



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO - UFOP
ESCOLA DE NUTRIÇÃO – ENUT



GABRIELLY THAÍS DOS SANTOS

**EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM POLPA DE AÇAÍ
DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE O ESTADO OXIDATIVO DE
RATAS E SUAS PROLES**

OURO PRETO

2019

GABRIELLY THAÍS DOS SANTOS

**EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM POLPA DE AÇAÍ
DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE O ESTADO OXIDATIVO DE
RATAS E SUAS PROLES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos parciais para à obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Dr.^a Melina Oliveira de Souza

Coorientadora: Dr.^a Priscila Oliveira Barbosa

OURO PRETO

2019

S237e

Santos, Gabrielly Thaís dos.

Efeito da dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí durante a gestação e lactação sobre o estado oxidativo de ratas e suas proles [manuscrito] / Gabrielly Thaís dos Santos. - 2019.

57f.: il.: color; graf; tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Melina Oliveira de Souza.
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Priscila Oliveira Barbosa.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Departamento de Nutrição .

1. Açaí. 2. Dieta hiperlipídica. I. Souza, Melina Oliveira de . II. Barbosa, Priscila Oliveira . III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 612.39



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor GABRIELLY THAÍS DOS SANTOS

Título do trabalho EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM POLPA DE AÇAÍ DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE O ESTADO OXIDATIVO DE RATAS E SUAS PROLES

Membros da banca

Nome - titulação - Instituição - Melina Oliveira de Souza - Doutorado - Universidade Federal de Ouro Preto

Nome - titulação - Instituição - Karina Barbosa de Queiroz - Doutorado - Universidade Federal de Ouro Preto

Nome - titulação - Instituição - Carina Cristina Pena - Nutricionista e mestranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição, UFOP

Versão final

Aprovado em 17 de dezembro de 2019

Data de defesa: 11 de novembro de 2019

De acordo

Professor (a) Orientador (a) Melina Oliveira de Souza



Documento assinado eletronicamente por **Melina Oliveira de Souza, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 17/12/2019, às 20:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0029051** e o código CRC **FD18317E**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.204039/2019-18

SEI nº 0029051

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: 3135591844 - www.ufop.br

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, ao meu noivo e aos meus familiares, amigos e colegas.

Dedico também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial a minha orientadora Dr.^a Melina Oliveira de Souza e a minha coorientadora Dr.^a Priscila Oliveira Barbosa, pela colaboração e paciência durante o desenvolvimento desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me guiado neste caminho do início até o fim. E também aos meus pais, Rosilene Fátima de Oliveira Santos e Roberto Geraldo dos Santos, e a minha irmã Isabela Beatriz dos Santos, pelo incentivo, apoio e amor incondicional, durante toda a minha vida.

Agradeço a toda a minha família, pelo grande apoio que me deram durante todo o curso, especialmente aos meus avós, Iva Escolastica de Fátima Oliveira e Wander Luís de Oliveira, que são um motivo de grande orgulho para mim. Obrigada, primos, tias e tios pela contribuição valiosa. Agradeço ao meu noivo, Alisson Gurgel do Carmo pelo companheirismo e dedicação que teve comigo, por ter me acompanhando durante todos esses anos.

Agradeço também a minha orientadora Melina Oliveira de Souza e coorientadora Priscila Barbosa de Oliveira por toda a orientação ao longo desse trabalho. A Melina Oliveira de Souza ter me dado a chance de iniciar nesse caminho que é a ciência e por toda explicação e conversas que me motivaram a persistir nesta jornada. A Priscila Barbosa de Oliveira por toda a ajuda nas dosagens e orientação na elaboração desse trabalho e principalmente por toda paciência que teve comigo.

Agradeço à toda a equipe do laboratório, Dr^a Renata Freitas Nascimento, Dr^a Joana Ferreira Amaral, Deuziane Paiva, Lygia Rangel, Maraísa Porfíria S Silva, Daniel de Souza, Carina Pena, Isabela Dias, Patrícia César, Clécia Texeira, Dra. Carla Teixeira Silva, Dra. Daniela Pala, MSc. Raiana Souza e Silva e MSc. Talita Malhagães. A todos que colaboraram que este trabalho Dr^a Karina Queiroz, Daniel Muniz, Marcelo Eustáquio Silva, Jair Pastor, Cloadoaldo, Douglas Coutinho. Dr. Wanderson G de Lima por toda a ajuda na análise histológicas das lâminas. MSc. Sttefany Viana meu muito obrigada pelo suporte com as dosagens de estresse oxidativo. A todos os professores e funcionários do Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas. À professora Maria Terezinha Bahia por ter cedido os kits bioquímicos utilizados neste trabalho.

