



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VANESSA DA SILVA CONSTANCIO

**EFEITO DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO FRUTO DA PALMEIRA  
JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)  
SOBRE O PERFIL LIPÍDICO, A GLICEMIA E A ENDOTOXEMIA EM  
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**

ALEGRE – ES  
FEVEREIRO – 2015

VANESSA DA SILVA CONSTANCIO

**EFEITO DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO FRUTO DA PALMEIRA  
JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)  
SOBRE O PERFIL LIPÍDICO, A GLICEMIA E A ENDOTOXEMIA EM  
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Neuza Maria Brunoro Costa  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Mirelle Lomar Viana

ALEGRE – ES  
FEVEREIRO – 2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

C757e Constancio, Vanessa da Silva, 1986-  
Efeito da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre o perfil lipídico, a glicemia e a endotoxemia em camundongos submetidos à dieta de cafeteria / Vanessa da Silva Constancio. – 2015.  
82 f. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa.

Coorientadores: Neuza Maria Brunoro Costa ; Mirelle Lomar Viana.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –  
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Perfil lipídico. 2. Resistência à insulina. 3. Endotoxemia. 4. Jambolão.  
5. Jabuticaba. 6. Açaí. I. Costa, André Gustavo Vasconcelos. II. Brunoro,  
Neuza Maria. III. Viana, Mirelle Lomar. IV Universidade Federal do Espírito  
Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 664

---

**EFEITO DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO FRUTO DA PALMEIRA  
JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)  
SOBRE O PERFIL LIPÍDICO, A GLICEMIA E A ENDOTOXEMIA EM  
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**

**Vanessa da Silva Constancio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2015.

---

Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo  
(Orientador)

---

Profa. Mirelle Lomar Viana  
Universidade Federal do Espírito Santo  
(Membro externo)

---

Profa. Neuza Maria Brunoro Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo  
(Membro interno)

---

Profa. Maria das Graças Vaz Tostes  
Universidade Federal do Espírito Santo  
(Membro externo)

Dedico esta dissertação aos meus amados pais Nildo e Solange, por seu amparo e amor incondicional em todos os momentos. A minha querida avó Sandra que tanto amo. E ao meu namorado Diego, por sempre estar ao meu lado e me apoiar em todas as minhas decisões e projetos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pelas oportunidades, coragem, perseverança, saúde e fé.

Aos meus pais, que sempre se esforçaram tanto para que eu atingisse os meus objetivos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro para a condução desta pesquisa (Universal 14/2012; Processo: 479093/2012-1).

Ao professor André Gustavo Vasconcelos Costa, pela orientação, disponibilidade, atenção, paciência, crescimento profissional e conhecimentos transmitidos durante todo o mestrado.

À professora Mirelle Lomar Viana, pela sempre disponibilidade em esclarecer dúvidas e colaboração durante o experimento.

À professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela participação inesquecível na minha formação acadêmica e pela brilhante contribuição em todas as etapas desta pesquisa.

À professora Pollyanna Ibrahim Silva, por contribuir durante as análises dos frutos e por estar sempre à disposição.

À professora Erika Takagi Nunes por todo carinho, paciência, disponibilidade e conhecimentos transmitidos durante as análises histopatológicas.

Ao professor Christiano Pinheiro pela paciência e apoio em uma importante etapa da pesquisa.

Aos técnicos Emerson e Damielle pela preciosa ajuda nas análises histopatológicas.

Ao professor Dennys Esper Corrêa Cintra, pelo apoio e sugestões a esta pesquisa.

Ao professor Heberth de Paula, pela ajuda durante as análises bioquímicas.

À professora Louisiane de Carvalho Nunes pela disponibilidade em ajudar sempre que solicitada.

Ao professor Paulo César Stringheta e ao Valério pelo auxílio durante a liofilização dos frutos.

À amiga Olívia pelos bons momentos, companhia e auxílio em todos os momentos do mestrado.

Ao meu namorado Diego, por todo apoio e por estar ao meu lado em todos os momentos.

Aos veterinários Gabriela e Antônio pela ajuda durante o experimento.

À Marcella e Sara que participaram ativamente para que este trabalho pudesse ser executado.

Aos técnicos: Eduardo, Amanda, Letícia e Natália pela ajuda durante as análises e experimento.

À Mariana, Daniela e Ariane pela ajuda na última análise deste trabalho, porém não menos importante.

À Fernanda pela amizade e por me acolher em sua casa sempre que preciso.

E a todas as pessoas que de certa forma contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado.

"A fé robusta traz a perseverança, a energia e os recursos que fazem vencer-se os obstáculos, tanto nas pequenas como nas grandes coisas. A fé que é vacilante traz a incerteza, a hesitação, das quais se nutrem os obstáculos que se quer vencer, ela não procura os meios de vencer, porque não crê poder vencer."

Allan Kardec

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGL – Ácidos graxos livres

AJ – Grupo açaí juçara

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

AUC – Área sob a curva

CT – Colesterol total

DM2 – Diabetes Melitus tipo 2

ERO – Espécies reativas de oxigênio

GLP2 - Glucagon-like peptide-2

GLUT4 – Transportador de glicose insulino-sensível

HDL-c – Lipoproteína de alta densidade

IKK – Inibidor do fator nuclear kappa B quinase

IL – Interleucina

IRS – Substrato do Receptor de Insulina

JB – Grupo jabuticaba

JM – Grupo jambolão

JNK – Quinase c-Jun n-terminal

kITT – Constante de decaimento da glicose

LDL-c – Lipoproteína de baixa densidade

LPS – Lipopolissacarídeo

PCR – Proteína C reativa

PI3-q – Fosfatidilinositol 3 quinase

RI – Resistência à insulina

TAG – Triacilgliceróis

TLR-4 – Receptor 4 do Tipo *Toll Like*

TNF- $\alpha$  - Fator de Necrose Tumoral Alfa

TTG – Teste de tolerância à glicose

TTI – Teste de tolerância à insulina

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xv
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	4
2.1 Objetivo geral .....	4
2.2 Objetivos específicos .....	4
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	5
<b>4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	7
4.1 Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 e estresse oxidativo .....	7
4.2 Polifenóis e o diabetes .....	9
4.3 Endotoxemia associada ao diabetes .....	11
4.4 Jabuticaba.....	14
4.5 Açaí juçara .....	15
4.6 Jambolão.....	18
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	20
5.1 Matéria-prima e preparo das amostras.....	20
5.2 Análise dos produtos liofilizados.....	20
5.2.1 Caracterização físico-química .....	20
5.2.2 Preparo do extrato.....	21
5.2.3 Quantificação de compostos fenólicos dos produtos liofilizados .....	21
5.2.4 Quantificação de antocianinas totais dos produtos liofilizados.....	22
5.2.5 Determinação da capacidade antioxidante dos produtos liofilizados .....	22
5.3 Ensaio biológico .....	23
5.3.1 Dieta.....	23
5.3.2 Desenho experimental.....	24
5.3.3 Controle de peso corporal e do consumo alimentar.....	25
5.3.4 Teste de tolerância intraperitoneal à insulina (TTI) e à glicose (TTG) .....	25
5.3.4.1 Teste de tolerância intraperitoneal à insulina (TTI) .....	25
5.3.4.2 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose (TTG) .....	26
5.3.5 Eutanásia, coleta de sangue e tecidos .....	26
5.3.6 Parâmetros bioquímicos sanguíneos.....	26
5.3.7 Análises histológicas .....	27
5.3.8 Avaliação da endotoxemia .....	28
5.4 Análise Estatística .....	29

<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	51
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	52
<b>ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética</b> .....	68

## RESUMO

CONSTANCIO, Vanessa da Silva. **Efeito da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre o perfil lipídico, a glicemia e a endotoxemia em camundongos submetidos à dieta de cafeteria.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. DSc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-orientador (es): Profa. PhD. Neuza Maria Brunoro Costa. Profa. DSc. Mirelle Lomar Viana.

O excesso de gordura corporal induz a um quadro inflamatório associado à endotoxemia metabólica e aumento da resistência à insulina, bem como altera o perfil lipídico que resulta em prejuízos a função hepática e renal. Estudos sugerem que a ingestão de alimentos antioxidantes, como os polifenóis, proporcionam efeitos benéficos sobre os metabolismos glicídico e lipídico. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), da polpa do açaí juçara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre o perfil lipídico, a glicemia e a endotoxemia em camundongos *Swiss* submetidos à dieta de cafeteria. Inicialmente, os frutos foram liofilizados e submetidos à avaliação da composição centesimal. O ensaio biológico contou com 50 camundongos machos adultos da raça *Swiss* distribuídos em 5 grupos (n=10/grupo), a saber: grupo tratado com dieta comercial padrão (controle negativo), grupo tratado com dieta de cafeteria (controle positivo) e grupos teste que receberam por 14 semanas a dieta de cafeteria suplementada com 2% de casca de jabuticaba, ou polpa do jambolão ou polpa do açaí juçara liofilizados. Na 13<sup>a</sup> e 14<sup>a</sup> semana foram determinadas a tolerância à insulina e à glicose dos animais. Ao final do período experimental, avaliaram-se o ganho de peso, os parâmetros bioquímicos sanguíneos, histopatológicos e endotoxemia. Os parâmetros bioquímicos avaliados foram: colesterol total (CT) e as frações HDL-c, LDL-c, triacilgliceróis (TAG), bem como proteína C reativa (PCR), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Na histopatologia foram avaliados os efeitos da dieta hipercalórica sobre a área dos adipócitos, esteatose hepática e função renal a partir do número e área dos glomérulos. A endotoxemia foi avaliada pela concentração de lipopolissacarídeos (LPS) no soro dos animais. Aplicou-se o teste t para comparação dos resultados entre os grupos controle e ANOVA, complementada com teste de Tukey ( $\alpha=5\%$ ), para comparação dos grupos suplementados com os frutos e o controle positivo. A suplementação com 2% de jambolão à dieta de cafeteria resultou em redução significativa ( $p<0,05$ ) do conteúdo de CT, LDL-c, TAG, da razão CT/HDL, bem como diminuição da área dos adipócitos dos animais tratados com os frutos. A suplementação com açaí juçara também foi capaz de reduzir o conteúdo de CT, TAG e a área dos adipócitos, além de elevar a tolerância à glicose. Por outro lado, a jabuticaba não foi eficaz na melhoria dos parâmetros relacionados ao metabolismo lipídico, ao metabolismo da glicose e dos aspectos histopatológicos. A suplementação com 2% dos frutos liofilizados não promoveu efeitos positivos na redução do ganho de peso, resistência à insulina e endotoxemia provocada pela ingestão da dieta de cafeteria. Além disso, os frutos também não foram eficientes na preservação da histologia renal e infiltração lipídica no fígado. Conclui-se que a inclusão do

jambolão e do açaí juçara na dieta pode apresentar efeitos positivos sobre danos causados por dietas hiperlipídicas, especialmente no que se refere à dislipidemia, à tolerância à glicose e à hipertrofia dos adipócitos.

**Palavras-chave:** perfil lipídico, resistência à insulina, endotoxemia, jabuticaba, açaí, jambolão.

## ABSTRACT

CONSTANCIO, Vanessa da Silva. **Effects of jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), juçara palm fruit (*Euterpe edulis* Martius) and jambolan (*Syzygium cumini*) on lipid profile, blood glucose and endotoxemia in mice submitted to cafeteria diet.** 2015. Dissertation (MSc in Food Science and Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre-ES. Advisor: Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisor(s): Prof. Dr. Neuza Maria Brunoro Costa. Prof. Dr. Mirelle Lomar Viana.

The excess body fat leads to an inflammatory reaction associated with metabolic endotoxemia and increased insulin resistance, as well as altering the lipid profile which results in damages to liver and renal function. Studies suggest that intake of antioxidant foods, such as polyphenols, provide beneficial effects on glucose and lipid metabolism. The objective of this study was to investigate the jabuticaba bark effect (*Myrciaria cauliflora*), pulp of açai juçara (*Euterpe edulis* Martius) and jambolan (*Syzygium cumini*) on the lipid profile, blood glucose and endotoxemia in Swiss mice underwent diet cafeteria. Initially, the fruits were freeze-dried and evaluated for their chemical composition. The biological assay included 50 adult male mice of the Swiss race divided into 5 groups (n = 10 / group), namely: the group treated with standard commercial diet (negative control), group treated with cafeteria diet (positive control) and groups test for 14 weeks who received the cafeteria diet supplemented with 2% jabuticaba bark, or pulp jambolan or pulp açai juçara lyophilized. In the 13th and 14th week were determined tolerance to insulin and glucose of animals. At the end of the experiment, we assessed weight gain, blood biochemistry, histopathology and endotoxemia. The biochemical parameters were: total cholesterol (TC) and HDL-C fractions, LDL-C, triglycerides (TAG) and C-reactive protein (CRP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). Histopathology studies the effects of calorie diet over the area of adipocytes, fatty liver and kidney function from the number and area of the glomeruli. The endotoxemia was assessed by the concentration of lipopolysaccharide (LPS) in serum of the animals. We used the t test for comparison of results between the control group and ANOVA, and Tukey's test ( $\alpha = 5\%$ ), to compare the groups supplemented with fruit and the positive control. Supplementation with 2% jambolan the cafeteria diet resulted in a significant reduction (p <0.05) CT content, LDL-C, TAG, the TC / HDL and decreased adipocyte animal area treated with the fruits. The supplementation of açai juçara was also able to reduce the content of TC, IGT, and adipocytes area, in addition to increasing glucose tolerance. On the other hand, the blemish was not effective in improving the lipid parameters related to metabolism, glucose metabolism and histopathological aspects. Supplementation with 2% lyophilized fruits did not cause positive effects in reducing weight gain, insulin resistance and endotoxemia caused by ingestion of a cafeteria diet. Furthermore, the fruits were not effective in preserving renal histology and fatty infiltration of the liver. It follows that the inclusion of jambolan and açai juçara in the diet can have positive effects on the damage caused by high fat diets, especially with regard to dyslipidemia, glucose tolerance and adipocyte hypertrophy.

**Keywords:** lipid profile, insulin resistance, endotoxemia, jabuticaba, açai, jambolan.



## 1 INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença metabólica (GARCIA-CABALLERO et al., 2012), a qual está relacionada ao desenvolvimento de resistência à insulina (RI) causada por inadequação na produção ou por anomalias na via de sinalização deste hormônio (CHANG e LI, 2011). No DM2 é muito comum a redução da expressão do transportador de glicose insulino-sensível (GLUT4) (ABEL et al., 2001) que resulta em hiperglicemia, hiperinsulinemia compensatória e armazenamento de lipídeos no tecido adiposo (HIGA et al., 2014).

O excesso de gordura corporal associa-se ao DM2 em função de mecanismos orgânicos de elevação da RI (MISRA et al., 2004). Nesse processo ocorrem aumento da produção e expressão de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (CODOÑER-FRANCH e ALONSO-IGLESIAS, 2015). Estas citocinas inibem receptores de insulina, provocando reduções significativas na sensibilidade a este hormônio (SHOELSON et al., 2003).

Além disso, a ocorrência de DM2 está relacionada ao aumento do estresse oxidativo e redução da produção endógena de enzimas antioxidantes (STYSKAL et al., 2012), correlacionados ao consumo de dietas ricas em gorduras e pelo conseqüente processo de obesogênese (GAUR et al., 2014). Portanto, visando o esclarecimento dos mecanismos envolvidos no processo de ganho de peso e RI, pesquisadores tem utilizado a administração da dieta de cafeteria a modelos animais. Em geral, estas dietas são ricas em lipídeos e carboidratos, e se propõem a simular os hábitos alimentares de populações ocidentais (KRETSCHMER et al., 2005; MACEDO et al., 2012).

Dietas com alta concentração de gordura também estão associadas com a endotoxemia metabólica mediada pelo aumento dos níveis de lipopolissacarídeos plasmáticos (LPS) (CARICILLI e SAAD, 2014). Os LPS são derivados da membrana externa de bactérias gram-negativas que residem principalmente no intestino, as quais podem causar danos à integridade da mucosa (MOREIRA e ALFENAS, 2012). Esses compostos são responsáveis pela ativação do receptor imune inato *Toll-like receptor 4* (TLR4) (ERRIDGE, 2011), o qual permite a translocação desta endotoxina para os capilares

intestinais (NEAL et al, 2006). A ativação deste receptor resulta em resposta inflamatória no músculo, fígado e tecido adiposo, por meio do aumento dos níveis do ânion superóxido, atividade de NF-kB e fatores pró-inflamatórios (CANI et al., 2007a; DASU e JIALAL, 2011).

Numerosos estudos têm sugerido a aplicação de terapias à base de frutos e vegetais com potencial antioxidante, principalmente aqueles ricos em polifenóis, como forma de combater o estresse oxidativo (CAO et al., 1998; PATEL et al., 2012; COSTA et al., 2013). Os polifenóis podem conferir melhor perfil de RI, reduzir a glicemia de jejum e pós-prandial (OGAWA et al, 2013; ROOPCHAND et al., 2013), reduzir os níveis sanguíneos de colesterol total, LDL (UDANI et al, 2011) e triacilgliceróis (ARAÚJO et al., 2014), além de aumentar o colesterol HDL (LENQUISTE et al., 2012). Atribuem-se também aos polifenóis efeitos prebióticos capazes de conferir modificações na microbiota intestinal, que podem beneficiar bactérias como *Bifidobacterium* e *Prevotella* relacionadas com a redução dos níveis de LPS (QUEIPO-ORTUNÓ et al., 2012; CLEMENTE-POSTIGO et al., 2013).

O Sudeste brasileiro possui alta biodiversidade de frutos ricos em polifenóis, como a casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), o açaí juçara (*Euterpe edulis* Martius) e o jabolão (*Syzygium cumini*) (BRITO et al., 2007; COSTA et al., 2013).

A jabuticaba é um fruto que possui a casca abundante em polifenóis (REYNERTSON et al. 2008), entre eles as antocianinas (58,1mg/100g)(RUFINO et al., 2010; LENQUISTE et al., 2012). Dragano et al. (2013), em avaliação sobre o efeito da adição de diferentes concentrações (1, 2 e 4% da dieta) de casca de jabuticaba na dieta de camundongos *Swiss*, relataram significativa melhora da RI em animais tratados com 1, 2% e 4% de casca de jabuticaba/kg de dieta.

Outro fruto rico em antocianinas é obtido da palmeira juçara, ou também conhecido como açaí juçara. O despulpamento desse fruto gera um produto, semelhante nutricionalmente à polpa do açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea*), o qual apresenta um alto conteúdo de antocianina (290mg/100g de fruta) (BRITO et al., 2007). Kang et al. (2011) observaram que a polpa do açaí apresenta expressiva atividade antioxidante, de acordo com o método ORAC. Segundo Noratto et al. (2011), o extrato de polifenóis do açaí apresentou efeito protetor sobre as células endoteliais humanas contra o estresse oxidativo.

O jambolão também se destaca pelo seu potencial antioxidante, apresenta aproximadamente, 79mg de antocianina/100g do fruto (BRITO et al., 2007). Além disso, possui importantes propriedades biológicas, entre elas hipolipemiante e hipoglicemiantes (BALIGA et al., 2011). De acordo com De Bona et al. (2011), o extrato de polifenóis obtido de folhas do jambolão pode ser utilizado como coadjuvante no tratamento do DM2.

Neste contexto, o presente estudo contribuirá para maior elucidação dos efeitos da casca da jabuticaba e das polpas de jambolão e açaí juçara sobre o metabolismo lipídico e glicídico. Ainda, esta pesquisa contribuirá para melhor conhecimento do efeito dos frutos sobre a endotoxemia em camundongos *Swiss* submetidos à dieta de cafeteria.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar o efeito da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), da polpa do açaí juçara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre o perfil lipídico, a glicemia e a endotoxemia em camundongos *Swiss* submetidos à dieta de cafeteria.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a composição físico-química dos frutos liofilizados;
- Analisar os parâmetros bioquímicos relacionados ao metabolismo lipídico em camundongos;
- Determinar o efeito dos produtos teste sobre a tolerância à insulina e à glicose em camundongos;
- Verificar o efeito dos frutos sobre a infiltração lipídica no fígado;
- Analisar a capacidade dos frutos na redução do peso e área dos adipócitos;
- Averiguar o efeito dos frutos na preservação da histologia renal;
- Avaliar o efeito da suplementação dos frutos sobre a endotoxemia, por meio da determinação do conteúdo de LPS sanguíneo.

