de toxicidade aguda foi efetivada antes de iniciar o estudo experimental com as dietas. O resultado do teste evidenciou que a DL₅₀ (dose letal 50% - dose que mata 50% dos animais) seja superior a 2000 mg/kg de peso corporal, por não haver sinais de toxicidade sistêmica, alterações no peso corporal, ingestão alimentar (ANEXO B), excreção de urina e fezes. E no resultado do teste *Screening* Hipocrático (ANEXO C) não foi observado nenhuma alteração motora e/ou sensorial, neurológica, assim como não houve morte de nenhum animal. A pesagem do fígado, baço, pâncreas, pulmões, coração e rins não apresentaram diferença significativa entre os grupos, bem como alterações macroscópicas nos órgãos dos animais.

5.4. Experimento animal

O tratamento dos camundongos *Swiss* com as dietas experimentais foi realizado por 90 dias e verificado semanalmente o consumo da dieta e ganho de peso corporal; ao final do experimento os parâmetros bioquímicos, peso das gorduras viscerais e fígado; e nos tempos 0, 45 e 90 dias realizado o teste tolerância oral a glicose.

O controle do peso corporal e da ingestão alimentar dos grupos experimentais está apresentado na Tabela 7. Os animais inicialmente apresentaram peso uniforme entre eles, sem diferença estatística. Ao término do experimento, 90 dias, o peso final não reportou diferença significativa quando comparado aos grupos tratados com dieta *high fat*, ocorreu diferença estatística apenas do HF com o grupo SHAM. O aumento do peso final dos grupos que receberam dieta *high fat*, corrobora com outros autores na eficiência da dieta *high fat* (rica em gorduras saturadas) oferecida para camundongos para ganho de peso em pesquisas experimentais (CUNHA *et al.*, 2013; PIMENTEL *et al.*, 2013; RABOT *et al.*, 2016).

Tabela 7 - Peso inicial e final, ganho de peso, ingestão alimentar

Parâmetros	Grupos experimentais
------------	----------------------

	SHAM	HF	HF P1%	HF P2%	HFP 4%,
Peso inicial (g) ¹	35,28±0,84 ^a	34,53±0,85 ^a	34,66±0,88 ^a	32,53±1,32 ^a	34,94±1,12 ^a
Peso final (g) ²	48,93±0,84 ^b	54,27±0,79 ^a	53,66±1,58 ^{ab}	54,20±1,60 ^{ab}	53,53±1,72 ^{ab}
Ganho de peso (g) ¹	14,20±0,94 ^b	19,73±0,68 ^a	19,00±0,68 ^a	21,66±0,92 ^a	18,60±1,08 ^a
Ingestão alimentar (g/dia) ²	4,77±0,05 ^b	3,50±0,07 ^a	3,65±0,06 ^a	3,54±0,08 ^a	3,67±0,07 ^a
Coef. Eficácia alimentar ¹	0,03±0,00 ^b	0,06±0,00 ^a	0,06±0,00 ^a	0,07±0,03 ^a	0,06±0,00 ^a
Ganho peso/ consumo calórico ¹	0,010±0,00 ^b	0,012±0,00 ^a	0,011±0,00 ^{ab}	0,013±0,00 ^a	0,011±0,00 ^{ab}

Nota: valores expressos em média ± erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ¹ ANOVA, seguido de pós teste Tukey. ² Kruskal-Wallis, seguido de pós teste Dunn's. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: grupo *high fat* polpa 1%; HFP2%: grupo *high fat* polpa 2%; HFP4%: grupo *high fat* polpa 4%.

Ao se avaliar a ingestão alimentar verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando se comparou o grupo Sham com os demais. Ainda percebeu-se que este grupo obteve menor ganho de peso quando comparado com os grupos HF, HFP1%, HFP2%, e HFP4%, respectivamente.

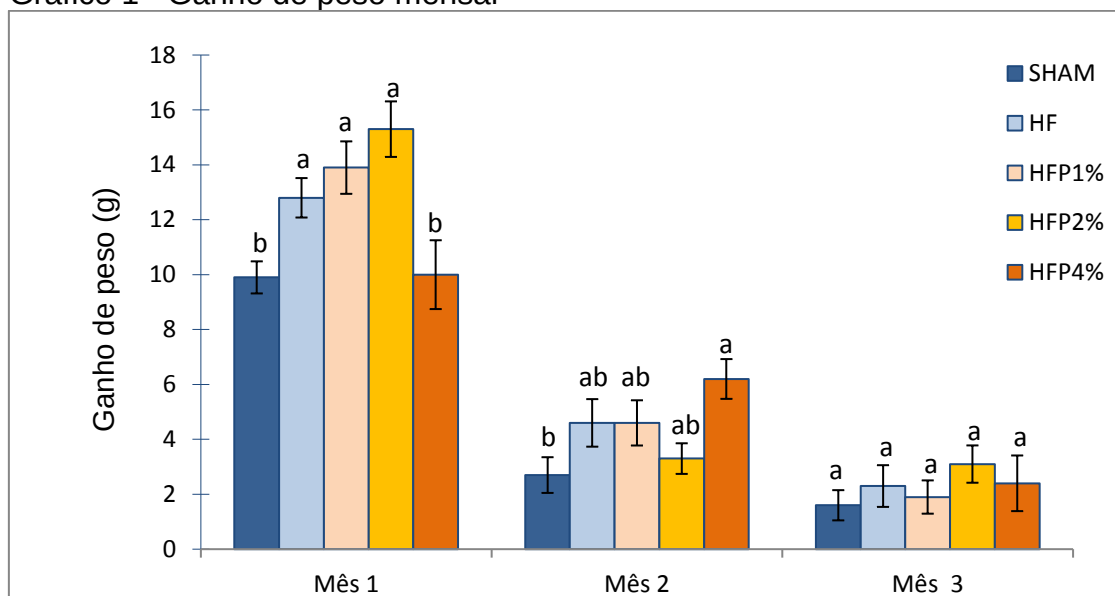
O coeficiente alimentar demonstra que os animais que receberam as dietas HF tiveram mais saciedade, visto que comeram menos, entretanto ganharam mais peso corporal. A diferença de ganho de peso pode ser devido a densidade calórica das dietas *high fat* (5,36 kcal/g) com a dieta do grupo SHAM (3,78 kcal/g). Contudo quando analisado o ganho de peso pelo consumo calórico, o grupo Sham difere apenas dos grupos HF e HFP2%.

A adição da polpa de bocaiuva nas concentrações 1%, 2% e 4% não exerceram efeitos sobre a quantidade de ração ingerida, visto que todos os grupos que receberam polpa liofilizada de bocaiuva consumiram em média a mesma quantidade do grupo HF. Alguns estudos com polpas de frutos como *Euterpe edulis* Mart. (juçara), *Caryocar brasiliense* (pequi), *Hylocereus polyrhizus* (pitaya) que utilizaram concentrações de 1%-5%, apontam que o consumo da dieta

experimental também não foi induzido pelo sabor/aroma do fruto adicionado (DE SOUZA *et al.*, 2010; MORENO *et al.*, 2016; OYAMA *et al.*, 2016).

A evolução do ganho de peso mensal também foi analisada, e evidenciou que o tratamento com a polpa de bocaiuva não teve efeito redutor no peso corporal dos animais de maneira efetiva, apenas no primeiro mês o grupo HFP4% apresentou diferença com os grupos que receberam dieta *high fat*. Os dados são apresentados no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Ganho de peso mensal



Nota: valores expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ¹ ANOVA, seguido de pós teste Tukey. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: grupo *high fat* polpa 1%; HFP2%: grupo *high fat* polpa 2%; HFP4%: grupo *high fat* polpa 4%.

Conforme demonstrado na Tabela 8, o peso das gorduras omental, epididimal, perirrenal e o peso do fígado não apresentaram diferença entre os grupos. O peso da gordura mesentérica apresentou diferença significativa quando comparada entre os grupos HF, HFP2% e HFP4% com SHAM, e o peso da gordura retroperitoneal do grupo HFP4% com SHAM, sugerindo maior concentração de gordura visceral nos grupos tratados com a dieta hiperlipídica. No entanto, ao se avaliar o índice de adiposidade não se estabeleceu diferença significativa entre os grupos, todavia pode ser notado que o índice de adiposidade do HFP1% é o menor valor entre os grupos.

Tabela 8 - Peso dos sítios de gorduras viscerais (g), peso do fígado (g) e índice de adiposidade (%)

Nota: valores expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ¹ANOVA, seguido de pós teste Tukey. ²Kruskal-Wallis, seguido de pós teste Dunn's. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: grupo *high fat* polpa 1%; HFP2%: grupo *high fat* polpa 2%; HFP4%: grupo

Parâmetros	Grupos experimentais				
	SHAM	HF	HFP1%	HFP 2%	HFP 4%
Gordura epididimal (g) ¹	1,62 $\pm$ 0,11 ^a	1,92 $\pm$ 0,15 ^a	1,59 $\pm$ 0,14 ^a	1,75 $\pm$ 0,15 ^a	1,98 $\pm$ 0,18 ^a
Gordura mesentérica (g) ²	1,14 $\pm$ 0,11 ^b	1,75 $\pm$ 0,09 ^a	1,45 $\pm$ 0,12 ^{ab}	1,89 $\pm$ 0,12 ^a	1,69 $\pm$ 0,13 ^a
Gordura omental (g) ¹	0,03 $\pm$ 0,00 ^a	0,05 $\pm$ 0,00 ^a	0,03 $\pm$ 0,00 ^a	0,05 $\pm$ 0,00 ^a	0,03 $\pm$ 0,00 ^a
Gordura retroperitoneal (g) ¹	0,52 $\pm$ 0,04 ^b	0,82 $\pm$ 0,09 ^{ab}	0,62 $\pm$ 0,04 ^{ab}	0,84 $\pm$ 0,12 ^{ab}	0,94 $\pm$ 0,09 ^a
Gordura perirrenal (g) ¹	0,32 $\pm$ 0,03 ^a	0,42 $\pm$ 0,03 ^a	0,35 $\pm$ 0,04 ^a	0,04 $\pm$ 0,05 ^a	0,38 $\pm$ 0,02 ^a
Índice de adiposidade (%) ¹	4,44 $\pm$ 0,31 ^a	5,17 $\pm$ 0,38 ^a	4,30 $\pm$ 0,32 ^a	4,84 $\pm$ 0,34 ^a	5,51 $\pm$ 0,41 ^a
Fígado (g) ¹	2,09 $\pm$ 0,12 ^a	2,69 $\pm$ 0,23 ^a	2,55 $\pm$ 0,1 ^a	2,89 $\pm$ 0,2 ^a	2,47 $\pm$ 0,18 ^a

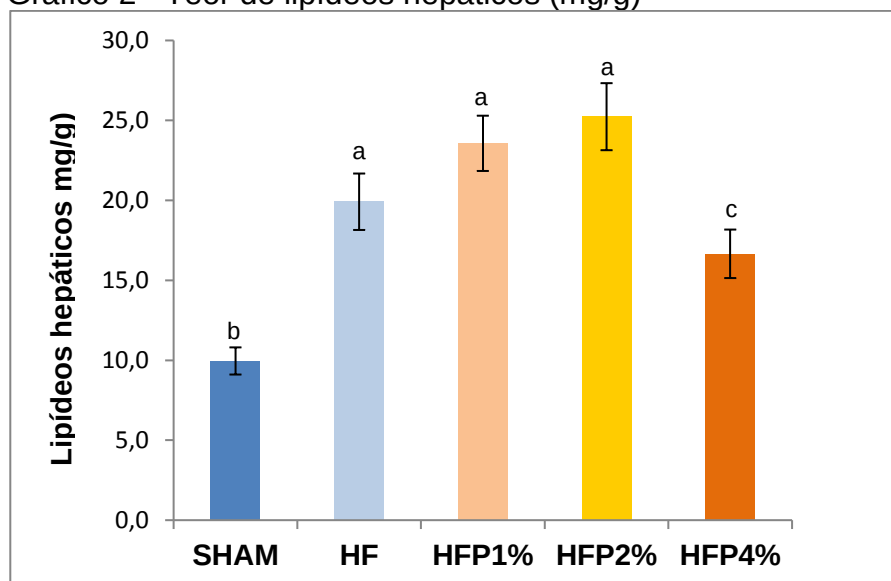
high fat polpa 4%.

