



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

**ROBERTA DE OLIVEIRA BERNARDES**

**AVALIAÇÃO DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) SOBRE OS BIOMARCADORES  
CARDIOVASCULARES E A MORFOLOGIA DOS TECIDOS HEPÁTICO E  
ADIPOSO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UMA DIETA HIPERLIPÍDICA**

ALEGRE - ES  
FEVEREIRO - 2017

ROBERTA DE OLIVEIRA BERNARDES

**AVALIAÇÃO DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) SOBRE OS BIOMARCADORES  
CARDIOVASCULARES E A MORFOLOGIA DOS TECIDOS HEPÁTICO E  
ADIPOSO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UMA DIETA HIPERLIPÍDICA**

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

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa  
Co-orientadora: Maria das Graças Vaz Tostes

ALEGRE - ES  
FEVEREIRO – 2017

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

---

B522a Bernardes, Roberta de Oliveira, 1991-  
Avaliação do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre os biomarcadores cardiovasculares e a morfologia dos tecidos hepático e adiposo em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica / Roberta de Oliveira Bernardes. – 2017.  
68 f. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa.

Coorientadora: Maria das Graças Vaz Tostes.

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

1. Sistema cardiovascular – Doenças. 2. Antioxidantes. 3. Compostos fenólicos totais. 4. Antocianinas. 5. Dieta hiperlipídica. 6. Biomarcadores. I. Costa, André Gustavo Vasconcelos. II. Tostes, Maria das Graças Vaz. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 664

---

**ROBERTA DE OLIVEIRA BERNARDES**

**AVALIAÇÃO DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) SOBRE OS  
BIOMARCADORES CARDIOVASCULARES E A MORFOLOGIA DOS  
TECIDOS HEPÁTICO E ADIPOSEO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS  
A UMA DIETA HIPERLIPÍDICA**

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

Aprovada em 17 de fevereiro de 2017.



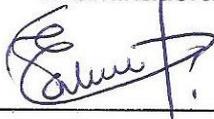
---

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



---

Profa. Dra. Neuza Maria Brunoro Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinadora



---

Profa. Dra. Érika Takagi Nunes  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinadora



---

Profa. Dra. Daniela da Silva Oliveira  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinadora

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus. Por sempre iluminar os meus caminhos e me dar forças para continuar.

À minha amada família, meus pais Roberto e Sandra, minha irmã Carolina e meus avós Sebastião e Marlene, pelo apoio em todos os meus projetos. Pela torcida e comemoração nas vitórias e pelo colo nas derrotas. Pelo amor, carinho, compreensão, companheirismo e por serem a minha base. Sem vocês, nada disso seria possível.

Ao meu noivo, Raphael, pelo amor, parceria, apoio e incentivo ao longo desses anos. Pelos sonhos sonhados e concretizados e pelos muitos que estão por vir.

Ao meu orientador, André Gustavo Vasconcelos Costa, pelos ensinamentos e pela oportunidade de desenvolver esse trabalho. Obrigada por ter contribuído para meu crescimento pessoal e profissional.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), 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).

Aos velhos e novos amigos, da vida e do PCTA. Pelas risadas nos momentos de alegria e até de aperto no laboratório.

À companheira de laboratório, Laiz e aos IC's Juliana e Cicero, que contribuíram para a realização deste trabalho.

À professora Neuza Maria Brunoro Costa pela disponibilidade, carinho e ensinamentos desde a graduação até hoje e sem dúvida pela grande contribuição neste trabalho.

À professora Erika Takagi Nunes, pelo carinho de sempre, ensinamentos e contribuição durante as análises histopatológicas.

As professoras Maria das Graças Vaz Tostes e Mirelle, pelo auxílio durante a eutanásia dos animais.

Ao professor Dennys Esper Corrêa Cintra, pela contribuição neste trabalho.

À professora Daniela da Silva Oliveira, por ter aceito participar da banca e pelas sugestões feitas enquanto este trabalho era ainda um projeto.

À professora Pollyanna Ibrahim da Silva, pelo prazer de ter conhecido e dividido a sala de aula, durante o estágio em docência. Ainda, pelos ensinamentos, conversas e pelas contribuições durante o projeto desta pesquisa.

Ao Toninho, pela simpatia, educação e pronto atendimento sempre que preciso.

Aos técnicos Amanda, Eduardo e Viviane pelo auxílio durante as análises.

Ao Laboratório de Nutrição Experimental e Fisiologia Humana do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde.

Ao Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo.

Ao Laboratório de Morfologia Animal do Departamento de Biologia do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde.

Ao Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde.

Ao Laboratório de Corantes Naturais e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, para realização da liofilização do jambolão.

Ao Laboratório de Análise de Vitaminas do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa, para realização da análise cromatográfica do jambolão liofilizado.

E para todos que acreditaram em mim e contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT: Alanina aminotransferase  
AST: Aspartato aminotransferase  
CEA: Coeficiente de eficiência alimentar  
COX-2: Ciclooxigenase-2  
DCV: Doenças Cardiovasculares  
HDL: Lipoproteína de Alta Densidade  
ICAM-1: Molécula de Adesão Intercelular-1  
LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade  
LPS: Lipopolissacarídeo  
NEFA: Ácidos Graxos Não Esterificados  
NFkB: Fator nuclear kB  
NO: Óxido Nítrico  
PAI-1: Inibidor de Ativação do Plasminogênio-1  
RNS: Espécies Reativas de Nitrogênio  
ROS: Espécies Reativas de Oxigênio  
TLR-4: Receptor tipo Toll - 4  
TNF- $\alpha$ : Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$   
VCAM: Molécula de Adesão Vascular  
VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos do Jambolão associados à saúde .....	13
Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g/kg) .....	19
Tabela 3. Composição centesimal, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante <i>in vitro</i> do jambolão liofilizado .....	25
Tabela 4. Composição centesimal das dietas experimentais (g/100g e kcal/100g) ..	28
Tabela 5. Peso inicial (g), peso final (g), ganho de peso (g), consumo diário (g) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos camundongos alimentados com as dietas experimentais, durante a fase de indução (períodos T0 a T1).....	29
Tabela 6. Peso inicial (g), peso final (g), ganho de peso (g), consumo diário (g) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos camundongos alimentados com as dietas experimentais, durante a fase de suplementação (períodos T1 a T2).....	30
Tabela 7. Parâmetros metabólicos e inflamatórios em soro dos camundongos alimentados com as dietas experimentais.....	32
Tabela 8. Análise dos tecidos hepático e adiposo epididimal dos animais experimentais.....	39

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeitos dos flavonoides da dieta no organismo .....	9
Figura 2. Jambolão e efeitos na saúde .....	11
Figura 3. Fluxograma do delineamento experimental .....	21
Figura 4. Cromatograma de antocianinas presentes no jambolão liofilizado, obtido por CLAE.....	27
Figura 5. Glicemia dos animais experimentais .....	34
Figura 6. Molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) dos animais experimentais ...	37
Figura 7. Fotomicrografias dos tecidos hepático (A,B,C e D) e adiposo epididimal (E,F,G e H) dos camundongos (n=5/grupo) .....	41

## RESUMO

BERNARDES, Roberta de Oliveira. **Avaliação do jambolão (*Syzygium cumini*) sobre os biomarcadores cardiovasculares e a morfologia dos tecidos hepático e adiposo em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica.** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. Dsc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-orientadora: Prof. Dsc. Maria das Graças Vaz Tostes.

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de mortalidade em todo o mundo. O consumo de alimentos ricos em antioxidantes, como os compostos fenólicos presentes no jambolão (*Syzygium cumini*), pode ser uma alternativa para reduzir o risco de desenvolvimento de DCV. O objetivo do trabalho foi avaliar a ação do jambolão liofilizado sobre os biomarcadores cardiovasculares e a morfologia do fígado e do tecido adiposo em camundongos Swiss submetidos a uma dieta hiperlipídica. O jambolão foi liofilizado e determinou-se sua composição centesimal, conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas e a capacidade antioxidante *in vitro*. Para o ensaio biológico, foram demandados 43 camundongos que foram submetidos a dieta controle normolipídica (CT, n=22) e dieta hiperlipídica (HF, n=22), durante 8 semanas. Após, por um novo período de 9 semanas, o grupo CT foi dividido e passou a receber dieta CT (n=10) ou dieta CT suplementada com 2% de jambolão liofilizado (CT+J, n=12); o grupo HF passou a receber dieta HF (n=9) ou dieta HF suplementada com 2% de jambolão liofilizado (HF+J, n=12). Ao término do experimento, os animais foram eutanasiados e amostras de sangue foram coletadas para análise de biomarcadores metabólicos e inflamatórios. Ainda, foi coletado o fígado e amostras de tecido adiposo epididimal para análises histológicas. Os resultados foram analisados pelo teste *t* para avaliar os grupos CT e HF, antes do período de suplementação. A análise de variância *Two-way* foi realizada para avaliar o efeito da dieta, do fruto e suas interações entre os grupos experimentais (CT, HF, CT+J e HF+J). Os dados foram expressos em média e erro padrão, com nível de significância de 5%. O modelo experimental foi eficiente em conferir maior ganho de peso nos animais que receberam dieta hiperlipídica. A dieta hiperlipídica potencializou o processo inflamatório, promovendo aumento nas concentrações de colesterol total, aumento da gordura epididimal, promoção de esteatose hepática e expressão de biomarcadores inflamatórios como ICAM-1 e ALT. A dieta suplementada com 2% de jambolão liofilizado foi eficiente em minimizar alguns agravos presentes no processo inflamatório e/ou relacionados ao risco cardiovascular, diminuindo as concentrações de e-selectina. Ainda, foi possível observar efeito do jambolão na redução das concentrações de ICAM-1, quando em associação de dieta hiperlipídica. O fruto também apresentou efeito hepatoprotetor, com redução das concentrações de AST e proteção do fígado contra infiltração lipídica e consequente esteatose hepática.

**Palavras-chave:** Doenças cardiovasculares, antioxidante, jambolão, compostos fenólicos, antocianinas.

## ABSTRACT

BERNARDES, Roberta de Oliveira. **Evaluation of jambolan (*Syzygium cumini*) upon cardiovascular biomarkers and the morphology of hepatic and adipose tissues in mice fed a high-fat diet.** 2017. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) – Federal University of Espírito Santo, Alegre – ES. Advisor: Prof. Dsc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisor: Prof. Dsc. Maria das Graças Vaz Tostes.

The cardiovascular diseases (CVD) are the main cause of mortality all over the world. The consumption of food, rich in antioxidants, as the phenolic compounds presented in jambolan (*Syzygium cumini*), may be an alternative to reduce the risk of CVD development. The objective of this work was to evaluate the action of lyophilized jambolan upon cardiovascular biomarkers fed a high-fat diet. The jambolan was lyophilized and its centesimal composition, total phenolic content, and total anthocyanins and the in vitro antioxidant capacity were determined. For the biological assay 43 mice were demanded and they were submitted to a normal-fat control diet (CT, n=22) and high-fat diet (HF, n=22), during 8 weeks. Thereafter, for a new period of 9 weeks, the CT group was divided and continued to receive CT diet (n=10) or CT diet supplemented with 2% of lyophilized jambolan (CT+J, n=12); the group HF continued receiving HF diet (n=9) or HF diet supplemented with 2% of lyophilized jambolan (HF+J, n=12). Thus, the animals were submitted to euthanasia and blood samples were collected for the analysis of metabolic and inflammatory biomarkers. The liver histological analysis and epididymal adipose tissue analysis were carried out. The results were analyzed by t test to evaluate the CT and HF groups, before the supplementation period. The “Two-way” variance analysis was carried out to evaluate the effect of the diet and fruit and/or their interactions among the experimental groups (CT, HF, CT+J and HF+J). The data were expressed in arithmetic mean and standard errors, with 5% significance level. The experimental model was efficient on checking higher weight gain on the animals, which received high-fat diet. The high-fat diet potentized the inflammatory process, promoting an increase on the total cholesterol concentrations, increase on the epididymal fat, promotion of hepatic steatosis and expression of inflammatory biomarkers as ICAM-1 and ALT. The diet supplementation with 2% of lyophilized jambolan was efficient on reducing some damages present on the inflammatory process and/or related to the cardiovascular risk, decreasing the concentrations of e-selectin. It was also possible to observe the effect of jambolan on the reduction of ICAM-1 concentrations, when in association with high-fat diet. The fruit also presented hepatoprotective effect, with reduction on the AST concentrations and protection of the liver against lipid infiltration and consequent hepatic steatosis.

**Key-words:** Cardiovascular diseases, antioxidant, jambolan, phenolic compounds, anthocyanin.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVOS .....	4
2.1 Objetivo Geral .....	4
2.2 Objetivos Específicos .....	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Doenças Cardiovasculares.....	5
3.2 Compostos fenólicos e seus efeitos sobre as doenças cardiovasculares .....	7
3.3 Efeito do jambolão ( <i>Syzygium cumini</i> ) na saúde humana.....	10
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1 Aquisição e preparo da matéria prima.....	15
4.2 Caracterização físico-química do jambolão liofilizado e das dietas experimentais .....	15
4.3 Análise de Compostos Fenólicos e Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .....	16
4.3.1 Preparo do Extrato .....	16
4.3.2 Quantificação de compostos fenólicos do fruto liofilizado .....	16
4.3.3 Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> do jambolão liofilizado .	17
4.3.3.1 Método do Radical ABTS .....	17
4.3.3.2 Método de neutralização do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	17
4.4 Identificação e quantificação de antocianinas da amostra liofilizada.....	18
4.5 Composição e Preparo das Dietas Experimentais .....	19
4.6 Ensaio Biológico .....	20
4.7 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios .....	22
4.8 Análise Histológica .....	23
4.9 Análise Estatística .....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 Composição centesimal, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante do jambolão liofilizado .....	25

5.2 Composição centesimal das dietas experimentais .....	27
5.3 Consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) .....	28
5.4 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios .....	31
5.5 Análise dos tecidos hepático e adiposo epididimal .....	38
6 CONCLUSÃO.....	43
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de mortalidade em todo o mundo, representando 31% de todas as mortes globais. Elas compreendem um grupo de doenças que acometem o coração e os vasos sanguíneos, que incluem doenças cardíacas coronarianas, cerebrovasculares, reumáticas, hipertensão, trombozes, aterosclerose e embolias (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION – WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

Dentre os fatores associados com o desenvolvimento de DCV, o excesso de gordura corporal destaca-se por estar intimamente integrado ao processo, além de influenciar no desenvolvimento de resistência à insulina, dislipidemias e hipertensão arterial, caracterizando o risco cardiometabólico (DESPRÉS; LEMIEUX, 2006). Ainda, devem ser levados em consideração fatores de risco como fumo, altos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL), disfunções no metabolismo de glicose e o estresse oxidativo (GAMEZ-MENDEZ et al., 2015; VAN GAAL; MERTENS; DE BLOCK, 2006).

O estresse oxidativo surge pela alta produção de espécies reativas de oxigênio que podem gerar lesões crônicas no endotélio vascular, o que culmina na instalação de um processo inflamatório com ativação de componentes do sistema imune, na tentativa de solucionar a injúria (HENSON, 2005; SORESCU et al., 2002). O estresse oxidativo é um mediador de diversos processos patológicos nas paredes vasculares, incluindo, além da própria disfunção endotelial, a instabilidade plaquetária e o desenvolvimento de DCV, que em alguns casos, podem ser revertidos com o consumo de antioxidantes (HEITZER et al., 2001; STROBEL et al., 2011). O alto consumo de gordura, pode ocasionar um acréscimo no estresse oxidativo e lesionar o endotélio, causando uma disfunção como a presente na aterosclerose (GAMEZ-MENDEZ et al., 2015).

Algumas enfermidades tem como plano de fundo um estado de inflamação crônica, como é o caso da obesidade e das DCV e, diferentes mecanismos de desenvolvimento vêm sendo propostos, correlacionando ambas as patologias. Indivíduos obesos, tem como característica, a grande área de tecido adiposo e esta, por sua vez, é uma glândula endócrina, que libera citocinas, mediadores bioativos, fatores inflamatórios e ácidos graxos não-esterificados (NEFA), que influenciam na

homeostase corporal, resistência à insulina, coagulação, perfil lipídico, inflamação e aterosclerose (LAU et al., 2005; SCHERER, 2006).