### 3 JUSTIFICATIVA

O diabetes tipo 2 (DM2) é considerado um grave problema de saúde pública, uma vez que possui alta prevalência e progressivo aumento na sua incidência nos últimos anos. De acordo com a Federação Internacional de Diabetes, o DM2 é uma epidemia global, com prevalência de 382 milhões de diabéticos em 2013 (IDF, 2013). Essa doença está entre as principais causas de morte no mundo, e acomete indivíduos de todos os níveis socioeconômicos (BRASIL, 2011; GARCIA-CABALLERO et al., 2010; GARCIA-CABALLERO et al., 2012).

O processo de obesogênese relaciona-se ao DM2 em função de mecanismos orgânicos de elevação da resposta inflamatória, como produção e expressão de citocinas pró-inflamatórias que inibem receptores de insulina e provocam reduções significativas na sensibilidade a este hormônio. Esta resposta inflamatória é causada pela alta ingestão de gordura e de carboidratos, que acarreta em um quadro de obesidade.

A alimentação rica em gordura modula a microbiota intestinal e a concentração plasmática de lipopolissacarídeos (LPS) (CANI et al., 2008). Por sua vez, o aumento dos níveis de LPS se associa a inflamação, pois este incremento está relacionado à redução da expressão de proteínas das junções *tight* do epitélio intestinal, como ocludinas e ZO-1, gerando um aumento na permeabilidade intestinal (MUSSO et al., 2010). A obesidade também induz alterações no perfil lipídico que podem produzir esteatose hepática e hipertrofia dos adipócitos. Diversos estudos têm associado o excesso de gordura corporal e o aumento da resistência à insulina (RI) como resultantes do estresse oxidativo, o qual pode ser amenizado por terapias à base de frutas e vegetais com potencial antioxidante (STYSKAL et al., 2012; COSTA et al., 2013).

Os polifenóis, como as antocianinas, presentes na jabuticaba, no jambolão e no fruto da palmeira juçara apresentam potencial benéfico à saúde, em virtude dos efeitos antioxidantes, que podem resultar na redução da hiperglicemia, hiperinsulinemia e hiperlipidemia.

Portanto, este estudo contribuirá para maior elucidação dos efeitos da casca de jabuticaba e das polpas de jambolão e do açaí juçara sobre o

metabolismo lipídico e glicídico. Ainda, esta pesquisa é pioneira em investigar os efeitos da jabuticaba, jambolão e açaí juçara sobre os níveis de endotoxemia.

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Diabetes *mellitus* tipo 2 e estresse oxidativo

O diabetes mellitus (DM) consiste em uma doença que provoca desordem metabólica grave (GARCIA-CABALLERO et al., 2012) e de etiologia múltipla, a qual se caracteriza por um estado de hiperglicemia crônica (BAHADORAN et al., 2013). A doença está relacionada com o desenvolvimento de resistência à insulina (RI), devido a falhas na sinalização deste hormônio e/ou disfunção da sua produção pelas células  $\beta$ -pancreáticas (CHANG e LI, 2011). A RI, por sua vez, favorece a hiperinsulinemia e armazenamento de lipídios no tecido adiposo (CANI et al., 2007a). Consequentemente, ocorrem anormalidades no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, inflamação sub-clínica e aumento do estresse oxidativo (SANTAGUIDA et al., 2008; SPRANGER et al., 2003).

O DM é um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial e sua prevalência vem crescendo a cada ano. Segundo a Federação Internacional de Diabetes (IDF), esta enfermidade atinge 382 milhões de pessoas em todo o mundo e este número pode chegar a 592 milhões em 2035 (IDF, 2013). O Brasil possui aproximadamente 12 milhões de diabéticos (IBGE, 2010). O DM2 é a forma presente em 90% a 95% dos casos e se caracteriza por defeitos na ação e deficiência relativa na secreção de insulina, resultando em graus variáveis de RI (SBD, 2014). A redução da sensibilidade à insulina é caracterizada por pequena captação de glicose pela célula do tecido muscular, menor impedimento da produção de glicose pelo fígado e diminuída capacidade de inibir lipólise no tecido adiposo (SCHENK et al., 2008; MIZGIER et al., 2014).

Estudos longitudinais suportam a hipótese de que a RI seria consequência da obesidade (SBD, 2009). Em obesos, a RI pode ser desencadeada por consumo crônico de dietas ricas em gordura (GAUR et al., 2014). Essas dietas elevam os ácidos graxos livres (AGL) circulantes fornecidos pelo tecido adiposo na lipólise. No meio intracelular, os AGL exercem ação inibitória na secreção de insulina pelas células  $\beta$ -pancreáticas e efeitos sistêmicos sobre a sensibilidade à insulina na utilização periférica da glicose, referidos como lipotoxicidade

(MCGARRY, 2002; CINTRA et al., 2011). Soma-se a isso, a capacidade do tecido adiposo de síntese e expressão de hormônios e citocinas pró-inflamatórias tais como: IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  (WELLEN E HOTAMISLIGIL, 2005; CODOÑER-FRANCH E ALONSO-IGLESIAS, 2015). O TNF- $\alpha$  tem sido associado ao aumento da RI por fosforilação em serina do substrato do receptor da insulina-1 (IRS1). O IRS1 fosforilado em serina não é capaz de ativar fosfatidilinositol 3 quinase (PI3-q) o que resulta em transporte diminuído de glicose (QATANANI e LAZAR, 2007). O tecido adiposo também estimula a produção hepática de proteína C reativa (PCR), principal mediador de resposta inflamatória na fase aguda. Essas substâncias pró-inflamatórias em níveis elevados estão associadas ao desenvolvimento de DM2 (PRADHAN et al., 2001). Outra citocina relevante produzida pelos adipócitos maduros é a resistina, a qual tem sido tratada como um dos principais fatores associados ao desenvolvimento de RI provocada pela obesidade (WAJCHENBERG e COHEN, 2014).

Além disso, a RI, causada pela obesidade induzida pela dieta, leva a menor fosforilação em sítios específicos, como a tirosina, os quais são importantes para a cascata de sinalização da insulina (FARESE et al., 2014). Ainda, no músculo esquelético e fígado (RICHARDSON et al., 2013), provoca desordem na expressão e ativação de proteínas da via de sinalização da insulina, o IRS1 e PI3-q. Estas proteínas-chave da via da insulina resultam em redução no consumo e utilização de glicose (CINTRA et al., 2011; FATANI et al., 2012). Em longo prazo, essas perturbações metabólicas podem provocar complicações, tais como neuropatia, retinopatia, nefropatia e consequente diminuição da qualidade de vida e um aumento na taxa de mortalidade (SPRANGER et al., 2003; SANTAGUIDA et al., 2008).

O desenvolvimento das complicações do DM2 está intimamente relacionado ao aumento do estresse oxidativo, que por sua vez se associa à diminuição do sistema de defesa antioxidante endógeno e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (STYSKAL et al., 2012). As ERO estão associadas ao desenvolvimento de RI (ANDO E FUJITA, 2009), o que resulta em hiperinsulinemia compensatória, hiperglicemia e armazenamento de lipídeos no tecido adiposo (HIGA et al., 2014).

A produção de radicais livres consiste em um processo contínuo e fisiológico, associado a importantes funções metabólicas como a transferência de elétrons em células aeróbicas, especialmente pela cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (LAMBETH e NEISH, 2014). Porém, a produção contínua de radicais livres precisa ser balanceada por mecanismos de defesa antioxidante (BULLON et al., 2014). Portanto, o estresse oxidativo resulta de um desequilíbrio entre a formação de ERO e a competência antioxidante endógena, como forma de combater o excedente de radicais livres (SABITHA et al., 2014). Os radicais livres em excesso podem provocar oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, o que causa um dano oxidativo potencial contra células e tecidos (LÓPES-ALARCÓN et al., 2014). Fatores endógenos e exógenos podem alterar a expressão gênica, ocasionando um quadro inflamatório que resulta em maior produção de espécies reativas como ERO (BHATTACHARYYA et al., 2014). Dessa forma, a inflamação desencadeada pelo estresse oxidativo contribui para o desenvolvimento de doenças crônicas como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer. As enzimas antioxidantes endógenas, associadas aos antioxidantes provenientes da dieta são capazes de minimizar essa desordem metabólica e, conseqüentemente, o desenvolvimento de dano celular (RAHMAN, 2007; MIGLIO et al., 2014).

#### **4.2 Polifenóis e o diabetes**

Os polifenóis são produtos do metabolismo secundário de uma grande variedade de plantas, portanto, parte integrante da dieta alimentar humana (HARBORNE, 1989). São encontrados principalmente em flores e frutos, mas também em vegetais, raízes, cereais (DURAZZO et al., 2014), sementes, folhas e caules (HORBOWICZ et al., 2008; ANDERSEN e JORDHEIM, 2010).

Entre os polifenóis está a importante classe dos flavonoides, a mais estudada entre os compostos fenólicos. Este grupo possui uma estrutura de base comum, constituída por dois anéis aromáticos ligados por três átomos de carbono que formam um heterociclo oxigenado (PANDEY e RIZVI, 2009). Esta estrutura fenólica confere aos flavonoides uma potente atividade antioxidante *in vivo*, uma vez que permite a transferência de elétrons para os radicais livres,

efetuada por meio dos átomos de hidrogênio do grupo hidroxil contidos no anel aromático (LEOPOLDINI et al., 2004; HRIBAR e ULRIH, 2014). Os flavonoides são compostos pelas subclasses das antocianinas, flavonas, flavonóis, flavanonas, catequinas e isoflavonas (ROSS e KASUM, 2002).

As antocianinas são o maior grupo de pigmentos hidrossolúveis do reino vegetal e apresentam coloração vasta incluindo o azul, roxo, violeta, rosa, vermelho e laranja (CASTAÑEDA-OVANDO, et al., 2009; DAMODARAN et al., 2010). As antocianidinas ou agliconas, como são chamadas as antocianinas encontradas na forma livre, mais comumente encontradas em frutas e vegetais são cianidina, delphinidina, pelargonidina, malvidina, peonidina e petunidina. Entretanto, as antocianinas se apresentam com maior frequência, ligadas a moléculas de açúcares (glicosídeos) tais como: glicose, galactose, xilose, ramnose e arabinose (ROSS e KASUM, 2002).

Os polifenóis são conhecidos por interagirem diretamente com os transportadores de glicose para regular a taxa de absorção de glicose (Alzaid et al., 2013). Segundo Alzaid et al. (2013), em um estudo *in vitro* com enterócitos humanos, os polifenóis de *berries*, principalmente antocianinas e outros flavonóides presentes no alimento, foram capazes de modular a glicemia pós-prandial por meio da diminuição da expressão de mRNA do transportador de glicose GLUT2. Alimentos ricos em antocianinas também têm sido associados com menor resistência insulínica periférica e redução dos níveis de inflamação (JENNINGS et al., 2014).

A partir de um modelo *in vitro* de adipócitos, Garcia-Diaz et al. (2014), concluíram que antocianinas provenientes de bebidas fermentadas sem álcool de mirtilo e amora são potenciais inibidores de inflamação provocada pelo aumento da adiposidade e de sensibilizadores de sinalização de insulina. Esses autores encontraram inibições da secreção de óxido nítrico (17,5%), de TNF- $\alpha$  (89,4%), do fator nuclear kappa B p65 (52,1%) e de lipopolissacarídeo (LPS) induzida por macrófagos. Também foi verificada a redução do acúmulo intracelular de gordura (28,2%). Além disso, houve uma restauração da expressão gênica de adiponectina induzida pela inibição de TNF- $\alpha$  (18,2%), bem como a redução da liberação de glicerol (15,9%) induzida por LPS. Soma-se a

isso, a melhor captação de glicose induzida pela insulina de adipócitos após o tratamento.

De acordo com Bahadoran et al. (2013), em um artigo de revisão baseado em estudos *in vitro* e de modelos animais e humanos, os polifenóis de vegetais modulam o metabolismo de carboidratos e lipídios. Além disso, atenuam a hiperglicemia, dislipidemia e resistência à insulina, melhoram o metabolismo do tecido adiposo, aliviam vias de sinalização sensíveis ao estresse oxidativo e processos inflamatórios. Esses pesquisadores ressaltam que os compostos fenólicos também podem evitar o desenvolvimento de complicações do diabetes em longo prazo, incluindo as doenças cardiovasculares, neuropatia, nefropatia e retinopatia.

Dessa forma, a inclusão de alimentos antioxidantes à dieta é importante devido à interceptação dos radicais livres, realizada por eles, o que por sua vez protege as células e estruturas contra o dano oxidativo (HARASYM e OLEDZKI, 2014). Essa estratégia pode reduzir o risco de desenvolvimento de enfermidades como diabetes *mellitus*, dislipidemias e doenças cardiovasculares, tendo em vista que a peroxidação e o estresse oxidativo são agravantes nas alterações glicêmicas e dislipidemias. Portanto, a dieta e o comportamento alimentar estão diretamente associados à redução do risco de diversas doenças, incluindo o Diabetes Mellitus do tipo 2 (SBD, 2009).

#### **4.3 Endotoxemia associada ao diabetes**

A microbiota intestinal tem sido apontada como fator importante na fisiopatologia do DM2 induzido pela dieta. A composição da microbiota intestinal desempenha um papel decisivo na homeostase energética, modulando o balanço energético, o metabolismo da glicose e o estado inflamatório crônico associado, característico da resistência à insulina (CANI, 2013; ANHÊ et al., 2014). A obesidade e o DM2 são caracterizados pela microbiota intestinal alterada, inflamação e perturbação da barreira intestinal. Não obstante, a composição microbiana e os mecanismos de interação com o hospedeiro que afetam a função da barreira intestinal durante a obesidade e o DM2 não foram totalmente elucidados (EVERARD et al., 2013).

A obesidade está associada com a disbiose da microbiota intestinal, principalmente em virtude de dois fatores: ingestão de dieta rica em gordura e pela genética do hospedeiro. A disbiose leva a um aumento da permeabilidade intestinal, em função da redução da expressão das proteínas das junções *tight* do epitélio intestinal, como ZO-1 e ocludinas (MUSSO et al., 2010). Esse processo desencadeia a endotoxemia metabólica, caracterizada pelo aumento dos níveis plasmáticos de lipopolissacarídeos (LPS), que provoca o desenvolvimento de inflamação e de um baixo grau de resistência à insulina nos tecidos hepático, muscular e adiposo (CANI et al., 2007a).

Os LPS são componentes importantes da membrana externa das bactérias gram-negativas que residem principalmente no intestino, e podem causar dano a integridade da mucosa (MOREIRA e ALFENAS, 2012). O aumento dos níveis de LPS promove a ativação dos fatores de transcrição c-Jun N-terminal quinase (JNK) e o inibidor do fator nuclear kappa B quinase  $\beta$  (IKK- $\beta$ ) (CAI et al., 2005; CARICILLI E SAAD, 2014). Esta ativação das quinases intracelulares altera substratos dos receptores de insulina, o que neutraliza a sinalização, diminuindo a sensibilidade a este hormônio (CANI et al., 2007a). A ativação destes fatores de transcrição também pode contribuir para a redução da absorção de glicose por meio da expressão de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- $\alpha$  e IL-6, causando comprometimento da fosforilação do receptor de insulina provocada por alteração do mesmo (KENNEDY et al., 2009).

Níveis de LPS plasmáticos aumentados também ativam os receptores imuno inatos do tipo *Toll-like 4* (TLR4) (ERRIDGE, 2011) e TLR2 (CARICILLI E SAAD, 2013), além de sensibilizar o receptor de LPS, CD14, associados ao estresse do retículo endoplasmático (CARICILLI E SAAD, 2013). A ativação de TLR4 permite a translocação desta endotoxina para os capilares intestinais (NEAL et al, 2006). Os receptores TLR4 são proteínas do sistema imunológico, cuja função é reconhecer antígenos e transmitir “sinais” para outras células. Esses receptores são ativados por altos níveis de LPS e de ácidos graxos livres provenientes da dieta (SHI et al, 2006). A ativação deste receptor resulta em resposta inflamatória no músculo, fígado e tecido adiposo, por meio do aumento dos níveis do ânion superóxido, atividade de NF- $\kappa$ B e fatores pró-inflamatórios (CANI et al., 2007a; DASU e JIALAL, 2011).

O consumo de uma dieta rica em gordura também causa um desequilíbrio na microbiota intestinal, visto que induz o aumento de bactérias gram-negativas em detrimento de bactérias gram-positivas (CANI et al., 2007a). Todavia, as fibras alimentares podem reduzir o impacto da dieta rica em gordura sobre a ocorrência das doenças metabólicas (CANI et al., 2006). As fibras auxiliam na normalização da relação entre bactérias gram-positivas e gram-negativas, o que diminui os níveis de LPS e endotoxemia (CANI et al., 2007b).

Modificações na microbiota intestinal também podem ser promovidas por prebióticos, os quais neutralizam desordens metabólicas associadas à obesidade, tais como resistência à insulina, esteatose hepática, dislipidemias e hipertensão (CANI E DELZENNE, 2009). Os polifenóis possuem efeitos semelhantes aos prebióticos, sendo capazes de modular a composição da microbiota intestinal beneficiando bactérias como *Bifidobacterium* e *Prevotella*, as quais estão relacionadas com a redução dos níveis de LPS (QUEIPO-ORTUNO et al., 2012; CLEMENTE-POSTIGO et al., 2013). O tratamento com prebióticos diminui a permeabilidade do intestino e a endotoxemia metabólica e melhora a sensibilidade à insulina, esteatose e inflamação de baixo grau. Um dos mecanismos que explicam este fenômeno é o aumento da produção endógena de *glucagon-like peptide-2* (GLP2), que restaura a função da barreira intestinal (CANI E DELZENNE, 2011). O GLP2 é uma incretina liberada pelo trato gastrointestinal em resposta a ingestão de nutrientes. A liberação dessa incretina está relacionada à diminuição da permeabilidade do intestino e redução da inflamação sistêmica e hepática causada pelo quadro de obesidade (CANI et al., 2009; LIM et al., 2014; EL-JAMAL et al., 2014).

Segundo Caricilli e Saad (2014), intervenções dietéticas têm sido apresentadas como modelador de maior relevância da composição da microbiota intestinal, as quais refletem maiores fenótipos potencialmente transmissíveis a outros indivíduos, apesar de variações genéticas. No estudo de Cani et al. (2007a), foi administrada a camundongos uma dieta hiperlipídica por um período de quatro semanas. Esta dieta foi capaz de aumentar os níveis plasmáticos de LPS em até três vezes, o que provocou endotoxemia metabólica. Além disso, os pesquisadores também induziram endotoxemia por meio de infusão subcutânea contínua de LPS em camundongos durante quatro semanas, e verificaram maior hiperglicemia e insulinemia hepática e, além de aumento do tecido adiposo.

#### 4.4 Jabuticaba

O gênero *Myrciaria* ocorre em vários biomas brasileiros. As suas espécies contêm vários compostos bioativos, incluindo os compostos fenólicos, tais como taninos, flavonóides, ácido elágico e antocianinas. Os frutos desse gênero, bem como seus extratos, cascas e folhas possuem atividades biológicas importantes, como a antioxidante, antibacteriana e antifúngica (BORGES et al., 2014).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), da família Myrtaceae, é um fruto tropical nativo da Mata Atlântica brasileira (ALEZANDRO et al., 2013 b). A casca do fruto tem coloração arroxeada ou preta quando maduro (COSTA et al., 2013), sendo portanto uma fonte potencial de pigmentos naturais para a indústria de alimentos (SANTOS et al., 2010). Esta coloração se deve aos abundantes polifenóis (REYNERTSON et al. 2008), entre eles as antocianinas (58,1mg/100g de matéria fresca) (RUFINO et al., 2010). Além disso, a jabuticaba também conta com a presença de outros compostos fenólicos, proantocianidinas e elagitaninos (ALEZANDRO et al., 2013 a; ABE et al., 2012).

As antocianinas encontradas em maior proporção na casca da jabuticaba são a delfinidina 3-O-glicosídeo e a cianidina-3-O-glicosídeo (WU et al., 2012). O conteúdo de antocianinas aumenta significativamente por meio do amadurecimento do fruto e não há ocorrência significativa na polpa ou sementes (ABE et al., 2012). A jabuticaba apresenta ainda uma concentração de compostos fenólicos totais de aproximadamente 31,6 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) / g em casca desidratada (REYNERTSON et al., 2008).

Estudos recentes têm associado à casca da jabuticaba a redução do risco de diabetes e de doenças cardiovasculares (COSTA et al., 2013). Os efeitos apontados são a diminuição da glicemia (ARAÚJO et al., 2014) e da resistência à insulina (LENQUISTE et al., 2012; DRAGANO et al., 2013), bem como efeitos de redução do colesterol total e triacilgliceróis e (LENQUISTE et al., 2012; ALEZANDRO et al., 2013 b). Além disso, a casca da jabuticaba apresenta atividade antimicrobiana (SILVA et al., 2014), antiproliferativa e antimutagênica (LEITE-LEGATTI et al., 2012).