O índice de adiposidade é um parâmetro muito utilizado e considerado boa ferramenta para analisar a adiposidade instalada, juntamente com a avaliação histológica do tamanho dos adipócitos, pois auxilia para conferência da pré-disposição de alterações cardiometabólicas (LAFOREST *et al.*, 2015; LAFOREST *et al.*, 2017). Estudo envolvendo camundongos tratados com dieta *high fat* por 2 semanas, verificou-se um importante aumento no índice de adiposidade, com progressão de até 2,19 g de gordura corporal nos animais, podendo contribuir na inflamação do tecido adiposo branco e desenvolvimento da resistência à insulina (ANUNCIADO KOZA; MANUEL; KOZA, 2016). Outro estudo, um pouco mais longo, com 18 semanas, analisou o efeito da dieta hiperlipídica em camundongos, também foi verificado o aumento desse índice quando comparado ao grupo controle, além de parâmetros como glicemia aumentada e resistência à insulina (COSTA *et al.*, 2016).

Os desequilíbrios do aumento da gordura visceral podem resultar em excesso de triglicerídeos e colesterol no fígado, bem como um fígado aumentado. A avaliação do perfil lipídico hepático é considerada um bom marcador para as comorbidades associadas a obesidade (WREE *et al.*, 2014).

O teor dos lipídeos hepáticos (Gráfico 2) foi extraído pelo método Folch. Nesta análise observou-se que a dieta com 4% de polpa de bacia liofilizada foi capaz de melhorar o teor de lipídeo hepático do grupo HFP4%, quando comparado aos outros grupos tratados HFP1% e HFP2% e o HF. A dieta HFP4% apresenta quantidade maior de polpa liofilizada, e pode se estimar que os componentes majoritários como as fibras (solúveis e insolúveis), os ácidos graxos monoinsaturados como o ácido graxo oleico, promoveram efeito benéfico favorecendo menor acúmulo de lipídeos hepáticos.

Gráfico 2 - Teor de lipídeos hepáticos (mg/g)



Nota: valores expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ANOVA, seguido de pós teste Tukey. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo high fat (hiperlipídica); HFP1%: grupo high fat polpa 1%; HFP2%: grupo high fat polpa 2%; HFP4%: grupo high fat polpa 4%.

A Tabela 9 compreende os resultados obtidos da análise de colesterol total e triglicerídeos hepático. Para o parâmetro de colesterol, apenas o grupo HFP2% evidenciou valor aumentado comparado ao SHAM, enquanto os outros grupos expressaram similaridade com SHAM. E para os valores de triglicerídeos a dieta

high fat foi capaz de aumentar os triglicerídeos hepáticos dos grupos HF e HFP2%, comparada a dieta AIN-93M.

Tabela 9 - Resultado bioquímico por método Folch do fígado dos animais

Parâmetros	Grupos experimentais				
	SHAM	HF	HF P1%	HF P2%	HFP 4%
Colesterol total (mg/dL)	89,31±4,38 ^b	133,34±17,76 ^{ab}	100,12±7,24 ^{ab}	152,43±15,74 ^a	113,69±15,96 ^{ab}
Triglicerídeos (mg/dL)	315,86±30,48 ^b	445,74±28,56 ^a	395,93±34,25 ^{ab}	506,48±30,91 ^a	426,86±37,58 ^{ab}

Nota: valores expressos em média ± erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ANOVA, seguido de pós teste Tukey. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: grupo *high fat* polpa 1%; HFP2%: grupo *high fat* polpa 2%; HFP4%: grupo *high fat* polpa 4%.

Ao se analisar os resultados reportados para triglicerídeos no soro (Tabela 10), os grupos HF, HFP1%, HFP2% e HFP4% apresentaram diferenças significativas, com menores valores quando comparados ao grupo SHAM. O que nos leva também a refletir sobre a dieta AIN-93M, visto que mesmo com características normolipídicas em sua composição, possui teor elevado de carboidratos. Esse resultado corrobora com relatos na literatura que apontam que o teor elevado de carboidratos contidos na composição da AIN-93M, pode induzir alterações de triglicerídeos no soro de roedores (SANTOS *et al.*, 2015; MELO *et al.*, 2016).

Tabela 10 - Resultados dos parâmetros bioquímicos do soro dos animais

Parâmetros	Grupos experimentais				
	SHAM	HF	HF P1%	HF P2%	HFP 4%
Triglicerídeos	223,29±14,45 ^a	151,77±7,39 ^b	148,23±4,54 ^b	159,16±5,29 ^b	178,75±10,81 ^b
Colesterol total	197,06±9,46 ^b	206,12±7,33 ^b	255,97±10,67 ^a	258,55±12,47 ^a	212,04±10,20 ^b
Colesterol HDL	131,36±6,27 ^{cd}	121,87±4,12 ^{bd}	165,08±7,02 ^a	164,93±8,14 ^a	150,55±7,15 ^{ac}
Colesterol Não HDL	65,70±4,97 ^a	84,25±6,58 ^a	90,88±6,90 ^a	93,62±9,65 ^a	66,06±6,93 ^a
Glicose	162,24±16,24 ^b	245,03±16,03 ^{ac}	250,71±24,19 ^a	281,64±21,48 ^a	173,32±18,21 ^{bc}

Nota: valores expressos em média ± erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ANOVA, seguido de pós teste Tukey. n=15. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: grupo *high fat* polpa 1%; HFP2%: grupo *high fat* polpa 2%; HFP4%: grupo *high fat* polpa 4%.

Parâmetros apresentados para colesterol total dos grupos HFP1% e HFP2% reportaram maiores valores com diferença significativa quando comparado aos demais grupos, bem como para os valores de colesterol HDL. O grupo HFP4% também obteve diferença significativa para HDL quando comparado ao grupo HF e similaridade ao grupo SHAM, HFP1% e HFP2%, inferindo-se que os grupos tratados com polpa de bocaiuva apresentaram maiores valores de colesterol HDL. Níveis elevados de colesterol HDL sanguíneo contribuem como fator de proteção contra o desenvolvimento das DCV (BADMON *et al.*, 2017).

O ácido graxo oleico (ω - 9), constituinte encontrado na polpa de bocaiuva, parece ter influência na melhoria dos parâmetros lipídicos observados em estudos com alimentos ricos em ácido oleico apontam que ele estimula o aumento do colesterol HDL, inibe a formação de trombos, além de contribuir para a redução do colesterol total e do estresse oxidativo (TERES *et al.*, 2008; GARCIA *et al.*, 2008; JONES *et al.*, 2014). Outra atribuição seria a ação das fibras, que a partir do processo de fermentação estimulam a proliferação de bactérias benéficas no colón, reduz o pH e propicia a formação dos ácidos graxos de cadeia curta, como o butirato que atua na regulação de colesterol no organismo (ALEIXANDREA, 2016).

Os níveis de colesterol não HDL não revelaram diferença estatística entre os grupos, porém nota-se uma tendência de similaridade de valores encontrados entre os grupos SHAM e HFP4%.

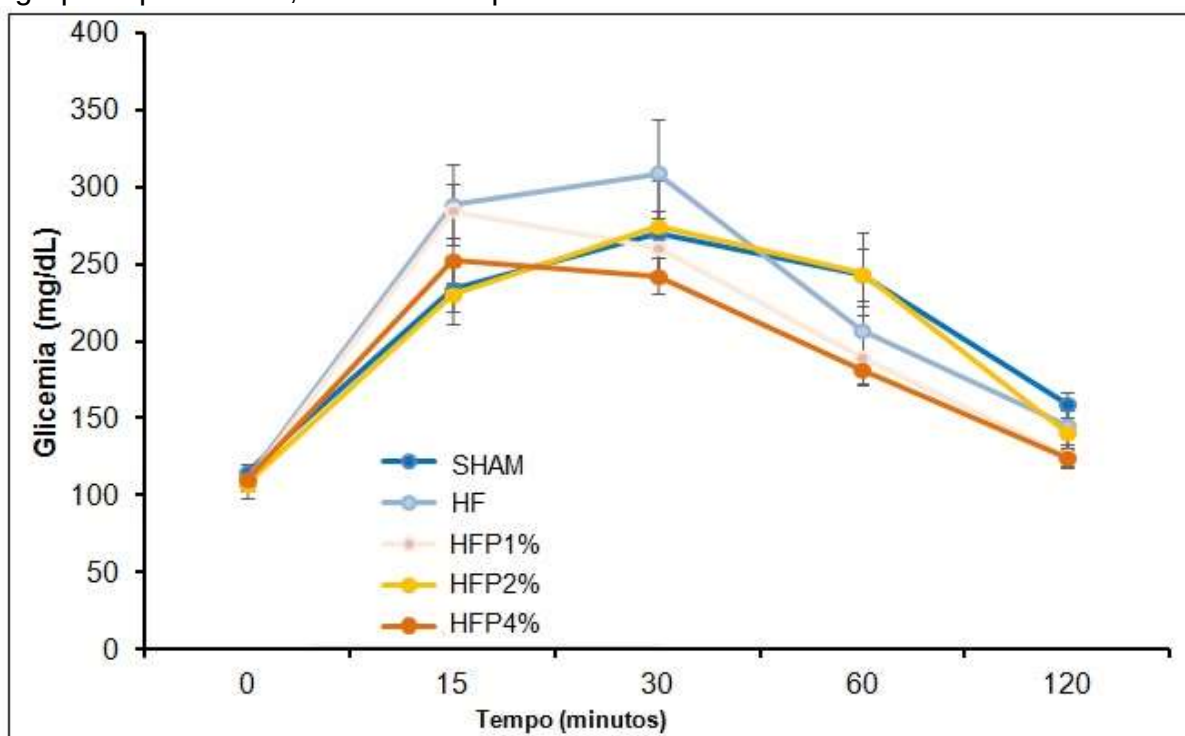
Em relação ao valor de glicose, verificou-se diferença significativa ao se comparar o grupo SHAM aos grupos HF, HFP1% e HFP2%, respectivamente que apresentaram valores aumentados de glicose. O grupo HFP4% evidenciou menores valores de glicose entre os grupos HFP1% e HFP2%, o que pode expressar uma proteção exercida pela polpa de bocaiuva na concentração de 4% presente na dieta, pelo seu teor expressivo de fibras.

A fibra solúvel, especialmente, exerce efeito benéfico no metabolismo de carboidratos, pela capacidade de formar um gel viscoso que retarda o esvaziamento gástrico e a absorção dos carboidratos no intestino delgado, reduzindo picos de glicose na corrente sanguínea bem como a glicemia pós-prandial (DELCOUR *et al.*, 2016), A ingestão regular de fibras dietéticas, contidas

em polpas de frutas, vegetais e cereais possuem comprovada associação na prevenção do desenvolvimento de diabetes (THREAPLETON *et al.*, 2013).

O teste oral de intolerância à glicose realizado no início do experimento (Gráfico 3) apontou que todos os grupos experimentais possuíam valores de glicemia semelhantes e não apresentam discrepância após o recebimento da glicose.

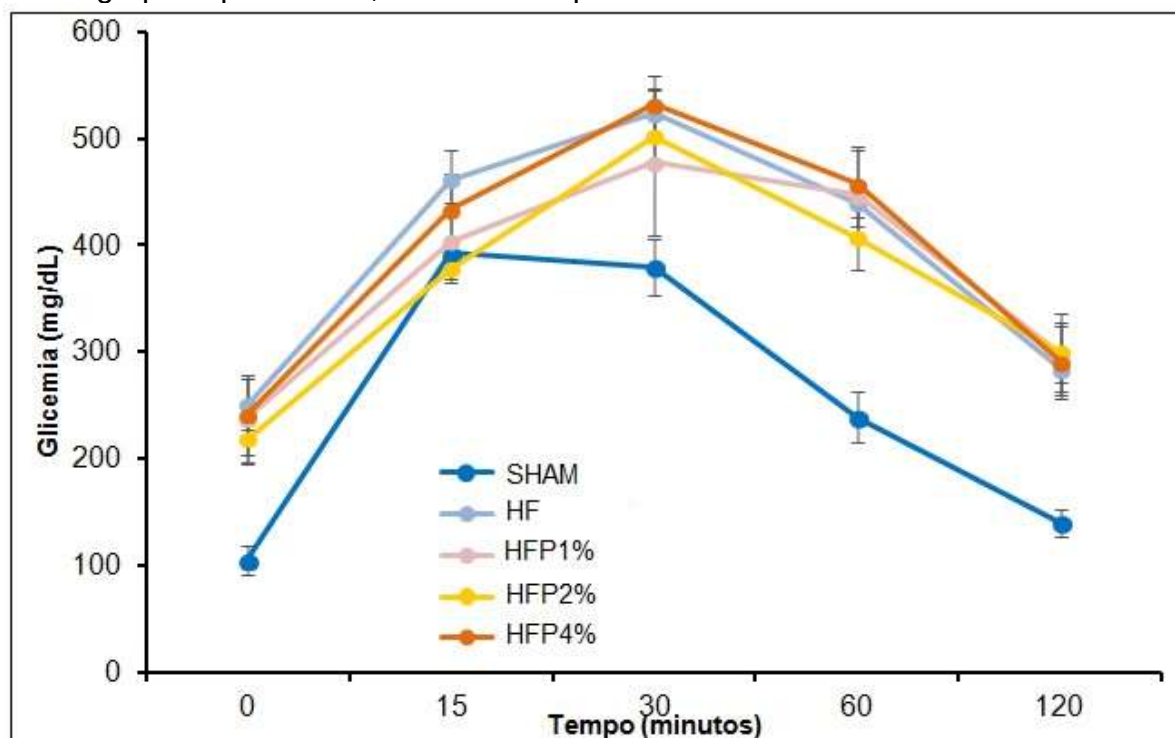
Gráfico 3 - Glicemia dos animais, antes do início do tratamento, de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado.