As substâncias secretadas pelo tecido adiposo, citadas anteriormente, podem estar presentes desde o início do desenvolvimento do processo inflamatório até casos mais graves da desordem cardiovascular. Durante o processo inflamatório, moléculas de adesão, interleucinas e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) podem prolongar o processo. Dentre as principais moléculas de adesão destaca-se a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e e-selectina, que proporcionam ao tecido adiposo influência direta nos mecanismos de risco cardiometabólico (VAN GAAL; MERTENS; DE BLOCK, 2006). No grupo das adipocitocinas, destaca-se o inibidor de ativação do plasminogênio 1 (PAI-1), uma proteína que em níveis elevados sinaliza risco para DCV e aterosclerose, uma vez que atua na deposição de plaquetas e fibrina (LAU et al., 2005). Já os ácidos graxos não-esterificados são relacionados à resistência à insulina, esteatose hepática e risco de desenvolvimento de DCV, quando presentes em concentrações muito elevadas (FABBRINI et al., 2008; FIRNEISZ, 2014).

O consumo de alimentos com alta concentração em compostos antioxidantes, como os presentes no jambolão (*Syzygium cumini*), pode ser uma alternativa para restaurar o equilíbrio oxidativo e combater o processo inflamatório no organismo (DE BONA et al., 2011).

O jambolão é um fruto pertencente à família Myrtaceae, originário da Índia, mas que o cultivo já se expandiu para outros países, incluindo o Brasil, onde pode ser encontrado nos períodos de dezembro a fevereiro, conforme revisado por Costa et al., 2013. O jambolão é um fruto de sabor adstringente a levemente doce, dependendo do estágio de maturação. Possui formato oval, com coloração de casca variando do roxo ao preto, polpa de cor branca ou roxa e uma única semente centralizada de coloração roxa. Pode ser consumido *in natura* ou utilizado para o preparo de vinhos e geleias (CORREIA et al., 2015).

Em estudos realizados ao longo das últimas décadas, um vasto número de autores reportaram os efeitos benéficos do jambolão associados ao diabetes, utilizando-se suas folhas, raízes e sementes na forma de infusão e extrato (BALIGA et al., 2011; DE BONA et al., 2011; RAFFAELLI et al., 2015) Também é possível encontrar relatos de sua atividade antioxidante (VEIGAS et al., 2007; ZHANG; LIN,

2009), ação anti-inflamatória (MURUGANANDAN et al., 2001), hipolipidêmica (SHARMA; BALOMAJUMDER; ROY, 2008) e cardioprotetora (CHAGAS; FRANÇA; PAES, 2015; MASTAN et al., 2009; SHUKLA et al., 2014). Entretanto, ainda são escassos estudos que explorem o efeito cardioprotetor do jambolão.

O jambolão apresenta cerca de 93,3mg/100g de antocianinas em matéria fresca, valor que supera o encontrado em outros frutos, como camu-camu (42,2mg/100g) e a acerola (18,9mg/100g) em matéria fresca (DE BRITO et al., 2007; RUFINO et al., 2010). Além desses compostos encontrados em maior concentração no fruto, o jambolão também é fonte de outros compostos antioxidantes, como quercetina, ácido elágico, rutina, carotenoides e vitamina C, que podem atuar de forma sinérgica contra o estresse oxidativo (RUFINO et al., 2010).

Em estudos anteriores conduzidos por nossa equipe de pesquisa, foi demonstrado que a suplementação com 2% de jambolão liofilizado em camundongos submetidos à dieta de cafeteria foi eficaz em aumentar a capacidade antioxidante sérica, em relação ao grupo controle (SANT'ANA, 2014). Além disso, apresentou efeitos positivos sobre os danos causados pelas dietas hiperlipídicas, com redução de colesterol, LDL, triacilgliceróis e área de adipócitos dos animais (CONSTANCIO, 2015). Diante do exposto, o jambolão apresenta potencial para um tratamento alternativo de doenças cardiovasculares.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a ação do jambolão (*Syzygium cumini*) liofilizado sobre os biomarcadores cardiovasculares e a morfologia dos tecidos hepático e adiposo em camundongos *Swiss* submetidos a uma dieta hiperlipídica.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a composição físico-química do jambolão liofilizado;
- Avaliar o conteúdo de antocianinas, polifenóis totais e atividade antioxidante *in vitro* do jambolão liofilizado;
- Determinar os parâmetros bioquímicos dos animais: referentes ao metabolismo da glicose, do colesterol e inflamatórios (ICAM-1, PAI-1 e e-selectina);
- Avaliar quantitativamente o tecido adiposo, por meio da análise da área dos adipócitos dos animais;
- Avaliar o efeito da suplementação do fruto sobre a infiltração lipídica no tecido hepático dos animais.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte em todo o mundo. Estima-se que 17,5 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares em 2012, o que representa 31% de todas as mortes globais. As DCV são um grupo de doenças do coração e dos vasos sanguíneos, que incluem doenças cardíacas coronarianas, cerebrovasculares, reumáticas, hipertensão, trombozes e embolias (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION – WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

Dentre os fatores que podem estar relacionados com o desenvolvimento de DCV, o excesso de gordura corporal, ocasionando a obesidade, vem sendo proposto. Entretanto, a resistência insulínica, dislipidemias e hipertensão arterial também são fatores que caracterizam o risco cardiometabólico (NANGIA; SINGH; KAUR, 2016; OUCHI et al., 2016) Outros aspectos mais conhecidos como fumo, altos níveis de colesterol e LDL, disfunções de glicose prática de atividade física, consumo de bebidas alcoólicas e o estresse, também são levados em consideração (DING et al., 2016; FINGER et al., 2016).

A dieta também desempenha papel de destaque na gênese das DVC. Uma alimentação exacerbada em gorduras saturadas e *trans*, sal e baixa ingestão de hortaliças e frutas torna-se um fator de risco para a saúde do coração, contribuindo para indivíduos sofrerem infarto agudo do miocárdio (ABEYWARDENA, 2003; IQBAL et al., 2008). Isso por que, a dieta pode influenciar o metabolismo de nutrientes e perfil lipídico do indivíduo, sendo aquelas ricas em gorduras tradicionalmente associadas, mas não unicamente, por níveis anormais de lipídeos sanguíneos, aumento do colesterol, da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e dos triacilgliceróis e diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) (MENSINK et al., 2003; PANIAGUA, 2016; WHO, 2014).

O tecido adiposo é uma glândula endócrina metabolicamente ativa, produtora de adipocitocinas, mediadores bioativos, fatores inflamatórios e ácidos graxos não esterificados, que influenciam na homeostase corporal, resistência à insulina, coagulação, perfil lipídico, inflamação e aterosclerose (VAN GAAL; MERTENS; DE BLOCK, 2006; SCHERER, 2006; OUCHI et al., 2016). Dentre tais substâncias pode-

se destacar as moléculas de adesão intracelular-1 (ICAM-1) e e-selectina, o inibidor de ativação do plasminogênio 1 (PAI-1), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucinas, que fazem com que o tecido adiposo desempenhe ação nos mecanismos de risco cardiometabólico (LAU et al., 2005; VAN GAAL; MERTENS DE BLOCK, 2006).

Conforme a adiposidade aumenta, aumenta-se também a secreção de adipocitocinas de caráter pró-inflamatório e ácidos graxos não esterificados (NEFA). A forma de atuação das adipocitocinas pode ser direta ou indireta para o desenvolvimento das DCV, podendo levar a complicações, como disfunções endoteliais, hipertensão, estresse oxidativo e inflamações (GUIMARÃES et al., 2007; OUCHI et al., 2016).

Nos estudos de Wajchenberg et al, (2009) foi observado que animais obesos apresentavam um aumento na produção de interleucinas e TNF- $\alpha$ , quando comparados com animais magros e que tal efeito por sua vez provocava um aumento na expressão de ICAM-1, agravando o processo cardiovascular. O contrário também ocorre, ou seja, quando o tamanho do tecido adiposo diminui, diminui-se também, os níveis das adipocitocinas séricas, diminuindo por sua vez o quadro inflamatório observado na obesidade (ITOH et al., 2002).

A lipólise do tecido adiposo é um processo catabólico em que os triacilgliceróis são oxidados em ácidos graxos e glicerol. Quando o organismo demanda energia entre as refeições, o tecido adiposo libera ácidos graxos para serem oxidados nos tecidos periféricos. Os NEFA podem ser utilizados como fonte de energia, serem estocados ou reesterificados para formar triacilglicerol intracelular (JENSEN; EKBERG; LANDAU, 2001). Indivíduos com alta deposição de gordura visceral, tendem a ter lipólise aumentada nos adipócitos, com consequente elevada liberação de NEFA e glicerol (SCHERER, 2006). Dessa forma, é importante que as concentrações de NEFA estejam em níveis adequados ao organismo, uma vez que seu aumento é associado a resistência à insulina, aumento do risco de desenvolvimento de DCV (BJÖRNTORP, 1990) e com a progressão da esteatose hepática (FABBRINI et al., 2008; FIRNEISZ, 2014; SODHI et al., 2016).

### **3.2 Compostos fenólicos e seus efeitos sobre as doenças cardiovasculares**

Os polifenóis são fitoquímicos que consistem em múltiplos grupos hidroxílicos em anéis aromáticos e estão presentes em vegetais, frutas e outros produtos naturais. Os polifenóis são caracterizados em diferuloilmetanos, estilbenos, flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (PANDAREESH; MYTHRI; BHARATH, 2015).

Os flavonoides são importantes metabólitos secundários das plantas e podem se apresentar na forma de monômeros, dímeros e oligômeros. Subdividem-se em flavonas, flavonóis, flavononas, catequinas, isoflavonas e antocianinas (KOZLOWSKA; SZOSTAK-WEGIEREK, 2014).

As antocianinas, são pigmentos naturais, resultantes do metabolismo secundário de vegetais, responsáveis pelas colorações azul, vermelho e roxo de frutas e hortaliças. As principais antocianinas encontradas em frutas, hortaliças e grãos são as cianidinas, malvidinas, pelargonidinas, delphinidinas e peonidinas (DE BRITO et al., 2007; JAYAPRAKASAM et al., 2006; REIS et al., 2016).

Geralmente, encontram-se nas cascas de frutas, mas também podem ser encontradas na polpa e sua biodisponibilidade depende do tipo de fruta, processamento sofrido, além da matriz dos outros alimentos ingeridos na refeição, ou seja, a presença de outros compostos antioxidantes, micro e macronutrientes afetarão a biodisponibilidade de antocianinas (MCGHIE; WALTON, 2007; YANG et al., 2011).

O jambolão apresenta cerca de 93,3mg/100g de antocianinas em matéria fresca. Superando o encontrado em outros frutos, como camu-camu e acerola com 42,2mg/100g e 18,9mg/100g em matéria fresca, respectivamente (DE BRITO et al., 2007; EINBOND et al., 2004; RUFINO et al., 2010). Especificamente no jambolão, destacam-se as formas 3,5-diglicosídeos de cianidinas, delphinidinas, petunidinas, peonidinas e malvidinas (DE BRITO et al., 2007; VEIGAS et al., 2007).

Dentre os principais compostos bioativos em frutas, as antocianinas destacam-se devido a sua capacidade antioxidante, que desempenha papel fundamental na diminuição do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, exercendo efeito na redução do risco cardiovascular, obesidade e hipoglicemia, bem como, aprimoramento intelectual e proteção do tecido cerebral de fetos (ANDRES-LACUEVA et al., 2005; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; LOREN et al., 2005; REIS et al., 2016; SUMNER et al., 2005).

Os compostos fenólicos, com destaque para os flavonoides, ingeridos na alimentação, possuem duas atividades principais, a antioxidante e a de sinalização de moléculas. A capacidade antioxidante é atribuída à sua propriedade de doar hidrogênios, de se quelar com metais, captar espécies reativas de oxigênio (ROS) e de proteger a vitamina C da oxidação. Já a sua função de sinalização, se dá ao fato dos flavonoides interagirem com proteínas ou receptores envolvidos em vias de expressão gênica e demais respostas fisiológicas (KOZLOWSKA; SZOSTAK-WEGIEREK, 2014; LIN et al., 2002; MIYAKE et al., 2006; VAUZOUR et al., 2010; WILLIAMS; SPENCER; RICE-EVANS, 2004).

O endotélio vascular, em situações fisiológicas, consegue lidar com estímulos pró-inflamatórios e oxidativos. Para manter a saúde cardiovascular, as células endoteliais são necessárias para sintetizar óxido nítrico (NO) a partir de L-arginina e promover o tônus muscular, por meio da ação da óxido nítrico sintase ou prostaciclina ou vasoconstritores (SOTO-VACA et al., 2012).

O NO também age prevenindo a agregação de plaquetas e suprimindo a expressão de moléculas de adesão endotelial. No entanto, o estresse oxidativo e metabólicos comuns em casos de diabetes, hipertensão arterial, DCV, dislipidemias ou LDL oxidada geram ROS que reagem com o NO formando espécies reativas de nitrogênio, o RNS peroxinitrito. A formação desse composto, diminui os níveis de NO e contribui para a disfunção endotelial, promovendo uma elevação da permeabilidade das células endoteliais. Essa abertura no sistema permite o acúmulo de LDL na íntima arterial, aumenta a aderência de leucócitos e dá início ao processo inflamatório (DE CATERINA et al., 1995; ROSS, 1999).

Em resposta ao endotélio inflamado ocorre uma sinalização para macrófagos e um acúmulo de leucócitos, mediado pela liberação de ICAM-1, molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e e-selectina (ANBARASAN et al., 2015).

A disfunção endotelial gerada, como descrita anteriormente, é o que ocasiona a hipertensão arterial, DCV, diabetes, dislipidemias e hiperglicemia. Especula-se que os compostos fenólicos melhorem a saúde endotelial devido a sua atividade antioxidante na diminuição dos fatores de risco, melhorando o funcionamento endotelial, reduzindo pressão arterial, dislipidemias e oxidação de LDL (FOLLMANN et al., 2013; YANG et al., 2010). Já a alta ingestão de antocianinas, foi relacionada com vários benefícios para a saúde do coração, como a diminuição do risco de

infarto do miocárdio, supressão do estresse oxidativo e biomarcadores inflamatórios, além de aumento da produção de NO e da atividade antioxidante, proteção contra peroxidação lipídica e melhora do perfil lipídico (CASSIDY et al., 2013; EDIRISINGHE et al, 2011; ELKS et al., 2011; REIS et al., 2016).

A Figura 1 resume os efeitos dos flavonoides da dieta no organismo.