No estudo de Alezandro et al. (2013 b), ratos *Wistar* diabéticos induzidos por estreptozotocina receberam diariamente 1 ou 2 g/ kg de peso corporal de

jabuticaba liofilizada dissolvida em água, por um período de 40 dias. Observou-se uma redução de 32% do colesterol total e 50% dos triacilgliceróis plasmáticos, em comparação ao grupo controle. Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo et al. (2014), em que cascas de jabuticaba desidratadas nas concentrações de 7, 10 e 15% foram acrescidas à dieta AIN-93G modificada com adição de 7% de banha de porco. Verificou-se a redução do colesterol sérico e os triacilgliceróis de ratos, em comparação com o grupo controle. Além disso, houve uma redução da glicemia de ratos que receberam 10 e 15% de farinha de casca de jabuticaba na dieta. Apenas o grupo que recebeu 15% da farinha obteve aumento significativo de HDL sérico. No entanto, segundo Leite et al. (2011), a suplementação de antocianinas provenientes das cascas de jabuticaba em concentração superior a 4% pode provocar diminuição da capacidade antioxidante plasmática.

Quanto aos parâmetros de redução do risco de diabetes, Dragano et al. (2013), em avaliação sobre o efeito da adição de 1, 2 e 4% de casca de jabuticaba liofilizada em dieta hiperlipídica administrada a camundongos *Swiss*, durante seis semanas, relataram redução significativa melhora da RI nos animais que receberam a suplementação com o fruto. A maior sensibilidade à insulina foi dada em virtude da diminuição da inflamação do fígado dos animais. Efeito análogo foi encontrado por Lenquiste et al. (2012), que suplementaram com 2% casca de jabuticaba liofilizada a dieta hiperlipídica de ratos *Sprague-Dawley*, durante quatro semanas. A suplementação melhorou a RI e aumentou os níveis de HDL-c em 41,65% quando comparado ao grupo controle.

#### **4.5 Açaí juçara**

O açaí juçara (*Euterpe edulis* Martius) ou açaí da Mata Atlântica é o fruto da palmeira Juçara, espécie nativa de áreas remanescentes da Mata Atlântica brasileira, que pertence à família Arecaceae (LORENZI, 2006). Este fruto pertence ao mesmo gênero botânico do açaizeiro da Amazônia (*Euterpe oleracea* Martius) (REIS et al., 2000).

O açaí é um fruto carnoso, fibroso (REITZ, 1974), com formato globular e não-climatério. A coloração da casca e polpa desse fruto varia do roxo escuro ao negro quando maduro, devido à presença de antocianinas (BRITO et al., 2007;

RUFINO et al., 2010). Além disso, tem considerável importância econômica, visto que pode ser comercializado na forma de polpa, sucos, sorvete, sobremesas, preparações salgadas entre outros (CASTRO, 2011).

Conforme Borges et al. (2011) o fruto da palmeira Juçara *in natura* possui elevado teor de lípidos (18 a 44 %), sendo que ácido oleico (44 a 55 %) e ácido linoleico (18 a 25 %) são os ácidos graxos insaturados encontrados em maior proporção, e os outros componentes foram as proteínas (5 a 8 %), cinzas (1,5 a 3,3 %) e umidade (34 a 42 %). Segundo Lima (2012), a polpa industrializada do açai juçara (*E. edulis*) submetida à análise bromatológica forneceu a seguinte composição (base seca): 13% de carboidratos; 8% de proteínas; 12 % de lipídeos; 63% de fibras totais; como minerais mais abundantes apresenta cálcio e potássio; e possui alto conteúdo de vitamina B2 (riboflavina). O fruto possui predominante conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados, baixo conteúdo de ácidos graxos saturados quando comparado a outros óleos como de soja, babaçu e de coco (BORGES et al., 2011). Além disso, esse fruto se destaca por um alto conteúdo de polifenóis, entre eles as antocianinas (BRITO et al., 2007).

Segundo Borges et al. (2011), a região de cultivo exerce influência significativa sobre os teores de fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas e outros flavonóides. Esses autores encontraram maior conteúdo de compostos fenólicos totais ( $2610 \pm 3,89 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ GAE}$ ) e antocianinas monoméricas ( $1080 \pm 2,33 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ cy-3-glu}$ ) nos frutos colhidos no verão, com altas temperaturas e altitudes médias.

O fruto da palmeira Juçara é rico em polifenóis, como as antocianinas (192 mg/100 g) (RUFINO et al., 2010; RUFINO et al., 2011), sendo identificadas principalmente a cianidina 3-glicosídeo (1358 mg/100g de peso seco) e cianidina 3-rutinosídeo (1565 mg/100g de peso seco). Outras antocianinas encontradas em menor proporção são: cianidina 3-sambubiosídeo (12,8 mg/100 g), a pelargonidina 3-glucosídeo (7,8 mg/100 g) (como confirmado contra um padrão autêntico), cianidina 3-rhamnosídeo (6,6 mg/100 g), e pelargonidina 3-rutinosídeo (5,3 mg/100 g) (HARBORNE et al., 1994; BRITO et al., 2007).

O açai juçara apresenta ainda ácidos fenólicos, como os ácidos ferúlico, gálico, ácido hidroxibenzoico, ácido p-cumárico, bem como flavonóides: catequina, epicatequina e quercetina (BORGES et al., 2011; LIMA, 2012).

Este fruto também possui consideráveis conteúdos de vitamina C (186 mg/100g), flavonóides (91,3 e 375 mg/100 g) e clorofila (20,8 e 21,5 mg / 100 g) (RUFINO et al., 2010; RUFINO et al., 2011).

O conteúdo de compostos bioativos encontrado no açaí juçara entretanto, difere consideravelmente entre as referências sobre o assunto, em função da variabilidade intrínseca entre as amostras, das metodologias utilizadas e das análises a partir do fruto da palmeira Juçara (SCHULTZ, 2008).

Vale ressaltar que o açaí juçara apresenta maiores quantidades de compostos fenólicos, antocianinas e superior conteúdo de vitamina C se comparado ao açaí da Amazônia (SCHULTZ, 2008). Segundo revisão de literatura de Costa et al. (2013), o açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea*) apresenta 31,2 mg de compostos fenólicos totais (mg GAE/100 g de matéria fresca), 282-303 mg de antocianinas (mg/100 g de matéria fresca) e 84 mg de vitamina C (mg/100g de matéria fresca). Por outro lado, o açaí juçara possui 755 mg de compostos fenólicos (mg GAE/100 g de matéria fresca), 192 mg de antocianina (mg/ 100g de matéria fresca) e 186 mg de vitamina C (mg/ 100g de matéria fresca) (RUFINO et al., 2010).

As antocianinas presentes no açaí têm apresentado um grande potencial farmacológico, que incluem propriedades antioxidantes (GARCIA-ALONSO et al., 2008), antiinflamatórias (XIA et al., 2009), inibição da oxidação do LDL (CHANG et al., 2006).

No estudo de Novello (2011), administrou-se 2% e 6% de açaí juçara liofilizado acrescido a dieta AIN-93M ofertada a camundongos ApoE<sup>-/-</sup> por um período de 75 dias. O pesquisador observou que a suplementação foi capaz de reduzir a glicemia, o colesterol total e a fração LDL, bem como potencializar a defesa antioxidante endógena. Além disso, os grupos alimentados com açaí não apresentaram diferença significativa para as enzimas utilizadas como marcadoras de hepatotoxicidade (AST/ALT), assim como o marcador utilizado para nefrotoxicidade (creatinina). Porém, Castro et al. (2014), em um estudo com suplementação de 2% de açaí juçara liofilizados acrescidos a dieta AIN-93M por 12 semanas, não observaram efeitos antioxidantes ou antiinflamatórios em um ensaio biológico utilizando camundongos ApoE<sup>-/-</sup>.

O açaí juçara *in natura* pode ser contaminado durante o processamento, por esmagamento do barbeiro vetor do *Trypanosoma cruzi* ou a contaminação

pode ocorrer pelas fezes deste inseto diretamente sobre os frutos. Isso acontece, pois o barbeiro pode estar presente no fruto da palmeira Juçara (CASTRO, 2012). O açaí corretamente pasteurizado está livre desta contaminação devido aos procedimentos rigorosos na fabricação e aos tratamentos para sua conservação, como o congelamento (REIS, 2007).

#### 4.6 Jambolão

O jambolão (*Syzygium cumini*) pertencente à família Myrtaceae, e não é um fruto nativo brasileiro, porém, adaptou-se muito bem ao clima tropical do país. É uma planta arbórea, originária da Índia e do sudeste asiático, que produz frutos comestíveis alongados e elipsóides de 2 a 3 cm de comprimento (COSTA et al., 2013; BALIGA et al., 2011). Os frutos possuem uma combinação de gostos doce, ácido e sabor adstringente (AYYANAR e SUBASH-BABU, 2012). A casca conta com coloração que varia do vermelho-púrpura a preta quando maduros, a polpa carnuda é levemente branco-acinzentada e a semente arroxeada (BENHERLAL e ARUMUGHAN, 2007).

A coloração arroxeada do jambolão é dada pela presença de antocianinas (LESTÁRIO, 2003), o sabor adstringente conferido por taninos (SEVERO et al., 2011), o gosto ácido devido ao ácido gálico (VENKATESWARLU, 1952). O gosto adocicado deste fruto é justificado pela presença de carboidratos, como rafinose, glicose, frutose, manose e galactose (SRIVASTAVA, 1953; SRIVASTAVA e CHANDRA, 2013). A casca do fruto pode ser utilizada como corante pela indústria de alimentos ou fármacos, em virtude da presença de antocianinas, as quais são estáveis e de grande eficácia antioxidante (VEIGAS et al., 2007). O jambolão também é utilizado para a preparação de vinagre, conservas, polpas e geleias (ZHANG e LIN, 2009).

Os constituintes fitoquímicos de maior importância presentes no fruto são o ácido elágico, ácido gálico, isoquercetina, kaempferol, mirecetina, rutina e antocianinas (RUFINO et al., 2010; AYYANAR e SUBASH-BABU, 2012). O conteúdo de antocininas do fruto *in natura* é 93 mg / 100g (RUFINO et al., 2010), sendo as principais delphinidina 3,5-diglicosídeo, petunidina 3,5-diglicosídeo, malvidina 3,5-diglicosídeo, cianidina 3,5-diglicosídeo e peonidina 3,5-diglicosídeo (FARIA et al., 2011).

Os diversos compostos bioativos presentes nas folhas, casca e polpa do jambolão possuem uma potente ação antioxidante (BANERJEE et al., 2005; ATALE et al., 2014) e estão associados à redução do risco de diabetes *mellitus* (DE BONA et al., 2014), doenças cardiovasculares (ATALE et al., 2013). Além disso, também conta com propriedades farmacológicas como hepatoprotetora (SHARMA et al., 2013), quimiopreventiva (ARUN et al., 2011) gastroprotetora, anti-neoplásica, anti-inflamatória, antiviral (BALIGA et al., 2011), antibacteriana (MOHAMED et al., 2013), antifúngica (SHAFI et al., 2002) e antiparasitária (RIBEIRO et al., 2014).

Segundo Sharma et al. (2013), o extrato de semente de Jambolão foi eficaz na diminuição da glicose sérica e na redução da atividade e conteúdo de soro de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), enzimas preditoras de lesão hepatobiliar e pancreática. Estes pesquisadores realizaram um ensaio biológico com camundongos *Swiss* induzidos ao diabetes por aloxano. Dessa forma, os resultados sugeriram que o extrato de jambolão teve um efeito protetor do fígado em animais diabéticos. Atale et al. (2013) também relataram benefícios conferidos pelo extrato da semente de Jambolão em um estudo *in vitro*. Obteve-se como resultado a proteção das células de mioblastos cardíacos contra o estresse oxidativo induzido por glicose, por meio da eliminação de espécies reativas de oxigênio.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Matéria-prima e preparo das amostras**

O jambolão (*Syzygium cumini*) e a jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) foram obtidos de agricultores da região sul do estado do Espírito Santo. Os frutos foram selecionados pelo grau de maturação, determinado visualmente pela coloração arroxeadada. Após higienização em água para retirada de sujidades, os frutos foram despulpados manualmente. Descartou-se a polpa e o caroço da jabuticaba sendo utilizada para o estudo apenas a casca do fruto. Quanto ao jambolão, utilizou-se apenas a polpa e, portanto, o caroço foi descartado. A polpa pasteurizada do açaí juçara (*Euterpe edulis* Martius) foi obtida da fábrica Vip Polpa<sup>®</sup> (Rio Novo do Sul, Espírito Santo, Brasil) e transportada sob refrigeração. Todos os frutos foram armazenados a -20° C até o momento da liofilização.

A liofilização foi realizada em liofilizador de bandeja (LP1010, Liobras) no Laboratório de Corantes Naturais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. Após este procedimento os frutos foram acondicionados em embalagens de polietileno laminadas, vedados à luminosidade e ao ar como forma de protegê-los de oxidação. Em seguida, os pacotes foram devidamente identificados e mantidos sob congelamento a -20° C para conservação e posterior análise.

### **5.2 Análise dos produtos liofilizados**

As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo. As análises foram feitas em triplicata.

#### **5.2.1 Caracterização físico-química**

A umidade, proteína e lipídeos foram analisados de acordo com as Normas Analíticas propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (2005) e cinzas conforme preconiza a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1984). A umidade foi determinada em estufa (BIOPAR<sup>®</sup>) por secagem direta a 105°C até peso constante. O teor de lipídeos foi mensurado pelo método de extração intermitente com éter de petróleo em equipamento Soxhlet (MARCONI<sup>®</sup> MA491)

com duração de 5 horas. O conteúdo protéico foi determinado pelo método de Kjeldahl, sendo o teor proteico calculado pela multiplicação do teor de nitrogênio pelo fator 6,25. A determinação das cinzas foi dada a partir de calcinação da amostra em mufla (MARCONI<sup>®</sup> MA38512) à 550°C até obtenção de cinzas claras. O cálculo do valor percentual de carboidratos foi efetuado por diferença, subtraindo-se de um total de 100% as porcentagens de umidade, proteína, lipídios e cinzas obtidas nas análises. O conteúdo total de carboidratos incluem fibras.

### **5.2.2 Preparo do extrato**

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram preparados extratos a partir da metodologia adaptada de Rufino et al. (2010), em que 1 g de amostra liofilizada foi acrescida de 40 mL de solução metanol/água (50:50 v/v). A solução permaneceu 2 horas em agitador mecânico (CIENLAB<sup>®</sup>) a 25°C com agitação de 150 RPM. Ao final da agitação, a solução foi filtrada a vácuo e ao resíduo proveniente da filtração foi adicionado 40 mL de solução de acetona/água (70:30 v/v), o qual retornou ao agitador mecânico, onde permaneceu por mais 2 horas. Ao final da agitação, a solução foi filtrada a vácuo e os filtrados foram misturados em balão volumétrico de 100 mL, com volume ajustado com água destilada. Os extratos foram estocados em vidro âmbar à -20°C até o momento das análises.

### **5.2.3 Quantificação de compostos fenólicos dos produtos liofilizados**

A quantificação de polifenóis totais das amostras liofilizadas foi determinada pelo ensaio do reagente de Folin-Ciocalteu, com base na metodologia adaptada de Singleton e Rossi (1965).

Em um tubo de ensaio foi acrescentado 0,6 mL do extrato do fruto liofilizado e 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu previamente diluído na razão de 1/10. Os tubos foram agitados vigorosamente em vórtex e permaneceram em repouso durante 3 minutos. Logo após, foi acrescentado 2,4 mL de solução de carbonato de sódio saturada em água destilada (7,5% m/v) e os tubos permaneceram em repouso por 1 hora. Após o tempo estabelecido, foi realizada a leitura da absorbância das amostras por espectrofotometria (BEL PHOTONICS<sup>®</sup> 2000 UV), em comprimento de onda de 760 nm. O índice de

polifenóis totais foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0-150 mg/L;  $R^2 = 0,999$ ) e os resultados foram expressos em ácido gálico equivalente por grama de matéria seca (mg AGE/ g de MS). Toda a análise foi realizada em ambiente sem a incidência direta de luz.

#### **5.2.4 Quantificação de antocianinas totais dos produtos liofilizados**

As antocianinas das amostras liofilizadas foram quantificadas seguindo o método espectrofotométrico proposto por Francis (1982).

Para o preparo do extrato para análise de antocianina, pesou-se 1 g de amostra liofilizada e adicionou-se 60 mL de metanol/água (70:30 v/v). O pH da solução foi ajustado para 2 com o auxílio do HCl 3 mol/L. A solução ficou em repouso por 12 horas a 8°C, ao abrigo da luz. Após as 12 horas, a solução foi filtrada à vácuo e o filtrado diluído (1:10 v/v) em metanol-HCl 1,5 mol/L para a leitura da absorbância. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS® 2000 UV), com comprimento de onda de 535 nm. O teor de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo na matéria seca, utilizando massa molecular (MM) de 449,2 g/mol e absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de 26.900 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>.

#### **5.2.5 Determinação da capacidade antioxidante dos produtos liofilizados**

A atividade antioxidante foi avaliada por meio da captura do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico), segundo o método proposto por Re et al. (1999).

Para o preparo do radical, quantidades iguais da solução estoque de ABTS (7mM) e solução de persulfato de potássio (2,45 mM) foram misturadas e armazenadas em vidro âmbar, onde permaneceram sob refrigeração por 16 horas, até o momento da análise.

Em um tubo de ensaio foi adicionado 0,5 mL do extrato dos frutos liofilizados mais 3,5 mL do radical ABTS (Sigma-Aldrich®) e a mistura foi homogeneizada em vórtex. Os tubos permaneceram em repouso por 6 minutos até o momento da leitura.

Após repouso de 6 minutos, foi realizada a leitura da absorbância das amostras por espectrofotometria (BEL PHOTONICS® 2000 UV), em comprimento de onda de 734 nm. A capacidade antioxidante foi determinada

utilizando curva padrão de Trolox ((±)-ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) (0-90 mg/L; R<sup>2</sup> = 0,999) e os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de matéria seca (μmols TEAC/ g MS).

## 5.3 Ensaio biológico

### 5.3.1 Dieta

As dietas experimentais foram elaboradas com base na dieta de cafeteria, caracterizada por ser uma dieta hipercalórica, hiperglicídica e hiperlipídica (MILAGRO et al., 2006).

Os animais foram divididos em cinco grupos experimentais, a saber: o grupo controle negativo recebeu ração comercial peletizada (Presence<sup>®</sup>) balanceada em macro e micronutrientes, o grupo controle positivo recebeu dieta de cafeteria e os grupos experimentais receberam dieta de cafeteria adicionada de 2% de um dos frutos liofilizados (LEITE et al., 2011).

A composição da dieta de cafeteria, proposta por Milagro et al. (2006), contava com os seguintes ingredientes: ração comercial (Presence<sup>®</sup>), bacon (Perdigão<sup>®</sup>), batata-palha (Krok<sup>®</sup>), biscoito doce (Marilan<sup>®</sup>), chocolate ao leite (Harald<sup>®</sup>) e patê de fígado de galinha. O patê foi preparado com aproximadamente 2:3 (73,28%) de fígado de galinha cozido (Pif Paf<sup>®</sup>) emulsionado em 1:3 (26,72%) de manteiga (Davaca<sup>®</sup>) (Tabela 1). As dietas foram preparadas em proporções equivalentes de todos os ingredientes utilizados, porém adicionou-se o dobro de patê de fígado de galinha em relação aos demais ingredientes. Para os grupos com dietas que continham 2% dos frutos liofilizados, foram subtraídos de cada um dos ingredientes as mesmas quantidades referentes a este percentual citado. Os ingredientes foram triturados individualmente, e em seguida foram misturados em multiprocessador até a formação de uma massa homogênea. As dietas de cafeteria com ou sem o acréscimo dos frutos foram planejadas para serem isocalóricas, isoprotéicas, isoglicídicas e isolipídicas.

As dietas foram preparadas semanalmente, acondicionadas em embalagens de polietileno laminadas e mantidas em refrigeração (4 a 8°C) até o momento da utilização. As dietas foram administradas aos animais no formato de

*pellets* elaborados manualmente. Todas as dietas experimentais foram submetidas às análises da composição centesimal para caracterização química do conteúdo de proteínas, carboidratos, lipídios, umidade (IAL, 2005) e cinzas (AOAC, 1984).