Nota: Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média. Glicemia final: Glicemia inicial: Efeito do grupo ($p=0,534$), efeito do momento ($p<0,001$) e interação entre grupo e momento ($p<0,001$). SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo *high fat* (hiperlipídica); HFP1%: grupo *high fat* polpa 1%; HFP2%: grupo *high fat* polpa 2%; HFP4%: grupo *high fat* polpa 4%.

Aos 45 dias do tratamento foi realizado o teste novamente (Gráfico 4), e não ocorreu diferença significativa entre os grupos. Entretanto foi verificado descompensação dos valores de glicemia dos grupos HF quando comparado à glicemia inicial (tempo 0) do grupo SHAM.

Gráfico 4 - Gráfico referente a glicemia, durante o tratamento (45 dias), de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado.



Nota: Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média. HF = High Fat. Glicemia final: Efeito do grupo ($p=0,836$), efeito do momento ($p<0,001$) e interação entre grupo e momento ($p=0,856$).

Ao final do experimento o resultado do teste oral de intolerância a glicose (Tabela 11) para a glicemia inicial (tempo 0), revelou similaridade entre os grupos tratados (HFP1%, HFP2% e HFP4%) com o grupo SHAM, sugerindo um efeito benéfico da polpa de bocaiuva no controle da glicemia, nota-se também uma proximidade da glicemia entre SHAM e HFP4%. Ainda percebeu-se diferença estatística no valor da glicemia do grupo HF com o grupo SHAM, o que também corrobora com o efeito da adição de polpa nas dietas.

Tabela 11 - Resultados referentes à glicemia, ao final do tratamento (90 dias), de acordo com o grupo experimental, em cada tempo avaliado.

Grupos	Tempo (minutos)				
	0	15	30	60	120
SHAM	143,13±12,89 ^{Cb}	358,75±36,59 ^{Aab}	306,38±42,28 ^{Abc}	269,00±38,03 ^{Bb}	177,63±29,90 ^{Cb}
HF	281,25±15,35 ^{Da}	439,38±17,53 ^{Bab}	553,88±11,19 ^{Aa}	488,88±21,55 ^{ABa}	364,88±25,31 ^{Ca}
HFP1%	229,50±49,86 ^{Cab}	344,75±38,51 ^{ABb}	398,13±44,70 ^{Ab}	393,63±48,82 ^{Aab}	291,13±38,10 ^{BCab}
HFP2%	255,13±36,54 ^{Cab}	487,38±30,60 ^{Aa}	516,50±27,90 ^{Aab}	396,50±26,03 ^{Bab}	248,13±39,81 ^{Cab}
HFP4%	179,25±26,75 ^{Cab}	368,38±43,75 ^{Bab}	472,75±56,21 ^{Aab}	395,63±27,26 ^{Bab}	236,13±14,87 ^{Cab}

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tempos de análise (pós-teste de Tukey, $p<0,05$). Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

A área da curva glicêmica (Tabela 12) analisa a área sobre a curva dos valores da glicose durante o teste oral de tolerância a glicose, permitindo uma avaliação global do comportamento glicêmico. Tal análise apresentou diferença significativa no meio do experimento (45 dias) entre o grupo SHAM com todos os grupos HF, sugerindo que a dieta HF foi capaz de estimular valores de glicemia aumentados aos 45 dias de tratamento. No entanto ao final do experimento esse comportamento foi alterado pois, ocorreu diferença do grupo SHAM apenas com os grupos HF e HFP2% que apresentaram valores aumentados.

Tabela 12 - Resultados referentes à área sob a curva, em relação à glicemia no início, no meio (45 dias) e ao final do tratamento (90 dias).

Grupo	Glicemia		
	Inicial	Meio	Final
SHAM	882,94±43,92 ^a	1521,13±401,32 ^b	1157,00±106,90 ^b
HF	931,81±71,27 ^a	1690,38±79,27 ^a	1805,19±54,94 ^a
HFP1%	851,06±52,81 ^a	1596,88±154,01 ^a	1396,81±160,58 ^{ab}
HFP 2%	873,19±76,08 ^a	1543,69±62,93 ^a	1652,00±106,12 ^a
HFP 4%	793,19±28,05 ^a	1688,75±108,60 ^a	1444,44±137,43 ^{ab}
Valor de p	0,547	0,002	0,002

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

O pâncreas dos animais foi analisado através da histologia, a partir de alterações na Ilhota de *Langerhans*, ácinos pancreáticos e células inflamatórias; entretanto não evidenciaram alterações relevantes de anormalidade e nenhuma diferença entre os grupos experimentais, conforme apresentado na Tabela 13.

Tabela 13- Resultados das alterações observadas no pâncreas dos animais.

Variável	Grupos experimentais				
	SHAM	HF	HFP1%	HFP2%	HFP4%
Alterações no pâncreas					
Ilhota de Langerhans (p=0,600)					
Normal	57,1 (8)	73,3 (11)	54,5 (6)	63,6 (7)	83,3 (10)
Atrofia	14,3 (2)	13,3 (2)	27,3 (3)	27,3 (3)	0,0 (0)
Hipertrofia	28,6 (4)	13,3 (2)	18,2 (2)	9,1 (1)	16,7 (2)
Sem informação	1	0	0	0	1
Ácinos pancreáticos (p=1,000)					
Sem alteração	100,0 (15)	100,0 (15)	100,0 (11)	100,0 (11)	100,0 (13)
Necrose/Atrofia	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)
Células inflamatórias (p=1,000)					
Sem alteração	100,0 (15)	100,0 (15)	100,0 (11)	100,0 (11)	100,0 (13)
Insulite	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)
Perinsulite	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)

Os dados estão apresentados em frequência relativa (frequência absoluta). Valor de p no teste do qui-quadrado.

Outra análise importante realizada na histologia foi a das alterações do fígado sobre a quantificação da esteatose, esteatose microvesicular, inflamação lobular, balonização, Hialino de Mallory, apoptose e núcleo glicogenado (Tabela 14). Onde tornou-se possível observar a presença de esteatose hepática em todos os grupos experimentais, e com ocorrência de focos >66% entre os grupos tratados com polpa de bocaiuva, no entanto apenas o HFP4% apresentou diferença aos demais (HFP1% e HFP2%) com menores valores. Notou-se também que HFP1% e HFP4% apresentaram maior ausência de inflamação lobular comparado ao HFP2%. No entanto esses benefícios não podem ser

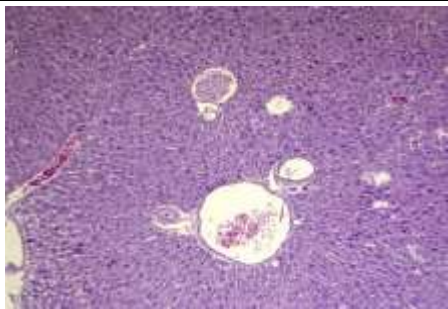
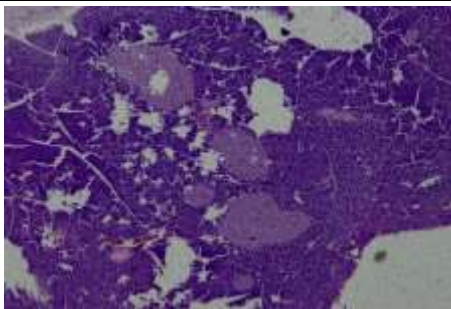
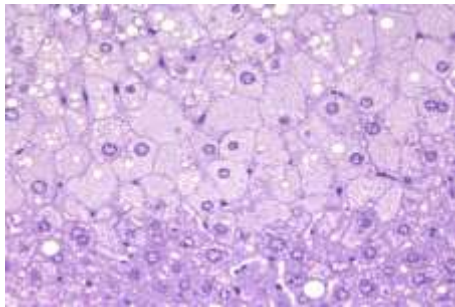
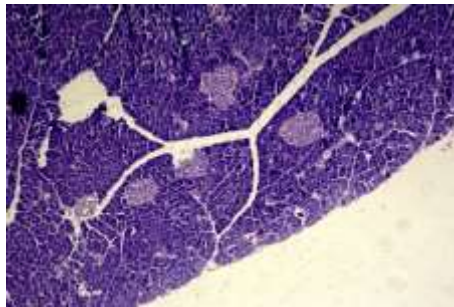
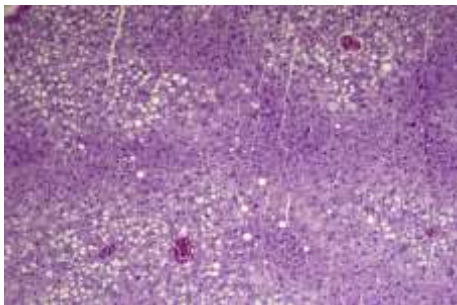
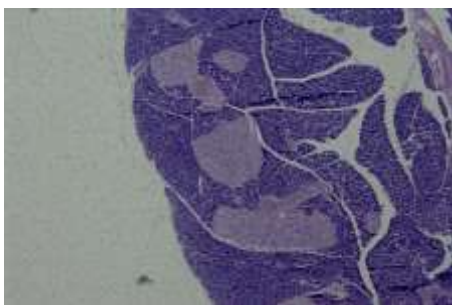
atribuídos à polpa de bocaiuva presente nas dietas, pois o resultado se assemelha aos grupos controles (SHAM e HF).

Tabela 14 - Resultados das alterações observadas no fígado dos animais.

Variável	Grupos experimentais				
	SHAM	HF	HFP1%	HFP2%	HFP4%
Alterações no fígado					
Esteatose (p<0,001)					
< 5%	46,7 (7) ^a	0,0 (0) ^b	0,0 (0) ^{ab}	0,0 (0) ^{ab}	0,0 (0) ^b
5 a 33%	26,7 (4) ^a	40,0 (6) ^a	0,0 (0) ^a	9,1 (1) ^a	38,5 (5) ^a
34 a 66%	20,0 (3) ^a	26,7 (4) ^a	27,3 (3) ^a	0,0 (0) ^a	15,4 (2) ^a
> 66%	6,7 (1) ^c	33,3 (5) ^{bc}	72,7 (8) ^{ab}	90,9 (10) ^a	46,2 (6) ^{abc}
Esteatose microvesicular (p=0,036)					
Ausente	60,0 (9) ^a	14,3 (2) ^a	27,3 (3) ^a	18,2 (2) ^a	53,8 (7) ^a
Presente	40,0 (6) ^a	85,7 (12) ^a	72,7 (8) ^a	81,8 (9) ^a	46,2 (6) ^a
Sem informação	0	1	0	0	0
Inflamação lobular (p=0,004)					
Ausente	93,3 (14) ^a	93,3 (14) ^a	45,5 (5) ^{ab}	27,3 (3) ^b	76,9 (10) ^{ab}
< 2 focos/campo	6,7 (1) ^a	6,7 (1) ^a	45,5 (5) ^a	54,5 (6) ^a	23,1 (3) ^a
2-4 focos/campo	0,0 (0) ^a	0,0 (0) ^a	9,1 (1) ^a	18,2 (2) ^a	0,0 (0) ^a
> 4 focos/campo	0,0 (0) ^a	0,0 (0) ^a	0,0 (0) ^a	0,0 (0) ^a	0,0 (0) ^a
Balonização (p=0,765)					
Ausente	93,3 (14)	86,7 (13)	90,9 (10)	90,9 (10)	100,0 (13)
Poucas células	6,7 (1)	13,3 (2)	9,1 (1)	9,1 (1)	0,0 (0)
Muitas células	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)
Hialino de Mallory (p=1,000)					
Ausente	100,0 (15)	100,0 (15)	100,0 (11)	100,0 (11)	100,0 (13)
Presente	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)
Apoptose (p=1,000)					
Ausente	100,0 (15)	100,0 (15)	100,0 (11)	100,0 (11)	90,9 (13)
Presente	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)
Núcleo glicogenado (p=1,000)					
Nenhum/raros	100,0 (15)	100,0 (15)	100,0 (11)	100,0 (11)	90,9 (13)
Alguns	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)

Dados estão apresentados em frequência relativa (frequência absoluta). Valor de p no teste do qui-quadrado. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (teste do qui-quadrado com correção de Bonferroni, p<0,05).