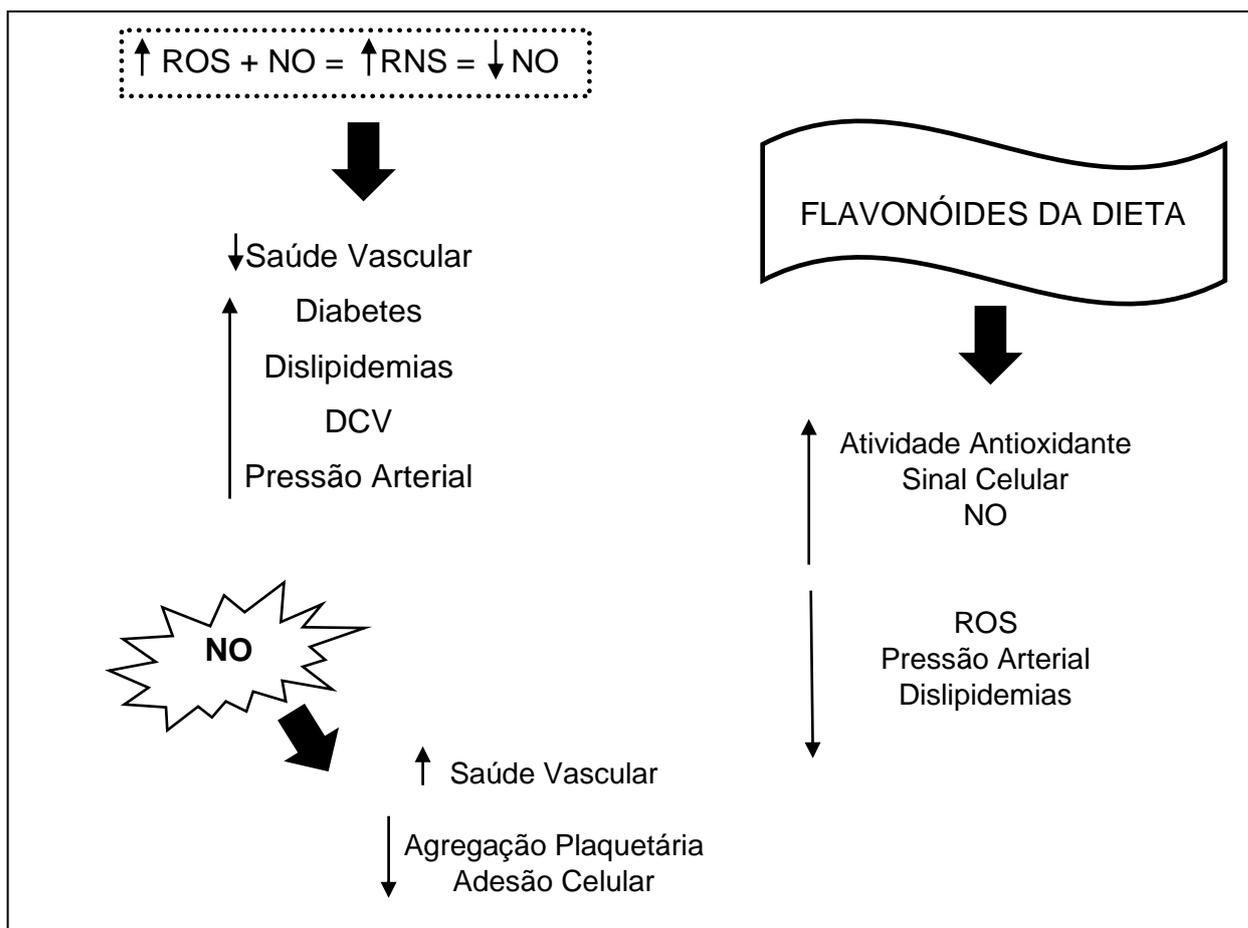


Figura 1. Efeitos dos flavonoides da dieta no organismo

ROS: espécies reativas de oxigênio; RNS: espécies reativas de nitrogênio; NO: óxido nítrico; DCV: doenças cardiovasculares.

Uma alternativa para restabelecer o estresse oxidativo e inflamatório causado pelas DCV e suas comorbidades no organismo, seria o aumento do consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes, como os polifenóis, vitamina C, carotenoides e vitamina E.

### 3.3 Efeito do jambolão (*Syzygium cumini*) na saúde humana

O jambolão (*Syzygium cumini*) é um fruto pertencente à família Myrtaceae, originário da Índia, mas que o cultivo já se expandiu para outros países, incluindo o Brasil, onde pode ser encontrado nos períodos de dezembro a fevereiro (COSTA et al., 2013). Vários nomes são utilizados para se referir ao fruto, na Índia é conhecido como Jamun ou Jambul, nos Estados Unidos é chamado de *black plum* (ameixa preta) ou Indian blackberry (amora preta indiana), já no Brasil, além de jambolão também é conhecido por jamelão (SRIVASTAVA; CHANDRA, 2013).

É um fruto de sabor adstringente à levemente doce, dependendo do estágio de maturação. Possui formato oval, com coloração de casca variando do roxo ao preto, polpa de cor branca ou roxa e uma única semente centralizada de coloração roxa. Pode ser consumido *in natura* ou utilizado para o preparo de vinhos, geleias, iogurtes e sucos, tanto como fruta principal quanto em associação com outras frutas para aumentar a propriedade antioxidante, como por exemplo em suco de laranja (CORREIA et al., 2015; GORDON et al., 2011; KUMAR; KUMAR, 2016; LAGO,GOMES, SILVA, 2006; SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015; SEVERO et al., 2010; ZHANG, LIN, 2009).

Apesar da versatilidade do fruto, possibilitando a sua inserção em diversas preparações, grande parte dos frutos produzidos ainda é desperdiçada em época de safra, devido à alta produtividade por árvore, o curto tempo de duração útil do fruto *in natura* e principalmente, pela falta de aproveitamento pela população (LAGO,GOMES, SILVA, 2006).

Quanto ao perfil nutricional do jambolão, 100g da fruta fornecem 41Kcal, 0,5g (0,5%) de proteínas, 0,1g (0,1%) de lipídeos, 10,6g (10,6%) de carboidratos, 1,8g (1,8%) de fibras, 3mg de cálcio e 2mg de magnésio (TACO, 2011).

O jambolão é um fruto com alta concentração de polifenóis, flavonoides e antocianinas. Além desses compostos encontrados em maior concentração no fruto, o jambolão também apresenta alta concentração de quercetina, ácido elágico, rutina, carotenoides e vitamina C (BALIGA et al., 2011; RUFINO et al., 2010).

Um número crescente de estudos, sugere que as antocianinas ingeridas na alimentação têm relação inversa com o risco de hipertensão, risco de infarto do miocárdio e mortalidade por doenças cardiovasculares. Além disso, as antocianinas

também exercem mudanças favoráveis no comportamento plaquetário e no endotélio, agindo por sua vez, na pressão arterial e melhorando os níveis de colesterol e perfil lipídico (CASSIDY et al., 2011; ERLUND et al., 2008; MINK et al., 2007; REIS et al., 2016; RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2013; QIN et al., 2009).

Devido aos elevados teores de antocianinas no jambolão e sua associação com efeitos benéficos ao organismo, o jambolão tem sido utilizado como matéria prima para a extração de antocianinas (MARAN; PRIVA; SIVAKUMAR, 2015).

Na Figura 2 são apresentados os principais efeitos do jambolão, associados à saúde.

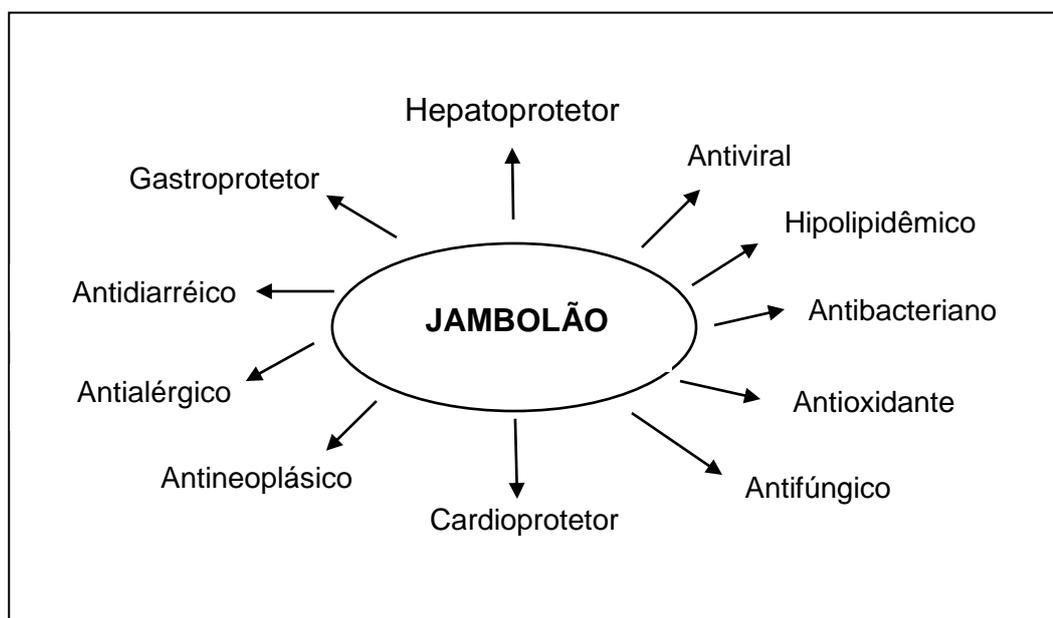


Figura 2. Jambolão e efeitos na saúde

Tais efeitos geralmente são associados aos teores de compostos fenólicos e antocianinas do fruto. Destacam-se os efeitos antibacterianos, antivirais e antifúngicos dos extratos das folhas, caules e frutos (BHANUPRAKASH et al., 2008; DE OLIVEIRA et al., 2007; KANERIA et al., 2009) atividade antioxidante observada nos taninos hidrolisáveis do fruto (ZHANG; LIN, 2009), bem como, no extrato da casca do jambolão, que é rica em antocianinas, atuando como um agente redutor e captador de radicais livres (VEIGAS et al., 2007); ação anti-inflamatória da casca do caule do fruto (MURUGANANDAN et al, 2001); efeitos antidiabéticos do extrato das folhas (DE BONA et al., 2011); hipolipidêmicos (SHARMA; BALOMAJUMDER; ROY, 2008), aonde existem relatos do uso do jambolão no tratamento de diabetes, antes mesmo da invenção da insulina (BALIGA et al., 2011); propriedades antialérgicas e

antidiarreicas do extrato de folhas, cascas e raízes (BRITO et al., 2007; MUKHERJEE et al., 1998); efeitos antineoplásicos, como os encontrados nos estudos de Barh e Viswanathan (2008), onde o extrato da casca e parte da polpa do fruto maduro, exerceu efeito inibidor de crescimento e efeito apoptótico em células de linhagem de câncer cervical; efeitos hepatoprotetores (DAS; SARMA, 2009) e cardioprotetores dos extratos das polpas do jambolão (SHUKLA et al., 2014). Na Tabela 1 são apresentados estudos que avaliaram os efeitos do jambolão associados à saúde.

Tabela 1. Efeitos do Jambolão associados à saúde

PARTE	CONCENTRAÇÃO	EXTRAÇÃO	EFEITO	MODELO	REFERÊNCIAS
Folha, caule, fruto	100µL do extrato	Extração com éter de petróleo, acetato de etil, metanol e água destilada por percolação a frio.	Antibacteriano	<i>In vitro</i>	(KANERIA et al., 2009)
Folhas	50µL do extrato	Extração alcoólica.	Antiviral	<i>In vitro</i>	(BHANUPRAKASH et al., 2008)
Folhas	16µL do extrato	Extração com etanol e água em temperatura ambiente por 30 dias.	Antifúngico	<i>In vitro</i>	(DE OLIVEIRA et al., 2007)
Fruto	15-500µg/L	Fruto liofilizado e extração com acetona e água.	Antioxidante	<i>In vitro</i>	(ZHANG, LIN, 2009)
Casca do fruto	25µL do extrato	Extração com 0,1% de HCl em metanol.	Antioxidante	<i>In vitro</i>	(VEIGAS et al., 2007)
Casca do caule	100,300 e 1000mg/kg peso corporal	A casca foi seca à sombra e moída a pó. Extração feita com etanol em Soxhlet.	Antiinflamatório	Animal (ratos e camundongos)	(MURUGANANDAN et al, 2001)
Folhas	1g do extrato em 100mL de solução NaCl 0,09%	Folhas secas e moídas a pó. Extração em Soxhlet.	Antidiabético	<i>In vitro</i>	(DE BONA et al., 2011)
Sementes	50 ou 100mg/0,5mL de etanol 0,01%/100g de peso corporal	Lavadas e secas à sombra. Após foram reduzidas a pó e tratadas com etanol.	Hipolipidêmico	Animal (ratos diabéticos)	(SHARMA; BALOMAJUMDER; ROY, 2008)

Tabela 1 *continua*

Folhas	25-100mg/kg corporal	Extrato aquoso foi obtido por decocção das folhas em água destilada (100g/L por 3 a 5 minutos).	Antialérgico	Animal (camundongos e ratos)	(BRITO et al., 2007)
Casca e raiz	400mg/kg corporal	Partes secas e reduzidas a pó. Extração com etanol em Soxhlet.	Antidiarreico	Animal (ratos)	(MUKHERJEE et al., 1998)
Fruto maduro (casca e polpa)	50mL do extrato 100 ou 10%	Extração com metanol.	Antineoplásico	<i>In vitro</i>	(BARH; VISWANATHAN, 2008)
Polpa	100 e 200mg/kg	Polpa seca e pulverizada. Em seguida tratada com etanol em percolador.	Hepatoprotetor	Animal (ratos)	(DAS; SARMA, 2009)
Polpa	100,200 e 400mg/kg corporal	Polpa moída e tratada com etanol. Filtrado liofilizado.	Cardioprotetor	Animal (ratos)	(SHUKLA et al., 2014)

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Aquisição e preparo da matéria prima**

O jambolão (*Syzygium cumini*) foi adquirido de agricultores da região sul do Espírito Santo. Foi lavado em água corrente, em seguida a polpa e a casca foram retiradas manualmente e estocadas a -20°C. Após, a amostra foi liofilizada em liofilizador de bandeja, no Laboratório de Corantes Naturais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. O produto liofilizado foi acondicionado em embalagens laminadas, sem contato com luz e ar, onde permaneceu armazenado a -20°C até o momento das análises.

### **4.2 Caracterização físico-química do jambolão liofilizado e das dietas experimentais**

As determinações das características químicas do jambolão liofilizado e das dietas experimentais foram realizadas no laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES), conforme as normas analíticas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995).

A análise de umidade foi realizada pelo método de secagem direta em estufa (BIOPAR®) a 105°C até o peso constante. O teor de lipídeos foi mensurado pelo método de extração intermitente em aparelho extrator de Soxhlet (MARCONI® MA491) durante 5 horas, utilizando-se o éter de petróleo como solvente extrator. As proteínas foram quantificadas pelo método de Kjeldahl, seguindo o princípio de que o teor de nitrogênio da amostra será convertido em teor de proteínas multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de nitrogênio para proteínas de 6,25. Para determinação de cinzas, foi feita incineração em mufla (MARCONI® MA38512) a 550°C até a obtenção de cinzas claras. Para quantificação do percentual de carboidratos, incluindo fibras, foi calculado por diferença, pela subtração de um total de 100% as porcentagens encontradas pelas análises de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

### **4.3 Análise de Compostos Fenólicos e da Capacidade antioxidante *in vitro***

As análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES).

#### **4.3.1 Preparo do Extrato**

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, foram preparados extratos do fruto liofilizado, baseando-se na metodologia de Rufino et al. (2010). Para o preparo, utilizou-se 1g da amostra e 40mL de solução metanol/água (50:50 v/v). A solução formada permaneceu por 2 horas em agitador mecânico (CIENLAB®) a 25°C com agitação de 1500rpm. Após, a solução foi filtrada a vácuo e o resíduo obtido da filtração foi adicionado a 40mL de solução acetona/água (70:30 v/v). Em seguida, a solução foi novamente agitada em agitador mecânico por mais 2 horas. Ao término, a solução foi filtrada a vácuo e os filtrados foram misturados em balão volumétrico de 100mL, com volume ajustado com água destilada. Os extratos foram estocados em vidro âmbar à -20°C e permaneceram até o momento das análises.

#### **4.3.2 Quantificação de compostos fenólicos do fruto liofilizado**

Os compostos fenólicos do jambolão liofilizado foram quantificados pelo ensaio do reagente de Folin-Ciocalteu, baseado na metodologia de Singleton e Rossi (1965). Em um tubo de ensaio, foi acrescentado 0,6mL do extrato do jambolão liofilizado e 3mL do reagente de Folin-Ciocalteu, previamente diluído na razão de 1/10. Os tubos foram vigorosamente agitados em vórtex e permaneceram em repouso durante 3 minutos. Em seguida, adicionou-se 2,4mL de uma solução de carbonato de sódio saturada em água destilada (7,5% m/v), agitou-se e em seguida os tubos permaneceram em repouso por 1 hora em temperatura ambiente. Ao término do tempo de repouso, foi realizada a leitura da absorbância das amostras

em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS® 2000UV), em comprimento de onda e 760nm.