Meus agradecimentos aos amigos e colegas Gabrielle Araújo, Maycon Amaro, Andreza Drumond, Ana Taynara, Sueli Gonçalves, Isabelle Spnelli e Arelise companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

Aos professores reconheço um esforço gigante com muita paciência e sabedoria. Foram eles que me deram recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias. A todos que fizeram parte diretamente ou indiretamente da minha formação, que contribuíram sem dúvida nessa minha jornada, o meu muito obrigado.

A Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), a Escola de Nutrição e a toda sua direção eu deixo uma palavra de agradecimento por todo ambiente inspirador e pela oportunidade de concluir este curso. Agradeço as agências de fomento e a instituição que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho: Laboratório de Epidemiologia Molecular (LEM), Laboratório de Nutrição Experimental (LABNEX), Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM), Laboratório de Morfopatologia e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

“E a coisa mais divina

Que há no mundo

É viver cada segundo

Como nunca mais.”

(Vinicius de Moraes)

*“É preciso que eu suporte duas ou três larvas se
quiser conhecer as borboletas.”*

(Antoine de Saint-Exupéry)

RESUMO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura nos hepatócitos. Um fator envolvido que leva a progressão da DHGNA é um desequilíbrio do estado oxidativo no fígado, a favor de reações de oxidação. A literatura relata que o consumo materno de uma dieta hiperlipídica durante os períodos de gestação e lactação, pode ser um dos principais fatores para desencadear esta condição clínica em crianças. Atualmente, o açaí (*Euterpe oleracea* Martius) tem sido estudado como estratégia de prevenção e/ou tratamento adjuntivo de doenças metabólicas, devido ao seu alto conteúdo de compostos com efeito antioxidante. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da dieta hiperlipídica (32% de banha de porco e 1% de colesterol) suplementada com polpa de açaí (2%), durante a gestação e a lactação, sobre o estado oxidativo no fígado de ratas e suas proles. Foram utilizadas 32 ratas fêmeas, espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Fischer, com 90 dias de idade, divididas em quatro grupos experimentais, de acordo com a dieta recebida: dieta controle (grupo C), dieta hiperlipídica (grupo HF), dieta controle adicionada de açaí (grupo CA) e dieta hiperlipídica adicionada de açaí (HFA). Nas ratas mães avaliou-se parâmetros como ingestão alimentar, massa corporal e peso do fígado. Nas proles avaliou-se a massa corporal e peso do fígado. Foram avaliados aspectos morfológicos do fígado e quantificado a atividade de enzimas antioxidantes e a concentração de marcadores oxidativos (dialdeído malônico e proteína carbonilada) no fígado das ratas e suas proles. O consumo da dieta hiperlipídica reduziu a ingestão alimentar e aumentou a massa corporal pré-gestacional das ratas. A dieta hiperlipídica foi eficaz para induzir o modelo experimental de DHGNA, promovendo no fígado aumento da massa do órgão, presença de macroesteatose, microesteatose e infiltrado inflamatório, aumentou a atividade das enzimas antioxidantes e maior dano oxidativo lipídico e proteico. A suplementação da polpa de açaí na dieta hiperlipídica foi capaz de prevenir o desenvolvimento da DHGNA nas ratas, alterando parâmetros como peso do fígado, atividade enzimática e marcadores do estresse oxidativo. A ingestão da dieta hiperlipídica materna promoveu nas proles um aumento da massa corporal e no fígado um aumento do peso e presença de macroesteatose, reforçando o efeito deletério da dieta materna sobre o acúmulo de lipídeos no fígado da prole. A polpa de açaí na dieta hiperlipídica materna foi capaz de prevenir o aumento do fígado das proles pós-desmame. Portanto, o consumo da dieta hiperlipídica materna apresentou importante papel na programação metabólica da doença e a suplementação com polpa de açaí foi capaz de prevenir a progressão da DHGNA por atuar no estado oxidativo das ratas.

PALAVRAS-CHAVE: Açaí; Antioxidante; Dieta hiperlipídica; Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica; Estado Oxidativo.