O perfil da dieta HF utilizada nesse estudo, no qual utiliza fontes lipídicas como banha de porco e óleo de soja, acarreta danos frequentes como o aumento da gordura epididimal, hiperglicemia e resistência à insulina. Devido essas comorbidades associadas à obesidade, tal dieta tem sido empregada em alguns estudos para indução de alterações no fígado, como por exemplo, um fígado gorduroso e presença de esteatose macro e microvesicular (XU, ZHENG-JIE *et al.* 2010; FAN; QUIAO, 2009). Portanto o presente resultado da histologia do fígado (Figura 10) vai de encontro com estudos que empregam a dieta HF para o estudo da NAFLD.

	Fígado	Pâncreas
SHAM		
HF		
HFP1%		

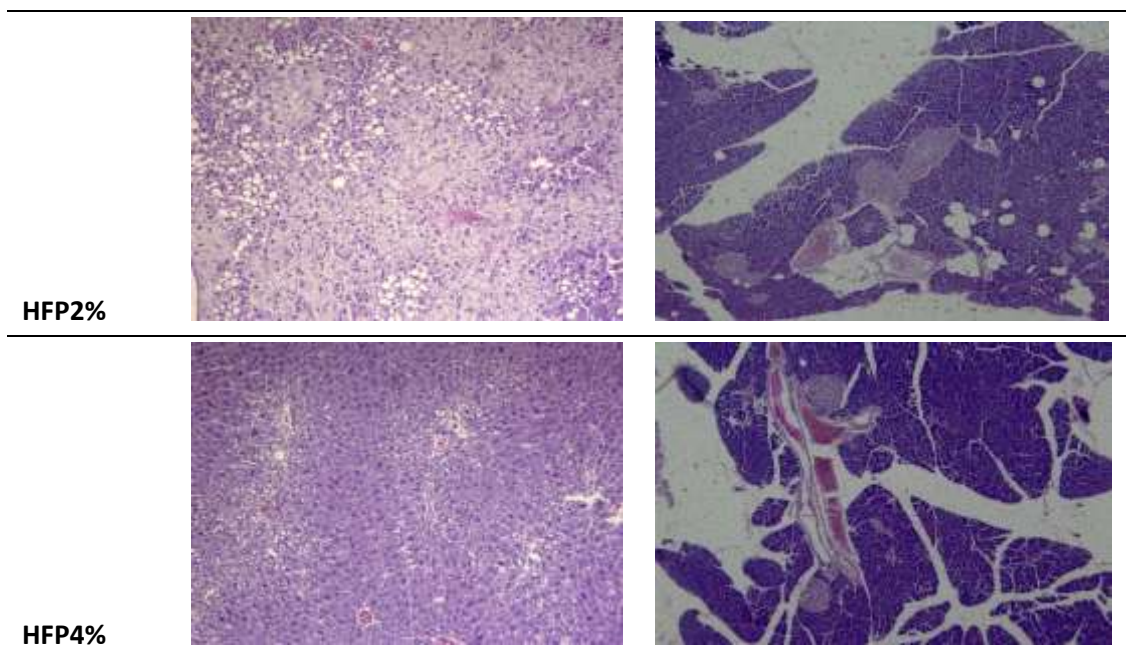
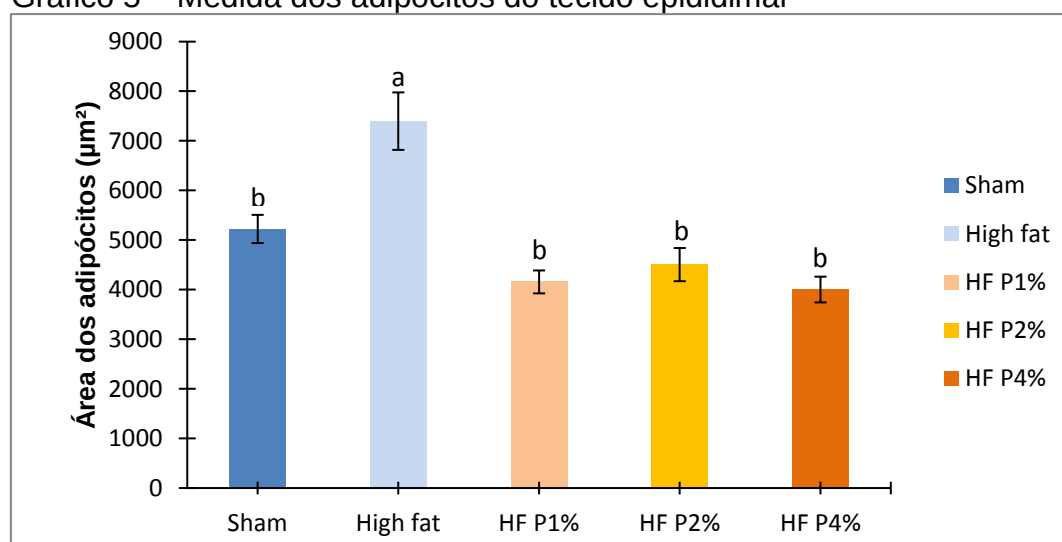


Figura 10 - Morfologia do tecido fígado e pâncreas dos grupos experimentais. Imagens selecionadas da análise histológica, corado com hematoxilina-eosina. Aumento de 20x e escala da barra: 100 μ m.

Na avaliação histológica do tecido adiposo a média da área dos adipócitos dos grupos tratados com polpa de baciúva (HFP1%, HFP2% e HFP4%) fez-se significativamente menor que o grupo HF, e similar ao grupo SHAM, conforme apresentado no Gráfico 5.

Gráfico 5 – Medida dos adipócitos do tecido epididimal



Nota: os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os grupos de $p < 0,05$. ANOVA, seguido de pós teste Tukey. SHAM: grupo controle (AIN-93M); HF: grupo high fat (hiperlipídica); HFP1%: grupo high fat polpa 1%; HFP2%: grupo high fat polpa 2%; HFP4%: grupo high fat polpa 4%.

O consumo da polpa de bocaiuva resultou na remodelação do tecido adiposo, com em média de 42% da área dos adipócitos menores comparado ao grupo controle HF. O consumo da dieta HF resultou em um aumento do tamanho dos adipócitos maiores em 30% que o grupo que consumiu a dieta controle SHAM, indo de encontro a Pereira e colaboradores (2012) que verificou que a administração de dieta HF em camundongos promoveu o ganho de peso e expansão dos adipócitos. Outros estudos relacionam a expansão do tecido adiposo com a maior oferta de ácidos graxos provenientes de dietas HF, principalmente pela atividade lipogênica desse tecido de armazenar triacilgliceróis fornecidos pelas lipoproteínas e de sua atividade lipolítica onde libera ácidos graxos livres para o fígado, o que também acarreta danos no perfil lipídico e resistência a insulina (PEREIRA *et al.*, 2012; SCHAALAN, 2009; TINKOV 2014). Portanto a adição da polpa de bocaiuva liofilizada à dieta HF agiu protegendo de forma significativa contra a expansão do tecido adiposo branco, tal diferença pode ser notada na figura 11.

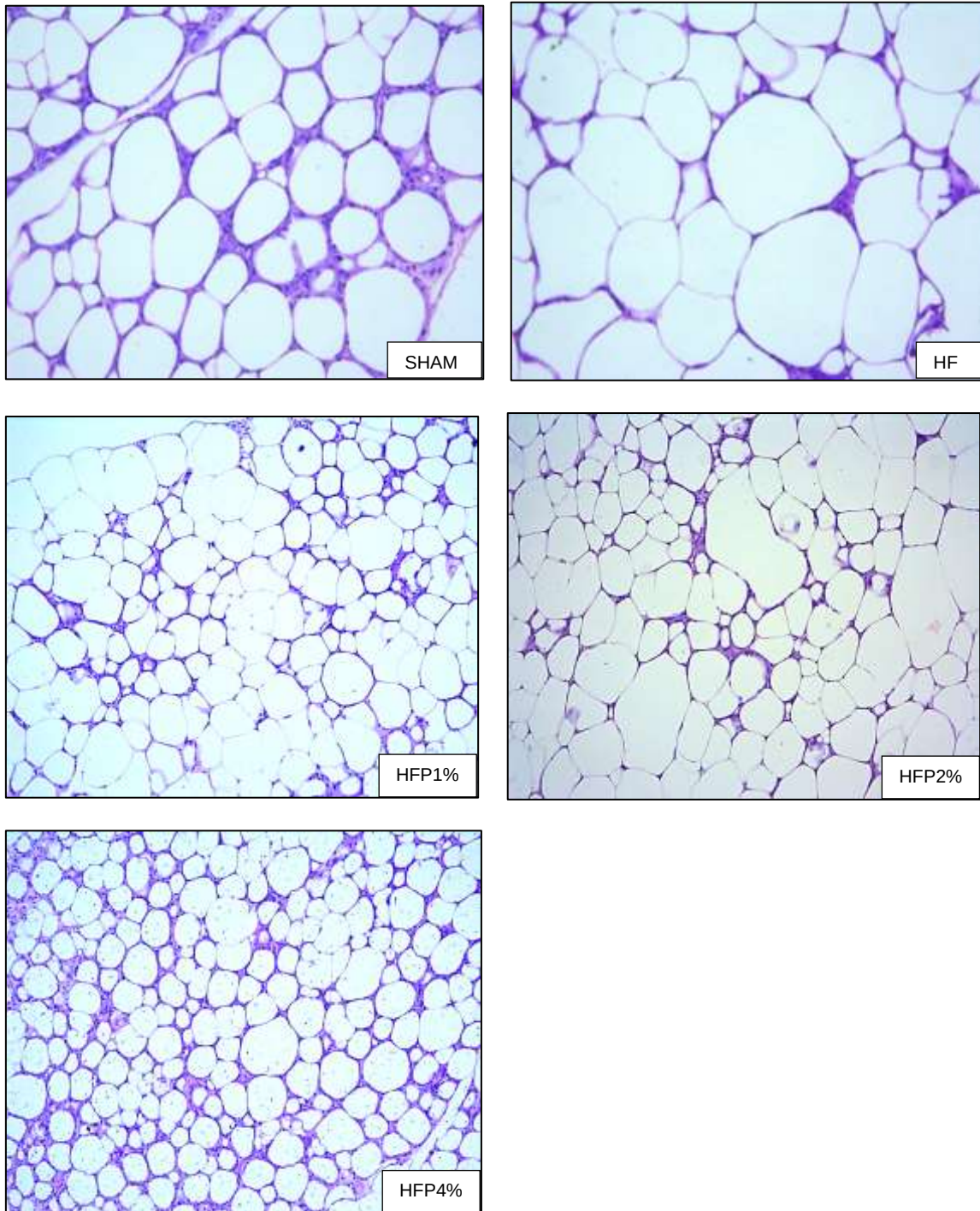


Figura 11 - Morfologia do tecido adiposo epididimal dos grupos experimentais. Imagens selecionadas da análise histológica, corado com hematoxilina-eosina. Aumento de 20x e escala da barra: 100 μ m.

6. CONCLUSÃO

As análises da composição centesimal, determinação das fibras e o perfil lipídico da polpa de bocaiuva liofilizada corroborou com os resultados já relatados na literatura sobre composição da polpa de bocaiuva em base úmida, seca e farinha, e agregou mais uma forma de tratamento da polpa do fruto que é a secagem por liofilização.

Como forma de iniciar seguramente os experimentos com a dieta contendo polpa de bocaiuva liofilizada, o teste de toxicidade aguda realizado no modelo animal, não apresentou nenhuma alteração neurológica, comportamental ou mortalidade, portanto, verifica-se que a polpa de bocaiuva não é tóxica quando consumida.