O teor de compostos fenólicos foi determinado por uma curva padrão de ácido gálico (0-150 mg/L;  $y=0,010x+0,009$  e  $R^2 = 0,999$ ) e os resultados foram expressos em Ácido gálico equivalente por grama de matéria seca (mg AGE/g). Durante todo o processo de análise, o ambiente esteve isento de incidência direta de luz.

### **4.3.3 Determinação da capacidade antioxidante *in vitro* do jambolão liofilizado**

#### **4.3.3.1 Método do Radical ABTS**

Segundo o método proposto por Re et al (1999), foi avaliada a atividade antioxidante *in vitro* através da captura do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-etilbenzotiazolina-6-sulfônico).

O preparo do radical foi feito com uma mistura da solução estoque de ABTS (7mM) e solução de persulfato de potássio (2,45mM) em proporções equivalentes. Em seguida, foi armazenado em vidro âmbar onde permaneceu por 16 horas, sob refrigeração. Em um tubo de ensaio, adicionou-se 0,5mL do extrato do jambolão liofilizado e 3,5mL do radical ABTS (Sigma-Aldrich®) e homogeneizou-se em vórtex, permanecendo, ao término, em repouso por 6 minutos ao abrigo de luz. Em seguida foi feita a leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS® 2000UV), com comprimento de onda de 734nm. A capacidade antioxidante foi determinada utilizando-se curva padrão de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, Sigma Aldrich®) (0-90mg/L;  $R^2=0,999$ ) e os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de matéria seca ( $\mu\text{mols Trolox/g}$  matéria seca).

#### **4.3.3.2 Método de neutralização do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)**

A atividade antioxidante *in vitro* também foi determinada de acordo com o método de neutralização do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Em um tubo de ensaio foram adicionados 0,2mL do extrato de jambolão liofilizado e 3,8mL de uma solução metanólica de DPPH• (Sigma-Aldrich®) e agitou-se em vórtex. Os tubos foram mantidos em

repouso por 30 minutos, ao refúgio da luz. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS® 2000UV), em comprimento de onda de 517nm. Paralelamente, foi preparado o sistema branco, que consiste na mistura de todos os reagentes, com exceção do DPPH•. Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição do radical DPPH•, podendo também ser chamado de atividade de retirada do radical (%) ou percentual de atividade antioxidante, que foi calculado de acordo com a equação a seguir.

$$\text{Atividade de retirada do radical (\%)} = 100 - \left\{ \left[ \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}}{A_{\text{controle}}} \right] \times 100 \right\}$$

Onde: \* $A_{\text{controle}}$  = absorbância do controle (solução de DPPH• sem a amostra);  $A_{\text{amostra}}$  = absorbância da amostra teste (solução de DPPH• + amostra teste) e  $A_{\text{branco}}$  = absorbância da amostra sem a solução de DPPH•.

#### **4.4 Identificação e quantificação de antocianinas da amostra liofilizada**

A quantificação e identificação de antocianinas foi realizada utilizando-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, no Laboratório de Análise de Vitaminas do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

As antocianinas foram extraídas das amostras com solução extratora metanol-HCL (99:1; %/%) em banho metabólico por 2 horas. Após a extração, as amostras foram centrifugadas e mantidas em freezer à  $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , até o momento das análises.

A análise de antocianinas seguiu as condições cromatográficas propostas por Schauss et al. (2006), com modificações: Sistema CLAE-DAD (detector de arranjo diodo) com detecção a 520nm, coluna C18 (Phenomenex Gemini, 250 x 4,6m, 5 $\mu\text{m}$ ), equipada com coluna de guarda (Phenomenex ODS C18, 4mm x 3mm). Água ultrapura foi adotada como fase móvel, com pH 2, ajustado com ácido fórmico (linha A) e acetonitrila (linha B) (89:11, v:v). O gradiente de eluição foi realizado da seguinte forma: 0 a 20 minutos, 0% de B; 20 a 22 minutos, aumento linear até 25% de B; 22-27 minutos, 50% de B; 27-29, minutos aumento linear de 0% de B; 29-45 minutos, o reequilíbrio da coluna cromatográfica. Foi utilizado fluxo da fase móvel de 1,0mL/minuto em um tempo de corrida de aproximadamente 45 minutos. Como padrões externos adotou-se as cianidina-3-o-rutinosídeo e cianidina3-o-glicosídeo. A

identificação e quantificação dos compostos fez-se com base nos tempos de retenção, comparados com elaboração de curva padrão.

#### 4.5 Composição e Preparo das Dietas Experimentais

A composição das dietas experimentais foi baseada na AIN-93M normolipídica e hiperlipídica (CINTRA et al., 2012) e ambas acrescidas de 2% de jambolão liofilizado (CONSTANCIO, 2015; SANT'ANA, 2014). As dietas foram elaboradas uma vez por semana e para isso os ingredientes eram pesados, misturados, amassados e moldados na forma de *pellets* e acondicionados em sacos de polietileno, identificados e sob refrigeração. A composição das dietas experimentais é descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g/kg)

Ingrediente	CT* (AIN-93M)	CT+J*	HF*	HF+J*
Amido de Milho	465,7	445,7	153,7	133,7
Caseína	140	140	140	140
Sacarose	100	100	100	100
Amido Dextrinizado	155	155	155	155
Celulose Microfina	50	50	50	50
Óleo de Soja	40	40	40	40
Banha Animal	-	-	312	312
Mistura Mineral	35	35	35	35
Mistura Vitamínica	10	10	10	10
L-cistina	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5
Jambolão Liofilizado	-	20	-	20

\* CT\*: Dieta Controle; CT+J: Dieta Controle acrescida com 2% de jambolão; HF: Dieta Hiperlipídica; HF+J: Dieta Hiperlipídica acrescida com 2% de jambolão. Caseína, Amido Dextrinizado, Celulose Microfina, Mistura mineral (AIN-93M), Mistura vitamínica (AIN-93M), L-cistina e Bitartarato de colina foram adquiridos na Rhoster®; Amido de Milho (Maizena®); Sacarose (União®); Óleo de soja (Soya®); Banha animal (fornecedor local).

#### 4.6 Ensaio Biológico

O ensaio biológico foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental e Fisiologia Humana do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS/UFES).

Foram demandados 43 camundongos machos, adultos, da raça Swiss (*Albinus musculus*), com nove semanas de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram submetidos a uma dieta controle (CT) baseada na AIN-93M (n=22) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) ou hiperlipídica (HF, n=21), durante 8 semanas (CINTRA et al., 2012), caracterizando a primeira fase do experimento ou fase de indução (representada como período T<sub>0</sub>-T<sub>1</sub>). Após, os animais foram distribuídos em 4 grupos, onde ocorreu a inserção de grupos experimentais com dietas suplementadas com 2% de jambolão liofilizado (NOVELLO, 2011): dieta controle (CT, n=10); dieta controle acrescida de 2% de jambolão liofilizado (CT+J, n=12); dieta hiperlipídica (HF, n=9) e hiperlipídica acrescida de 2% de jambolão liofilizado (HF+J, n=12), por um período de 9 semanas, caracterizando a segunda fase do experimento ou fase de suplementação (representada como período T<sub>1</sub>-T<sub>2</sub>). A Figura 3 apresenta o fluxograma do delineamento experimental.

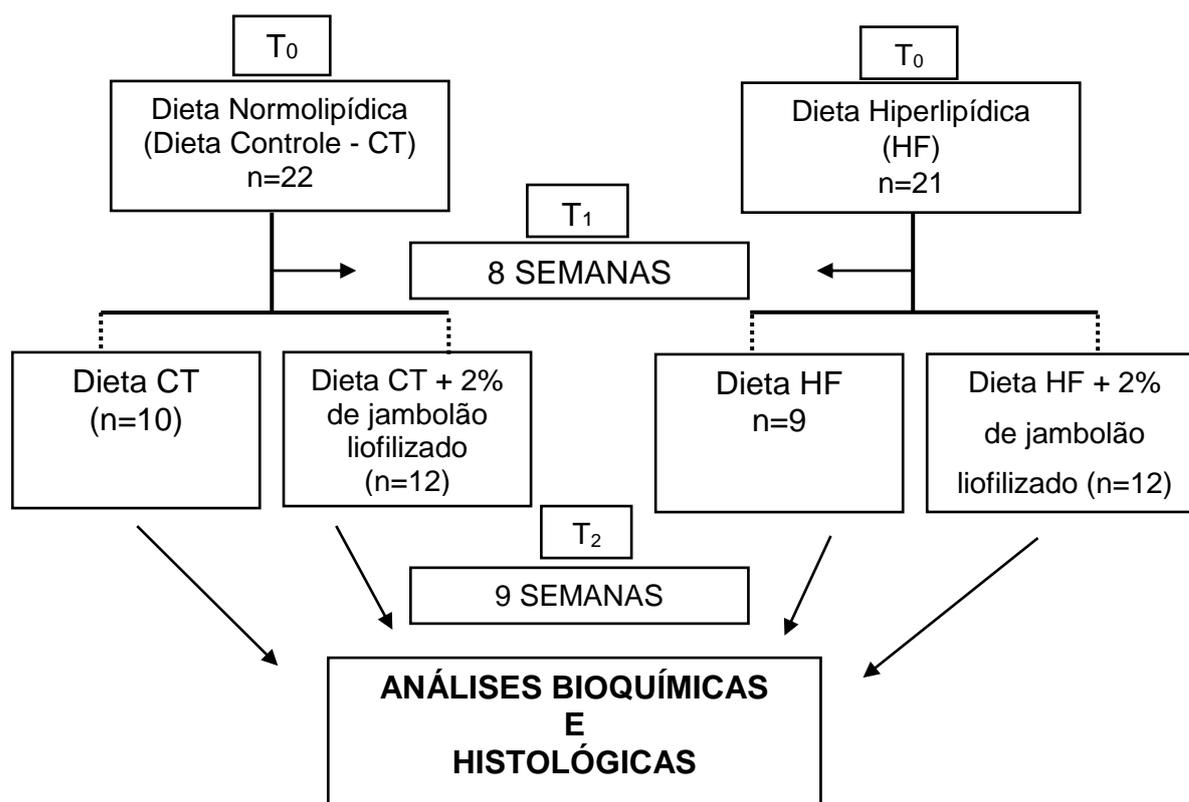


Figura 3. Fluxograma do delineamento experimental

CT: dieta controle normolipídica (AIN-93M); HF: dieta hiperlipídica. T<sub>0</sub>: período inicial; T<sub>1</sub>: período final da fase de indução e período inicial da fase de suplementação. T<sub>0</sub>-T<sub>1</sub>: 1<sup>a</sup> a 8<sup>a</sup> semana (fase de indução); T<sub>1</sub>-T<sub>2</sub>: 9<sup>a</sup> a 17<sup>a</sup> semana (fase de suplementação); T<sub>2</sub>: período final da fase de suplementação e do experimento.

Os animais foram mantidos em pares, acomodados em caixas de polietileno, com temperatura controlada de  $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, recebendo água e dieta *ad libitum*. O peso corporal e o consumo alimentar dos animais foram avaliados semanalmente e ao final do experimento foi avaliada o coeficiente de eficiência alimentar (CEA). A seguir é demonstrada a forma como o peso e o CEA foram tratados, para os cálculos do término de cada fase experimental: Peso inicial ( $P_0$ ), peso corporal inicial dos camundongos, referentes ao T<sub>0</sub>. Peso final ( $P_1$ ), peso final dos camundongos, referentes ao T<sub>1</sub>, ou último dia da fase de indução. Esse peso também se refere ao peso inicial da fase de suplementação. Peso final ( $P_2$ ), peso final dos camundongos, referentes ao término da fase de suplementação, no T<sub>2</sub>. Seguindo o apresentado a seguir, foram avaliados os CEA da fase de indução (T<sub>0</sub>-T<sub>1</sub>) e da fase de suplementação (T<sub>1</sub>-T<sub>2</sub>), como apresentado a seguir:

$CEA (T_0-T_1) = (P_1-P_0)/CA_1$  (Aonde=  $CA_1$ = Consumo alimentar do período  $T_0-T_1$ )

$CEA (T_1-T_2) = (P_2-P_1)/CA_2$  (Aonde=  $CA_2$  = Consumo alimentar do período  $T_1-T_2$ )

Ao término do período experimental, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e preparou-se solução anestésica de 0,75mL de cetamina + 0,5mL de xilazina + 0,75mL de soro fisiológico. A cada 100g de peso corporal do animal, 0,2mL da solução era administrada por via intraperitoneal. A eutanásia foi realizada por exsanguinação e o sangue foi coletado por punção cardíaca e acondicionado em microtubos não heparinizados, que foram centrifugados a 2500g por 15 minutos a 4°C para obtenção do soro. O soro foi transferido para microtubos identificados e armazenado à -80°C até o momento das análises. Também foram coletadas amostras de fígado e tecido adiposo epididimal esquerdo, para as análises histológicas. Em seguida, fez-se a relação entre o peso de cada um dos órgãos previamente pesados, em relação ao peso final (P2) de cada animal. Todos os procedimentos experimentais realizados foram conduzidos de acordo com o “National Institutes of Health Guidelines for the Care and Use of Experimental Animals” e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo, protocolo nº 016/2013 (Anexo A).

#### **4.7 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios**

As análises de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), triacilgliceróis, ácidos graxos não esterificados (NEFA) e glicose foram realizadas por analisador bioquímico automático (Mindray BS120, Bioclin®/Quibasa) do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia e Nutrição (CCENS/UFES). As análises foram determinadas a partir do soro dos animais, utilizando-se kits comerciais enzimáticos colorimétricos (Bioclin®). O índice aterogênico foi calculado de acordo com o proposto por Souza et al. (2010) de acordo com a fórmula:

$$(\text{colesterol total} - \text{HDL}) \times (\text{HDL})^{-1}.$$

Já a concentração de lipoproteína de baixa densidade (LDL) foi estimada pela Equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972):

$$\text{LDL(mg/dL)} = \text{colesterol total} - \text{HDL} - (\text{triacilgliceróis}/5)$$

A determinação das moléculas de adesão intercelular-1 (ICAM-1), e-selectina e inibidor de ativação do plasminogênio-1 (PAI-1) foi realizada por kits Miliplex (MILLIPORE®), no Laboratório Especializado em Análises Clínicas (LEAC, São Paulo-SP).

#### **4.8 Análise Histológica**

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Morfologia Animal do Departamento de Biologia (CCENS/UFES). Após a eutanásia dos animais, o fígado e o tecido adiposo epididimal esquerdo foram coletados e fixados em formol tamponado (10%), permanecendo por 3 e 21 dias, respectivamente. Posteriormente, fragmentos de aproximadamente 1cm<sup>2</sup> desses órgãos foram desidratados em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%) por 30 minutos em cada etapa. Após, os fragmentos receberam um banho de etanol 100% acrescido de xilol (1:1) por 15 minutos, seguidos de dois banhos de xilol por 5 minutos cada. Os tecidos foram embebidos em três banhos de parafina (65°C), por 30 minutos cada e foram incluídos em parafina. Os blocos formados foram armazenados em freezer até o momento dos cortes. Utilizou-se um micrótomo (Leica RM2235) para os cortes dos blocos, cuja espessura foi ajustada para 5µm.

Os cortes foram estendidos em banho-maria (40°C) e colocados em lâminas de vidro, previamente higienizadas com álcool 70%, que foram estocadas em laminários de madeira para a secagem em temperatura ambiente. Após secas, foi feito o processo de montagem das lâminas, como descrito: as lâminas foram desparafinizadas com dois banhos de xilol por 20 minutos cada e em seguida receberam banho de etanol 100% acrescido de xilol (1:1) por 10 minutos. Em sequência, os cortes foram desidratados com dois banhos de etanol 100% por 5 minutos. Após, as lâminas foram colocadas em água corrente durante 3 minutos. Os cortes receberam, então, coloração com Hematoxilina-Eosina, que durou 30

segundos e 10 minutos, respectivamente. Em seguida, os cortes foram novamente desidratados com dois banhos de álcool 100% e diafanizados com dois banhos de xilol por 30 segundos, cada. Por fim, os cortes foram cobertos com lamínulas de vidro, sobre bálsamo do Canadá.