Tabela 1: Composição das Dietas Experimentais (g/kg)

INGREDIENTES	CN	CP	JB	JM	AJ
Ração comercial	1000	142,85	140	140	140
Biscoito doce	-	142,85	140	140	140
Batata-palha	-	142,85	140	140	140
Chocolate ao Leite	-	142,85	140	140	140
Bacon	-	142,85	140	140	140
Patê de fígado	-	285,7	280	280	280
<i>Fígado de galinha</i>	-	209,36	205,18	205,18	205,18
<i>Manteiga</i>	-	76,34	74,82	74,82	74,82
Jabuticaba liofilizada	-	-	20	-	-
Jambolão liofilizado	-	-	-	20	-
Açaí juçara liofilizado	-	-	-	-	20

CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jabuticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara.

### 5.3.2 Desenho experimental

Foram utilizados 50 camundongos da raça *Swiss (Albinus musculus)*, com seis semanas de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais, com peso inicial de aproximadamente 33 g, foram distribuídos em cinco grupos experimentais (n=10/grupo). A distribuição foi realizada de maneira que os animais não apresentassem grandes variações de peso entre os grupos. Os camundongos receberam dieta comercial padrão (controle negativo - CN), ou dieta de cafeteria (controle positivo - CP), ou dieta de cafeteria adicionada de 2% dos produtos liofilizados de jabuticaba (JB), ou açaí juçara (AJ) ou jambolão (JM) (Tabela 1). O estudo foi realizado por um período de 14 semanas.

Os animais foram mantidos aos pares em caixas de polietileno, a temperatura controlada a  $21 \pm 2^\circ \text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro,

recebendo água e dieta *ad libitum*.

Todos os procedimentos envolvidos no protocolo experimental foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo, protocolo nº 016/2013 (ANEXO 1).

### **5.3.3 Controle de peso corporal e do consumo alimentar**

O consumo e o peso corporal dos animais foram monitorados semanalmente. Os dados do consumo foram obtidos pela diferença entre a dieta ofertada e o restante não consumido pelos animais. Ao final do período experimental, avaliou-se a porcentagem de eficiência alimentar conferida pela dieta por meio da razão do ganho de peso final (g) pela quantidade total de dieta ingerida (g).

### **5.3.4 Teste de tolerância intraperitoneal à insulina (TTI) e à glicose (TTG)**

O TTI foi realizado na 13ª semana e o TTG no início da 14ª semana. Os animais foram submetidos a um jejum de 10 horas overnight, acompanhado de liberação do consumo das dietas por 1,5 horas e novo jejum de 4 horas. Após esse procedimento, realizou-se a uma pequena incisão na cauda de cada animal e uma punção para retirada de uma gotícula de sangue. A primeira coleta de sangue para a dosagem basal de glicose e insulina foi equivalente ao tempo zero (t<sub>0</sub>) do teste. Os demais tempos foram variáveis entre os testes de TTI e TTG. As medições de glicose sanguínea foram realizadas utilizando fita de teste de glicose com auxílio de um glicosímetro digital (Accu-chek® Active, Roche Diagnosis, Basel, Switzerland). Durante as coletas de sangue os animais foram mantidos em suas gaiolas-moradia, onde permaneceram conscientes durante todo o experimento. Os resultados, expressos em mg.dL<sup>-1</sup>, foram utilizados para calcular a área sob a curva (AUC) de glicose, plotada em um gráfico *versus* o tempo em minutos.

#### **5.3.4.1 Teste de tolerância intraperitoneal à insulina (TTI)**

A insulina (1,5 U/kg de peso corporal) de ação regular humana (Novolin® R) em concentração salina (NaCl 0,9%) foi injetada na cavidade intraperitoneal (i.p.) e as amostras de sangue foram coletadas pela cauda nos tempos 5, 10, 15, 20 e 25 minutos para a determinação da glicose sérica (CINTRA et al., 2012). A

velocidade constante do decaimento da glicose (kITT) foi calculada usando a equação  $0,693/\text{tempo de meia vida biológica } (t_{1/2})$ . O  $t_{1/2}$  da glicose foi calculado a partir da curva da análise dos mínimos quadrados da concentração da glicose sérica durante a fase de decaimento linear (BONORA et al., 1989). Os valores glicêmicos foram ajustados em um modelo linear e o coeficiente angular da curva foi obtido no programa GraphPad InStat, versão 3.0.

#### **5.3.4.2 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose (TTG)**

Injetou-se via i.p. a solução glicosada a 50% (2 g/kg de peso corporal), com posteriores coletas de amostras sanguíneas nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos, para as dosagens de glicose (CINTRA et al., 2012).

#### **5.3.5 Eutanásia, coleta de sangue e tecidos**

Após o término do experimento os animais foram submetidos a jejum de 12 horas. Em seguida, cada animal foi submetido à anestesia com cetamina (60 mg/kg) e xilazina (15 mg/kg), administrados por via intraperitoneal, por um profissional apto e treinado. Foram coletadas amostras de fígado, rim e tecido adiposo dos animais. O sangue foi coletado por meio do rompimento do plexo braquial com o auxílio de microtubos não heparinizados, os quais foram centrifugados a 2500 g durante 15 minutos à 4°C para separação do soro. O soro obtido foi transferido para microtubos identificados e armazenado a -80° C para posteriores análises.

#### **5.3.6 Parâmetros bioquímicos sanguíneos**

As dosagens de colesterol total, HDL-c, triacilgliceróis, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e proteína C reativa (PCR) foram realizadas por analisador bioquímico automático (Mindray BS120, Bioclin®/Quibasa) do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Espírito Santo. As dosagens foram determinadas a partir do soro em um subgrupo dos camundongos (n=8/grupo), com a utilização dos kits enzimáticos colorimétricos da marca BioSystems® para PCR e da marca Bioclin®/Quibasa para os demais parâmetros sanguíneos. O conteúdo de LDLc foi estimado pela Equação de Friedewald:

$$LDL \text{ colesterol } \left( \frac{mg}{dL} \right) = \text{colesterol total} - d \text{ HDLc} - \left( \frac{\text{triacilgliceróis}}{5} \right)$$

### 5.3.7 Análises histológicas

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia Humana do Departamento de Ciências biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. As amostras de fígado, rim e tecido adiposo foram coletadas de um subgrupo de camundongos (n=4/grupo) e foram fixados em formol tamponado (10%), sendo os dois primeiros fixados por três dias e o tecido adiposo por 22 dias. Posteriormente, os fragmentos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> foram desidratados em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%) por trinta minutos em cada bateria. Os fragmentos de tecido receberam um banho de etanol 100% acrescido de xilol por 15 minutos (1:1), e foram diafanizados em três banhos de xilol por 20 minutos em cada bateria. Os tecidos foram embebidos em três banhos de parafina (65°C), por 30 minutos cada, e incluídos em parafina. Após, os blocos foram armazenados em freezer por tempo mínimo de 40 minutos, o que garante solidificação total da amostra e possibilita posterior desmolde dos blocos. Os cortes de 7 µm de espessura foram efetuados com o auxílio de um micrótomo (Leica RM2235) (CINTRA et al., 2006; CINTRA et al., 2012).

Os cortes foram estendidos em banho-maria (40°C) e colocados em lâminas de vidro previamente higienizadas com álcool 70%. Uma vez montadas as lâminas, os cortes foram colocados em laminários de madeira e secos a temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram desparafinizadas em dois banhos de xilol por 20 minutos cada e receberam um banho de etanol 100% acrescido de xilol (1:1) por 10 minutos. Posteriormente, os cortes foram hidratados com dois banhos de etanol 100% por 5 minutos cada. Após, as lâminas foram colocadas em água corrente, por 3 minutos, para melhor penetração do corante. Então, os cortes foram submetidos à coloração rotineira com Hematoxilina-Eosina. Após a coloração, os cortes foram novamente desidratados com dois banhos de álcool 100% e diafanizados por dois banhos de xilol por 30 segundos cada. Para finalizar, os cortes foram cobertos por lamínulas de vidro utilizando bálsamo do Canadá.

Foram tomadas microfotografias dos cortes histológicos utilizando microscópio óptico acoplado a uma câmera de captação de imagens (câmera Nikon Digital Sight U2) com auxílio do software NIS Elements F3.0. Para análise do fígado foram capturadas 10 imagens para cada animal utilizando-se uma objetiva de 20x. Neste tecido quantificou-se a infiltração lipídica nos hepatócitos por meio de histomorfometria para quantificar áreas e volumes em imagens (RASBAND, 2014; PINHEIRO et al., 2014). Para a análise dos rins foram capturadas 5 imagens utilizando a objetiva de 10x, sendo analisados o número e a área dos glomérulos por fotomicrografia. Para o tecido adiposo foi capturada a imagem de uma região que contasse com 30 adipócitos em que foi medida a área de cada um deles individualmente. As análises dessas imagens foram determinadas pelo software de Análise de Imagens ImageJ.

### **5.3.8 Avaliação da endotoxemia**

O teor de endotoxinas no soro de um subgrupo de camundongos (n=4/grupo) foi determinado por meio do ensaio do lisato de amebócito do *Limulus* (LAL) com determinação do ponto final cromogênico. Resumidamente, este ensaio utiliza um sistema de enzimas derivado de invertebrados que, na presença de endotoxina, catalisa reações que foram adaptadas para formar um ensaio cromogênico baseado em microtitulação em placa (WIEDERMANN et al., 1999). Para evitar a contaminação do ensaio LAL com endotoxina ambiental, o mesmo foi realizado em cabine de fluxo laminar e foram utilizadas ponteiras apirogênicas, água livre de endotoxinas, além de falcons, eppendorfs e vidrarias despirogenados em autoclave por 30 minutos a 250°C. Para a mensuração da concentração de endotoxinas, as amostras de soro foram aquecidas em banho seco a 75°C por 5 minutos para inativar agentes inibidores da atividade da endotoxina do ensaio de LAL, presentes no soro dos camundongos. Preparou-se 25 µL de soro diluído em água livre de endotoxina (1:1) combinado com 25 µL de reagente de LAL em placas de apirogênicas e incubou-se a temperatura ambiente por 30 minutos. Após este período foi feita a leitura em comprimento de onda de 405 nm em técnica de ELISA. Os padrões também foram diluídos em água livre de endotoxinas (1:1). Os resultados foram expressos em unidades de endotoxina por mililitros (EU/mL) e os níveis de endotoxinas comparadas entre os grupos experimentais. As concentrações de endotoxinas no soro foram

determinadas por meio de uma curva padrão preparada a partir do kit LAL para endotoxinas Hycult® Biotech (Uden, Netherlands).

#### **5.4 Análise Estatística**

O delineamento experimental utilizado foi do tipo inteiramente casualizado. Todos os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Primeiramente, verificou-se a normalidade dos dados com a aplicação do teste Kolmogorov–Smirnov. Após este procedimento, foram submetidos ao teste t para comparação dos controles negativo (dieta padrão) e positivo (dieta de cafeteria). Para avaliação dos efeitos dos tratamentos (jabuticaba, jambolão e açaí juçara liofilizados) em comparação com o grupo controle positivo, aplicou-se a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey para comparação de médias. Diferenças foram consideradas significativas para  $p < 0,05$ . Para a análise estatística dos dados foi utilizado o software GraphPad Prism, versão 5.00 para Windows (San Diego, Califórnia, USA).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A casca da jabuticaba liofilizada apresentou maior percentual de umidade, de cinzas e proteínas, enquanto o liofilizado da polpa de açaí juçara apresentou maiores concentrações de lipídios quando comparados aos demais frutos liofilizados. O jambolão liofilizado, por sua vez, destacou-se por seu maior conteúdo de carboidratos, conforme representado na Tabela 2.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Leite-Legatti et al. (2012) referentes à casca de jabuticaba liofilizada, a qual conteve 15% de umidade, 1,7% de lipídeos, 4,9% de proteína e 3,5% de cinzas. Quanto à composição centesimal do jambolão, os dados encontrados na literatura também corroboraram com o presente estudo. Tal como no estudo de Pereira (2011), em que o jambolão possui em base seca 1,7% de lipídeos, 1,99% de cinzas, 4,7% de proteínas e 87% de carboidratos. Segundo Lima (2012), a polpa industrializada do açaí juçara submetida à análise bromatológica forneceu a seguinte composição centesimal em base seca: 7,7% de proteínas, 12% de lipídeos, 13% de carboidratos e 4% de cinzas. Entretanto, Castro et al. (2014) obtiveram valores de 8,4% de umidade, 49% de lipídios, 43% de carboidratos e 5,3% de proteína para o açaí juçara liofilizado. Borges et al. (2011), em um estudo com diferentes cultivares de açaí juçara, observaram que a maior variação na composição dos frutos é nos teores de lipídios (18 a 44%), proteínas (5 a 8%) e cinzas (1,5 a 3,3%). Estes autores explicam que a variação na composição química centesimal dos frutos pode ser dada pelas características ambientais a que estes frutos foram submetidos (BORGES et al., 2011).

Na Tabela 3 está apresentada a composição centesimal das dietas experimentais. Destaca-se o alto conteúdo lipídico presente na dieta de cafeteria (controle positivo – CP), aproximadamente 90% maior, quando comparada a dieta comercial ofertada ao grupo controle negativo (CN). A dieta de cafeteria também oferece cerca de 30% mais calorias do que a dieta comercial. Portanto, a dieta de cafeteria pode ser considerada uma dieta hiperlipídica e hipercalórica.

Conforme a Figura 1 observou-se que o consumo das dietas diferiu significativamente entre os grupos de animais que receberam a dieta comercial e a dieta de cafeteria. O grupo CN apresentou consumo superior ( $p \leq 0,05$ ), quando comparado ao CP (Figura 1B). Os grupos suplementados com os frutos

liofilizados não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) da dieta CP. Portanto, em relação ao consumo, os frutos não exerceram efeito sobre o volume de dieta final ingerido pelos animais durante as 14 semanas experimentais.

Quanto à massa corpórea dos animais (Figura 2), o grupo CP obteve o maior ganho de peso ao final do experimento quando comparado ao CN ( $p \leq 0,05$ ), ainda que CN tenha contabilizado um consumo alimentar 25% superior ao CP. Dessa forma, o ganho de massa corpórea final do grupo CP apresentou-se aproximadamente 40% maior que o grupo CN. Por outro lado, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre o ganho de peso do grupo CP em relação aos outros grupos experimentais adicionados dos frutos.

O maior ganho de massa corpórea do grupo CP quando comparado ao CN pode ser explicado pela superior densidade calórica da dieta de cafeteria, a qual possui aproximadamente 30% mais calorias que a ração comercial. De forma semelhante, observa-se um conteúdo calórico análogo entre a dieta de cafeteria e as suplementadas com os frutos, o que justifica a similaridade no ganho de peso final entre estes grupos experimentais. O grupo CN apresentou um consumo calórico diário de aproximadamente 23 kcal, enquanto CP consumiu aproximadamente 22,5 kcal por dia ao longo das 14 semanas de experimento. Ainda, na Figura 3 está representada a eficiência alimentar das dietas experimentais. Observou-se uma inferioridade alimentar da dieta comercial em relação à dieta de cafeteria.

Tabela 2. Composição centesimal da casca da jabuticaba, jambolão e açaí juçara liofilizados

g/100g	JB		JM		AJ	
	Matéria fresca	Matéria seca	Matéria fresca	Matéria seca	Matéria fresca	Matéria seca
Umidade	11,81 ± 0,29	-	9,75 ± 0,45	-	5,32 ± 0,05	-
Proteína	7,57 ± 0,85	6,68 ± 0,74	2,98 ± 0,34	2,69 ± 0,31	6,18 ± 0,31	5,85 ± 0,29
Lipídios	1,35 ± 0,17	1,19 ± 0,14	1,04 ± 0,09	0,94 ± 0,08	26,71 ± 1,44	25,19 ± 1,36
Carboidratos	74,28 ± 1,14	65,50 ± 1,00	82,77 ± 0,84	74,70 ± 0,76	58,11 ± 1,69	55,02 ± 1,6
Cinzas	4,99 ± 0,43	4,40 ± 0,38	3,46 ± 0,21	3,12 ± 0,19	3,68 ± 0,04	3,48 ± 0,04

Dados expressos em média ± DP. JB: dieta suplementada com casca de jabuticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara.

Tabela 3. Composição centesimal das dietas experimentais ofertadas aos animais

	CN	CP	JB	JM	AJ
Umidade (g/100g)	10,63 ± 0,06	21,71 ± 0,18 *	21,94 ± 0,26	21,80 ± 0,10	21,96 ± 0,08
Proteína (g/100g)	28,93 ± 0,33	14,06 ± 0,17 *	14,00 ± 0,45	14,60 ± 0,47	14,14 ± 0,10
Lipídios (g/100g)	2,78 ± 0,37	27,48 ± 0,45 *	27,97 ± 0,82	27,97 ± 0,31	27,93 ± 0,14
Carboidratos # (g/100g)	49,46 ± 0,58	33,68 ± 0,79 *	33,06 ± 0,97	32,24 ± 0,71	32,96 ± 0,37
Cinzas (g/100g)	8,20 ± 0,20	3,07 ± 0,16 *	3,03 ± 0,11	3,39 ± 0,12	3,00 ± 0,22
Calorias (Kcal/ 100 g)	338,59 ± 2,33	438,28 ± 2,01 *	439,98 ± 3,32	439,06 ± 0,96	439,81 ± 0,56

Dados expressos em média ± DP.\*Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). # Carboidratos totais, incluindo fibras. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jabuticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

Na Tabela 4 estão representadas as concentrações de compostos fenólicos, antocianina e atividade antioxidante presentes nos frutos liofilizados. A casca de jabuticaba liofilizada apresentou as maiores ( $p \leq 0,05$ ) concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, seguidos pelo açaí juçara e pelo jambolão respectivamente. Por sua vez, o açaí juçara exibiu superior conteúdo de antocianinas, quando comparada a jabuticaba e ao jambolão.

No estudo de Rufino et al (2010), também avaliou-se o teor de antocianinas, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante contidos na casca de jabuticaba, e polpas de jambolão e açaí juçara. O maior conteúdo de antocianinas foi apresentado pela polpa do açaí juçara (1,96 g/100 g MS), seguido pelo jambolão (0,62 g/100 g MS), e a casca de jabuticaba liofilizada (0,41 g/100 g MS). Observa-se que, os valores encontrados por esses pesquisadores foram inferiores aos encontrados no presente estudo para a casca da jabuticaba e polpa de jambolão, porém, superior ao conteúdo de antocianinas da polpa de açaí juçara.

Quanto a atividade antioxidante, Rufino et al (2010) encontraram resultados superiores quando comparado ao presente estudo, com exceção da casca de jabuticaba. O açaí juçara apresentou 606  $\mu\text{mols Trolox/g MS}$ , o jambolão apresentou teores de 125  $\mu\text{mols Trolox/g MS}$ , e a jabuticaba obteve conteúdo de 317  $\mu\text{mols Trolox/g MS}$ . Em relação aos compostos fenólicos totais, os mesmos autores obtiveram resultados maiores aos encontrados no presente estudo, com exceção da casca da jabuticaba. Os autores observaram que o açaí juçara liofilizado apresentou 56,72 mg GAE/g MS, a casca de jabuticaba liofilizada 35,84 mg GAE/g MS, e o jambolão 11,17 mg GAE/g MS.

Observou-se no presente estudo, que a concentração de compostos fenólicos totais da casca da jabuticaba foi superior ao açaí juçara, o que explica a maior capacidade antioxidante da primeira. Portanto, isso pode estar associado à presença de um alto conteúdo de compostos fenólicos na casca da jabuticaba como a quercetina, isoquercetina, quercimeritrina, quercitrina, rutina, miricitrina, ácido cinâmico, ácido O-cumárico, ácido gálico, ácido elágico, entre outros (REYNERTSON et al., 2006; COSTA et al., 2013).

Os efeitos benéficos dos alimentos ricos em polifenóis têm sido relacionados ao seu potencial de ação antioxidante, que agem na proteção contra o dano oxidativo às macromoléculas biológicas (como lipídeos e

proteínas) e DNA (GERHAUSER, 2008). Assim, sugere-se que os polifenóis provenientes da dieta exercem seus efeitos benéficos por meio de ação antioxidante no organismo, associando-se à menor incidência de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas (DAUCHET et al., 2005; LOTITO e FREI, 2006; MIRMIRAN et al., 2009; ZHANG et al., 2009).