Com base nos resultados apresentados conclui-se que o efeito da polpa liofilizada de bocaiuva concomitante a uma dieta hiperlipídica com adição de colesterol, para os testes de tolerância oral a glicose nos 3 tempos do experimento (tempo 0, 45 e 90 dias), parâmetros bioquímicos no soro (colesterol total, colesterol não HDL), análises de histologia do fígado e pâncreas e de composição corporal, não demonstrou de forma clara o efeito das dietas com polpa de bocaiuva quando comparadas aos grupos SHAM e HF, inferindo que as concentrações 1%, 2% e 4% nas dietas não estabeleceram uma ordem de resultados de acordo com a proporção da adição de polpa no tratamento.

Contudo evidenciou um aumento significativo nos parâmetros bioquímicos de colesterol HDL no soro de todos os grupos tratados com polpa de bocaiuva liofilizada (HFP1%, HFP2% e HFP4%); na histologia do tecido epididimal a área dos adipócitos foi menor em todos os grupos tratados comparado ao grupo que recebeu HF, sugerindo ação protetora da bocaiuva na expansão de depósitos de gordura epididimal; foi ainda verificado valores reduzidos de glicose no soro dos animais do grupo HFP4% quando comparado aos grupos tratados HFP1% e HFP2%; e também apresentou menor teor de lipídeo hepático do grupo HFP4% comparado aos grupos HF, HFP1% e HFP2%.

Desta forma novas pesquisas ainda devem ser feitas, explorando novas quantidades de suplementação do fruto e seus efeitos protetores na saúde.

7. REFERÊNCIAS

- AGUILAR, E. C. et al. Butyrate impairs atherogenesis by reducing plaque inflammation and vulnerability and decreasing NFκB activation. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 24, n. 6, p. 606-613, 2014.
- AHREN B, HAVEL PJ. Leptin inhibits insulin secretion induced by cellular cAMP in a pancreatic B cell line (INS-1 cells). **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 277, n. 4, p. 959-66. 1999.
- ALABDULKARIM, B.; BAKEET, Z.A.N.; ARZOO, S. Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. **Journal of King Saud University – Science**, v.24, p.319–329, 2012.
- ALEIXANDRE, A.; MIGUEL, M. Dietary fiber and blood pressure control. **Food & function**, v. 7, n. 4, p. 1864-1871, 2016.
- ALEXIOU A, FRANCK A. Prebiotic inulin-type fructans: nutritional benefits beyond dietary fibre source. **Nutrition Bulletin**, v. 33, n. 1, p. 227-33, 2008.
- ALMEIDA, F. N.; ALMEIDA, K. N.; MASI, L. N.; NACHBAR, R. T.; NATALI, M. R. M; MORAES, S. M. F. A resposta do peso e da composição corporal à inclusão da dieta de cafeteria e treinamento físico aeróbio em diferentes fases do desenvolvimento. *Cienc. Cuid. Saúde.*, Maringá , v. 7, n. 1, p. 39-44, 2008.
- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANA, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998.
- ANDERSON JW, BAIRD P, DAVIS RH JR, FERRERI S, KNUDTSON M, KORAYM A, et al. Health benefits of dietary fiber. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 4, p. 188-205, 2009.
- ANDRADE, ANTENOR; PINTO, SERGIO CORREIA; DE OLIVEIRA, ROSILENE SANTOS. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2006.
- ANGULO P, LINDOR KD. Non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of gastroenterology and hepatology**. v.17, n. 2, p. 186-90, 2002.
- ANUNCIADO-KOZA, REA P.; MANUEL, JUSTIN; KOZA, ROBERT A. Molecular correlates of fat mass expansion in C57BL/6J mice after short-term exposure to dietary fat. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1363, n. 1, p. 50-58, 2016.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists**. 16 ed. Washington: AOAC, 1997.
- AOAC. Methods of the Association of Official Analysis Chemists. Official methods of analysis. 15th ed., Virginia Assoc. Off. Anal. Chem. USA, 1990: 1141.

AOQUI, MARCIO. **Caracterização do Óleo da Polpa de Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) e Azeite de Oliva (*Olea europaea* L.) Virgem Extra e Seus Efeitos Sobre Dislipidemia e Outros Parâmetros Sanguíneos, Tecido Hepático e Mutagênese Em Ratos Wistar**. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado). Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande. 2012.

ARNER E, WESTERMARK PO, SPALDING KL, BRITTON T, RYDÉN. M, FRISÉN. J. *et al.* Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. **Diabetes**. p. 59:105-9, 2010.

ARRUDA, H. S.; CRUZ, R. G.; ALMEIDA, M. E. F. Caracterização química, funcionalidade e toxicidade do pequi. **Nutrição Brasil**. São Paulo, v. 11, n. 5, p. 315-319, 2012.

Associação Brasileira para o Estudo Da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO). MAPA DA OBESIDADE. 2015. <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>

Associação Brasileira para o Estudo Da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO). DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA A OBESIDADE 2009/2010. 3 ed. Itapevi. SP: AC Farmaceutica, 2009.

ATHMASELVI, K. A. *et al.* Thermal, structural, and physical properties of freeze dried tropical fruit powder. **Journal of Food Processing**, v. 2014, 2014.

ATKINS, Peter *et al.* **Food in society: economy, culture, geography**. Routledge, 2016.

AZEVEDO-FILHO, J. A.; COLOMBO, C. A.; BERTON, LHC. Macaúba: palmeira nativa como opção bioenergética. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 2, 2012.

BADIMON, L.; CHAGAS, P.; CHIVA-BLANCH, G. Diet and Cardiovascular Disease: Effects of Foods and Nutrients in Classical and Emerging Cardiovascular Risk Factors. **Current medicinal chemistry**, 2017.

BAGHURST, P.A.; BAGHURST, K. I.; RECORD, S. J. Dietary fibre, non-starch polysaccharides and resistant starch: A review. **Food Australia**, v. 48, n. 3, p. S3-S35, 2014.

BASTARD, Jean-Philippe *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation and insulin resistance. **Eur. Cytokine Netw.**, v.17, n.1, 2006.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between “Lee Index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v. 40, p. 527–528, 1968.

BLIGH, E. Graham; DYER, W. Justin. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BLUMENKRANTZ, M. Obesity: Metabolic disorder. **Beverly Hills**, 2014.

BOJORQUEZ, letza et al. The social distribution of dietary patterns. Traditional, modern and healthy eating among women in a Latin American city. **Appetite**, v. 92, p. 43-50, 2015.

BOLSONI-LOPES, A. et al. Palmitoleic acid (n-7) increases white adipocyte lipolysis and lipase content in a PPAR α -dependent manner. **American Journal of Physiology – Endocrinology & Metabolism**, v. 305, n. 9, p. E1093-1102, 2013.

BORGES, Pedro Paulino et al. Trends and gaps of the scientific literature on the Cerrado biome: A scientometric analysis. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 10, n. 1, p. 2-8, 2014.

BOSE, Mousumi et al. The major green tea polyphenol,(-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1677-1683, 2008.

BRASIL, Vigitel. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, p. 1018, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: obesidade**. Brasília, DF, 2014a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Básica à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde. 2006;210.

CALLEGARI, F. C.; CREN, E. C.; ANDRADE, M. H. C. Perspectivas da utilização dos óleos da macaúba *Acrocomia aculeata* (jacq.) Lodd. Ex mart) no desenvolvimento de cosméticos. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 7666-7673, 2015.

CANCELLO, R.; CLEMENT, K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 113, n. 10, p. 1141-1147, 2006.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* Lf) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food chemistry**, v. 177, p. 313-319, 2015.

CANNON B, NEDERGAARD J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev**, 84:277-359, 2004.

CAO, H. et al. Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism. **Cell**, v. 134, p. 933– 944, 2008.

CAO, Haiming. Adipocitocinas na obesidade e doença metabólica. **Journal of Endocrinology** , v. 220, n. 2, p. T47-T59, 2014.

CAO, Z.Z. et al. Effect of different drying technologies on drying characteristics and quality of red pepper (*Capsicum frutescens* L.): a comparative study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 10, p. 3596-3603, 2016.

CAREY, R.N.; FELBRUEGGE, C.; WESTGARD, J.O. Evaluation of the adaptation of the glucose oxidase/peroxidase-3-methyl-2-benzothiazoline hydrazone-N, N-dimethylaniline procedure to the technicon SMA 12/60 and comparison with other automated methods for glucose. **Clinical Medic.**, v.20, p.595-602, 1974.

CHANDRAN, R.; PARIMELAZHAGAN, T.; SHANMUGAM, S.; THANKARAJAN, S. Antidiabetic activity of *Syzygium calophyllifolium* in streptozotocin-nicotinamide induced type-2 diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 82, p. 547-554, may 2016.

CHIU, C. J.; MCARDLE, A. H.; BROWN, R.; SCOTT, H. J.; GURD, F. N. Intestinal mucosal lesion in low flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. **Archive Surgery**, v. 101, p.478-483, 1970.

CHOI, Deok Ho et al. Improved endothelial dysfunction by *Cynanchum wilfordii* in Apolipoprotein E-/- mice fed a high fat/cholesterol diet. **Journal of medicinal food**, v. 15, n. 2, p. 169-179, 2012.

COIMBRA, Michelle Cardoso; JORGE, Neuza. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jervá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2139-2142, 2011.

COLES CA. Adipokines in healthy skeletal muscle and metabolic disease. In: **Growth Factors and Cytokines in Skeletal Muscle Development, Growth, Regeneration and Disease**. Springer, Cham, 2016. p. 133-160.

COSTA, G.L.A. **Avaliação do Potencial Mutagênico, Antimutagênico e Antioxidante do Óleo da Polpa de *Acrocomia aculeata* (Arecaceae)**. Universidade Católica Dom Bosco. Campo Grande/MS. Dissertação de Mestrado. 2012.

COSTA, M. A.; SILVA, P. S. C.; VALLE, P. W. P. A.: (2009) Bioenergia: **Cadeia Produtiva e Coprodutos em Minas Gerais**. Instituto de Estudos Pró-Cidadania – PRÓ-CITTÀ/SECTES, Belo Horizonte.

COSTA, RAFAEL MENEZES et al. TNF- α induces vascular insulin resistance via positive modulation of PTEN and decreased Akt/eNOS/NO signaling in high fat diet-fed mice. **Cardiovascular diabetology**, v. 15, n. 1, p. 119, 2016.

CUNHA, CLÁUDIO A. et al. Green tea extract supplementation induces the lipolytic pathway, attenuates obesity, and reduces low-grade inflammation in mice fed a high-fat diet. **Mediators of inflammation**, 2013.

DALLMEIER, Dhayana; KOENIG, WOLFGANG. Strategies for vascular disease prevention: The role of lipids and related markers including apolipoproteins, low-density lipoproteins (LDL)-particle size, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), lipoprotein-associated phospholipase A 2 (Lp-PLA 2) and lipoprotein (a)(Lp(a)). **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 28, n. 3, p. 281-294, 2014.

DALLMAN, Mary F. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 3, p. 159-165, 2010.

DATE Y, KOJIMA M, HOSODA H, SAWAGUCHI A, MONDAL MS, SUGANUMA T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rat and human. **Endocrinology**, v. 141, n. 11, p. 4255-61, 2000.

DE JESUS SILVA, RODRIGO et al. Factors influencing the food transition in riverine communities in the Brazilian Amazon. **Environment, Development and Sustainability**, v. 19, n. 3, p. 1087-1102, 2017.

DE SOUZA, MELINA OLIVEIRA et al. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7, p. 804-810, 2010.

DE SOUZA, VANESSA RIOS et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012.

DE TORRES, C. et al. Freeze-dried grape skins by-products to enhance the quality of white wines from neutral grape varieties. **Food Research International**, v. 69, p. 97-105, 2015.

DELCOUR, JAN A. et al. Prebiotics, fermentable dietary fiber, and health claims. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 7, n. 1, p. 1-4, 2016.

DELUCA, R.R.; TOBIN, J.D.; ANDRÉS, R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **American Journal of Physiology**, v.237, p. 214-223, 1996.

DIAS, B. F. S. Cerrados: uma caracterização.; p11-25. **Dias BFS Alternativas de Desenvolvimento dos Cerrados: Manejo e Conservação dos Recursos Naturais Renováveis. Brasília, Funatura**, 1996.