Foram tiradas microfotografias dos cortes histológicos utilizando-se microscópio óptico acoplado a uma câmera de captação de imagens (Zess) com auxílio do software Zen 2.0. Para a análise do fígado, foram capturadas aleatoriamente, 5 imagens de cada animal, utilizando-se a lente objetiva de 20x. Essa análise ocorreu de forma qualitativa, em que o grau da esteatose hepática foi classificado em: nenhum hepatócito afetado (0), menos que 33% do parênquima afetado (+), entre 33 e 66% do parênquima afetado (++) e maior que 66% do parênquima afetado (+++) (CINTRA et al., 2006). Já para o tecido adiposo, foram feitas microfotografias de uma região do tecido para observar aleatoriamente um campo de 30 adipócitos, podendo-se fazer necessário o uso de 2 a 3 fotos, sendo avaliada a área de cada adipócito, com auxílio do software Image J.

#### **4.9 Análise Estatística**

Inicialmente foi empregado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Para os dados que seguiram distribuição normal foi empregado o teste *t* para avaliar os grupos CT e HF, antes do período de suplementação. Os dados que não seguiram distribuição normal foram transformados, utilizando-se a função log 10. Utilizou-se a “Two-way” análise de variância (ANOVA), para avaliar o efeito da dieta e do fruto e/ou as interações entre os grupos experimentais (CT, HF, CT+J e HF+J). Para os dados que apresentaram interação Dieta x Fruto, a análise foi desdobrada e utilizou-se o teste *t* para analisar separadamente os efeitos da dieta e do jambolão. Os resultados foram expressos em média e erro padrão. Já as análises de composição físico química foram realizadas em triplicata e analisadas com ANOVA complementada com teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas dos dados foram realizadas com o auxílio do programa Statistica versão 10.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição centesimal, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* do jambolão liofilizado

Os dados referentes à análise de composição centesimal, compostos fenólicos e capacidade antioxidante do jambolão liofilizado, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Composição centesimal, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro* do jambolão liofilizado

Análises	Concentração
Lipídeos (g/100g)	0,60
Proteínas (g/100g)	5,03
Cinzas (g/100g)	2,75
Umidade (g/100g)	25,20
Carboidratos (g/100g)	66,42
Compostos fenólicos totais (mg AGE/g)	71,29
Atividade antioxidante - ABTS ( $\mu\text{mols Trolox/g}$ )	117,5
Atividade antioxidante – DPPH (% de retirada de radical DPPH)	93,7

Dados expressos em médias de 3 repetições.

Resultados semelhantes aos da composição centesimal do presente estudo foram apresentados por Constancio (2015) e Dos santos (2015), que encontraram, respectivamente, 0,9 e 2,23g de lipídeos; 2,69 e 4,82g de proteínas; 3,12g e 2,73g de cinzas; 74,70g e 71,77g de carboidratos (g/100g).

No estudo de Constancio (2015), resultados inferiores foram observados para compostos fenólicos totais (8,17mg AGE/g) e para a capacidade antioxidante determinada pelo método do ABTS (71,58 $\mu\text{mols Trolox/g}$ ), quando comparados ao presente trabalho. Rufino et al. (2010) encontraram resultados semelhantes ao presente estudo, para a capacidade antioxidante do jambolão (125 $\mu\text{mols Trolox/g}$ ) e resultados inferiores para o conteúdo de compostos fenólicos totais (11,17mg AGE/g). Tais diferenças entre as concentrações de compostos bioativos pode ser atribuída às variações de fatores como solo, clima e práticas de colheita. Entretanto, as informações quanto ao plantio e manejo adequado do jambolão ainda são vagas, igualmente as informações referentes ao manejo pós-colheita e processamento (VIZZOTO; FETTER, 2009).

No estudo de Veigas et al. (2007), a atividade antioxidante do extrato da casca do jambolão foi de 78%, o que, segundo os autores, é classificado como uma atividade de intensidade moderada a alta. No presente estudo, foi observada uma atividade antioxidante ainda maior do extrato da casca e polpa do jambolão liofilizado. Sugere-se que a atividade antioxidante do jambolão se assemelhe a da acerola que apresenta mais de 90% de atividade antioxidante e se destaca em relação a laranja, que apresenta 70% de atividade antioxidante (MELO et al, 2008).

A alta atividade antioxidante do jambolão, caracteriza uma importante forma de reverter o desequilíbrio gerado no organismo quando submetido ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo é definido como um excesso na produção de espécies reativas de oxigênio, o que determina mudanças estruturais e funcionais no organismo, podendo modular ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas. O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e antioxidantes pode desencadear lesões celulares, aumentar a expressão de genes oncogênicos, promover eventos cardiovasculares como a aterogênese e inflamação. Todos esses eventos levam ao desenvolvimento de câncer, neurodegeneração, doenças cardiovasculares e diabetes (KOZLOWSKA; SZOSTAK-WEGIEREK, 2014; PISOSCHI; POP, 2015; REIS et al., 2016; YANG et al., 2011). Dessa forma, o consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes, é essencial para reverter o desequilíbrio gerado no organismo. A alta atividade antioxidante do jambolão é relacionada com a presença de compostos bioativos, como os compostos fenólicos e antocianinas (FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011; REIS et al., 2016). Os compostos fenólicos são conhecidos principalmente por sua atividade antioxidante, mas também são reconhecidos como importantes agentes cardiometabólicos, uma vez que conseguem eliminar espécies reativas de oxigênio, além de estimular as defesas antioxidantes do organismo (VALKO et al., 2007).

Quanto as antocianinas, as cianidinas são as majoritárias encontradas no jambolão, embora a literatura científica demonstre que ainda há presença de delphinidinas, petunidinas, malvidinas e peonidinas (DE BRITO et al., 2007; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011; VEIGAS et al., 2007). Na Figura 4 são apresentados os cromatogramas de antocianinas majoritárias (cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo), encontradas no jambolão. O primeiro pico, identificado como C3G, refere-se à cianidina 3-O-glicosídeo com concentração de

0,56mg/g e o segundo pico, identificado como C3R, refere-se à cianidina 3-O-rutinosídeo com concentração de 10,51mg/g. Pela soma das concentrações de ambas as antocianinas detectadas, obteve-se 11,07mg/g no jambolão liofilizado.

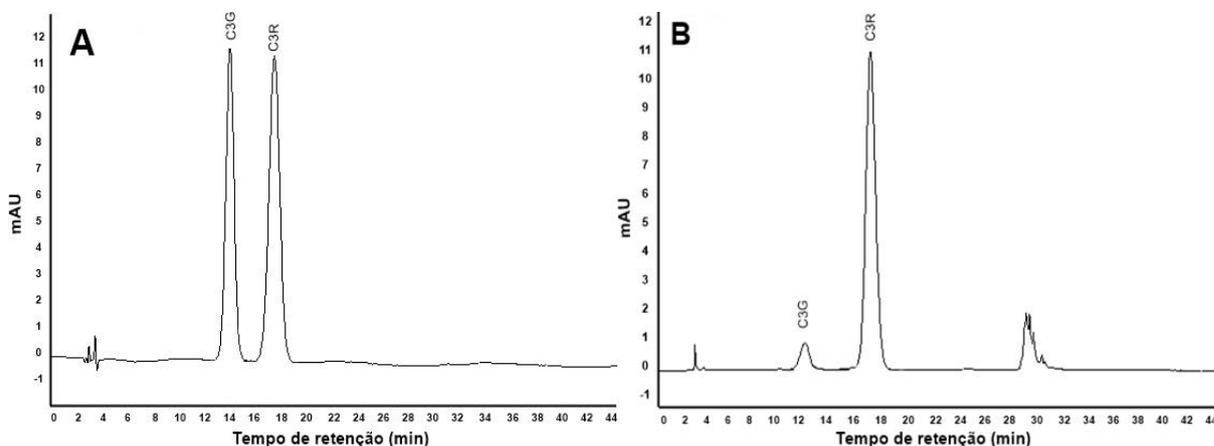


Figura 4. Cromatogramas de antocianinas presentes no jambolão liofilizado, obtido por CLAE

A: padrão externo (cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo); B: jambolão liofilizado. CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência. C3G: cianidina 3-O-glicosídeo. C3R: cianidina 3-O-rutinosídeo. Condições cromatográficas: sistema CLAE-DAD com detecção a 520 nm; coluna C18 (Phenomenex Gemini, 250 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m), equipada com coluna guarda (Phenomenex ODS C18, 4 mm x 3 mm); fase móvel – água ultrapura, pH 2, o qual foi ajustado com ácido fórmico (linha A) e acetonitrila (linha B) (89:11, v/v); fluxo da fase móvel: 1,0 mL/minuto; tempo de corrida de, aproximadamente, 45 minutos.

## 5.2 Composição centesimal das dietas experimentais

A análise de composição centesimal das dietas experimentais é apresentada na Tabela 4. Para lipídeos, os grupos HF e HF+J apresentaram os maiores valores, quando comparados aos demais grupos experimentais, sendo 9 vezes maiores. Tal resultado era esperado, uma vez que a composição das dietas experimentais hiperlipídicas (HF e HF+J), continha 31,2% de banha animal. A justificativa para os grupos CT e CT+J apresentarem maiores valores de umidade, se deve ao fato de que essas dietas recebiam adição de água durante o seu preparo, para possibilitar a produção dos *pellets* para oferta aos animais. As dietas hiperlipídicas, não demandavam esse acréscimo de água, uma vez que o alto teor de banha animal, proporcionava a elaboração de *pellets* mais fáceis de modelar. Para carboidratos, o

grupo CT+J apresentou os maiores valores ( $p < 0,05$ ). Destaca-se que os resultados das análises de proteínas não demonstraram diferença estatística entre os grupos experimentais. Para as calorias das dietas, os grupos com dietas hiperlipídicas (HF e HF+J), ofereciam quase o dobro de calorias, quando comparados com os grupos CT e CT+J ( $p < 0,05$ ).

Tabela 4. Composição centesimal das dietas experimentais (g/100g e kcal/100g)

AMOSTRAS	CT	CT+J	HF	HF+J
Lipídeos	3,98 ± 0,17 <sup>b</sup>	4,03 ± 0,28 <sup>b</sup>	35,21 ± 2,72 <sup>a</sup>	35,01 ± 1,7 <sup>a</sup>
Proteínas	10,02 ± 0,54	9,60 ± 0,94	13,09 ± 2,39	11,93 ± 0,56
Cinzas	2,88 ± 0,17 <sup>b</sup>	2,66 ± 0,05 <sup>b</sup>	3,95 ± 0,22 <sup>a</sup>	4,50 ± 0,57 <sup>a</sup>
Umidade	26,58 ± 0,25 <sup>a</sup>	11,03 ± 3,67 <sup>b</sup>	4,08 ± 0,23 <sup>c</sup>	4,19 ± 0,25 <sup>c</sup>
Carboidratos	56,46 ± 0,72 <sup>b</sup>	72,67 ± 4,49 <sup>a</sup>	43,61 ± 4,89 <sup>c</sup>	45,61 ± 2,76 <sup>c</sup>
Calorias	301,00 ± 2,15 <sup>c</sup>	365,4 ± 12,67 <sup>b</sup>	544,00 ± 13,54 <sup>a</sup>	549,20 ± 17,07 <sup>a</sup>

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). CT: dieta controle normolipídica; CT+J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; HF: dieta hiperlipídica; HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado.

### 5.3 Consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA)

Na Tabela 5 são apresentados os valores de peso inicial, peso final, ganho de peso, consumo diário e coeficiente de eficiência alimentar (CEA), referente ao período T0 a T1, assim chamado para identificar a primeira fase do experimento ou fase de indução, que antecede à suplementação, onde T0 representa o momento inicial dos animais no experimento e T1 marca o término da fase de indução.

Tabela 5. Peso inicial (g), peso final (g), ganho de peso (g), consumo diário (g) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos camundongos alimentados com as dietas experimentais, durante a fase de indução (períodos T0 a T1)

Parâmetros	Grupos experimentais		Teste T (valor de p)
	CT (n=20)	HF (n=21)	
Peso inicial (P0)	49,82 ± 1,29	49,18 ± 1,62	0,758
Peso final (P1)	58,83 ± 1,59	61,16 ± 2,28	0,408
Ganho de Peso (g)	10,04 ± 1,07	13,78 ± 1,45	<b>0,048</b>
Consumo diário (g)	7,86 ± 0,19	4,37 ± 0,08	<b>&lt;0,001</b>
CEA (T1)	2,15 ± 0,27	5,60 ± 0,53	<b>&lt;0,001</b>

Dados expressos em média ± EP. CT: dieta controle normolipídica; HF: dieta hiperlipídica. P0: Peso corporal dos animais no período T0 (início do experimento e da fase de indução). P1: Peso corporal dos animais no período T1 (8ª semana, final da fase de indução e início da fase de suplementação). CEA: coeficiente de eficiência alimentar.

Não foram observadas diferenças estatísticas quanto ao peso inicial (T0) e peso final (T1) em ambos os grupos. Os animais alimentados com a dieta hiperlipídica apresentaram um maior ganho de peso e menor consumo diário ( $p < 0,05$ ). Também foi observado um maior coeficiente de eficiência alimentar para a dieta hiperlipídica ( $p < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a eficácia das dietas, devido ao fato de que embora o grupo CT tenha consumido mais dieta do que o grupo HF, a alta densidade calórica da dieta hiperlipídica proporcionou maior ganho de peso no grupo HF em relação ao grupo CT.

A Tabela 6 mostra os dados de peso inicial, peso final, ganho de peso, consumo diário e CEA no período que compreendeu a fase de suplementação (T1 a T2). Nesta fase, T1 marca o fim da fase de indução e início da fase de suplementação e T2 marca o fim da fase de suplementação. Não foram observados efeitos da interação Dieta x Jambolão em nenhum dos parâmetros analisados, embora os efeitos isolados, dieta ou jambolão, tenham exercido efeito sobre alguns parâmetros.

Tabela 6. Peso inicial (g), peso final (g), ganho de peso (g), consumo diário (g) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos camundongos alimentados com as dietas experimentais, durante a fase de suplementação (períodos T1 a T2)

Parâmetros	Grupos Experimentais				ANOVA (valores p)		
	CT (n=8)	CT+J (n=10)	HF (n=5)	HF+J (n=10)	Efeito da Dieta	Efeito do Jambolão	Interação DietaxJambolão
Peso inicial (T1)	59,96±2,62	57,87±2,34	57,90±3,32	59,17±2,34	0,88	0,87	0,53
Peso final (T2)	64,76±2,43	67,95±2,17	67,30±3,07	71,56±2,17	0,22	0,14	0,83
Ganho de peso (T2-T1)	6,16±2,01	10,08±1,55	9,40±2,20	14,77±1,74	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>	0,70
Consumo diário (T2)	7,01±0,17	7,21±0,15	4,04±0,21	4,73±0,15	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,01</b>	0,16
CEA (T2)	1,41±0,64	2,35±0,52	3,69±0,70	5,67±0,59	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,02</b>	0,40

Dados expressos em média ± EP. Os efeitos da dieta, jambolão e da interação Jambolão x Dieta foram testados utilizando-se Anova Fatorial ( $p < 0,05$ ). CT: dieta controle normolipídica; CT=J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; HF: dieta hiperlipídica; HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado

Não foram observados efeitos da dieta, do jambolão ou da interação de ambos sobre o peso inicial (P1) e peso final (P2) dos animais experimentais durante o período T1 a T2. Já para o ganho de peso, foi observada influência da dieta e do jambolão ( $p < 0,05$ ). O efeito da dieta sobre o ganho de peso se explica devido ao alto conteúdo de lipídeo nas dietas hiperlipídicas, que favorecem a um ganho de peso mais acentuado. Já sobre o efeito do jambolão, a literatura apresenta resultados tanto de diminuição quanto de aumento de peso com a suplementação com jambolão. Os trabalhos de Prince, Menon e Pari (1998) relataram diminuição do ganho de peso, com a administração do jambolão, já em outros estudos como o de Singh e Gupta (2007) é possível observar que animais diabéticos que foram tratados com extratos de sementes de jambolão tiveram um acentuado ganho de peso, o mesmo foi abordado nos trabalhos de Prince, Kamalakkannan e Menon (2004), em que animais hiperglicêmicos apresentavam perda de peso acentuada sem a administração do jambolão o que era revertido com a suplementação do extrato das folhas do fruto.