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by excessive fat accumulation in hepatocytes. A key factor that leads to NAFLD progression is an imbalance of oxidative status in the liver in favour of oxidation reactions. The literature reports that maternal consumption of a high-fat diet during pregnancy and lactation may be one of the main factors to trigger this clinical condition in children. Currently, açai (*Euterpe oleracea* Martius) has been studied as a strategy for prevention and/or adjuvant treatment of metabolic diseases, due to its high content of compounds with antioxidant effect. Therefore, the aim of this study is to evaluate the effect of high-fat diet (32% of lard and 1% of cholesterol) supplemented with açai pulp (2%) during pregnancy and lactation on the oxidative state of dams and their offspring. Thirty-two female rats, *Rattus norvegicus* species, Fischer strain, 90 days old, were divided into four experimental groups, according to the received diet: control diet (group C), high-fat diet (group HF), control diet supplemented with açai pulp (CA group) and high-fat diet supplemented with açai pulp (HFA). In dams, parameters such as food intake, body and liver weight were evaluated. In offspring, body and liver weight were evaluated. Morphological aspects of the liver were evaluated and quantified the activity of antioxidant enzymes and the concentration of oxidative markers (malondialdehyde and protein carbonyl) in the liver of dams and offspring. Consumption of the high-fat diet reduced food intake and increased pre-gestational body weight of dams. The high-fat diet was effective to induce the experimental model of NAFLD, promoting increased organ mass in the liver, presence of macrosteatosis, microsteatosis and inflammatory infiltrate, increased antioxidant enzyme activity and increased lipid and protein oxidative damage. Açai pulp supplementation in the high-fat diet was able to prevent the development of NAFLD in dams, changing parameters such as liver weight, enzymatic activity and markers of oxidative stress. Ingestion of maternal high-fat diet promoted an increase in body weight in offspring, and in liver an increase in weight and presence of macrosteatosis, reinforcing the deleterious effect of maternal diet on lipid accumulation in offspring liver. Açai pulp in the maternal high-fat diet was able to prevent enlargement of the liver after weaning although there are no effects on the oxidative state. Therefore, the consumption of maternal high-fat diet played an important role in the metabolic changing of the disease and açai supplementation with açai pulp was able to impede the progress of NAFLD to act in the oxidative state of the rats.

KEYWORDS: Açai; Antioxidant; high-fat diet; Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; Oxidative Status.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espectro das condições clínicas da DHGNA.....	10
Figura 2- Etiopatogenia da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA), teoria dos dois “hits”.....	12
Figura 3- Produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e atividade das enzimas antioxidantes.....	15
Figura 4- Açazeiro, a polpa e produtos derivados do açaí.	17
Figura 5- Delineamento experimental do estudo.....	23
Figura 6- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre a ingestão alimentar diária pré-gestacional das ratas mães.	31
Figura 7- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) massa corporal inicial das ratas, B) massa pré-gestacional das ratas e C) massa final das ratas.	32
Figura 8- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre relativo do fígado das ratas.	33
Figura 9- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) massa corporal das proles e B) peso relativo do fígado das proles.	34
Figura 10- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre os aspectos morfohistológicos do fígado das ratas.	35
Figura 11- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre os aspectos morfohistológicos do fígado das proles.	36
Figura 12- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) atividade hepática da superóxido dismutase das ratas, B) atividade hepática da glutationala peroxidase das ratas e C) atividade hepática da catalase das ratas.	38
Figura 13-- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) atividade hepática da superóxido dismutase das proles, B) atividade hepática da glutationala peroxidase das proles e C)atividade hepática da catalase das proles.	39
Figura 14- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) Concentração hepática de dialdeídomalônico das ratas e B) concentração de proteína carbonilada das ratas.....	40
Figura 15- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) concentração hepática de dialdeído malônico das proles e B) concentração de proteína carbonilada das proles.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.	21
Tabela 2- Composição química das dietas experimentais*.....	22

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

AGL- Ácidos Graxos Livres

CAT - Catalase

Cu- cobre

CV- Veia Central

DHGA- Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica

DNPH- 2,4-dinitrofenilhidrazina

EHNA- Esteatose Hepática Não Alcoólica

ERO- Espécie Reativa de Oxigênio

ERN- Espécies reativas derivadas do nitrogênio

Fe- Ferro

GPx – Glutathione peroxidase

GSSG- Glutathione Oxidada

GR- Glutathione Redutase

2GSH- Glutathione Reduzida

H₂O₂ . Peróxido de hidrogênio LDL- Lipoproteínas de baixa densidade

KCN- Cianeto de Potássio

MDA- Dialdeído Malônico

MTT - 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il) 2,5-difenil tetrazólio brometo