DUE, A. et al. Comparison of 3 ad libitum diets for weight-loss maintenance, risk of cardiovascular disease, and diabetes: a 6-mo randomized, controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, p. 1232–1241, 2008.

EBRAHIMI-MAMAEGHANI M, MOHAMMADI S, RAFIE AREFHOSSEINI S, FALLAH P, BAZI Z. Vascular health and risk management dovepress adiponectin as a potential biomarker of vascular disease. **Vasc Health Risk Manag**, v. 11, p. 55-70, 2015.

ELLINGSGAARD, H. et al. Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. **Nat. Med.** v.17, p. 1481–1489, 2011.

ERRAZURIZ, ISABEL et al. Randomized Controlled Trial of a MUFA or Fiber-Rich Diet on Hepatic Fat in Prediabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 102, n. 5, p. 1765-1774, 2017.

ESTEFAN, A. O. et al. Estudo do potencial antiinflamatório dos extratos de *Acrocomia aculeata* no processo inflamatório agudo e crônico em modelos experimentais. In: **III SIMPÓSIO INTERCÂMBIO BRASIL-JAPÃO EM SUSTENTABILIDADE: UM DESAFIO DA HUMANIDADE**. 8 e 9 de outubro de 2010, Campo Grande-MS.

FAN, JIAN-GAO; QIAO, LIANG. Commonly used animal models of non-alcoholic steatohepatitis. **Hepatobiliary Pancreat Disease International**, v. 8, n. 3, p. 233-240, 2009.

FARIA, L. A. **Hidrólise do óleo da amêndoa da macaúba com lipase extracelular de *Colletotrichum gloesporioides* produzida por fermentação em substrato líquido**. 146 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

FARIA-MACHADO, ADELIA F. et al. Discrimination of pulp oil and kernel oil from pequi (*Caryocar brasiliense*) by fatty acid methyl esters fingerprinting, using GC-FID and multivariate analysis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 45, p. 10064-10069, 2015.

FERNANDES, MELINA RIBEIRO et al. Animal models of obesity in rodents. An integrative review. **Acta cirurgica brasileira**, v. 31, n. 12, p. 840-844, 2016.

FINUCANE, O. M. et al. Monounsaturated fatty acid-enriched highfat diets impede adipose NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β secretion and insulin resistance despite obesity. **Diabetes**, v. 64, n. 6, p. 2116-28, 2015.

FLEG, H.M. An investigation of the determination of serum cholesterol by an enzymatic method. **Clinical Biochemistry**, v.10, p.79-84, 1973.

FLORENCE, N. T.; BENOIT, M. Z.; JONAS, K.; ALEXANDRA, T.; DÉsirÉ, D. D. P.; PIERRE, K.; THÉOPHILE, D. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 2, p. 784–790, feb. 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, may. 1957.

FONSECA-ALANIZ, MIRIAM HELENA et al. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *Jornal de Pediatria*, v.83, n.5. 2007

FOSBOL, M. O. & ZERAHN, B. Contemporary methods of body composition measurement. **Clin. Physiol. Funct. Imaging**, v.35, n. 2, p. 81–97, 2015.

FRANCISCO G, HERNÁNDEZ C, SIMÓ R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. **Clin Chim Acta**, v. 369:1-16, 2006.

FRIEDMANN J M, HALAAS J L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v.395, n. 22, p. 763-70, 1998.

GALLOU-KABANI, CATHERINE et al. C57BL/6J and A/J Mice Fed a High-Fat Diet Delineate Components of Metabolic Syndrome. **Obesity**, v. 15, n. 8, p. 1996-2005, 2007.

GARCIA-ESCOBAR, E. et al, Nutritional regulation of interleukin-6 release from adipocytes. **International Journal of Obesity**, v. 34, p. 1328–1332, 2010.

GARCIA-ESCOBAR, E. et al. Dietary oleic acid and adipocyte lipolytic activity in culture. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 19, p. 727–731, 2008.

GARG, M. L.; BLAKE, R. J.; WILLS, R. B. Macadamia nut composition lowers plasma total and LDL cholesterol levels in hypercholesterolemic men. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1060–1063, 2003.

GREENBERG, ANDREW S.; OBIN, MARTIN S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 2, p. 461S-465S, 2006.

GRIEL, A. E. et al. A Macadamia Nut-Rich Diet Reduces Total and LDL-Cholesterol in Mildly Hypercholesterolemic Men and Women. **The Journal of Nutrition and Disease**, v. 138, n. 4, p. 761-767, 2008.

GUO, Wenxin; SHU, Yang; YANG, Xiaoping. Tea dietary fiber improves serum and hepatic lipid profiles in mice fed a high cholesterol diet. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 71, n. 2, p. 145-150, 2016.

HAGEN, J.H.; HAGEN, P.B. An enzymatic method for the estimation of glycerol in blood. **Journal of Biochemistry and Physiologic**, 1962.

HAMER, H M, JONKERS, D, VENEMA, K, VANHOUTVIN, S, TROOST, F J, BRUMMER, R J. Review article: the role of butyrate on colonic function. **Aliment Pharmacol Ther**, v.27(2): 104-119, 1998.

HARMS, MATTHEW; SEALE, PATRICK. Gordura marrom e bege: desenvolvimento, função e potencial terapêutico. **Medicina da natureza**, v. 19, n. 10, p. 1252-1263, 2013.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. Field Guide to the Palms of the Americas New Jersey: Princeton University, 1995. p.166-167.

- HIANE, P. A. et al. Bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., pulp and kernel oils: characterization and fatty acid composition. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 3, p. 256-259, 2005.
- HIANE, P. A. et al. Fatty acids content and chemical composition of fruit and flour of "bocaiuva"(Acrocomia mokayayba). **Alimentos e Nutricao (Brazil)**, n. 2, p. 21-26, 1990.
- HO, IRENE H. H. ; MATIA-MERINO, LARA ;HUFFMAN, LEE M. Use of viscous fibres in beverages for appetite control: a review of studies. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v..66, n. 5, p. 479-490, 2015,
- HOWLETT JF, BETTERIDGE VA, CHAMP M, CRAIG SAS, MEHEUST A, JONES JM. The definition of dietary fiber – discussions at the Ninth Vahouny Fiber Symposium: building scientific agreement. **Food Nutrition Reviews**, v. 54, p. 5750, 2010.
- IBGE Mapa de Biomas. o Mapa de Vegetação do Brasil. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística–IBGE**, 2004.
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. DIABETES ATLAS - IDF Diabetes Atlas update poster. **International Diabetes Federation**. 2014. Disponível em: < <https://www.idf.org/diabetesatlas> >. Acessado em 20, mar. 2017.
- JANSSEN, HAYLEY G. et al. Determinants of takeaway and fast food consumption: a narrative review. **Nutrition Research Reviews**, p. 1-19, 2017.
- JASCOLKA, T. L. **Efeitos do Quefir no Perfil Lipídico, Estresse Oxidativo e Aterosclerose de Camundongos Deficientes em Apolipoproteína E**. 102 f. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- JAUCH-CHARA, KAMILA; OLTMANNS, KERSTIN M. Obesity—a neuropsychological disease? Systematic review and neuropsychological model. **Progress in neurobiology**, v. 114, p. 84-101, 2014.
- JIANG, HAO et al. Comparison of drying characteristic and uniformity of banana cubes dried by pulse spouted microwave vacuum drying, freeze drying and microwave freeze drying. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 9, p. 1827-1834, 2014.
- JONES, PETER JH et al. DHA-enriched high–oleic acid canola oil improves lipid profile and lowers predicted cardiovascular disease risk in the canola oil multicenter randomized controlled trial. **The American journal of clinical nutrition**, v. 100, n. 1, p. 88-97, 2014.
- KAJITA, MASAHIRO et al. iNOS expression in vascular resident macrophages contributes to circulatory dysfunction of splanchnic vascular smooth muscle contractions in portal hypertensive rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 300, n. 3, p. H1021-H1031, 2011.

KAMADA, YOSHIHIRO et al. Pitavastatin ameliorated the progression of steatohepatitis in ovariectomized mice fed a high fat and high cholesterol diet. **Hepatology Research**, v. 43, n. 4, p. 401-412, 2013.

KAMEGAI J, TAMURA H, SHIMIZU T, ISHII S, SUGIHARA H, WAKABAYASHI I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. **Diabetes**, v. 50, n. 11, p. 2438-43, 2001.

KIM, SERA et al. Adzuki bean ameliorates hepatic lipogenesis and proinflammatory mediator expression in mice fed a high-cholesterol and high-fat diet to induce nonalcoholic fatty liver disease. **Nutrition Research**, v. 36, n. 1, p. 90-100, 2016.

KLEINER, D. E et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 41, n. 6, p. 1313-1321, jun. 2005.

KOPPER, ANGELA CRISTINA et al. Technologycal use of bocaiuva flour in the preparation of biscuits type cookie/Utilizacao tecnologica da farinha de bocaiuva na elaboracao de biscoitos tipo cookie. **Alimentos e Nutricao (Brazilian Journal of Food and Nutrition)**, v. 20, n. 3, p. 463-470, 2009.

KOPPER, ÂNGELA CRISTINA. **Bebida simbiótica elaborada com farinha de Bocaíúva (*Acrocomia aculeata*) e *Lactobacillus acidophilus* incorporados ao extrato hidrossolúvel de soja**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2009.

LAFOREST, SOFIA et al. Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 52, n. 6, p. 301-313, 2015.

LAFOREST, SOFIA et al. Comparative analysis of three human adipocyte size measurement methods and their relevance for cardiometabolic risk. **Obesity**, v. 25, n. 1, p. 122-131, 2017.

LENQUISTE, S.A.; MARINELI S.R., MORAES, E.A., DIONÍSIO A.P., BRITO, E.S., JUNIOR, M.R.M. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties in obesity model. **Food Research International**, v. 77, p. 162-170, 2015.

LESCANO, C. H. et al. Nutrients content, characterization and oil extraction from *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. fruits. **African Journal of Food Science**, v. 9, n. 3, p. 113-119, 2015.

LESCANO, CAROLINE HONAISSER et al. Diuretic and anti-inflammatory activities of the microencapsulated *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) oil on Wistar rats. **Journal of medicinal food**, v. 18, n. 6, p. 656-662, 2015.

LI, AC, GLASS, CK. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nat Med* 8(11): 1235-1242, 2002.

LIAO, F.H. et al. Differential effects of high MUFA with high or low P/S ratio (polyunsaturated to saturated fatty acids) on improving hepatic lipolytic enzymes and mediating PPARgamma related with lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase of white adipose tissue in diet-induced obese hamster. **International Journal of Obesity** (London), v. 34, p. 1608–1617, 2010.

LIMA, JORGIANE DA SILVA SEVERINO et al. Physico chemical properties of gabioba (*campomanesia lineatifolia*) and myrtle (*blepharocalyx salicifolius*) native to the mountainous region of Ibiapaba-CE, Brazil. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 753-757, 2016.

LIN, Hua V. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. **PloS one**, v. 7, n. 4, p. e35240, 2012.

LINTON, MACRAE F. et al. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343489/> >. Acesso em: 20 mar. 2017.

LONG, MIN et al. Long-term over-expression of neuropeptide Y in hypothalamic paraventricular nucleus contributes to adipose tissue insulin resistance partly via the Y5 receptor. **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0126714, 2015.

LOPES, RENATA MIRANDA et al. Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado. **Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal-SP**, v. 34, n. 2, p. 635-640, 2012.

LORENTE-CEBRIÁN, SILVIA et al. Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 69, n. 3, p. 633-651, 2013.

LORENZI, G. M. A. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD. EX MART.: ASPECTOS ECOLÓGICOS. **Visão Acadêmica**, v. 7, n. 1, 2006.

LORENZI, G.M.A.C. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. **Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável**. 2006. 154 p. Dissertação (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

LYLY, MARIKA et al. Fibre in beverages can enhance perceived satiety. **European journal of nutrition**, v. 48, n. 4, p. 251-258, 2009.

MAŁGORZEWICZ, SYLWIA et al. Complex interaction between the immune system and adipose tissue. **International journal of molecular medicine**, v. 33, n. 1, p. 3-7, 2014.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. A. hippocratic screen for pure or crude drug materiais. **Lloydia**, v. 25, n. 4, p. 320-332, 1962.

MANGGE, HARALD et al. Obesity-related dysregulation of the Tryptophan–Kynurenine metabolism: Role of age and parameters of the metabolic syndrome. **Obesity**, v. 22, n. 1, p. 195-201, 2014.