Quanto ao consumo alimentar (Tabela 6), observou-se influência da dieta e do jambolão ( $p < 0,05$ ). O efeito exercido pela dieta pode ser justificado pela alta densidade calórica e o maior conteúdo lipídico das dietas hiperlipídicas (Tabela 4). Já os grupos que recebiam suplementação com jambolão (CT+J e HF+J) apresentaram maior consumo alimentar quando comparados com as mesmas dietas sem adição do fruto (CT e HF, respectivamente), o que pode ser atribuído a melhor palatabilidade que o jambolão ofereceu as dietas.

Por fim, o CEA sofreu influência da dieta e do jambolão ( $p < 0,05$ ), onde os fatores contribuíram para os maiores valores serem apresentados nos grupos que recebiam dietas hiperlipídicas.

#### **5.4 Biomarcadores metabólicos e inflamatórios**

Na Tabela 7 estão listados os parâmetros metabólicos e inflamatórios no soro dos camundongos alimentados com as dietas experimentais.

Tabela 7. Parâmetros metabólicos e inflamatórios em soro dos camundongos alimentados com as dietas experimentais

Parâmetros	Grupos Experimentais				ANOVA (valores p)		
	CT (n=5)	CT+J (n=8)	HF (n=6)	HF+J (n=6)	Dieta	Jambolão	JambolãoxDieta
Triacilglicerol(mg/dL)	115,57±16,69	72,34±13,19	52,06±15,23	69,61±15,23	<b>0,04</b>	0,40	0,06
Colesterol (mg/dL)	114,85±11,17	103,41±8,44	147,03±9,12	140,59±9,12	<b>&lt;0,001</b>	0,35	0,79
HDL (mg/dL)	64,97±6,55	56,65±5,17	69,40±5,97	65,32±5,17	0,26	0,29	0,71
LDL (mg/dL)	58,90±11,46	55,91±9,06	68,04±11,46	65,19±9,68	0,38	0,78	0,99
Índice Aterogênico*	1,18±0,12	1,17±0,10	1,11±0,10	1,18±0,12	0,84	0,79	0,73
CT/HDL*	2,18±0,13	2,24±0,10	2,10±0,11	2,20±0,10	0,62	0,46	0,84
LDL/HDL*	0,84±0,13	0,99±0,10	0,93±0,13	1,03±0,11	0,61	0,30	0,83
Glicose (mg/dL)	329,57±41,8	222,75±31,2	296,3±35,4	368,7±33,1	0,12	0,63	<b>0,01</b>
NEFA (mEq/L)	3,62±0,54	3,21±0,41	2,23±0,44	2,61±0,44	<b>0,04</b>	0,97	0,40
e-selectina	34,95±10,7	18,51±8,1	39,71±8,8	17,68±8,8	0,83	<b>0,04</b>	0,76
ICAM-1 (pg/mL)	26,92±3,8	36,12±2,7	44,14±3,4	37,36±2,8	<b>&lt;0,001</b>	0,71	<b>0,02</b>
PAI-1 (pg/mL)	6,03±1,7	3,63±1,2	4,29±1,5	4,07±1,2	0,65	0,37	0,46
AST (U/L)	111,09±15,58	77,54±11,61	134,33±13,16	75,57±14,22	0,44	<b>&lt;0,001</b>	0,36
ALT (U/L)	22,94±6,74	27,75±5,70	42,80±5,70	65,63±6,15	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,03</b>	0,15

Dados expressos em média ± EP. Os efeitos dieta, jambolão e a interação JambolãoxDieta foram testados utilizando-se Anova Fatorial (p<0,05). CT: dieta controle normolipídica; CT=J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; HF: dieta hiperlipídica; HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado; \*Índice aterogênico: (colesterol total – HDL-c) x (HDL-c)<sup>-1</sup> (SOUZA et al., 2010); Colesterol total/HDL e LDL/HDL (Índices de Castelli I e II, respectivamente). NEFA: ácidos graxos não esterificados; ICAM-1: molécula de adesão intercelular; PAI-1: inibidor de ativação do plasminogênio 1; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase.

As dietas ricas em gordura são associadas ao desenvolvimento de obesidade e dislipidemias. O tipo de gordura ingerida se relaciona com a composição corporal, perfil lipídico, expressão de biomarcadores inflamatórios e alterações que podem contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MENSINK et al., 2003; PANIAGUA, 2016; OUCHI et al., 2016).

Quanto a concentração de triacilgliceróis, foi observado efeito da dieta ( $p < 0,05$ ), com altos valores no grupo CT. Esse resultado pode ser justificado pelo fato da dieta CT ter mais carboidratos em sua composição, na forma de amido de milho, quando comparada com as dietas hiperlipídicas, onde o macronutriente predominante é o lipídeo. Ramos-Lopez et al. (2016) sugerem que dietas ricas em carboidratos também podem desencadear hipertrigliceridemias, como foi observado no presente trabalho, em que a dieta influenciou os valores lipídicos sanguíneos.

Quanto ao colesterol, também foi observado efeito da dieta ( $p < 0,05$ ), onde o fator dieta contribuiu para os altos valores dos grupos que receberam dieta hiperlipídica (HF e HF+J). Os autores Kennedy et al. (2009), Milanski et al. (2009) e Niknam et al. (2014), sugerem que dietas ricas em gorduras, principalmente as saturadas, exercem influência sobre o aumento dos níveis plasmáticos de colesterol, enquanto as gorduras monoinsaturadas exercem efeito contrário, diminuindo o colesterol plasmático (KENNEDY et al., 2009; MILANSKI et al., 2009; NIKNAM et al., 2014).

A concentração de glicose, foi afetada pela interação dieta e fruto ( $p < 0,05$ ). A Figura 5 retrata a glicemia dos animais experimentais e permite observar que apenas os grupos CT+J e HF+J diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ), onde o grupo HF+J apresentou os maiores valores de glicemia.

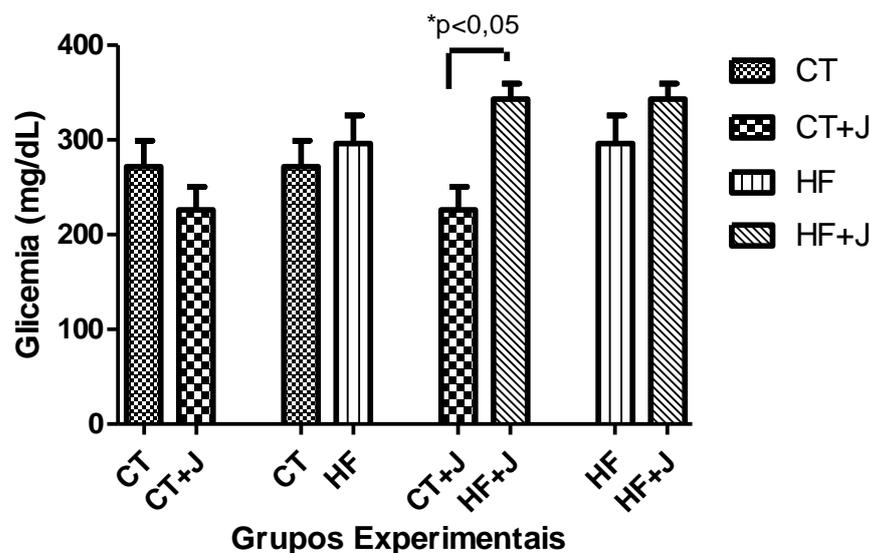


Figura 5. Glicemia dos animais experimentais

Dados expressos em média  $\pm$  DP. CT: dieta controle normolipídica; CT+J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; HF: dieta hiperlipídica; HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado. \*Diferença estatística entre os grupos CT+J e HF+J pelo teste  $t$  ( $p < 0,05$ ).

A hiperglicemia é um fator que causa danos nas células cardíacas promovendo o desenvolvimento de cardiomiopatias, processo em que ocorre aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, tendo como resultado o estresse oxidativo forte nos cardiomiócitos (ATALE et al., 2016). Diversas partes do jambolão, incluindo sementes e polpa, são reconhecidas como grandes aliadas na terapia do diabetes, diminuindo as concentrações de glicose. Tal efeito se deve ao alto teor de compostos fenólicos e antocianinas presentes no fruto (SWAMI et al., 2012). Redução das concentrações de glicose, bem como uma melhor resposta à insulina, devido à suplementação com jambolão, foram observadas nos estudos de Sharma et al. (2003) e Sharma, Balomajumder e Roy (2008) com ratos diabéticos e ratos obesos, respectivamente, que receberam extratos de jambolão ricos em flavonoides. Entretanto, no presente estudo, o consumo de jambolão associado ao alto consumo de dieta hiperlipídica não resultou em diminuição da glicemia.

Os ácidos graxos não esterificados (NEFA) sofreram influência da dieta ( $p < 0,05$ ), onde o fator contribuiu para os menores valores observados nos grupos que receberam dieta HF e HF+J. O excesso de NEFA pode provocar elevada secreção de insulina pelo pâncreas, provocando lipotoxicidade. Tanto dietas ricas em lipídeos, quanto dietas ricas em carboidratos podem levar ao aumento nas

concentrações de glicose, insulina circulante e NEFA, fatores que contribuem para o desenvolvimento de resistência à insulina. Um fluxo elevado de NEFA no fígado aumenta a síntese de triacilgliceróis e secreção de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (SNIDERMAN; CIANFLONE, 1993), além de inibir a captação de glicose mediada pelo estímulo insulínico, ocasionando a resistência à insulina periférica. Sendo assim, a hipertrigliceridemia em associação, ou não, com o aumento de NEFA, comum em indivíduos diabéticos, apresentam papel importante no desenvolvimento de DCV (HARDMAN, 1999).

No presente estudo, dois grupos experimentais receberam dietas hiperlipídicas, baseadas na adição da banha animal. Entretanto, a banha animal não apresenta apenas gorduras saturadas, como também gorduras monoinsaturadas (40,08%), gorduras poliinsaturadas (14,68%) e cerca de 45,05% de gorduras saturadas (ALMEIDA et al., 2009). O tipo de gordura da alimentação está associado com o perfil lipídico e expressão de biomarcadores inflamatórios, o que pode explicar por que nem todos os parâmetros metabólicos e inflamatórios analisados expressaram resultados significativos. Dietas saturadas, por exemplo são associadas ao desenvolvimento de doenças como obesidade e doenças cardiovasculares, devido ao seu perfil pró-inflamatório (SOUZA et al., 2005), enquanto que gorduras monoinsaturadas são retratadas com potencial efeito protetor contra o desenvolvimento de doenças, melhora do perfil lipídico e diminuição de respostas inflamatórias (DIJK et al., 2009). Finucane et al. (2015) demonstraram que dietas hiperlipídicas com altos teores de ácidos graxos monoinsaturados podem melhorar a sensibilidade à insulina, além de diminuir a expressão de biomarcadores inflamatórios.

Vasodilatação, inibição da disfunção endotelial e inibição da agregação plaquetária são mecanismos de proteção contra DCV. O óxido nítrico está envolvido na regulação do tônus vascular, além da supressão da expressão de moléculas de adesão endotelial. A e-selectina é um marcador confiável, fortemente associado com fatores de risco cardiovascular e que intercede a interação plaquetas-leucócitos. A e-selectina é expressa em situações de resposta inflamatória, quando células endoteliais são ativadas e atua como um agente adesivo. Estudos indicam uma associação das altas concentrações de e-selectina com infarto do miocárdio e aumento da pressão sanguínea (DEROSA; MAFFIOLI, 2016). Igualmente, a

molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) é relacionada com a incidência de DCV entre homens e mulheres. Ela é expressa em concentrações baixas pelas células endoteliais, linfócitos e monócitos, entretanto, em casos de inflamação, suas concentrações podem ser significativamente elevadas pela presença de citocinas e espécies reativas de oxigênio (HUBBARD; ROTHLEIN, 2000; RIDKER et al., 2000). As concentrações de ICAM-1 aumentam anos antes do primeiro infarto do miocárdio do indivíduo cardíaco, o que a torna uma boa preditora do risco cardiovascular (RIDKER et al., 2000).

Foi observado efeito do jambolão ( $p < 0,05$ ) sobre as concentrações de e-selectina, onde o fator contribuiu para os menores valores expressos pelos grupos CT+J e HF+J. Tal resultado evidencia o efeito positivo do jambolão sobre a expressão de marcadores inflamatórios associados à saúde vascular, em especial a e-selectina, uma vez que não foram encontrados estudos que avaliaram o efeito da suplementação com jambolão sobre as concentrações de e-selectina.

Sugere-se que a capacidade de reduzir as concentrações de biomarcadores inflamatórios como ICAM, VCAM e e-selectina, se atribua à ação de compostos fenólicos, amplamente difundidos entre as frutas. No estudo de Novotny et al. (2015), os autores trabalharam com suco de cranberry e observaram efeitos na redução de proteínas C reativas, entretanto, não foram observados efeitos de redução nas concentrações de ICAM-1 e VCAM-1.

No presente estudo, a concentração de ICAM-1 sofreu efeito tanto da dieta isoladamente, quanto da interação Dieta x Jambolão. A Figura 6, demonstra as concentrações de ICAM-1 dos animais experimentais e permite observar que o grupo HF diferiu do grupo HF+J ( $p < 0,05$ ), onde o grupo HF apresentou os maiores valores de ICAM-1, demonstrando um possível efeito do jambolão em reduzir as concentrações dessa molécula de adesão, quando em presença de uma dieta rica em gordura. O grupo HF também diferiu do grupo CT ( $p < 0,05$ ), apresentando, novamente, os maiores valores, demonstrando a associação do alto consumo de gordura com a expressão elevada de ICAM-1.

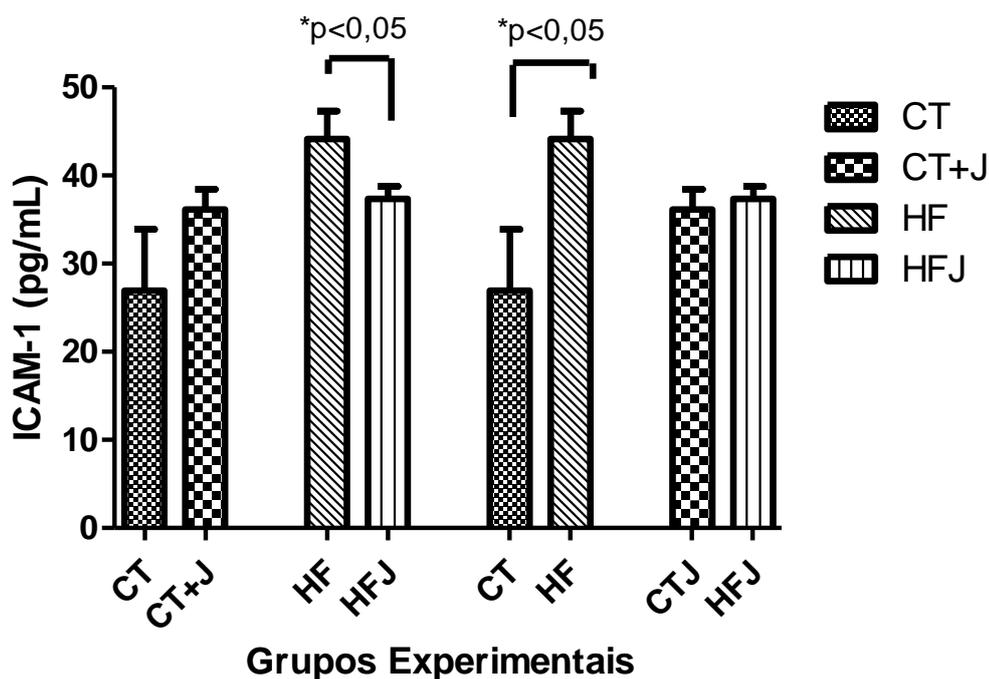


Figura 6. Molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) dos animais experimentais

Dados expressos em média  $\pm$  DP. CT: dieta controle normolipídica; CT+J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; HF: dieta hiperlipídica; HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado. \*Diferença estatística entre os grupos HF e HF+J; CT e HF pelo teste  $t$  ( $p < 0,05$ ).