Tabela 4. Caracterização dos frutos liofilizados quanto aos compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e antocianina em base seca

	<b>JB</b>	<b>JM</b>	<b>AJ</b>
Antocianina (g cianidina-3-glicosídeo/100g)	1,22 <sup>b</sup> ± 0,01	0,91 <sup>c</sup> ± 0,00	1,80 <sup>a</sup> ± 0,01
Atividade antioxidante (µmols Trolox/g)	786,24 <sup>a</sup> ± 35,44	71,58 <sup>c</sup> ± 8,69	408,05 <sup>b</sup> ± 23,49
Compostos fenólicos totais (mg de AGE/g)	95,32 <sup>a</sup> ± 1,71	8,17 <sup>c</sup> ± 1,14	47,84 <sup>b</sup> ± 2,74

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representa diferença estatística, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara.

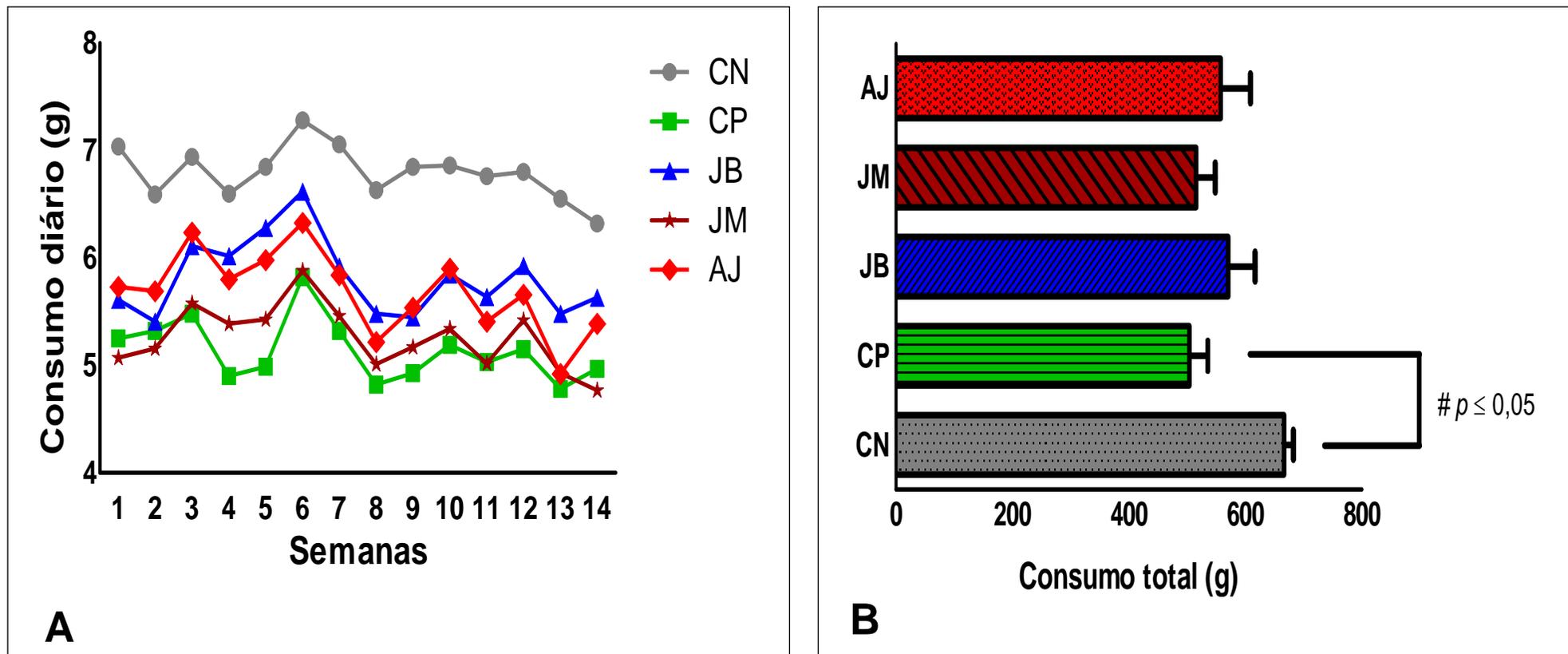


Figura 1. (A) Evolução do consumo diário dos animais durante o período experimental. (B) Média do consumo final de cada grupo testado. Dados do consumo total expressos em média  $\pm$  DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. #Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

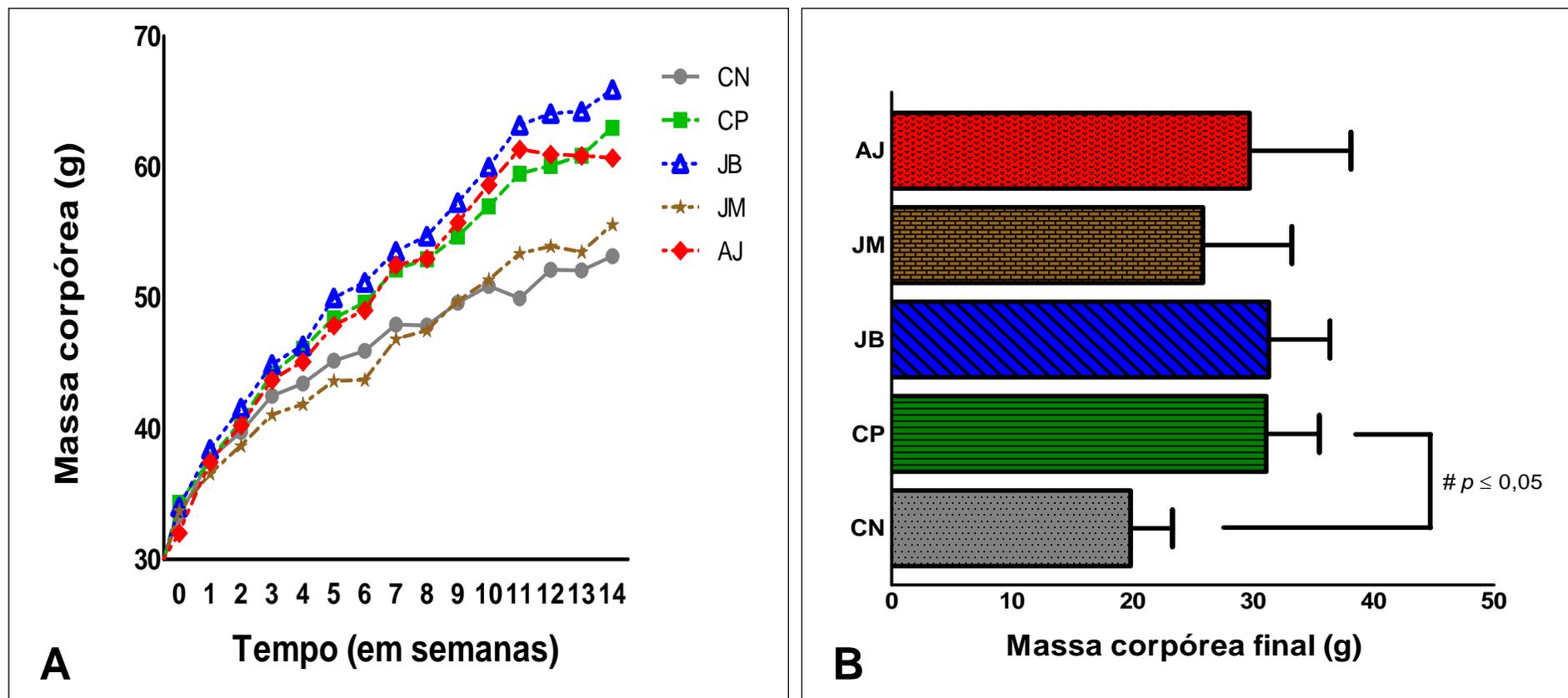


Figura 2. (A) Evolução média da massa corpórea dos grupos de animais durante todas as semanas experimentais. (B) Média da massa corpórea ao final do período experimental. Dados do ganho de peso expressos em média  $\pm$  DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. # Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

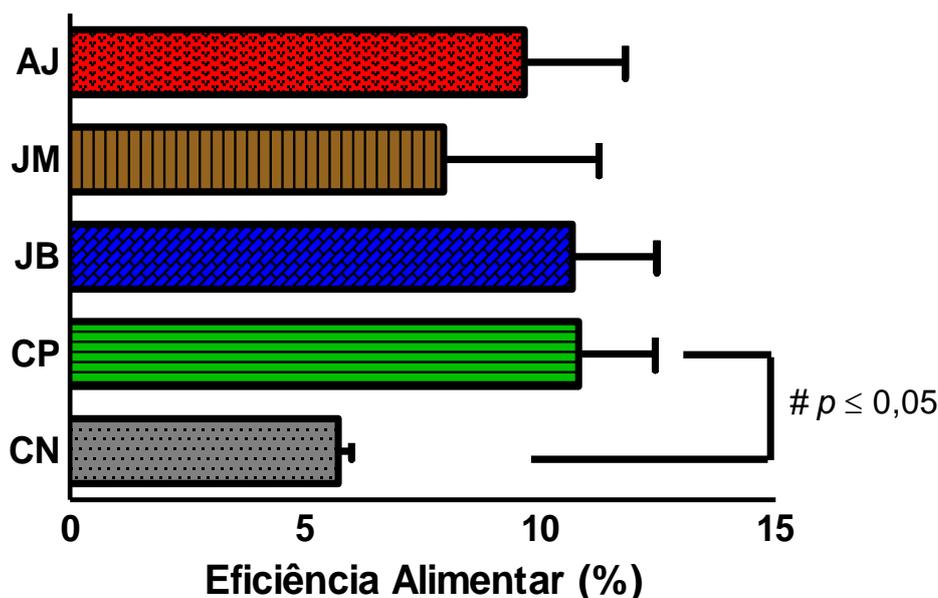


Figura 3. Eficiência alimentar das dietas experimentais. Dados expressos em média  $\pm$  DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. # Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados referentes aos parâmetros bioquímicos sanguíneos dos animais experimentais. Observou-se que o colesterol total (CT) dos animais tratados com dieta de cafeteria (CP) foi aproximadamente 30% maior que o grupo CN ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, os grupos que receberam a dieta de cafeteria acrescida de jambolão (JM) e açaí juçara (AJ), apresentaram uma atenuação significativa ( $p < 0,05$ ) de cerca de 30% no colesterol total quando comparado ao grupo CP.

Ainda, os grupos JM e AJ também promoveram redução significativa ( $p < 0,05$ ) dos níveis de triacilgliceróis (TAG), notou-se uma redução de aproximadamente 50% quando comparado ao grupo CP. Pepato et al. (2005), ao ofertar extrato de polpa de jambolão (*E. jambolana*) liofilizado por sonda esofágica à *Rattus norvegicus* também encontraram diminuição significativa dos níveis de CT e TAG em relação aos controles. Efeito análogo foi obtido pela adição de 0,5% de açaí juçara liofilizado à dieta hiperlipídica administrada a ratas *Wistar* prenhas, a qual mostrou redução de CT e TAG comparado ao grupo controle (MORAIS et al., 2014). Por outro lado, no estudo de Castro et al. (2014)

a suplementação da dieta AIN-93M de camundongos ApoE<sup>-/-</sup> com 2% de açaí juçara liofilizados, não foi obtida melhora significativa entre os parâmetros sanguíneos CT e TAG proporcionados pela dieta.

Para o colesterol HDL-c, não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre o CN e o CP. Entretanto, observou-se uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) desta fração para os grupos JM e AJ, em relação ao grupo CP. Essa redução pode ser justificada pelo menor conteúdo de colesterol total verificado nos grupos JM e AJ. A fração LDL-c por sua vez mostrou diferença entre os grupos CN e CP, sendo a dieta de cafeteria responsável pelo aumento de 50% do colesterol LDL-c quando relacionado aos animais que receberam ração comercial. Contudo, o acréscimo do jambolão a dieta de cafeteria foi eficaz na redução ( $p < 0,05$ ) de aproximadamente em um terço o colesterol LDL-c. Resultado semelhante foi encontrado por Ravi et al. (2005), que observaram redução significativa dos níveis de LDL-c, a partir de administração oral de extrato de semente de jambolão a ratos diabéticos em comparação a um fármaco hipoglicemiante padrão, glibenclamida.

A dieta de cafeteria aumentou ( $p < 0,05$ ) a relação entre CT/HDL em 15% em comparação ao CN. Por outro lado, a suplementação com jambolão foi efetiva na diminuição de 10% desta relação quando comparada ao grupo CP. De forma semelhante, a relação LDL/HDL se apresentou superior para o grupo CP, quando associado ao grupo CN, sendo este incremento de cerca de 50% (Tabela 5).

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para os parâmetros bioquímicos sanguíneos AST, ALT e proteína C reativa (PCR) entre os grupos experimentais (Tabela 5). Portanto, sugere-se que a dieta de cafeteria não foi capaz de provocar lesão hepatobiliar e pancreática aguda, visto que não houve modificação de AST e ALT (SHARMA et al., 2013). A não alteração de PCR no soro dos camundongos, indica que não houve significativa resposta inflamatória de fase aguda sintetizada no fígado provocada pela dieta hipercalórica (HOEPERS et al., 2015). Entretanto, não se descarta uma alteração subclínica dos marcadores hepáticos, bem como do marcador inflamatório.

No estudo de Teixeira et al. (2006), em que administrou-se chá de folha de jambolão via oral para humanos com diabetes mellitus tipo 2, também não

foram obtidas alterações significativas nos níveis de AST, ALT e HDL-c. Entretanto, contrariamente ao presente estudo, estes pesquisadores não observaram reduções do LDL colesterol.

Salienta-se que o jambolão mostrou resultados satisfatórios quanto à melhoria dos parâmetros bioquímicos sanguíneos (Tabela 5). Todavia, ainda há poucos estudos com este fruto na literatura científica, o que dificulta a comparação dos resultados encontrados. Além disso, grande parte das pesquisas realizadas com o jambolão investiga os efeitos promovidos pelas folhas (TEIXEIRA et al., 1997; TEIXEIRA et al., 2000; DE BONA et al., 2011) e sementes do fruto (ATALE et al., 2013; SHARMA et al., 2013), sendo que no presente estudo se utilizou a polpa.

A jabuticaba, por outro lado, não promoveu melhorias significativas nos parâmetros bioquímicos sanguíneos, contrariamente ao demonstrado por outros estudos científicos (LENQUISTE et al., 2012; ALEZANDRO et al., 2013b; ARAÚJO et al., 2014). Dragano et al. (2013), semelhante ao presente estudo, também não verificaram alterações significativas para TAG, CT e HDL-c após suplementação de 1 a 4% jabuticaba liofilizada a dieta AIN-93M de camundongos *Swiss*. Lage et al. (2014) também não observaram redução do CT e TAG após alimentar ratas *Fisher* com dieta hiperlipídica acrescida de 0,5 a 3% de farinha de casca de jabuticaba. Todavia, neste último estudo observou-se um aumento do HDL-c, diferentemente dos achados do presente estudo.

Na Figura 4 estão representados os resultados referentes ao teste de tolerância à glicose (TTG) e a insulina (TTI). Observou-se, no presente estudo que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os valores de AUC e KITT ao comparar os grupos CN e CP. Verificou-se que a AUC do grupo que recebeu dieta de cafeteria foi maior que o grupo que recebeu dieta comercial, sugerindo uma maior intolerância à glicose. De forma semelhante, verificou-se menor tolerância à insulina para o grupo CP em comparação ao CN. Portanto, os resultados encontrados corroboram com a literatura, visto que em seres humanos e em animais experimentais o consumo de dietas ricas em gordura, tal como a dieta de cafeteria, provoca intolerância à glicose e uma resistência à insulina (RIVELLESE e LILLI, 2003; DE SOUZA et al., 2007).

Todavia, a suplementação com açaí juçara à dieta de cafeteria foi capaz de reduzir significativamente ( $p < 0,05$ ) a intolerância à glicose em comparação

ao CP (Figura 4C). Resultado semelhante foi encontrado por Oliveira et al. (2010), após administração de dieta hiperlipídica suplementada com extrato de semente de açaí da Amazônia (300mg/kg/dia) via oral a camundongos C57BL / 6J durante 12 semanas. Os pesquisadores encontraram diminuição significativa da intolerância à glicose quando comparado ao grupo controle após realização do teste de tolerância oral à glicose.

O acréscimo dos demais frutos à dieta hipercalórica dos animais, entretanto, não foi eficaz na redução da intolerância à glicose, bem como não diminuiu a intolerância à insulina a partir da constante de decaimento da glicose (kITT) (Figura 4D). Estes resultados demonstram que a intolerância à glicose promovida pela dieta de cafeteria não foi melhorada pelo acréscimo dos frutos jambolão e jabuticaba, bem como a sensibilidade à insulina não foi alterada pela suplementação dos frutos.

Semelhante ao presente estudo, Lenquiste et al. (2012), também não encontraram diferença estatisticamente significativa nos valores de AUC e kITT a partir da suplementação de 2 a 4% de jabuticaba liofilizada à dieta hiperlipídica de ratos *Sprague-Dawley*. Por outro lado, Dragano et al. (2013) verificaram um aumento significativo na velocidade do decaimento da glicose (kITT) ao suplementar 1 a 4% de jabuticaba liofilizada a camundongos *Swiss*.

Quanto ao jambolão, os achados de Teixeira et al. (2000) também corroboraram com o presente estudo. Estes pesquisadores realizaram um TTG após administração em dose única um chá preparado a partir de folhas de jambolão desidratadas, e não encontraram efeitos hipoglicemiantes em humanos não diabéticos quando comparado com voluntários que receberam placebo. Por outro lado, no estudo de Saravanan e Pari (2008), foram encontradas reduções significativas da glicemia a partir de um TTG, em ratos Wistar diabéticos após administração oral de extrato aquoso de casca de jambolão por 45 dias. Neste estudo, utilizou-se a glibenclamida, droga hipoglicemiante oral, como medicamento padrão de referência.

Tabela 5. Resultados bioquímicos sanguíneos dos animais experimentais

	CN	CP	JB	JM	AJ
Colesterol total (mg/dL)	113,8 ± 21,6	158,8 ± 27,92 <sup>a,*</sup>	163,0 ± 32,67 <sup>a</sup>	107,4 ± 10,18 <sup>b</sup>	109,3 ± 8,70 <sup>b</sup>
HDL-c (mg/dL)	59,18 ± 9,51	68,47 ± 11,22 <sup>a</sup>	68,88 ± 12,74 <sup>a</sup>	49,71 ± 2,77 <sup>b</sup>	46,71 ± 5,91 <sup>b</sup>
LDL-c (mg/dL)	28,18 ± 9,40	64,18 ± 15,19 <sup>a,*</sup>	52,82 ± 10,51 <sup>a,b</sup>	41,40 ± 9,55 <sup>b</sup>	47,77 ± 5,94 <sup>a,b</sup>
CT/HDL	2,00 ± 0,16	2,36 ± 0,09 <sup>a,*</sup>	2,26 ± 0,06 <sup>a,b</sup>	2,13 ± 0,10 <sup>b</sup>	2,46 ± 0,13 <sup>a</sup>
LDL/HDL	0,48 ± 0,22	0,89 ± 0,14 <sup>*</sup>	0,88 ± 0,12	0,87 ± 0,17	1,09 ± 0,26
Triacilgliceróis (mg/dL)	132,8 ± 42,05	146,1 ± 44,81 <sup>a</sup>	162,8 ± 68,33 <sup>a</sup>	71,58 ± 19,44 <sup>b</sup>	62,95 ± 15,81 <sup>b</sup>
AST (U/L)	124,3 ± 81,29	95,85 ± 54,64	68,29 ± 19,18	59,46 ± 15,53	82,22 ± 48,65
ALT (U/L)	36,46 ± 10,06	31,22 ± 11,82	27,47 ± 3,82	23,71 ± 6,01	25,33 ± 4,90
PCR (mg/dL)	36,39 ± 1,61	37,58 ± 2,77	38,20 ± 2,28	38,59 ± 2,30	36,39 ± 6,25

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jabuticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. \* Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; CT: colesterol total; AST: aspartato amino transferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C reativa.