MARTIN, Clayton Antunes et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MATTSON, FRED H.; GRUNDY, SCOTT M. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. **Journal of lipid research**, v. 26, n. 2, p. 194-202, 1985.

MCMAHON, KAYLIN MARIE; THAXTON, COLBY SHAD. High-density lipoproteins for the systemic delivery of short interfering RNA. **Expert opinion on drug delivery**, v. 11, n. 2, p. 231-247, 2014.

MELO, SANDRA SOARES; CHIARELLI, DANIELLI DA SILVA; LAURENTINO, MARIA LUIZA. Hibiscus cannabinus: effects on nutritional parameters and biochemical of rats dyslipidemic. **Mundo da Saude**, v. 40, n. 1, p. 11-20, 2016.

MERRILL AL, WATT BK. Energy value of foods: basis and derivation. Washington: **United States Department of Agriculture**, 1973.

MONTEIRO, CARLOS AUGUSTO et al. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: **Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e de suas doenças**. Hucitec, p. 247-55, 1995.

MOORE, Carla J.; CUNNINGHAM, Solveig A. Social position, psychological stress, and obesity: a systematic review. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 4, p. 518-526, 2012.

MOOZ, E.D.; CASTELUCCI, M.H.; SPOTO, M.H.F. Potencial tecnológico e alimentício de frutos de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v.3, n.2, p.86-89, 2012.

MORAIS, C. M. **Avaliação das alterações inflamatórias e funcionais do pulmão no curso da pancreatite aguda experimental induzida por ceruleína**. 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

MORENO, LAUANE GOMES et al. Caryocar brasiliense fruit intake ameliorates hepatic fat deposition and improves intestinal structure of rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 37, p. 640-648, 2016.

NERY, C. S.; PINHEIRO, I. L.; MUNIZ, G. S.; VASCONCELOS, D. A. A.; FRANÇA, S. P.; NASCIMENTO, E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 1, p. 49-55, 2011.

OECD. ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure**, OECD, Paris, p. 27, 2008.

OHASHI, K., SHIBATA, R., MUROHARA, T., OUCHI, N. Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 25, n. 7, p. 348-355, 2014.

OLIVEIRA, ALESSANDRA LOPES DE et al. Elemental contents in exotic Brazilian tropical fruits evaluated by energy dispersive X-ray fluorescence. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 82-84, 2006.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Child Growth Standards**. Genebra: WHO, 2007.

ORELLANA, JUAN A. et al. Prenatal nicotine exposure enhances Cx43 and Panx1 unopposed channel activity in brain cells of adult offspring mice fed a high-fat/cholesterol diet. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 8, p. 403, 2014.

OUCHI, N., PARKER, J. L., LUGUS, J. J., & WALSH, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature Reviews. Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85-97, 2011.

OYAMA, L. M. et al. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 8, n. 1, p. 8, 2016.

PANIAGUA, J.A. et al. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. **Diabetes Care**, v. 30, p. 1717-1723, 2007.

PAPATHANASOPOULOS A, CAMILLERI M. Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. **Gastroenterology**, v. 138, n. 1, p. 65–72, 2010.

PASINI, G. D. **Avaliação pancreática de animais submetidos à dieta hiperlipídica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

PASSOS, M. E. et al. Differential effects of palmitoleic acid on human lymphocyte proliferation and function. **Lipids in Health and Disease**, v. 15, p. 217, 2016

PEREIRA, S. S.; TEIXEIRA, L. G.; AGUILAR, E. C.; MATOSO, R. O.; SOARES, F.L. P.; FERREIRA, A. V. M.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Differences in adipose tissue inflammation and oxidative status in C57BL/6 and ApoE^{-/-} mice fed high fat diet. **Animal Science Journal**, v. 83, n. 7, p. 549–555, 2012.

PIMENTEL, GUSTAVO D. et al. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 5, p. 809-818, 2013.

POND, CAROLINE M. Long-term changes in adipose tissue in human disease. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, n. 3, p. 365-374, 2001.

POPKIN, BARRY M. Global changes in diet and activity patterns as drivers of the nutrition transition. In: **Emerging societies-coexistence of childhood malnutrition and obesity**. Karger Publishers, p. 1-14, 2009.

QIAN SW, TANG Y, LI X, LIU Y, ZHANG YY, HUANG HY et al. Bmp4-mediated brown fat-like changes in white adipose tissue alter glucose and energy

homeostasis. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.110, n. 9, p. 798-807, 2013.

RAATZ, SUSAN K. et al. Issues of fish consumption for cardiovascular disease risk reduction. *Nutrients*, v. 5, n. 4, p. 1081-1097, 2013.

RABOT, Sylvie et al. High fat diet drives obesity regardless the composition of gut microbiota in mice. **Scientific reports**, v. 6, p. 32484, 2016.

RAMOS, M. I. L. **Polpa de bociáúva *Acrocomia aculeata*: composição química e biodisponibilidade de carotenoides**. Tese (Doutorado em Ciências da saúde). Universidade de Brasília, Distrito federal, 2007.

RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M. M.; HIANE, P. A.; BRAGA NETO, J. A.; SIQUEIRA, E. M. A. Qualidade nutricional da polpa de bociáúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.90-94, 2008.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v.49, p.311- 319, 2001.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. J. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

RIBEIRO AL, DUNCAN BB, BRANT LC, LOTUFO PA, MILL JG, BARRETO SM. Cardiovascular health in Brazil: **Trends and perspectives**. *Circulation*, v. 133, n. 4, p. 422-33, 2016.

RIBEIRO, E P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Edgard Blucher. Cap. 4, p.128-135. 2007.

RIPKEN, DINA et al. Nutrient-induced glucagon like peptide-1 release is modulated by serotonin. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 32, p. 142-150, 2016.

ROMIEU, ISABELLE et al. Energy intake and other determinants of relative weight. **The American journal of clinical nutrition**, v. 47, n. 3, p. 406-412, 2010.

ROSE, DEVIN J. et al. Influence of dietary fiber on inflammatory bowel disease and colon cancer: importance of fermentation pattern. **Nutrition reviews**, v. 65, n. 2, p. 51-62, 2007.

ROSSINI TC, SILVA ASR, MORAES C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista Da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

ROTHWELL, N.J.; STOCK, M.J. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. **Nature**, v. 281, p. 31–35, 1979.

ROWE, Philip. **Essential statistics for the pharmaceutical sciences**. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltda, 2007.

SALERNO, P. S. V. **Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao Estresse Crônico Variado: análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais**. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

SANDOVAL DA, DAVIS SN. Leptin: metabolic control and regulation. **Journal of Diabetes and its Complications**, v.17, n. 2, p. 108-13, 2003.

SANJINEZ-ARGANDOÑA, E.J.; CHUBA, C.A.M. Caracterização biométrica, física e química de frutos da palmeira bociuva *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n.3, p. 1023-1028, 2011.

SANO, EDSON E. et al. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environmental monitoring and assessment**, v. 166, n. 1, p. 113-124, 2010.

SANTOS, JULIANA FARIAS et al. Dietary intake of AIN-93 standard diet induces fatty liver with altered hepatic fatty acid profile in Wistar rats. **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 5, p. 2140-2146, 2015.

SANTOS, S. H. S. et al. Mas deficiency in FVB/N mice produces marked changes in lipid and glycemic metabolism. **Diabetes**, v. 57, n. 2, p. 340-347, 2008.

SCHAALAN, MONA et al. Westernized-like-diet-fed rats: effect on glucose homeostasis, lipid profile, and adipocyte hormones and their modulation by rosiglitazone and glimepiride. **Journal of diabetes and its complications**, v. 23, n. 3, p. 199-208, 2009.

SELLAYAH, D., CAGAMPANG, F. R. & COX, R. D. On the evolutionary origins of obesity: a new hypothesis. **Endocrinology**, v. 155, p. 1573–1588, 2014.

SERNA-COCK, LILIANA; VARGAS-MUÑOZ, DIANA PATRICIA; APONTE, ALFREDO AYALA. Structural, physical, functional and nutraceutical changes of freeze-dried fruit. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 6, p. 442-450, 2015.

SEUFERT J, KIEFFER TJ, LEECH CA, HOLZ GG, MORITZ W, RICORDI C, et al. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. **The Journal of Clinical an Endocrinology & Metabolim**, v. 84, n. 2, p. 670-676, 2012.

SHOFIAN NM, HAMID AA, OSMAN A, SAARI N, ANWAR F, DEK MSP, HAIRUDDIN MR. Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v.12, n. 7, p. 4678-4692, 2011.

SHUSTER A, PATLAS M, PINTHUS JH, MOURTZAKIS M. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. **The British Journal of Radiology**, v.85, n.1009, p. 1-10, 2012.

SILVA, HILTON P. et al. Obesity, hypertension, social determinants of health and the epidemiologic transition among traditional Amazonian populations. **Annals of human biology**, v. 43, n. 4, p. 371-381, 2016.

SILVA, NEITON C. et al. Impact of freeze-drying on bioactive compounds of yellow passion fruit residues. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 4, 2017.

SKOCZEŃ-SŁUPSKA, RADOSŁAWA; GĘBCZYŃSKI, PIOTR; KUR, KATARZYNA. Effect of Processing and Storage on the Content of Selected Antioxidants and Quality Parameters in Convection and Freeze-dried Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 2, n. 12, p. 15-21, 2016.

SORIGUER, F. et al. Monounsaturated n-9 fatty acids and adipocyte lipolysis in rats. *British Journal of Nutrition*, v. 90, p. 1015–1022, 2003.

STANFORD, KRISTIN I. et al. O tecido adiposo marrom regula a homeostase da glicose e a sensibilidade à insulina. **O Journal of clinical investigation**, v. 123, n. 1, p. 215, 2013.

ST-ONGE, MARIE-PIERRE; MIKIC, ANJA; PIETROLUNGO, CARA E. Effects of diet on sleep quality. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 7, n. 5, p. 938-949, 2016.

SU H, LEE H, CHENG W, HUANG S. A calorie-restriction diet supplemented with fish oil and high-protein powder is associated with reduced severity of metabolic syndrome in obese women. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 322–8, 2014.

SWIERCZYŃSKI, J.; SLEDZINSKI, T. The role of adipokines and gastrointestinal tract hormones in obesity. **Principles of Metabolic Surgery**, p. 53-79, 2012.

TAPIERO, H.; BA, G.N.; COUVREUR, P.; TEW, K.D. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, p. 215–222, 2002.

TAPSELL LC, BATTERHAM MJ, CHARLTON KE, NEALE EP, PROBST YC, O'SHEA JE, et al. Foods, nutrients or whole diets: effects of targeting fish and LCn3PUFA consumption in a 12mo weight loss trial. **BMC Public Health**, v. 13, n. 1, p. 1231, 2013.

TAY, JEANNIE et al. A very low-carbohydrate, low-saturated fat diet for type 2 diabetes management: a randomized trial. **Diabetes care**, v. 37, n. 11, p. 2909-2918, 2014.

TAYLOR, BENJAMIN A.; PHILLIPS, SANDRA J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p. 389-398, 1996.

TEIXEIRA, ANA MAGALHÃES C. et al. Angiosperm species of “Cerrado” sensu stricto in Terra Ronca State Park, Brazil: floristics, phytogeography and conservation. **Brazilian Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 225-234, 2017.

TEIXEIRA, H. M.; RIBAS-FILHO, J. M.; NASSIF, P. A. N.; DIETZ, U. A.; HENRIQUES, G. S.; AOKI, S.; PIZZOL, F. D. Avaliação morfológica da mucosa do intestino grosso após derivação jejunoileal em ratos. **ABCD – Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 9, n. 4, p. 140-145, 2006.

TERÉS, S. et al. Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v. 105, n. 37, p. 13811-13816, 2008.

THREAPLETON, D. E. et al. Dietary fibre intake and diabetes risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. In: **Proceedings of the Nutrition Society**. Cambridge University Press, p. E253-E253, 2013.

TINKOV, ALEXEY A. et al. Plantago maxima leaves extract inhibits adipogenic action of a high-fat diet in female Wistar rats. **European journal of nutrition**, v. 53, n. 3, p. 831-842, 2014.

TOZIN, LUIZ RS; MARQUES, MARCIA OM; RODRIGUES, TATIANE M. Glandular trichome density and essential oil composition in leaves and inflorescences of *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in the Brazilian Cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 943-953, 2015.

TSUJI, HIROAKI et al. Dietary medium-chain triacylglycerols suppress accumulation of body fat in a double-blind, controlled trial in healthy men and women. **The Journal of nutrition**, v. 131, n. 11, p. 2853-2859, 2001.