Os resultados destacados anteriormente chamam atenção para o consumo do jambolão. As dietas suplementadas com 2% de jambolão liofilizado, são ricas em compostos fenólicos e antocianinas, o que faz com que desempenhem efeitos sobre o perfil lipídico, efeitos antioxidantes e efeitos na redução da expressão de marcadores inflamatórios, fatores relacionados com o menor risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (CHAGAS; FRANÇA; PAES, 2015; MARAN; SIVAKUMAR, 2015; REIS et al., 2016; SHUKLA et al., 2014).

A concentração de aspartato aminotransferase (AST), sofreu influência do jambolão ( $p < 0,05$ ), onde o fator contribuiu para os menores valores apresentados pelos grupos suplementados com jambolão liofilizado (CT+J e HF+J). Para alanina aminotransferase (ALT), foi observada influência da dieta e do jambolão, mas não da interação de ambos ( $p < 0,05$ ).

Danos hepáticos podem provocar a liberação de enzimas como AST e ALT na circulação, fazendo com que ambas sejam utilizadas como bons marcadores de hepatotoxicidade. Níveis elevados de AST se relacionam às lesões hepáticas

semelhantes as provocadas por hepatite viral, infarto e danos musculares. Da mesma forma, ALT, que medeia a conversão de alanina em piruvato e glutamato, é utilizada como indicador específico de injúrias no fígado (ABOLFATHI et al., 2012). Sharma et al. (2013) reportaram diminuição das concentrações séricas de AST e ALT com administração de extrato de semente de jambolão em camundongos *Swiss* diabéticos. Hossain et al. (2011) também demonstraram efeito do jambolão na redução das enzimas.

### **5.5 Análise dos tecidos hepático e adiposo epididimal**

Os resultados referentes a análise do fígado e tecido adiposo epididimal, são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Análise dos tecidos hepático e adiposo epididimal dos animais experimentais

Parâmetros	Grupos Experimentais				ANOVA (valores p)		
	CT (n=7)	CT+J (n=8)	HF (n=5)	HF+J (n=9)	Efeito da Dieta	Efeito do Jambolão	Interação Dieta x Jambolão
Fígado (g)	2,07 ± 0,19	1,95 ± 0,18	2,14 ± 0,22	2,22 ± 0,16	0,38	0,92	0,60
Fígado/P2 (%)*	3,17 ± 0,21	2,82 ± 0,20	3,15 ± 0,25	3,13 ± 0,19	0,51	0,41	0,39
TA (g)	0,81 ± 0,12	0,91 ± 0,11	1,30 ± 0,15	1,14 ± 0,11	<b>&lt;0,01</b>	0,82	0,33
TA/P2 (%)**	1,26 ± 0,20	1,31 ± 0,19	1,94 ± 0,24	1,62 ± 0,18	<b>0,02</b>	0,52	0,39
Área Adipócitos	0,89x10 <sup>6</sup> ± 1,28x10 <sup>6</sup>	0,72x10 <sup>6</sup> ± 1,28x10 <sup>6</sup>	1,27x10 <sup>6</sup> ± 1,28x10 <sup>6</sup>	1,02x10 <sup>6</sup> ± 1,28x10 <sup>6</sup>	<b>0,009</b>	0,17	0,95

Dados expressos em média ± EP. CT: dieta controle normolipídica; CT=J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; HF: dieta hiperlipídica; HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado. TA: Tecido Adiposo. P2: Peso final (17ª semana, fim da fase de suplementação). \*Peso do fígado/Peso corporal final dos animais x 100 e \*\*Peso do tecido adiposo/Peso corporal final dos animais x 100.

Não foram observados efeitos do fruto em nenhum dos parâmetros analisados. No entanto, foi observado efeito da dieta sobre o peso do tecido adiposo (g) e na relação tecido adiposo/peso final experimental ( $p < 0,05$ ). Neste caso, o consumo de dieta hiperlipídica provocou aumento do tecido adiposo.

Em relação à área dos adipócitos, observa-se o efeito da dieta ( $p < 0,05$ ), o que confere à dieta hiperlipídica a capacidade de induzir o aumento da área dos adipócitos. Essa informação é importante, uma vez que o tecido adiposo secreta substâncias que estão envolvidas na homeostase corporal. Entretanto, o tecido adiposo hipertrofiado apresenta alto grau de inflamação, com aumento da secreção de proteínas pró-inflamatórias e mediadores inflamatórios. Como pode ser verificado na Tabela 7, os animais tratados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores concentrações sérica de colesterol e de ICAM-1. Ainda, destaca-se que o grupo HF (Tabela 7) apresentou o maior valor para e-selectina, embora não se tenha evidenciado efeito da dieta para esse parâmetro. Ressalta-se que alterações na secreção de biomarcadores inflamatórios podem contribuir para o desenvolvimento de resistências sistêmicas à insulina, obesidade, dentre outras comorbidades que agravam o processo inflamatório (CASPAR-BAUGUIL et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2007; KERSHAW; FLIER, 2004).

O quadro inflamatório gerado pela obesidade pode ser promovido pela via de sinalização do fator nuclear kB (NFkB). A estimulação dessa via pode ocorrer por interação de um ligante aos receptores de superfície celular, como os receptores do tipo Toll (TLR-4), os quais podem ser ativados por lipopolissacarídeos (LPS) ou por ácidos graxos, como os saturados. Quando um ácido graxo saturado se liga ao receptor pode ocorrer liberação da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), expressão de prostaglandinas, proteínas C reativas, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), interleucinas e demais biomarcadores inflamatórios, como ICAM e PAI-1 (DANDONA; ALJADA; BANDYOPADHYAY, 2004; LAU et al., 2005; LEE et al., 2001; VAN GAAL; MERTENS; DE BLOCK, 2006). No presente estudo, as dietas hiperlipídicas eram compostas por uma grande fração de banha animal (31,2%), a qual contem grande concentração de ácidos graxos saturados; o que pode ter favorecido à sinalização para expressão de biomarcadores inflamatórios no animais tratados com dietas HF. Na Figura 7 são apresentadas as microfotografias do tecido hepático e do tecido adiposo epididimal dos camundongos.

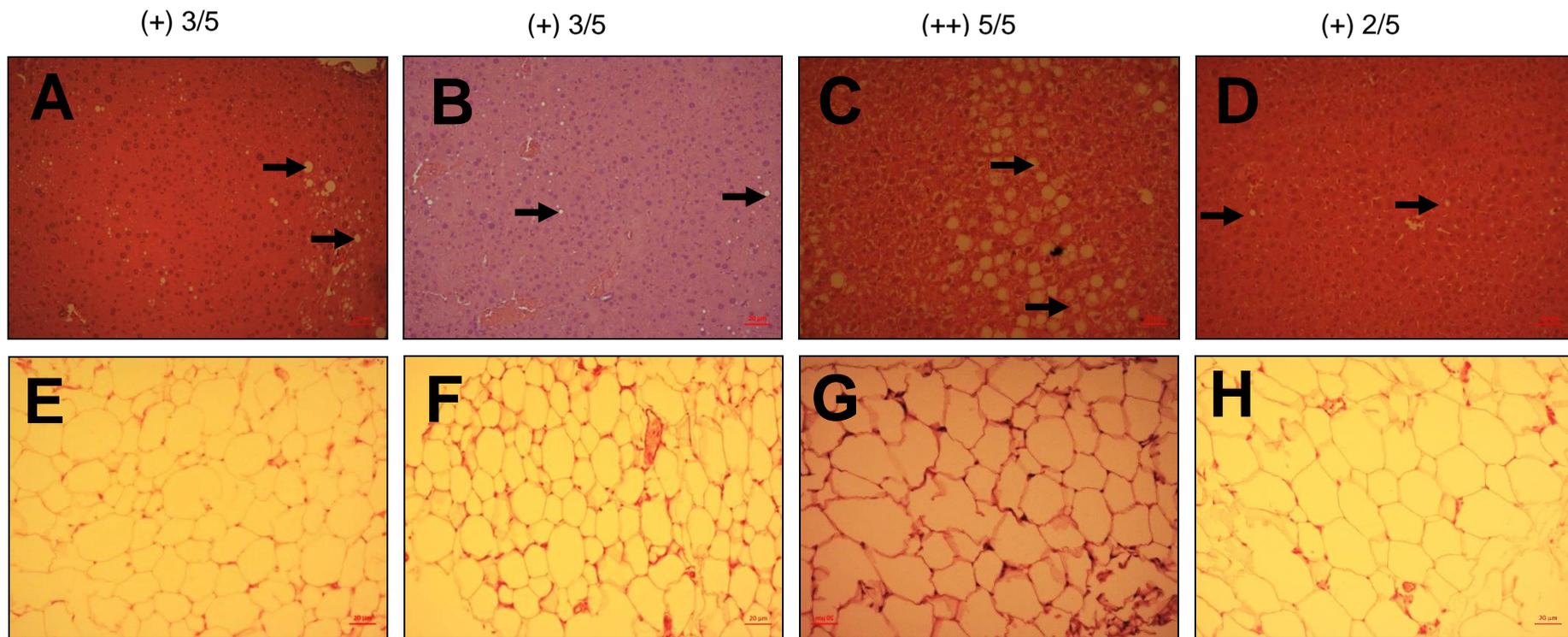


Figura 7. Fotomicrografias dos tecidos hepático (A,B,C e D) e adiposo epididimal (E,F,G e H) dos camundongos (n=5/grupo)

A e E - CT: dieta controle normolipídica; B e F - CT+J: dieta controle normolipídica + 2% de jambolão liofilizado; C e G- HF: dieta hiperlipídica; D e H - HF+J: dieta hiperlipídica + 2% de jambolão liofilizado. Menos que 33% (+), entre 33% e 66% (++) e maior que 66% (+++). Coloração hematoxilina-eosina (HE), barra 20 µm. Resolução 500 pixels. As setas indicam deposição lipídica no parênquima hepático. 3/5: em 5 animais avaliados 3 apresentaram a característica. 5/5: em 5 animais avaliados 5 apresentaram a característica. 2/5: em 5 animais avaliados 2 apresentaram a característica.

O grupo HF foi classificado com infiltração lipídica no fígado entre 33 a 66% dos hepatócitos, ao passo que o grupo HF+J, semelhante aos grupos CT e CT+J, foi classificado com infiltração lipídica inferior a 33% no parênquima hepático. Esse resultado demonstra que a suplementação com 2% de jambolão liofilizado foi eficiente na redução do desenvolvimento de esteatose hepática. Os achados corroboram o estudo de Hossain et al (2011), que demonstrou o efeito protetor do jambolão contra o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica no fígado. Embora os autores tenham trabalhado com animais com esteatose alcoólica, sugere-se que os efeitos encontrados, sejam os mesmos para todas as doenças que tenham como característica um quadro inflamatório, como a esteatose não alcoólica.

Quanto ao tecido adiposo, é possível observar que os adipócitos dos grupos CT e CT+J apresentavam tamanhos e formatos mais uniformes, enquanto que os grupos HF e HF+J apresentavam adipócitos maiores e mais alongados. Esse efeito é atribuído a dieta hiperlipídica que promoveu maior aumento da área dos adipócitos, como discutido na Tabela 8.

Em estudos prévios de nossa equipe de pesquisa, Sant'ana (2014) e Constancio (2015) observaram efeitos da suplementação de dieta de cafeteria com 2% de jambolão liofilizado. No estudo de Sant'ana (2014) foi possível observar uma alta atividade antioxidante sérica do fruto em relação ao grupo controle. No estudo de Constancio (2015) foram observadas reduções significativas nas concentrações de colesterol, LDL, triacilgliceróis e área dos adipócitos dos animais. Vale ressaltar as diferenças quanto às metodologias empregadas nos trabalhos anteriormente citados e no presente estudo, que podem influenciar na diferença de alguns resultados obtidos. Nos trabalhos de Sant'ana e Constancio o objetivo foi avaliar os efeitos do jambolão liofilizado sobre as alterações induzidas pelo consumo de uma dieta de cafeteria, enquanto que no presente estudo o objetivo foi avaliar o efeito do jambolão liofilizado como tratamento alternativo para disfunções geradas pelo consumo de uma dieta hiperlipídica.

## 6 CONCLUSÃO

Como planejado, o modelo experimental conferiu maior ganho de peso nos animais que receberam dieta hiperlipídica, demonstrando que o modelo foi eficaz.

Foi demonstrado que a dieta pode potencializar o processo inflamatório, como o presente em doenças cardiovasculares, promovendo o aumento nas concentrações de colesterol total, aumento da gordura epididimal, promoção de esteatose hepática e expressão de marcadores inflamatórios como ICAM-1 e ALT.

Por outro lado, a suplementação com 2% de jambolão liofilizado foi eficaz em minimizar alguns agravos presentes no processo inflamatório e/ou relacionados ao risco cardiovascular, diminuindo a concentração do biomarcador cardiovascular e-selectina. Ainda, foi possível observar efeito do jambolão sobre a redução das concentrações de ICAM-1, quando na presença de dietas ricas em gordura. Quanto ao seu efeito hepatoprotetor, observou-se redução da lesão hepática, AST e proteção do fígado contra a infiltração lipídica e consequente esteatose hepática, como apresentado na análise histológica do órgão.

Como expectativas futuras, sugere-se a necessidade de novos estudos sobre o jambolão, com aprofundamento das pesquisas na modulação de biomarcadores associados às doenças cardiovasculares, em especial, sobre sua ação na expressão de e-selectina, uma vez que dados na literatura ainda são escassos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEYWARDENA, M. . Dietary fats, carbohydrates and vascular disease: Sri Lankan perspectives. **Atherosclerosis**, v. 171, p. 157–161, 2003.
- ABOLFATHI, A. . et al. Protective effects of green tea extract against hepatic tissue injury in streptozotocin-induced diabetic rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1–10, 2012.
- ALMEIDA, M. E. . et al. Tissue lipid profile of rats fed with different lipid sources. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 51–60, 2009.
- ANBARASAN, C. et al. ICAM-1 molecular mechanism and genome wide SNP's association studies. **Indian Heart Journal**, v. 67, n. 3, p. 282–287, 2015.
- ANDRES-LACUEVA, C.; SHUKITT-HALE, B.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. **Nutritional Neuroscience**, v. 8, n. 2, p. 111–120, 2005.
- ATALE, N. et al. Synthesis and Characterization of Syzygium cumini Nanoparticles for Its Protective Potential in High Glucose-Induced Cardiac Stress: a Green Approach. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 278–289, 2016.
- BALIGA, M. S. et al. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of Eugenia jambolana Lam. (black plum): A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1776–1789, 2011.
- BARH, D.; VISWANATHAN, G. Syzygium cumini Inhibits Growth and Induces Apoptosis in Cervical Cancer Cell Lines: A Primary Study. **Ecancermedicalscience**, v. 83, n. 2, p. 1–9, 2008.
- BHANUPRAKASH, V. et al. In vitro antiviral activity of plant extracts on goatpox virus replication. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, p. 120–127, 2008.
- BJÖRNTORP, P. “Portal” Adipose Tissue as a Generator of Risk Factors for Cardiovascular Disease and Diabetes. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 10, n. 4, p. 493–497, 1990.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- BRITO, F. . et al. Pharmacological study of anti-allergic activity of Syzygium cumini

- (L.) Skeels. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 105–115, 2007.
- CASPAR-BAUGUIL, S. et al. Pro-inflammatory Phospholipid Arachidonic Acid/Eicosapentaenoic Acid Ratio of Dysmetabolic Severely Obese Women. **Obesity Surgery**, v. 22, p. 935–44, 2012.
- CASSIDY, A. et al. Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, p. 338–347, 2011.
- CASSIDY, A. et al. A high anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. **Circulation**, v. 127, n. 2, p. 188–196, 2013.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859–871, 2009.
- CHAGAS, V. . et al. Syzygium cumini (L.) skeels: a prominent source of bioactive molecules against cardiometabolic diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, p. 1–8, 2015.
- CINTRA, D. . et al. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. 1–15, 2012.
- CINTRA, D. E. . et al. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. **Nutrition**, v. 22, p. 197–205, 2006.
- CONSTANCIO, V. . **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**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. 82 f, 2015.
- CORREIA, J. L. . et al. APROVEITAMENTO DO FRUTO JAMBOLÃO (SYZYGIUM CUMINI) PARA ELABORAÇÃO DE VINHO. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis, SC.**, p. 1–8, 2015.
- COSTA, A. G. V. . et al. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 539–549, 2013.
- DANDONA, P.; ALJADA, A.; BANDYOPADHYAY, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. **Trends Immunol**, v. 25, n. 1, p. 4–7, 2004.
- DAS, S.; SARMA, G. Study of the hepatoprotective activity of the ethanolic extract of

the pulp of *Eugenia Jambolona* (Jambun) in albino rats. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 3, p. 1466–1474, 2009.