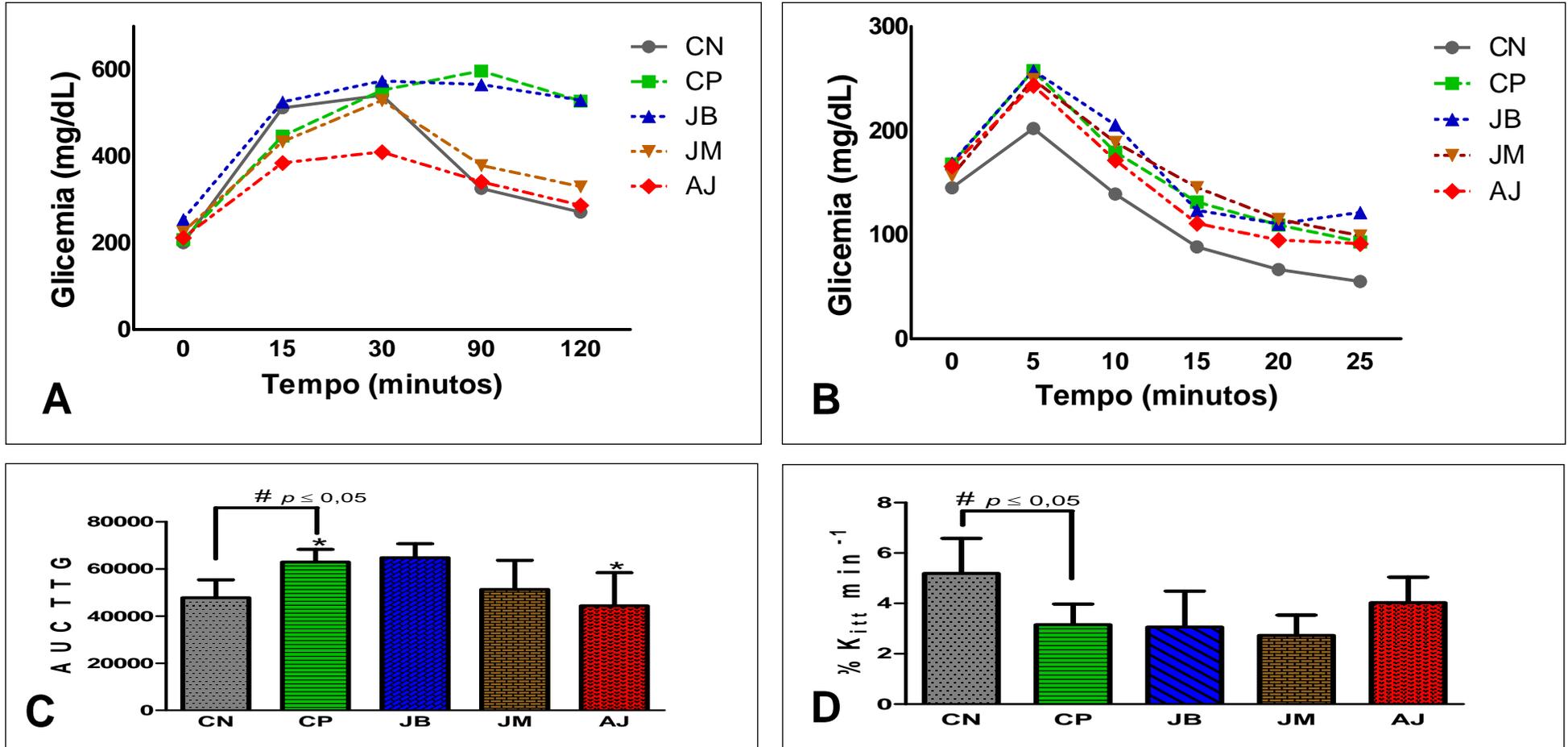


Figura 4. (A) Teste de tolerância à glicose (TTG). (B) Teste de tolerância à insulina (TTI). Dados de glicemia expressos em média. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. (C) Área abaixo da curva (AUC) do TTG. (D) Constante de decaimento da glicose durante o TTI (k<sub>itt</sub>) (%/min). # Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). \* Diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre o grupo AJ quando comparado ao CP pelo teste de Tukey.

Conforme apresentado na Tabela 6, a dieta de cafeteria foi capaz de promover esteatose nos camundongos quando comparado ao grupo que recebeu ração comercial. No entanto, os frutos experimentais não foram capazes de reduzir essa infiltração lipídica no fígado. Portanto, não foi percebido efeito protetor da suplementação dos frutos jambolão e açaí juçara à dieta de cafeteria quando comparado ao CP ( $p > 0,05$ ), como observado pelo percentual de esteatose. Efeito análogo foi apresentado por Castro et al. (2014), que também não obtiveram redução de esteatose no fígado de camundongos ApoE<sup>-/-</sup> a partir da suplementação de açaí juçara liofilizado a dieta AIN-93M comparado a dieta padrão.

Entretanto, observou-se um percentual de esteatose significativamente elevado ( $p < 0,05$ ) no grupo de animais que recebeu a dieta de cafeteria acrescida de jabuticaba, sendo que aproximadamente 60% maior que no grupo CP. A partir da Figura 5 pode-se observar a presença desta diferença de gotículas lipídicas. A análise morfológica mostra um menor acúmulo lipídico do grupo CP (Figura 5B), quando comparada ao grupo suplementado com jabuticaba (Figura 5C).

Estes resultados demonstram que os frutos experimentais não foram capazes de reduzir a esteatose provocada pela dieta de cafeteria. Todavia, o aumento da esteatose observado no grupo JB precisa ser melhor investigado, visto que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre o conteúdo calórico dos grupos experimentais quando comparados ao grupo CP. Além disso, há relatos na literatura que a jabuticaba seja capaz de promover um efeito hepatoprotetor. Lage et al. (2014), observaram que a suplementação de 3% de farinha de casca de jabuticaba à dieta hiperlipídica administrada a ratas *Fisher* resultou em diminuição significativa da esteatose macrovesicular nos animais quando comparado ao grupo controle.

Na Tabela 6 podem ser visualizados os valores referentes à área e ao número de glomérulos em relação aos diferentes tratamentos. Os resultados mostraram que houve diferença significativa para área entre os grupos experimentais, porém, não houve diferença para o número de glomérulos. O grupo CN apresentou maior área quando comparado ao CP ( $p \leq 0,05$ ). Observou-se também, menores áreas para os grupos experimentais suplementados pelos frutos quando comparados ao grupo CP ( $p < 0,05$ ). Estes

dados sugerem que tenha havido uma atrofia da área glomerular entre todos os grupos que ingeriram a dieta de cafeteria (Figura 5F, 5G, 5H, 5I, 5J). Dessa forma, percebe-se que os frutos não foram capazes de reverter a atrofia glomerular provocada pela dieta de cafeteria.

Segundo Rein et al. (2010), a atrofia glomerular e o resultante déficit da função renal é caracterizado como marcador da progressão da doença aterosclerótica. Estes autores ressaltam que a diminuição da função renal ocorre como consequência de um dano vascular. Knight et al. (2008) atribuem esta injúria renal à obesidade e ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias decorrentes do estresse oxidativo. Ainda, o acúmulo de lipídios em excesso é capaz de provocar lipotoxicidade, que por sua vez pode ser o principal motor da disfunção orgânica, tal como lesão renal (DECLÈVES e SHARMA, 2015).

O quadro aterosclerótico também pode estar associado ao aumento da permeabilidade do endotélio, causado pelo excedente de radicais livres produzidos que provocam danos à membrana (KNIGHT et al., 2008). De acordo com Userpater e Inserral (2004), esse incremento da permeabilidade pode acarretar em aumento da passagem de LDL-c, o que provoca a formação de placas ateroscleróticas e atrofia do glomérulo.

Além disso, há evidências de que a redução da função renal pode influenciar negativamente o metabolismo da glicose e a sensibilidade à insulina em seres humanos (DEFRONZO et al., 1981; SHEHAB-ELDIN et al., 2009). Chin et al. (2014), observaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) na sensibilidade à insulina a partir de uma operação simulada para redução da massa renal, uninefrectomia, em camundongos C57BL/6J.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados do peso e área dos adipócitos. Notou-se que houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) apenas entre os grupos CN e CP quanto ao peso do tecido adiposo. O CP exibiu peso 50% superior ao CN, o que indica que a dieta de cafeteria foi capaz de induzir o aumento da gordura epididimal. Quanto à área dos adipócitos, observou-se diferença significativa entre os grupos CN e CP ( $p < 0,05$ ), o qual obteve uma área 50% maior que os animais do grupo CN, o qual pode ser observado também na Figura 5K e 5L. O aumento do peso e área dos adipócitos pode ser justificado pelo alto conteúdo lipídico da dieta de cafeteria quando comparada ao

grupo que recebeu ração comercial (Tabela 3). Verificou-se ainda, atenuação significativa ( $p < 0,05$ ) da hipertrofia dos adipócitos entre os grupos suplementados com jambolão e açaí juçara (Figura 5N e 5O) quando comparado ao grupo CP. De acordo com El-Assaad et al. (2015), a redução da área dos adipócitos está associado a um efeito lipolítico e de decréscimo na acumulação de triacilgliceróis. Dessa forma, o jambolão e o açaí juçara foram eficientes em reverter o aumento da adiposidade promovido pela dieta de cafeteria.

É importante salientar que, ao exceder a capacidade de armazenamento do tecido adiposo a partir de uma dieta hipercalórica pode haver a acumulação de lipídeos ectópica, ou seja, em outros órgãos como rins e fígado (SAMUEL e SCHULMAN, 2012). Isto provoca distúrbios metabólicos tais como resistência à insulina, intolerância à glicose e alterações no metabolismo lipídico, o que contribui para hiperglicemia, dislipidemias, hipertensão e aterosclerose (BRUCE e HANSON, 2010).

Tabela 6. Análise morfológica do tecido hepático, do tecido adiposo epididimal e do tecido renal

	CN	CP	JB	JM	AJ
Fígado (g)	1,88 ± 0,24	1,81 ± 0,29 <sup>a,b</sup>	1,96 ± 0,22 <sup>a</sup>	1,62 ± 0,25 <sup>b</sup>	1,68 ± 0,29 <sup>a,b</sup>
Esteatose (%)	0 ± 0	1,04 ± 1,42 <sup>b</sup>	2,44 ± 3,14 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,18 <sup>b</sup>	0,60 ± 0,83 <sup>b</sup>
Nº de glomérulos	5,20 ± 1,80	5,35 ± 1,69	5,05 ± 1,15	5,70 ± 1,42	5,40 ± 1,19
Área dos glomérulos (µm <sup>2</sup> )	27424 ± 12183	24320 ± 7807 <sup>*,a</sup>	21675 ± 7668 <sup>b</sup>	19740 ± 6293 <sup>b</sup>	20874 ± 7703 <sup>b</sup>
TAE (g)	1,09 ± 0,33	2,27 ± 0,45 <sup>*</sup>	2,42 ± 0,49	1,79 ± 0,77	2,29 ± 0,60
Área dos adipócitos (µm <sup>2</sup> )	71220 ± 22804	148288 ± 85924 <sup>*,a</sup>	142059 ± 75869 <sup>a,c</sup>	122441 ± 72317 <sup>b,c</sup>	112161 ± 58516 <sup>b</sup>

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). TAE: Tecido adiposo epididimal; CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jabuticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jabolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. \* Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) para o número de glomérulos entre os grupos CN e CP, pelo teste t, bem como entre CP e grupos tratados com os frutos, pelo teste de Tukey.

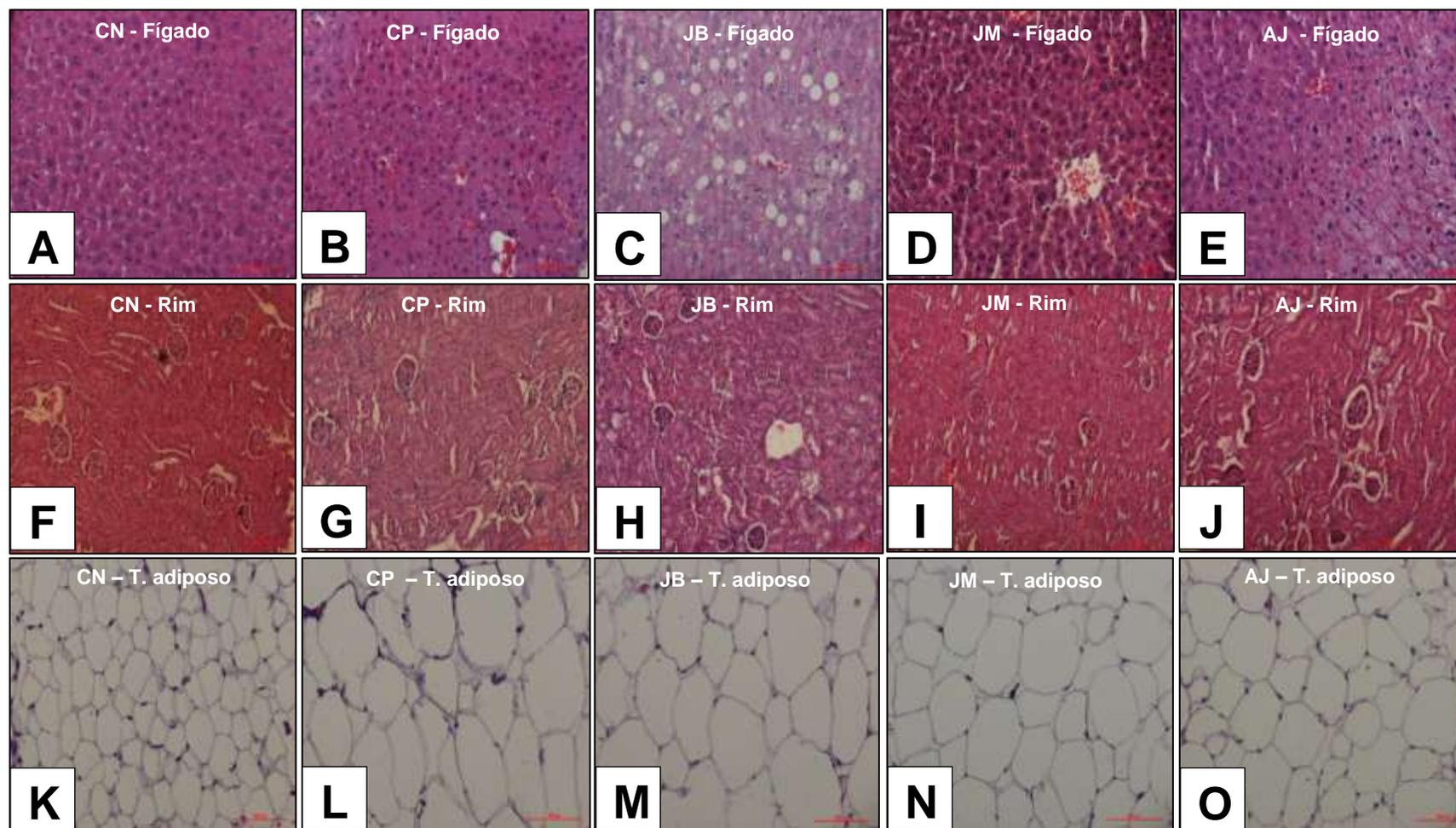


Figura 5. Fotomicrografias representativas dos tecidos hepático (A, B, C, D, E), renal (F, G, H, I, J) e adiposo epididimal (K, L, M, N, O) dos camundongos. JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açai juçara. Coloração com hematoxilina-eosina (HE), 20x. Resolução: 500 pixels.

Na Figura 6 são apresentados os resultados referentes à endotoxemia metabólica nos grupos experimentais. Observou-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CN e CP. O grupo CP, que recebeu dieta de cafeteria, apresentou aproximadamente 60% mais endotoxinas circulantes no soro do que o grupo que recebeu ração comercial. Os resultados obtidos corroboram com a literatura, visto que a endotoxemia metabólica se baseia na alteração da composição da microbiota intestinal, com aumento da translocação bacteriana, principalmente devido ao consumo de dietas hiperlipídicas (CANI et al., 2007a).

No entanto, não houve diferença estatística entre os grupos que receberam dieta de cafeteria acrescida dos frutos quando comparados ao grupo CP. Portanto, estes resultados sugerem que os frutos, nas concentrações utilizadas, não foram eficientes para reduzir a endotoxemia metabólica promovida pela dieta de cafeteria.

A microbiota intestinal de indivíduos obesos ou que consomem dietas com elevado teor de gordura, contém predominantemente bactérias gram-negativas ricas em LPS. Receptores *Toll-like* nas membranas celulares reconhecem LPS na circulação (endotoxemia) e ativam quinases específicas, que levam à resistência à insulina. Estas vias também ativam o NF- $\kappa$ B, que resulta na expressão de genes inflamatórios (ESTADELA et al., 2013). Portanto, a endotoxemia desempenha um importante papel na homeostase energética, por meio da modulação do balanço energético, do metabolismo da glicose e do estado inflamatório crônico associado com resistência à insulina induzida pela obesidade (CANI, 2013; ANHÊ et al., 2014).

No estudo de Cani et al. (2007a), a administração de uma dieta hiperlipídica a camundongos por um período de quatro semanas foi capaz de aumentar os níveis plasmáticos de LPS em até três vezes, o que provocou endotoxemia metabólica. Estes pesquisadores também induziram endotoxemia por meio de infusão subcutânea contínua de LPS em camundongos durante quatro semanas, e observaram hiperglicemia, insulinemia hepática e aumento do tecido adiposo em relação ao grupo controle.

No presente estudo, a alta concentração de endotoxinas encontrada no soro dos animais pode ter influenciado a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina, pois a jabuticaba e o jambolão não foram capazes de melhorar a RI e a

tolerância à glicose dos camundongos. Todavia, houve a exceção do grupo de animais suplementado com açaí juçara, o qual apresentou redução da intolerância à glicose segundo AUC (Figura 4C).

Além disso, sugere-se que a endotoxemia metabólica também está associada ao desenvolvimento de esteatose hepática (MACHADO e CORTEZ-PINTO, 2012). Analogamente, observou-se no presente estudo que os grupos experimentais que apresentaram elevada endotoxemia também exibiram maior percentual de esteatose.

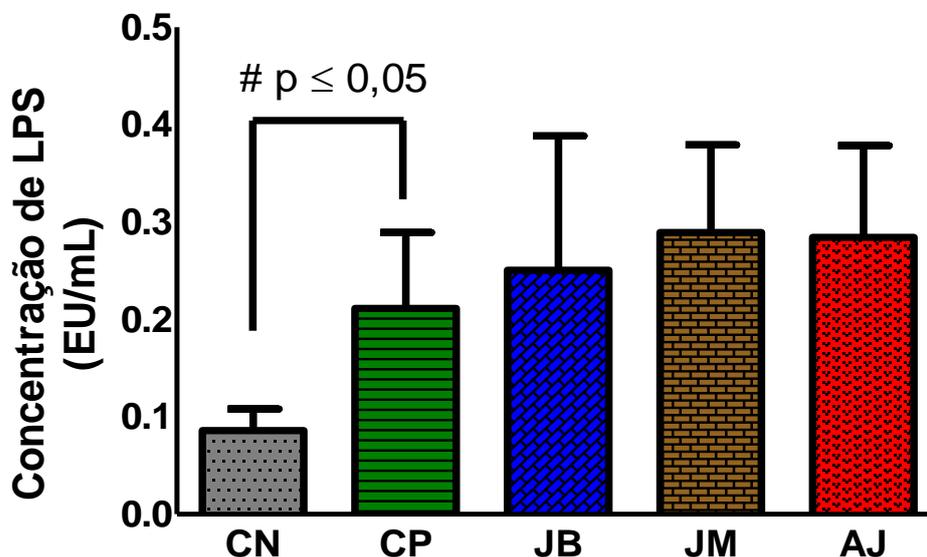


Figura 6. Concentração de endotoxina contida no soro dos camundongos. Dados expressos em média  $\pm$  DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com polpa de jambolão; AJ: dieta suplementada com polpa de açaí juçara. # Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

## 7 CONCLUSÃO

A suplementação com 2% da polpa liofilizada de jambolão à dieta de cafeteria resultou em redução significativa do conteúdo de colesterol total, LDL-c, triacilgliceróis, da razão CT/HDL, bem como diminuição da área dos adipócitos dos animais tratados. A suplementação com 2% da polpa de açaí juçara liofilizada foi capaz de atenuar de forma significativa o colesterol total, triacilgliceróis e a área dos adipócitos, além de elevar a tolerância à glicose. Entretanto, a adição desses frutos à dieta de cafeteria não promoveu redução do ganho de peso, melhora da resistência à insulina e redução da endotoxemia provocada pela dieta de cafeteria. Além disso, os frutos também não foram eficientes na preservação da histologia renal e infiltração lipídica no fígado.

A adição de 2% de casca de jabuticaba liofilizada mesmo tendo se destacado quanto à atividade antioxidante, não mostrou efeitos positivos sobre o perfil lipídico sanguíneo, infiltração lipídica no fígado, redução de peso e área dos adipócitos, preservação da histologia glomerular, bem como na redução do quadro de endotoxemia metabólica provocada pela dieta de cafeteria.

Sugere-se que a inclusão do jambolão e do açaí juçara na dieta pode apresentar efeitos positivos sobre os danos causados por dietas hiperlipídicas, especialmente no que se refere à dislipidemia, à tolerância à glicose e à hipertrofia de adipócitos. Além disso, o incentivo ao consumo desses frutos pode impulsionar a produção e lucratividade de produtores rurais da região Sudeste.