TUNGLAND BC, MAYER D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.1:73-92, 2002.

VAN DER HEIJDEN, ROEL A. et al. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. **Aging (Albany NY)**, v. 7, n. 4, p. 256, 2015.

VAN GAAL, LUC F.; MERTENS, ILSE L.; CHRISTOPHE, E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 875-880, 2006.

XU, ZHENG-JIE et al. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 55, n. 4, p. 931-940, 2010.

WAKI H, TONTONNOZ P. Endocrine functions of adipose tissue. **Annual Reviews Pathology**, v. 2, p. 31-56, 2007.

WANG, H.; XUE, Y.; WANG, B.; ZHAO, J.; YAN, X.; HUANG, Y.; DU, M. Maternal obesity exacerbates insulinitis and type I diabetes in non-obese diabetic (NOD) mice. **Reproduction**, v. 148, n. 1, p. 73-79, 2014.

WHITE SA, CERCATO LM, ARAÚJO JMD, SOUZA LA, SOARES AF, BARBOSA, NETO JMR, MARÇA AC, MACHADO UF, CAMARGO EA, SANTOS MRV, BRITO LC. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à

resistência à ação da insulina e intolerância a glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 57, n. 5, p. 339-345, 2013.

WHO, JOINT; CONSULTATION, FAO Expert. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. **World Health Organization Technical Report Series**, v. 916, n. i-viii, p. 1-149, 2003.

WILLIAMS, E. P., MESIDOR, M., WINTERS, K., DUBBERT, P. M. & WYATT, S. B. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. **Current Obesity Reports**, v.4, p.363–370, 2015.

WOODIE, Lauren; BLYTHE, Sarah. The differential effects of high-fat and high-fructose diets on physiology and behavior in male rats. **Nutritional neuroscience**, v. 20, p. 1-9, 2017.

World Health Organization. Global status report on non-communicable diseases 2014. Geneva: **World Health Organization**. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Healthier, fairer, safer: **the global health journey**, 2007–2017. 2017.

WREE, ALEXANDER et al. Adipocyte cell size, free fatty acids and apolipoproteins are associated with non-alcoholic liver injury progression in severely obese patients. **Metabolism**, v. 63, n. 12, p. 1542-1552, 2014.

WU, JUN; COHEN, PAUL; SPIEGELMAN, BRUCE M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? **Genes & development**, v. 27, n. 3, p. 234-250, 2013.

YADAV, AMITA et al. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. **Clinica Chimica Acta**, v. 417, p. 80-84, 2013.

ZHANG, YUWEN; RAO, ENYU; LI, BING. Shaping Immune Responses by Dysregulated Adipokines in Obesity. **Global Journal of Obesity, Diabetes and Metabolic Syndrome**, v. 8583, n. 001, 2015.

8. ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL – UFMS



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada "Impacto metabólico e funcional da polpa e amêndoa de bociúva em animais com obesidade e suas comorbidades", registrada com o nº 774/2016, sob a responsabilidade de **Rita de Cássia Avellaneda Guimarães** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 6ª reunião ordinária do dia 20/07/2016.

FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/03/2016 a 01/03/2018
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Mus musculus</i> / Swiss <i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	232 10
Peso/Idade	25 - 30g/56 dias 200 - 250g/8 semanas
Sexo	Macho Fêmea
Origem	Biotério Central/CCBS/UFMS

Vice-coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 21 de julho de 2016.

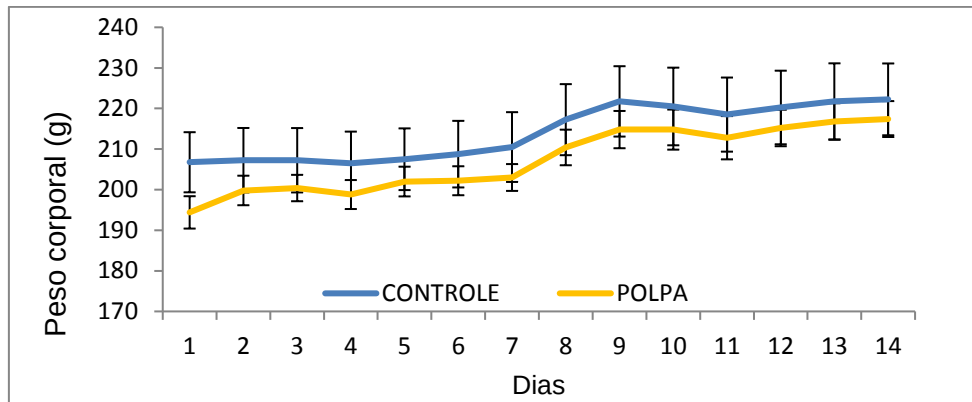
Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
fone (67) 3345-7925

9. ANEXO B – TESTE HIPOCRÁTICO: TOXICIDADE DE DROGAS POR ANÁLISE COMPORTAMENTAL

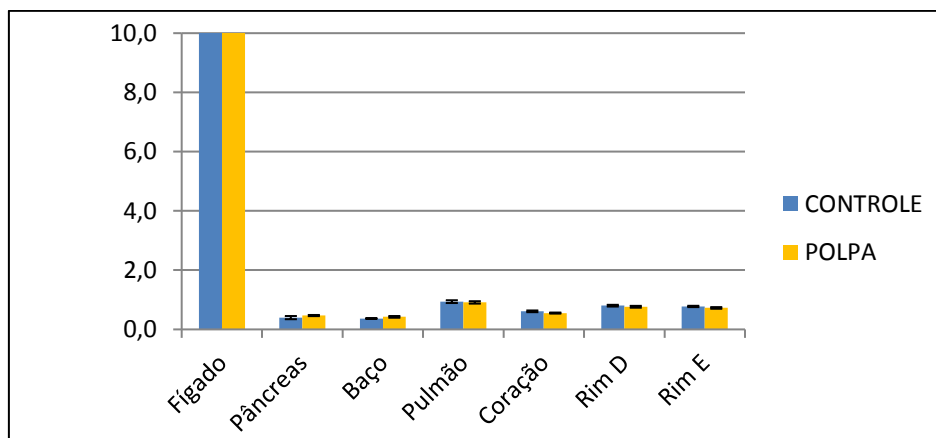
Exemplo								
Droga: Polpa Dose: 356 mg volume da gavagem: 1 mL Hora da gavagem: 9:00h Data: 25/11/2016 Caixa: 01 Animal: 1 Peso: 225.g Data de nascimento: 18/09/2016								
Sintomas	Normal	Tempo						
		0	30 m	1,0 h	2,0 h	3,0 h	4,0 h	6,0 h
Aparência Normal	4	4	4	4	4	4	4	4
Frênico vocal	0	0	0	0	0	0	0	0
Irritabilidade	0	0	0	0	0	0	0	0
Resposta ao toque	4	4	4	4	4	4	4	4
Aperto da Cauda	4	4	4	4	4	4	4	4
Contorção	0	0	0	0	0	0	0	0
Trem posterior	0	0	0	0	0	0	0	0
Endireitamento	4	4	4	4	4	4	4	4
Tônus muscular	4	4	4	4	4	4	4	4
Força de agarrar	4	4	4	4	4	4	4	4
Ataxia	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflexo auricular	4	4	4	4	4	4	4	4
Reflexo corneal	4	4	4	4	4	4	4	4
Tremores	0	0	0	0	0	0	0	0
Convulsões	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimulações	4	4	4	4	4	4	4	4
Straub	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipnose	0	0	0	0	0	0	0	0
Anestesia	0	0	0	0	0	0	0	0
Lacrimação	0	0	0	0	0	0	0	0
Ptose	0	0	0	0	0	0	0	0
Micção	4	4	4	4	4	4	4	4
Piloereção	0							
Defecação	4	4	4	4	4	4	4	4
Hipotermia	0							
Respiração	4	4	4	4	4	4	4	4
Cianose	0	0	0	0	0	0	0	0
Morte		0	0	0	0	0	0	0

10. ANEXO C- RESULTADOS DO TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

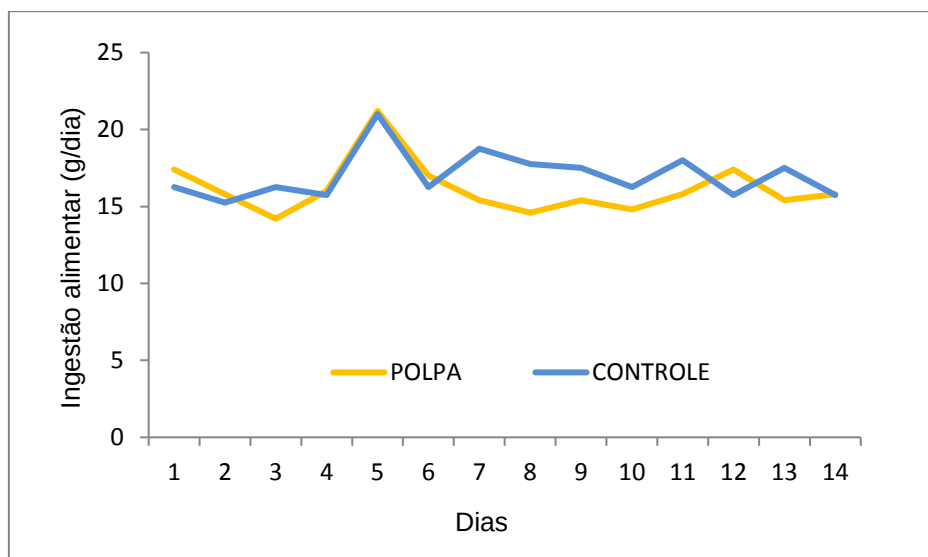
Gráficos – Teste de toxicidade aguda



Controle do peso Corporal (g) por 14 dias, após a gavagem.



Peso de órgãos (g).



Ingestão alimentar (g/dia).

11. CAPÍTULO DE LIVRO



NOTIFICATION OF ACCEPTANCE

November 24, 2017

Dear M.d. Fernandes,

On behalf of the Editorial Board it is my pleasure to inform you that the manuscript titled "Animal models of obesity: the potential role of non-alcoholic hepatic steatosis" has been accepted for publication in the book "Animal Models for Human Diseases", ISBN 978-953-51-5440-2.

We firmly believe that your contribution will be of great importance for the scientific community.

Sincerely yours,
InTechOpen



INTECH d.o.o.

Juraska Trgova 6/51000 Rijeka, Croatia (EU) / Phone: +385 (51) 770-947 / Fax: +385 (51) 686-106 / info@intechopen.com / www.intechopen.com

Animal models of obesity characterized by Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)

Melina Ribeiro Fernandes¹*, Priscila Silva Figueiredo, Karoline Silva Rezende, Karine de Cássia Freitas, Priscila Aiko Hiane, Rita de Cássia Avellaneda Guimarães.

Post Graduation Program in Health and Development in the Middle West Region, Federal University of Mato Grosso do Sul- UFMS, Campo Grande, MS, Brazil.

*Corresponding author email: fernandesrmelina@gmail.com

Abstract: obesity is one of the major risk factors for the Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) development, as the leading cause of chronic liver disease. NAFLD is intrinsically related to obesity disorders, especially insulin resistance and dyslipidemia. Interaction between NAFLD and obesity still needs further clarification, and it is necessary to determine the mechanisms of these disorders in animal models of disease. Such models are usually the result of genetic and/or nutritional modifications, considering metabolic and histological changes commonly seen in humans. Obesity induced in rodents occur mainly through HFD, HCD, FFD or genetic alterations like in Lep, Acox, KKy models. These models are analogous to NAFLD development, since the increasing visceral fat is highly associated with the accumulation of fat in the form of triglycerides in the liver. Inflammatory markers such as TNF-alpha and IR are active in the predisposition of lipolysis. Hepatic inflammation during NAFLD can also be unleashed by oxidative stress. However, the mechanisms involved in the progression from NAFLD to NASH are not yet elucidated, as some models have shown unexpected outcomes such as severe malnutrition or obesity markers absence and IR after the use of Minimal-change disease (MCD) therapies and drugs, respectively. Thus, it is important to evaluate different animal models of obesity able to induce the profile of NAFLD and NASH disease in humans, assessing their mechanisms of action. The aim of this chapter is to have a comparative analysis of animal models commonly used in the pathophysiology of obesity that present NAFLD/NASH.

Keywords: animal models - obesity - NAFLD - NASH – fatty liver