DE BONA, K. . et al. 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, p. 84–90, 2011.

DE BRITO, E. . et al. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9389–9394, 2007.

DE CATERINA, R. et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation: Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. **Journal of Clinical Investigation**, v. 96, p. 60–68, 1995.

DE OLIVEIRA, G. . et al. Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 381–384, 2007.

DEROSA, G.; MAFFIOLI, P. A review about biomarkers for the investigation of vascular function and impairment in diabetes mellitus. **Vascular Health and Risk Management**, v. 12, p. 415–419, 2016.

DESPRÉS, J.; LEMIEUX, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 881–887, 2006.

DIJK, S. . et al. A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene expression profile in adipose tissue of subjects at risk of metabolic syndrome. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 1656–1664, 2009.

DING, L. et al. The cardiometabolic risk profile of Chinese adults with diabetes: A nationwide cross-sectional survey. **Journal of Diabetes and its Complications**, p. 1–10, 2016.

DOS SANTOS, W. . **EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JAMBOLÃO (*Syzygium cumini* Lamark) COM CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Pará, Belém-PA. 66f., 2015.

EDIRISINGHE, I. et al. Effect of black currant anthocyanins on the activation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in vitro in human endothelial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 16, p. 8616–8624, 2011.

EINBOND, L. S. et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 23–28, 2004.

ELKS, C. M. et al. A blueberry-enriched diet attenuates nephropathy in a rat model of hypertension via reduction in oxidative stress. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, p. 4–13, 2011.

ERLUND, I. et al. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, p. 323–331, 2008.

FABBRINI, E. et al. Alterations in Adipose Tissue and Hepatic Lipid Kinetics in Obese Men and Women With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Gastroenterology**, v. 134, n. 2, p. 424–431, 2008.

FARIA, A. .; MARQUES, M. .; MERCADANTE, A. . 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.

FINGER, J. D. et al. Time Trends in Cardiometabolic Risk Factors in Adults. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 113, n. 8, p. 712–719, 2016.

FINUCANE, O. . et al. Monounsaturated Fatty Acid–Enriched High-Fat Diets Impede Adipose NLRP3 Inflammasome–Mediated IL-1 $\beta$  Secretion and Insulin Resistance Despite Obesity. **Diabetes**, v. 64, p. 2116–28, 2015.

FIRNEISZ, G. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: The liver disease of our age? **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 27, p. 9072–9089, 2014.

FOLLMANN, M. et al. The chemistry and biology of soluble guanylate cyclase stimulators and activators. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, p. 9442–9462, 2013.

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

GAMEZ-MENDEZ, A. . et al. Oxidative Stress-Dependent Coronary Endothelial Dysfunction in Obese Mice. **Plos One**, v. 10, p. 1–17, 2015.

GORDON, A. et al. Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the amazon region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7688–7699, 2011.

GUIMARÃES, D. E. . et al. Adipokines: a new view of adipose tissue. **Revista de**

- Nutrição**, v. 20, n. 5, p. 549–559, 2007.
- HARDMAN, A. . Physical activity, obesity and blood lipids. **International Journal of Obesity**, v. 23, n. 3, p. 64–71, 1999.
- HEITZER, T. M. . et al. Endothelial Dysfunction, Oxidative Stress, and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease. **Circulation**, v. 104, p. 2673–2678, 2001.
- HENSON, P. . Dampening inflammation. **NATURE IMMUNOLOGY**, v. 6, n. 12, p. 1179–81, 2005.
- HOSSAIN, S. et al. Syzygium cumini Seed Extract Protects the Liver Against Lipid Peroxidation with Concurrent Amelioration of Hepatic Enzymes and Lipid Profile of Alcoholic Rats. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 8, n. 1, 2011.
- HUBBARD, A. K.; ROTHLEIN, R. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and cell signaling cascades. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 28, n. 9, p. 1379–1386, 2000.
- IQBAL, R. et al. Dietary Patterns and the Risk of Acute Myocardial Infarction in 52 Countries Results of the INTERHEART Study. **Circulation**, v. 118, p. 1929–1938, 2008.
- ITOH, K. et al. Relationship between Changes in Serum Leptin Levels and Blood Pressure after Weight Loss. **Hypertension Research**, v. 25, n. 6, p. 881–886, 2002.
- JAYAPRAKASAM, B. et al. Amelioration of Obesity and Glucose Intolerance in High-Fat-Fed C57BL / 6 Mice by Anthocyanins and Ursolic Acid in Cornelian Cherry (Cornus mas). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 243–248, 2006.
- JENSEN, M. .; EKBERG, K.; LANDAU, B. . Lipid metabolism during fasting. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 281, p. 789–793, 2001.
- KANERIA, M. et al. Determination of Antibacterial and Antioxidant Potential of Some Medicinal Plants from Saurashtra Region, India. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, n. 4, p. 406–412, 2009.
- KENNEDY, A. et al. Saturated Fatty Acid-Mediated Inflammation and Insulin Resistance in Adipose Tissue: Mechanisms of Action and Implications. **The Journal of Nutrition**, v. 139, p. 1–4, 2009.

- KERSHAW, E. .; FLIER, J. . Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2548–2556, 2004.
- KOZLOWSKA, A.; SZOSTAK-WEGIEREK, D. FLAVONOIDS - FOOD SOURCES AND HEALTH BENEFITS. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny**, v. 65, n. 2, p. 79–85, 2014.
- KUMAR, A.; KUMAR, D. Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* culture. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 667–675, 2016.
- LAGO, E. .; GOMES, E.; DA SILVA, R. Produção de geleia de jabolão (*Syzygium cumini* Lamarck): Processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 847–852, 2006.
- LAU, D. C. W. et al. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, p. 2031–2041, 2005.
- LEE, J. . et al. Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids , Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 20, p. 16683–16689, 2001.
- LIN, C. et al. Prevention of cellular ROS damage by isovitexin and related flavonoids. **Planta Medica**, v. 68, p. 365–367, 2002.
- LOREN, D. . et al. Maternal Dietary Supplementation with Pomegranate Juice Is Neuroprotective in an Animal Model of Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. **Pediatric Research**, v. 57, n. 6, p. 858–864, 2005.
- MARAN, J. . et al. Extraction of natural anthocyanin and colors from pulp of jamun fruit. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3617–3626, 2015.
- MASTAN, S. . et al. Cardioprotective effect of methanolic extract of *Syzygium cumini* seeds on isoproterenol-induced Myocardial Infarction in rats. **Der Pharmacia Lettre**, v. 1, n. 1, p. 143–149, 2009.
- MCGHIE, T. .; WALTON, M. . The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, p. 702–713, 2007.
- MELO, E. . et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193–201, 2008.
- MENSINK, R. . et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of

serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 1146–1155, 2003.

MILANSKI, M. et al. Saturated Fatty Acids Produce an Inflammatory Response Predominantly through the Activation of TLR4 Signaling in Hypothalamus: Implications for the Pathogenesis of Obesity. v. 29, n. 2, p. 359–370, 2009.

MINK, P. . et al. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: a prospective study in postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, p. 895–909, 2007.

MIYAKE, Y. et al. Difference in plasma metabolite concentration after ingestion of lemon flavonoids and their aglycones in humans. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 52, p. 54–60, 2006.

MUKHERJEE, P. . et al. Screening of anti-diarrheal profile of some plant extracts of a specific region of West Bengal, Indian. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, p. 85–89, 1998.

MURUGANANDAN, S. et al. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. **Fitoterapia**, v. 72, p. 369–375, 2001.

NANGIA, R.; SINGH, H.; KAUR, K. Prevalence of cardiovascular disease (CVD) risk factors. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 72, p. 315–319, 2016.

NIKNAM, M. et al. Dietary fatty acids and inflammatory markers in patients with coronary artery disease. **Advanced Biomedical Research**, p. 1–7, 2014.

NOVELLO, A. . **Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis Martius*) e sua atuação nas atividades antioxidantes e antiaterogênica em camundongos APOE -/-**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição). Universidade Federal do Viçosa, Viçosa-MG. 80f, 2011., 2011.

NOVOTNY, J. A. et al. Cranberry juice consumption lowers markers of cardiometabolic risk, including blood pressure and circulating C-reactive protein, triglyceride, and glucose concentrations in adults. **The Journal of nutrition**, v. 145, n. 6, p. 1185–93, 2015.

OLIVEIRA, A. C. P. et al. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, n. 3, p. 465–469, 2005.

OUCHI, N. et al. Protective Roles of Adipocytokines and Myokines in Cardiovascular

Disease. **Circulation Journal**, v. 80, n. 10, p. 2073–2080, 2016.

PANDAREESH, M. .; MYTHRI, R. .; BHARATH, M. . Bioavailability of dietary polyphenols: Factors contributing to their clinical application in CNS diseases. **Neurochemistry International**, p. 1–11, 2015.

PANIAGUA, J. . Nutrition, insulin resistance and dysfunctional adipose tissue determine the different components of metabolic syndrome. **World Journal of Diabetes**, v. 7, n. 19, p. 483–514, 2016.

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

PRINCE, P. S. M.; KAMALAKKANNAN, N.; MENON, V. P. Antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of alcoholic Syzgium cumini seeds in alloxan induced diabetic albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 2–3, p. 209–213, 2004.

PRINCE, P. S. M.; MENON, V. P.; PARI, L. Hypoglycaemic activity of Syzgium cumini seeds: Effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 1–7, 1998.

QIN, Y. et al. Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 485–492, 2009.

RAFFAELLI, F. et al. Effects of in vitro supplementation with Syzygium cumini (L.) on platelets from subjects affected by diabetes mellitus. **Platelets**, v. 26, n. 8, p. 720–725, 2015.

RAMOS-LOPEZ, O. et al. Sweet taste receptor TAS1R2 polymorphism (VAI191VAI) is associated with a higher carbohydrate intake and hypertriglyceridemia among the population of west Mexico. **Nutrients**, v. 8, p. 1–12, 2016.

RE, R. et al. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

REEVES; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of**

**nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1993.

REIS et al. Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, p. 1–16, 2016.

RIDKER et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 12, p. 836–846, 2000.

RODRIGUEZ-MATEOS, A. et al. Intake and time dependence of blueberry flavonoid-induced improvements in vascular function: a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study with mechanistic insights into biological activity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, p. 1–13, 2013.

ROSS, R. ATHEROSCLEROSIS - AN INFLAMMATORY DISEASE. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 2, p. 115–126, 1999.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SAIKIA, S.; MAHNOT, N. .; MAHANTA, C. . A comparative study on the effect of conventional thermal pasteurisation, microwave and ultrasound treatments on the antioxidant activity of five fruit juices. **Food Science and Technology International**, v. 22, n. 4, p. 288–301, 2016.

SANT'ANA, M. . **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA CASCA DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO AÇAÍ JUSSARA (*Euterpe edulis Martius*) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. 44f., 2014.

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

SCHERER, P. E. Adipose tissue: From lipid storage compartment to endocrine organ. **Diabetes**, v. 55, n. 6, p. 1537–1545, 2006.

SEVERO, J. et al. Destanização e conservação de frutos de jambolão. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 976–982, 2010.

SHARMA, B. et al. Liver protective effects of aqueous extract of *Syzygium cumini* in Swiss albino mice on alloxan induced diabetes mellitus. **Journal of Pharmacy Research**, v. 6, n. 8, p. 853–858, 2013.

SHARMA, B.; BALOMAJUMDER, C.; ROY, P. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 7, p. 2376–2383, 2008.

SHARMA, S. B. et al. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p. 201–206, 2003.

SHUKLA, S. K. et al. *Eugenia jambolana* Pretreatment Prevents Isoproterenol-Induced Myocardial Damage in Rats: Evidence from Biochemical, Molecular, and Histopathological Studies. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 2, p. 244–253, 2014.

SINGH, N.; GUPTA, M. Effects of ethanolic extract of *Syzygium cumini* (Linn) seed powder on pancreatic islets of alloxan diabetic rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 45, n. 10, p. 861–867, 2007.

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

SNIDERMAN, A. D. A.; CIANFLONE, K. Substrate delivery as a determinant of hepatic apoB secretion. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 13, n. 5, p. 629–636, 1993.

SODHI, K. et al. Role of Serum Biomarkers in Early Detection of Non-Alcoholic Steatohepatitis and Fibrosis in West Virginian Children. **Journal of Clinical & Cellular Immunology**, v. 7, n. 1, p. 1477–1490, 2016.

SORESCU, D. et al. Superoxide Production and Expression of Nox Family Proteins in Human Atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, p. 1429–1435, 2002.

SOTO-VACA, A. et al. Evolution of good polyphenolics from color and flavor problems to health benefits Evolution of Phenolic compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 6658–6677, 2012.

SOUZA, M. et al. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**,

v. 26, n. 7/8, p. 804–810, 2010.

SOUZA, T. DE et al. Consumption of a Fat-Rich Diet Activates a Proinflammatory Response and Induces Insulin Resistance in the Hypothalamus. **Endocrinology**, v. 146, p. 4192–99, 2005.

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

STROBEL, N. A. et al. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. **International Journal of Cardiology**, v. 147, n. 2, p. 191–201, 2011.

SUMNER, M. . et al. Effects of Pomegranate Juice Consumption on Myocardial Perfusion in Patients With Coronary Heart Disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 96, n. 6, p. 810–814, 2005.

SWAMI, S. . et al. Jamun (*Syzygium cumini* (L.)): A Review of Its Food and Medicinal Uses. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 1100–1117, 2012.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4ª edição ed. Campinas-SP: NEPA/UNICAMP, 2011.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44–84, 2007.

VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; DE BLOCK, C. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 875–880, 2006.

VAUZOUR, D. et al. Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. **Nutrients**, v. 2, n. 11, p. 1106–1131, 2010.

VEIGAS, J. M. et al. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 619–627, 2007.

VIZZOTO, M.; FETTER, M. . **Jambolão: o poderoso antioxidante**. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPACT-2010/12299/1/jambolao-Marcia.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2016.

WAJCHENBERG, B. . et al. Adipose tissue at the crossroads in the development of the metabolic syndrome, inflammation and atherosclerosis. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 2, p. 145–150, 2009.

WHO. **Global Status Report on noncommunicable diseases 2014**. 1. ed. Geneva,

Switzerland: World Health Organization, 2014.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, n. 7, p. 838–849, 2004.

YANG, D. et al. Epigallocatechin gallate inhibits angiotensin II-induced endothelial barrier dysfunction via inhibition of the p38 MAPK/HSP27 pathway. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 31, n. 10, p. 1401–6, 2010.

YANG, M. et al. Food Matrix Affecting Anthocyanin Bioavailability: Review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 291–300, 2011.

ZHANG, L. L.; LIN, Y. M. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 10, p. 2301–2309, 2009.

## ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética



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 jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), da palmeira jussara (*Euterpe edulis Martius*) e do jabolão (*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 do  
Comitê de Ética no Uso de Animais  
CEUA / UFES

Vitória (ES), 20 de maio de 2013.