Destaca-se a importância de estudos com alimentos regionais de modo a incentivar o consumo, bem como a produção e a lucratividade de produtores rurais da região. Cabe salientar, que são encontrados poucos estudos na literatura científica a respeito do efeito da polpa do açaí juçara e do jambolão, assim como da casca de jabuticaba em modelos animais e humanos.

Ressalta-se, que o presente estudo foi pioneiro em verificar a relação da suplementação dos frutos com os níveis de endotoxinas sanguíneas. Portanto são necessários outros estudos para melhor investigação dos efeitos dos frutos sobre a translocação microbiana.

## 8 REFERÊNCIAS

ABEL, E.D.; PERONI, O.; KIM, J.K.; BOSS, O.; HADRO, E.; MINNEMANN, T.; SHULMAN, G.I.; KAHN, B.B. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. **Nature**, v.409, p.729–733, 2001.

ALEZANDRO, M.R., DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v.54, n.1, p. 468-477, 2013 a.

ALEZANDRO, M.R.; GRANATO, D.; GENOVESE, M.I. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food Research International**, v.54, n.1, p. 650-659, 2013 b.

ALZAID, F.; CHEUNG, H.; PREEDY, V.R.; SHARP, P.A. Regulation of glucose transporter expression in human intestinal caco-2 cells following exposure to an anthocyanin-rich berry extract. **Plos One**, v.8, n.11, p.1-6, 2013.

ANDERSEN, O. M.; JORDHEIM, M. **Anthocyanins**. In: Encyclopedia of life sciences; John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2010.

ANHÊ, F.F.; ROY, D.; PILON, G.; DUDONNÉ, S.; MATAMOROS, S.; VARIN, T.V.; GAROFALO, C.; MOINE, Q.; DESJARDINS, Y.; LEVY, E.; MARETTE, A. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gut microbiota of mice. **Gut Microbiota**, v.0, p.1–12. 2014.

AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 14th ed. Arlington, Virginia: 1984, 1141p.

ARAÚJO, C.R.R.; ESTEVES, E.A.; DESSIMONI-PINTO, N.A.V.; BATISTA, A.G. *Myrciaria cauliflora* peel flour had a hypolipidemic effect in rats fed a moderately high-fat diet. **Journal of Medicinal Food**, v.17, n.2, p.262-267, 2014.

ARUN, R.; PRAKASH, M.V.D.; ABRAHAM, S.K.; PREMKUMAR, K. Role of *Syzygium cumini* seed extract in the chemoprevention of *in vivo* genomic damage and oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, v.134, p.329–333, 2011.

ATALE, N.; CHAKRABORTY, M.; MOHANTY, S.; BHATTACHARYA, S.; NIGAM, D.; SHARMA, M; RANI, V. Cardioprotective role of *Syzygium cumini* against glucose induced oxidative stress in H9C2 cardiac myocytes. **Cardiovascular Toxicology**, v.13, p.278–289, 2013.

ATALE, N.; GUPTA, K.; RANI, V. Protective effect of *Syzygium cumini* against pesticide-induced cardiotoxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, v.21, p.7956-7972, 2014.

AYYANAR, M; SUBASH-BABU, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, n.3, p.240-246, 2012.

BAHADORAN, Z.; MIRMIRAN, P.; AZIZI, F. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, v.12, n.43, p. 1-9, 2013.

BALIGA, M.S.; BHAT, H.P.; BALIGA, B.R.V.; WILSON, R.; PALATY, P.L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): A review. **Food Research International**, v.44, p.1776–1789, 2011.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v.90, p.727-733, 2005.

BENHERLAL, P.S.; ARUMUGHAN, C. Chemical composition and *in vitro* antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.2560-2569, 2007.

BHATTACHARYYA, A.; CHATTOPADHYAY, R.; MITRA, S.; CROWE, S.E. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. **Physiological Reviews**, v.94, n.2, p.329-354, 2014.

BONORA, E.; MOGHETTI, P.; ZANCANARO, C.; CIGOLINI, M.; QUERENA, M.; CACCIATORI, V.; CORGNATI, A.; MUGGEO, M. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.68, p.374-8, 1989.

BORGES, G.S.C.; VIEIRA, F.G.K; COPETTI, C.; GONZAGA, L.V.; ZAMBIAZI, R.C.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128–2133, 2011.

BORGES, L.L.; CONCEIÇÃO, E.C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. **Food Chemistry**, n.153, p.224-233, 2014.

BRASIL. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil, 2011-2022. **Ministério da Saúde: secretaria de vigilância à saúde**, Brasília, 2011. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/cartilha\\_plano.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/cartilha_plano.pdf)>. Acesso em: 20 jul. 2013.

BRITO, E.S.; ARAÚJO, M.C.; ALVES, R.E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B.A.; NOVOTNY, J.A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.55, n.23, p.9389-94, 2007.

BRUCE, K.D.; HANSON, M.A. The developmental origins, mechanisms, and implications of metabolic syndrome. **Journal of Nutrition**, v. 140, p.648–652, 2010.

BULLON, P.; NEWMAN, H.N.; BATTINO, M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? **Periodontology 2000**, v. 64, p.139–153, 2014.

CAI, D.; YUAN, M.; FRANTZ, D.F.; MELENDEZ, P.A.; HANSEN, L.; LEE, J.; SHOELSON, S.E. Resistência à insulina local e sistêmica decorrente de ativação hepática de IKK- $\beta$  e NF-Kb. **Nature Medicine**, v.11, n.2, p.183-190, 2005.

CANI, P.D. Gut microbiota and obesity: lessons from the microbiome. **Briefings in Functional Genomics**, v.12, n.4, p.381-387, 2013.

CANI, P.D.; AMAR, J.; IGLESIAS, M.A.; POGGI, M.; KNAUF, C.; BASTELICA, D.; NEYRINCK, A.M.; FAVA, F.; TUOHY, K.M.; CHABO, C.; WAGET, A.; DELMÉE E.; COUSIN, B.; SULPICE, T.; CHAMONTIN, B.; FERRIÈRES, J.; TANTI, J.F.; GIBSON, G.R.; CASTEILLA, L.; DELZENNE, N.M.; ALESSI, M.C.; BURCELIN, R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. **Diabetes**, v.56, n.7, p.1761-1672, 2007a.

CANI, P.D.; BIBILONI, R.; KNAUF, C.; WAGET, A.; NEYRINCK, A.M.; DELZENNE, N.M.; BURCELIN, R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet–induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v.57, p.1470-1481, 2008.

CANI, P.D.; DELZENNE, N.M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. **Current Pharmaceutical Design**, v.15, n.13, p.1546-1558, 2009.

CANI, P.D.; DELZENNE, N.M. The gut microbiome as therapeutic target. **Pharmacology & Therapeutics**, v.130, p.202-212, 2011.

CANI, P.D.; KNAUF, C.; IGLESIAS, M.A.; DRUCKER, D.J.; DELZENNE, N.M.; BURCELIN, R. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. **Diabetes**, v.55, p.1484 –1490, 2006.

CANI, P.D.; NEYRINCK, A.M.; FAVA, F.; KNAUF, C.; BURCELIN, R.G.; TUOHY, K.M.; GIBSON, G.R.; DELZENNE, N.M. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v.50, p.2374 –2383, 2007b.

CANI, P.D.; POSSEMIERS, S.; WIELE, T.V.; GUIOT, Y.; EVERARD, U.; ROTTIER, O.; GEURTS, L.; NASLAIN, D.; NEYRINCK, U.; LAMBERT, D.M.; MUCCIOLI, G.G.; DELZENNE, N.M. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. **Gut**, v.58, p.1091-1103, 2009.

CAO, G.; BOOTH, S.L.; SADOWSKI, J.A.; PRIOR, R.L. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, n.5, p.1081-1087, 1998.

CARICILLI, A.M.; SAAD, M.J.A. Gut microbiota composition and its effects on obesity and insulin resistance. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v.17, n.4, p.312-318, 2014.

CARICILLI, A.M.; SAAD, M.J.A. The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance. **Nutrients**, v.5, p.829-851, 2013.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M.L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, v.113, p.859-871, 2009.

CASTRO, C.A. **Lesão aterosclerótica, capacidade antioxidante e histopatologia de camundongos ApoE -/- alimentados com açaí (*Euterpe edulis Martius*) e submetidos ao treinamento físico**. Tese (Mestrado em Educação Física) – Universidade Federal de Viçosa, 2011. Disponível em: <<http://www.ppgefi.ufv.br/docs/13.pdf>>. Acesso em: 19 nov.2013.

CASTRO, C.A.; NATALI, A.J.; CARDOSO, L.M.; FERREIRA-MACHADO, A.B.; NOVELLO, A.A.; SILVA, K.A.; TAFURI, N.F.; MATTA, S.L.P.; PEDROSA, L.M.; PELUZIO, M.C.G. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açaí(*Euterpe edulis Martius*) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **British Journal of Nutrition**, v.112, p.285–294, 2014.

CASTRO, R.W. **Caracterização de açaí obtido de frutos de *Euterpe edulis Martius* tratados termicamente**. Monografia (Trabalho de conclusão de curso – Curso de Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/79204/Rodrigo%20Weigand%20de%20Castro.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 11 nov.2013.

CHANG, S.; LI, L. Metabolic endotoxemia: a novel concept in chronic disease pathology. **Journal of Medical Science**, v.31, n.5, p.191-209, 2011.

CHANG, Y.C.; HUANG, K.X.; HUANG, A.C.; HO, Y.C.; WANG, C.J. Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and ox LDL-mediated 46 macrophages apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p.1015–1023, 2006.

CHIN, S.H.; ITEM, F.; WUEEST, S.; ZHOU, Z.; WIEDEMANN, M.S.; GAI, Z.; SCHOENLE, E.J.; KULLAK-UBLICK, G.A.; AL-HASANI, H.; KONRAD, D. Opposing effects of reduced kidney mass on liver and skeletal muscle insulin sensitivity in obese mice. **Diabetes**, p.1-44, 2014.

CINTRA, D.E.; COSTA, A.V.; PELUZIO, M.D.O.C; MATTA, S.L.; SILVA, M.T.; COSTA, N.M. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. **Nutrition**, v.22, n.2, p.197-205, 2006.

CINTRA, D.E.; ROPELLE, E.R.; MORAES, J.C.; PAULI, J.R.; MORARI, J., SOUZA, C.T.; GRIMALDI, R.; STAHL, M.; CARVALHEIRA, J.B.; SAAD, M.J.; VELLOSO, L.A. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. **PlosOne**, v.7, n.1, e30571, 2012.

CINTRA, D.E.C.; ROPELLE, E.R.; PAULI, J.R. **Obesidade e diabetes: fisiopatologia e sinalização celular**. São Paulo: SARVIER, 2011.

CLEMENTE-POSTIGO, M.; QUEIPO-ORTUÑO, M.I.; BOTO-ORDOÑEZ, M.; COIN-ARAGÜEZ, L.; ROCA-RODRIGUEZ, M.M.; DELGADO-LISTA, J.; CARDONA, F.; ANDRES-LACUEVA, C.; TINAHONES, F.J. Effect of acute and chronic red wine consumption on lipopolysaccharide concentrations. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.97, p.1053-1061, 2013.

CODOÑER-FRANCH, P.; ALONSO-IGLESIAS, E. Resistin: Insulin resistance to malignancy. **Clinica Chimica Acta**, v.438, p.46-54, 2015.

COSTA, A.G.V.; GARCIA-DIAZ, D.F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P.I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, v.5, n.2, p.539-549, 2013.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª ed., Porto Alegre. Artmed, 2010, 900p.

DASU, M.R.; JIALAL, I. Free fatty acids in the presence of high glucose amplify monocyte inflammation via Toll-like receptors. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v.300, n.1, p.145–154, 2011.

DAUCHET, L.; AMOUYEL, P.; DALLONGEVILLE, J. Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. **Neurology**, v.65, p.1193-7, 2005.

DE BONA, K.S.; BELLÉ, L.P.; BITTENCOURT, P.E.; BONFANTI, G.; CARGNELUTI, L.O.; PIMENTEL, V.C.; RUVIARO, A.R.; SCHETINGER, M.R.; EMANUELLI, T.; MORETTO, M.B. Erythrocytic enzymes and antioxidant status in people with type 2 diabetes: Beneficial effect of *Syzygium cumini* leaf extract in vitro. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v.94, n.1, p.84-90, 2011.

DE BONA, K.S.; BONFANTI, G.; BITENCOURT, P.E.R.; CARGNELUTTI, L.O.; SILVA, P.S.; ZANETTE, R.A.; PIGATTO, A.S.; MORETTO, M.B. *Syzygium cumini* is more effective in preventing the increase of erythrocytic ADA activity than phenolic compounds under hyperglycemic conditions in vitro. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v.70, p.321–330, 2014.

DE SOUZA, C.T.; ARAUJO, E.P.; STOPPIGLIA, L.F.; PAULI, J.R.; ROPELLE, E.; ROCCO, S.A.; MARIN, R.M.; FRANCHINI, K.G.; CARVALHEIRA, J.B.; SAAD, M.J.; BOSCHERO, A.C.; CARNEIRO, E.M.; VELLOSO, L.A. Inhibition of UCP2 expression reverses diet-induced diabetes mellitus by effects on both insulin secretion and action. **The FASEB Journal**, v.21, n.4, p.1153–1163, 2007.

DECLÈVES, A.; SHARMA, K. Obesity and kidney disease: differential effects of obesity on adipose tissue and kidney inflammation and fibrosis. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v.1, n.24, p.28-36, 2015.

DEFRONZO, R.A.; ALVESTRAND, A.; SMITH, D.; HENDLER, R.; HENDLER, E.; WAHREN, J. Insulin resistance in uremia. **The Journal of Clinical Investigation**, v.67, p.563-568, 1981.

DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; CINTRA, D.E.C.; SOLON, C.; MORANI, J.; LEITE-LEGATTI, A.V.; VELLOSO, L.A.; MARÓSTICA-JÚNIOR, M.R. Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. **British Journal of Nutrition**, v.110, p.447-455, 2013.

DURAZZO, A.; TURFANI, V.; AZZINI, E.; MAIANI, G.; CARCEA, M. Antioxidant properties of experimental wholegrain pastas made with different cereals. **Journal of Food Research**, v.3, n.4, p.33-40, 2014.

EL-ASSAAD, W.; EL-KOUHEN, K.; MOHAMMAD, A.H.; YANG, J.; MORITA, M.; GAMACHE, I.; MAMER, O.; AVIZONIS, D.; HERMANCE, N.; KERSTEN, S.; TREMBLAY, M.L.; KELLIHER, M.A.; TEODORO, J.G. Deletion of the gene encoding G0/G1 switch protein 2 (*G0s2*) alleviates high-fat-diet-induced weight gain and insulin resistance, and promotes browning of white adipose tissue in mice. **Diabetologia**, v.58, p.149-157, 2015.

EL-JAMAL, N.; ERDUAL, E.; NEUNLIST, M.; KORICHE, D.; DUBUQUOY, C.; MAGGIOTTO, F.; CHEVALIER, J.; BERREBI, D.; DUBUQUOY, L.; BOULANGER, E.; CORTOT, A.; DESREUMAUX, P. Glugacon-like peptide-2: broad receptor expression, limited therapeutic effect on intestinal inflammation and novel role in liver regeneration. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.307, n.3, p.274-285, 2014.

ERRIDGE, C. The capacity of food stuffs to induce innate immune activation of human monocytes in vitro is dependent on food content of stimulants of Toll-like receptors 2 and 4. **British Journal of Nutrition**, v.105, p.15–23, 2011.

ESTADELA, D.; NASCIMENTO, C.M.P.O.; OYAMA, L.M.; RIBEIRO, E.B.; DÂMASO, A.R.; PIANO, A. Lipotoxicity: effects of dietary saturated and transfatty acids. **Mediators of Inflammation**, v.2013, p.1-13, 2013.

EVERARD, A.; BELZER, C.; GEURTS, L.; OUWERKERK, J.P.; DRUART, C.; BINDELS, L.B.; GUIOT, Y.; DERRIENB, M.; MUCCIOLI, G.G.; DELZENNE, N.M.; W.M. VOS; CANI, P.D. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.110, n.22, p. 9066–9071, 2013.

FARESE, R.V.; LEE, M.C.; SAJAN, M.P. Hepatic atypical protein kinase c: an inherited survival-longevity gene that now fuels insulin-resistant syndromes of obesity, the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. **Journal of Clinical Medicine**, v.3, p.724-740, 2014.

FARIA, A.F., MARQUES, M.C.; MERCADANTE, A.Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v.126, n.4, p.1571-1578, 2011.

FATANI, S.; ABUBAKARI, A.R.; ITUA, I.; WONG, C.; THOMAS, C.; NADERALI, E.K. Effects of diet-induced obesity on protein expression in insulin signaling pathways of skeletal muscle in male Wistar rats. **International Journal of General Medicine**, v.5, p.573-582, 2012.

FRANCIS, F.J. **Analysis of anthocyanins in foods**. In: MARKAKIS, P., Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press, p. 181-207, 1982.

GARCIA-ALONSO, M.; MINIHANE, A.M.; RIMBACH, G.; RIVAS-GONZALO, J.C.; TEREZA, S. P. Red wine anthocyanins are rapidly absorbed in humans and affect monocyte chemoattractant protein 1 levels and antioxidant capacity of plasma. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, n. 7, p. 521-529, 2008.

GARCIA-CABALLERO, M.; TINAHONES, F.J.; COHEN, R.V. **Diabetes surgery**. Spain: McGraw-Hill; 2010. p. 140–9.

GARCIA-CABALLERO, M.; VALLE, M.; MARTÍNEZ-MORENO, J.M.; MIRALLES, F.; TOVAL, J. A.; MATA, J. M.; OSORIO, D.; MÍNGUEZ, A. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome in normal weight 24-29 BMI patients with one anastomosis gastric bypass. **Nutrición Hospitalaria**, v.27, n.2, p.623-631, 2012.

GARCIA-DIAZ, D.F.; JOHNSON, M.H.; MEJIA, E.G. Anthocyanins from fermented berry beverages inhibit inflammation-related adiposity response in vitro. **Journal of Medicinal Food**, v.0, n.0, p. 1–8, 2014.

GAUR, A.; PAL, G.K.; ANANTHANARAYANAN, P.H.; PAL, P. Role of Ventromedial hypothalamus in high fat diet induced obesity in male rats: association with lipid profile, thyroid profile and insulin resistance. **Annals of Neurosciences**, v.21, n.3, p.104-107, 2014.

GERHAUSER, C. Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. **Planta Medica**, v. 74, p. 1608-1624, 2008.

HARASYM, J.; OLEDZKI, R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. **Nutrition**, v.30, p.511-517, 2014.

HARBORNE, J. B. **Methods in plant biochemistry. I: plant phenolics**. London: Academic Press, 1989.

HARBORNE, J.B.; SAITO, N.; DETONI, C.H. Anthocyanins of *Cephaelis*, *Cynomorium*, *Euterpe*, *Lavatera* and *Pinanga*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.22, p. 835–836, 1994.

HIGA, T.S.; SPINOLA, A.V.; FONSECA-ALANIZ, M.H; EVANGELISTA, F.S. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. **Life Sciences**, v.103, p.41-48, 2014.

HOEPERS, A.T.C.; FRÖDE, T.S.; PIZZICHINI, M.M.M. A systematic review of anaemia and inflammatory markers in chronic obstructive pulmonary disease. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2015.

HORBOWICZ, M.; KOSSON, R.; GRZESIUK, A.; DEBSKI, H. Anthocyanins of fruits and vegetables - their occurrence, analysis and role in human nutrition. **Vegetable Crops Research Bulletin**, v.68, p.5-22, 2008.

HRIBAR, U.; ULRIH, N.P. The metabolism of anthocyanins. **Current Drug Metabolism**, v.15, p.3-13, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. **Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2010.

International Diabetes Federation (IDF). **IDF Diabetes Atlas**, 6<sup>a</sup> ed. Bruxelas, Belgica: International Diabetes Federation, 2013. Disponível em <<http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 1018 p.

JENNINGS, A.; WELCH, A.A.; SPECTOR, T.; MACGREGOR, A.; CASSIDY, A. Intakes of anthocyanins and flavones are associated with biomarkers of insulin resistance and inflammation in women. **The Journal of Nutrition**, v.144, p.202-208, 2014.

KANG, J.; XIE, C.; LI, Z.; NAGARAJAN, S.; SCHAUSS, A.G.; WU, T.; WU, X. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.128, n.1, p.152-157, 2011.

KENNEDY, A.; MARTINEZ, K.; CHUANG, C.C.; LAPOINT, K.; MCINTOSH, M. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. **Journal of Nutrition**, vol. 139, n. 1, p. 1–4, 2009.

KNIGHT, S.F.; QUIGLEY, J.E.; YUAN, J.; ROY, S.S.; ELMARAKBY, A.; IMIG, J.D. Endothelial dysfunction and the development of renal injury in spontaneously hypertensive rats fed a high-fat diet. **Hypertension**, v.51, p.352-359, 2008.

KRETSCHMER, B.D.; SCHELLING, P.; BEIER, N.; LIEBSCHER, C.; TREUTEL, S.; KRQGER, N.; SCHOLZ, H.; HAUS, A. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Sciences**, n.76, v.14, p.1553-1573, 2005.

LAGE, F.F.; SIMÃO, A.A.; GUEDES, M.N.S.; RAMOS, V.O.; SOUZA, R.V.; CORRÊA, A.D. Jaboticaba [*Pliniajaboticaba* (Vell.) Berg] skins decrease lipid peroxidation: Hepatoprotective and antihyperlipidemic effects. **African Journal of Biotechnology**, v.13, n.11, p.1295-1302, 2014.

LAMBETH, J.D.; NEISH, A.S. Nox enzymes and new thinking on reactive oxygen: a double-edged sword revisited. **Annual Reviews of Pathology: Mechanisms of Disease**, v.9, p.119-145, 2014.

LEITE, A.V.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G.M.; MAROSTICA, M.R. Antioxidant Potential of Rat Plasma by Administration of Freeze-Dried Jaboticaba Peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.59, p. 2277-83, 2011.

LEITE-LEGATTI, A.V., BATISTA, A.G.; DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; MACHADO, A.R.T.; CARVALHO-SILVA, L.B.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v.49, n.1, p.596-603, 2012.

LENQUISTE, S.A.; BATISTA, A.G.; MARINELI, R.S.; DRAGANO, N.R.V.; MARÓSTICA JR, M.R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, p.153-160, 2012.

LEOPOLDINI, M.; MARINO, T.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. Antioxidant properties of phenolic compounds: h-atom versus electron transfer mechanism. **The Journal of Physical Chemistry A**, v.108, p.4916-4922, 2004.

LESTÁRIO, L.N. The potential of java plum (*Syzygium cumini*) as source of food natural antioxidant. **Indonesian Food and Nutrition Progress**, v.10, n.1, 2003.

LIM, D.; LEVESQUE, C.; WALES, P.; VINE, D.; BORTHWICK, F.; NATION, P.; WIZZARD, P.; JOSEPHSON, J.; SIGALET, D.; BIGAM, D.; LI, J.; TURNER, J. Alterations in intestinal morphology, histology and permeability with exogenous glucagon-like peptide 2 and epidermal growth factor treatment promote intestinal adaptation in neonatal intestinal failure. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v.28, n.1, 2014.

LIMA, C.P. **Estudo fitoquímico, bromatológico e das propriedades biológicas de frutos de *Euterpe edulis* Martius (Arecaceae)**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2012. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/29278/R%20-%20T%20-%20CRISTINA%20PEITZ%20DE%20LIMA.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 17 nov. 2013.

LÓPES-ALARCON, C.; ARENAS, A.; LISSI, E.; SILVA, E. The role of protein-derived free radicals as intermediaries of oxidative processes. **Biomolecular Concepts**, v.5, n.2, p.119-130, 2014.

LORENZI, H. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LOTITO, S. B.; FREI, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? **Free Radical Biology & Medicine**, v.41, p.1727-1746, 2006.

MACHADO, M.V.; CORTEZ-PINTO, H. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease. **Annals of Hepatology**, v. 11, n. 4, p.440–449, 2012.

MACEDO, I.C.; MEDEIROS, L.F.; OLIVEIRA, C.; OLIVEIRA, C.M.; ROZISKY, J.R.; SCARABELOT, V.L.; SOUZA, A.; SILVA, F.R.; SANTOS, V.S.; CIOATO, S.G.; CAUMO, W.; TORRES, I.L.S. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, v.38, n.1, p.189-196, 2012.

MCGARRY, J.D. Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. **Diabetes**, v.51, p.7-18, 2002.

MIGLIO, C.; PELUSO, I.; RAGUZZINI, A.; VILLAÑO, D.V.; CESQUI, E. Fruit juice drinks prevent endogenous antioxidant response to high-fat meal ingestion. **British Journal of Nutrition**, v.111, p.294–300, 2014.

MILAGRO, F.I.; CAMPIÓN, J.; MARTINEZ, J.A. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. **Obesity**, v. 14, n. 7, p. 1118-23, 2006.

MIRMIRAN, P.; NOORI, N.; ZAVAREH, M. B.; AZIZI, F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. **Metabolism**, v. 58, p.460-8, 2009.

MISRA, A.; VIKRAM, N.K.; ARYA, S.; PANDEY, R.M.; DHINGRA, V.; CHATTERJEE, A.; DWIVEDI, M.; SHARMA, R.; LUTHRA, K.; GULERIA, R.; TALWAR, K.K. High prevalence of insulin resistance in postpubertal Asian Indian children is associated with adverse truncal body fat patterning, abdominal adiposity and excess body fat. **International Journal of Obesity**, n.28, p.1217-1226, 2004.

MITRA, J.; GUERRERO, E.N.; HEGDE, P.M.; WANG, H.; BOLDOGH, I.; RAO, K.S.; MITRA, S.; HEGDE, M.L. New perspectives on oxidized genome damage and repair inhibition by pro-oxidant metals in neurological diseases. **Biomolecules**, v.4, p.678-703, 2014.

MIZGIER, M.L.; CASAS, M.; CONTRERAS-FERRAT, A.; LLANOS, P.; GALGANI, J.E. Potential role of skeletal muscle glucose metabolism on the regulation of insulin secretion. **Obesity Reviews**, v.15, n.7, p.587-597, 2014.

MOHAMED, A.A.; ALI, S.I.; EL-BAZ, F.K. antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. **PlosOne**, v.8, n.4, e60269, 2013.

MORAIS, C.A.; OYAMA, L.M.; OLIVEIRA, J.L.; GARCIA, M.C.; ROSSO, V.V.; AMIGO, L.S.M.; NASCIMENTO, C.M.O.; PISANI, L.P. Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) supplementation during pregnancy and lactation modulates the gene and protein expression of inflammation biomarkers induced by trans-fatty acids in the colon of offspring. **Mediators of Inflammation**, v.2014, p.1-11, 2014.

MOREIRA, A.P.B; ALFENAS, R.C.G. The influence of endotoxemia on the molecular mechanisms of insulin resistance. **Nutrición Hospitalaria**, v.27, n.2, p.382-390, 2012.

MUSSO, G.; GAMBINO, R.; CASSADER, M. Obesity diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded? **Diabetes Care**, v.33, n.10, p.2277-2284, 2010.

NEAL, M.D.; LEAPHART, C.; LEVY, R.; PRINCE, J.; BILLIAR, T.R.; WATKINS, S.; LI, J.; CETIN, S.; FORD, H.; SCHREIBER, A.; HACKAM, D.J. Enterocyte TLR4 mediates phagocytosis and translocation of bacteria across the intestinal barrier. **The Journal of Immunology**, v.176, p.3070–3079, 2006.

NORATTO, G.D.; ANGEL-MORALES, G.; TALCOTT, S.T.; MERTENS-TALCOTT, S.U. Polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular Endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.59, n.14, p.7999-8012, 2011.

NOVELLO, AA. Extração de antocianinas dos frutos do açai da Mata Atlântica (*Euterpe edulis* Martius) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE <sup>-/-</sup>. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG. 80f, 2011.

OGAWA, S.; MATSUMA, T.; KATAOKA, T.; YAZAKI, Y.; YAMAGUCHI, H. Effect of acacia polyphenol on glucose homeostasis in subjects with impaired glucose tolerance: A randomized multicenter feeding trial. **Experimental and therapeutic medicine**, v.5, p.1566-1572, 2013.

OLIVEIRA, P.R.B; COSTA, C.A.; BEM, G.F.; MARINS-DE-CARVALHO, L.C.R;

SOUZA, M.A.V.; LEMOS-NETO, M.; CUNHA-SOUZA, J.P.; MOURA, R.S.; RESENDE, A.C. Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.56, n.6, p.619-626, 2010.

PANDEY, K.B.; RIZVY, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2, n.5, p.270-278, 2009.

PATEL, D.K.; PRASAD, S.K.; KUMAR, R.; HEMALATHA, S. An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, n.4, p.320-330, 2012.

PEPATO, M.T.; MORI, D.M.; BAVIERA, A.M.; HARAMI, J.B.; VENDRAMINI, R.C.; BRUNETTI, I.L. Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, n.96, p.43-48, 2005.

PEREIRA, R.J. Composição centesimal, aspectos fitoquímicos, atividades antioxidante, hipoglicemiante e anti-hiperlipidêmica de frutos do gênero *Syzygium*. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, 2011. Disponível em: <[http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3341/1/TESE\\_Composi%C3%A7%C3%A3o%20centesimal%2c%20aspectos%20fitoqu%C3%ADmicos%2c%20atividades%20antioxidante%2c%20hipoglicemiante%20e%20anti-hiperlipid%C3%AAmica%20de%20frutos%20do%20g%C3%AAnero%20Syzygium.pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3341/1/TESE_Composi%C3%A7%C3%A3o%20centesimal%2c%20aspectos%20fitoqu%C3%ADmicos%2c%20atividades%20antioxidante%2c%20hipoglicemiante%20e%20anti-hiperlipid%C3%AAmica%20de%20frutos%20do%20g%C3%AAnero%20Syzygium.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2014.

PINHEIRO, C.J.G.; MENESES, A.A.M.; BRAZ, D.; OLIVEIRA, L.F.; BARROSO, R.C.R. Proposal of an algorithm for analysis of bone demineralization using synchrotron radiation X-raymCT images. **Radiation Physics and Chemistry**, v.95, p.258-260, 2014.

PRADHAN, A.D.; MANSON, J.E.; RIFAI, N.; BURING, J.E.; RIDKER, P.M. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. **The Journal of the American Medical Association**, v.286, n.3, p.327-334, 2001.

QATANANI, M.; LAZAR, M.A. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes & Development**, v.21, p.1443-1455, 2007.

QUEIPO-ORTUNÕ, M.I.; BOTO-ORDÕÑEZ, M.; MURRI, M.; GOMEZ ZUMAQUERO, J. M.; CLEMENTE-POSTIGO, M.; ESTRUCH, R.; DIAZ, F.C.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; TINAHONES, F. J. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.95, p.1323-1334, 2012.

RASBAND, W.S. **National Institutes of Health**, Bethesda, Maryland, USA. Disponível em: <<http://imagej.nih.gov/ij/>>, Acesso em: 14 jun. 2014.

RAVI, K.; RAJASEKARAN, S.; SUBRAMANIAN, S. Anti-hyperlipidemic effect of *Eugenia jambolanaseed* kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.43, p.1433–1439, 2005.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**. v.26, p.1231-37, 1999.

REIN, P.; SAEELY, C.H.; MUENDLEIN, A.; VONBANKA, A.; DREXEL, H. Serial decline of kidney function as a novel biomarker for the progression of atherothrombotic disease. **Atherosclerosis**, v.211, p.348–352, 2010.

REIS, M.S.; FANTINI, A.C.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P.; MANTOVANI, A. Management and conservation of natural populations in atlantic rain forest: the case study of palm heart (*Euterpe edulis* Martius). **Biotropica**, v.32, n.4b, p.894–902, 2000.

REIS, T. **Açaí faz uma vítima de Chagas a cada quatro dias na Amazônia**. Folha de São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/cotidiano/ult95u321060.shtml>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

REITZ, R. **Palmeiras**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues. 1974.189p.

REYNERTSON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 109:883-90, 2008.

RIBEIRO, T.G.; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M.A.; VALADARES, D.G.; FRANCA, J.R.; LAGE, P.S.; DUARTEB, M.C.; ANDRADE, P.H.R.; MARTINS, V.T.; COSTA, L.E.; ARRUDA, A.L.A.; FARACO, A.A.G.; COELHO, E.A.F.; CASTILHO, R.O. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v.143, p.60–68, 2014.

RICHARDSON, V.R.; SMITH, K.A.; CARTER, A.M. Adipose tissue inflammation: Feeding the development of type 2 diabetes mellitus. **Immunobiology**, v.218, p.1497-1504, 2013.

RIVELLESE, A.A.; LILLI, S. Quality of dietary fatty acids, insulin sensitivity and type 2 diabetes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.57, p.84–87, 2003.

ROOPCHAND, D.E.; KUHN, P.; ROJO, L.E.; LILA, M.A.; RASKIN, I. Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduces hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice. **Pharmacological Research**, v.68, p.59-67, 2013.

ROSS, J.A.; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Reviews Nutrition**, v.22, p.19-34, 2002.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; DE BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, n.4, p.996-1002, 2010.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; FERNANDES, F.A.N.; BRITO, E.S. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, v.44, n.7, p.2072-2075, 2011.

SABITHA, K.; VENUGOPAL, B.; RAFI, Md.; RAMANA, K.V. Role of antioxidant enzymes in glucose and lipid metabolism in association with obesity and type 2 diabetes. **American Journal of Medical Sciences and Medicine**, v.2, n.1, p.21-24, 2014.

SAMUEL, V.T.; SHULMAN, G.I. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. **Cell**, v.148, p.852–871, 2012.

SANTAGUIDA, P.L.; BALION, C.; HUNT, D. Diagnosis, prognosis, and treatment of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. **Evidence Report Technology Assessment**, v.12, p.1–11, 2008.

SANTOS, D.T.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Extraction of antioxidant compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v.101, p.23–31, 2010.

SARAVANAN, G.; PARI, L. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Syzygium cumini* bark in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.3, n.1, p.1-10, 2008.

SCHENK, S.; SABERI, M.; OLEFSKY, J.M. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. **The Journal of Clinical Investigation**, v.118, n.9, p.2992-3002, 2008.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açais de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para sua conservação.** Monografia (Trabalho de conclusão de curso – Curso de Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, 2008. Disponível em: <<http://www.tcc.cca.ufsc.br/agronomia/ragr046.pdf>>. Acesso em: 12 nov.2013.

SEVERO, J.; DOS SANTOS, R.S.; CASARIL, J.; TIECHER, A.; SILVA, J.A.; ROMBALDI, C.V. Destanização e conservação de frutos de jambolão. **Ciência Rural**. v.40, n.4, p.976-982, 2011.

SHAFI, P.M.; ROSAMMA, M.K.; JAMIL, K.; REDDY, P.S. Antibacterial activity of *Syzygium cumini* and *Syzygium travancoricum* leaf essential oils. **Fitoterapia**, n.73, p.414-416, 2002.

SHARMA, B.; SIDDIQUI, M.S.; KUMAR, S.S.; RAM, G.; CHAUDHARY, M. Liver protective effects of aqueous extract of *Syzygium cumini* in swiss albino mice on

alloxan induced diabetes mellitus. **Journal of Pharmacy Research**, v.6, p.853-858, 2013.

SHEHAB-ELDIN, W.; ZAKI, A.; GAZAREEN, S.; SHOKER, A. Susceptibility to hyperglycemia in patients with chronic kidney disease. **American Journal of Nephrology**, v.29, p.406-413, 2009.

SHI, H.; KOKOEVA, M.V.; INOUE, K.; TZAMELI, I.; YIN, H.; FLIER, J.S. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v.116, p.3015–3025, 2006.

SHOELSON, S.E.; LEE, J.; YUAN, M. Inflammation and the IKKbeta/ IkappaB/ NF-kappa B axis in obesity - and diet-induced insulin resistance. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v.27, p.49-52, 2003.

SILVA, M.C.; SOUZA, V.B.; THOMAZINI, M.; SILVA, E.R.; SMANIOTTO, T.; CARVALHO, R.A.; GENOVESE, M.I.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Use of the jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **LWT - Food Science and Technology**, v.55, n.1, p.203-209, 2014.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014**. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014.

Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). **Manual de Nutrição: profissional da saúde**. Departamento de Nutrição e Metabologia da SBD. São Paulo, 2009. 55p.

SPRANGER, J.; KROKE, A.; MÖHLIG, M.; HOFFMANN, K.; BERGMANN, M.M.; RISTOW, M.; BOEING, H.; PFEIFFER, A.F. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European prospective investigation into cancer and nutrition (epic)-potdam study. **Diabetes**, V.52, N.3, P.812–817, 2003.

SRIVASTAVA, H.C. Cromatografia em papel de sucos de frutas. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v.12B, p.363-365, 1953.

SRIVASTAVA, S.; CHANDRA, D. Pharmacological potentials of *Syzygium cumini*: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, n.9, p.2084-2093, 2013.

STYSKAL, J.; REMMEN, H. V.; RICHARDSON, A.; SALMON, A. B. Oxidative stress and diabetes: What can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? **Free Radical Biology & Medicine**, v.52, p.46-58, 2012.

TEIXEIRA, C.C.; FUCHS, F.D.; WEINERT, L.S.; ESTEVES, J. The efficacy of folk medicines in the management of type 2 diabetes mellitus: results of a

randomized controlled trial of *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v.31, n.1, p.1-5, 2006.

TEIXEIRA, C.C.; PINTO, L.P.; KESSLER, F.H.P.; KNIJNIK, L.; PINTO, C.P.; GASTALDO, G.J.; FUCHS, F.D. The effect of *Syzygium cumini* (L.) skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**, v.56, p.209–213, 1997.

TEIXEIRA, C.C.; RAVA, C.A.; DA SILVA, P.M.; MELCHIOR, R.; ARGENTA, R.; ANSEMI, F.; ALMEIDA, C.R.C.; FUCHS, F.D. Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.343–347, 2000.

UDANI, J.K.; SINGH, B.B.; SINGH, V.J.; BARRETT, M.L. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. **Nutrition Journal**, v.10, n.45, 2011.

USERPATER, M.; INSERRAL, F. Pérdida de proteínas urinarias como marcador de daño renal no glomerular y de riesgo cardiovascular. **Revista de Nefrología, Diálisis y Transplante**, v. 24, n.2, p. 81–86, 2004.

VEIGAS, J.M.; NARAYAN, M.S.; LAXMAN, P.M.; NEELWARNE, B. Estabilidade química natureza e bioeficacias de antocianinas de cascas de frutas de Jambolão Skeels. **Food Chemistry**, v.105, p.619-627, 2007.

VENKATESWARLU, G. Sobre a natureza da matéria corante da fruta jambul (*Eugenia jambolana*). **Journal Indian Chemical Society**, v.29, p.434-437, 1952.

WAJCHENBERG, B.L.; COHEN, R.V. Adipose tissue and type 2 diabetes mellitus. **Nutrition and Health**, cap. 16, p. 235-248, 2014.

WIEDERMANN, C.I.; KIECHL, S.; DUNZENDORFER, S.; SCHRATZBERGER, P.; EGGER, G.; OBERHOLLENZER, F.; WILLEIT, J. Association of endotoxemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease: prospective results from the Bruneck Study. **Journal of the American College of Cardiology**, v.34, n.7, p.1975– 1981, 1999.

XIA, M.; LING, W.; ZHU, H.; MA, J.; WANG, Q.; HOU, M.; TANG, T.; GUO, H.; LIU, C.; YE, Q. Anthocyanin attenuates CD40-mediated endothelial cell activation and apoptosis by inhibiting CD40-induced MAPK activation. **Atherosclerosis**, v.202, p.41–47, 2009.

ZHANG, L. L.; LIN, Y. M. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. **African Journal of Biotechnology**, v.8, p.2301–2309, 2009.

ZHANG, C. X.; HO, S. C.; CHEN, Y. M.; FU, J. H.; CHENG, S. Z.; LIN, F. Y. Greater vegetable and fruit intake is associated with a lower risk of breast cancer among Chinese women. **International Journal of Cancer**, v.125, p.181-8, 2009.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº. 016/2013, relativo ao projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação do potencial anti-inflamatório, antioxidante e antiaterogênico dos frutos da jaboricaba (Myrciaria cauliflora), da palmeira jussara (Euterpe edulis Martius) e do jambolão (Syzygium cumini) em modelos animais.**", que tem como responsável o (a) docente **André Gustavo Vasconcelos Costa**, está de acordo com os princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFES), tendo sido aprovado na reunião ordinária de 17/05/13.



Presidente  
Comitê de Ética no Uso de Animais  
CEUA/UFES

Vitória (ES), 20 de maio de 2013.