NADPH- Fosfato de Dinucleotídeo de Adenina e Nicotinamida

NO- Óxido nítrico

O₂⁻- Superóxido

O₃-Ozônio

OH⁻ Radical hidroxila

ONOO⁻ - Peroxinitrito

PMsF- Fenilmetilsulfonil Fluoreto

PT- Tríade Portal

SOD – Superóxido dismutase

TBA- Ácido tiobarbitúrico

TACO- Tabela de composição de alimentos

TAG- TriacilglicerolTMTP- 1,1,3,3-tetrametoxipropano

VLDL- Lipoproteínas de muito baixa densidade

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS	v
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1 Doença hepática gordurosa não alcoólica.....	9
2.2 Programação metabólica.....	12
2.3 Espécies reativas, estresse oxidativo e defesas antioxidantes.....	13
2.4 Açaí (euterpe oleracea martius)	16
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 Objetivo geral	19
3.2 Objetivos específicos	19
4. METODOLOGIA CIENTÍFICA	20
4.1 Polpa congelada de açaí	20
4.2 Dietas experimentais	20
4.3 Delineamento experimental	22
4.4 Análises Morfohistológicas	24
4.5 Avaliação do estado oxidativo no fígado.....	24
4.6 Análise estatística	29
5. RESULTADOS	31
5.1 Efeito do consumo da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre ingestão alimentar, massa corporal e peso do fígado das ratas e suas proles	31
5.2 Efeito do consumo da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre aspectos morfohistológicos nas ratas e suas proles.....	34
5.3 Efeito do consumo da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a atividade das enzimas antioxidantes nas ratas e suas proles	36
5.4 Efeito do consumo da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre os marcadores do estresse oxidativo nas ratas e suas proles	39
6. DISCUSSÃO.....	42
7. CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXO	57

1. INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura nos hepatócitos, sem história prévia de consumo crônico de álcool e doenças hepáticas congênitas, autoimunes, virais ou metabólicas (VOS et al., 2017). Essa doença abrange um espectro de condições clínicas, que vão desde uma esteatose hepática não alcoólica (EHNA) simples até a evolução para cirrose ou carcinoma hepático (BRUNT, 2010).

A DHGNA acomete de 10 a 24% da população adulta em diversos países (ROBERTS; YAP, 2006) e de acordo com um estudo de meta-análise é altamente prevalente em todos os continentes, destacando-se os altos índices no Oriente Médio (32%), América do Sul (31%), Ásia (27%), EUA (24%) e Europa (23%) (YOUNOSSI et al., 2016). Na população pediátrica, estima-se que a prevalência desta doença varie de 3% a 7% (PACIFICO et al., 2010), sendo o consumo materno de uma dieta hiperlipídica, durante a fase fetal precoce, apontado como o principal fator para essa condição clínica em crianças (BILBO; TSANG, 2010)

Uma dieta rica em gordura promove um aumento sérico de ácidos graxos livres (AGL), que em excesso podem ser oxidados e/ou transportados para o fígado, aumentando o depósito hepático de triacilgliceróis (TAG) (GOLDBERG; GINSBERG, 2006; PAVLIDES; COBBOLD, 2015). Essa condição de esteatose aumenta a suscetibilidade da ocorrência de reações de oxidação no fígado, sendo o primeiro fator desencadeante para o desenvolvimento da EHNA (NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; CALDWELL, S. H., 2003; BROWNING; HORTON, 2004; WANG, D.; WEI; AGLIASSOTTI, 2006).

Na última década, houve um progresso na compreensão do efeito de um alto consumo dietético de lipídios pela mãe sobre alterações de vias metabólicas no útero, predispondo o feto ao acúmulo de gordura no fígado e possível desenvolvimento de DHGNA (HUGHES; OXFORD, 2014). Apesar deste avanço, ainda existem muitas lacunas a serem respondidas para compreender esses mecanismos e propor medidas de prevenção do desenvolvimento desta doença, tanto na população adulta quanto infantil.

Atualmente, o consumo de alimentos ricos em nutrientes ou compostos bioativos com efeito antioxidante está cada vez mais sendo estudado como estratégia de prevenção e/ou tratamento de doenças metabólicas (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010). Isto porque esses compostos dietéticos antioxidantes podem funcionar como receptores de elétrons não enzimáticos, inibindo a disseminação dos danos oxidativos causados pelas espécies reativas de oxigênio (QUIDEAU et al., 2011).

O açaí (*Euterpe oleracea* Martius) é um fruto da Amazônia que apresenta alto teor de compostos fenólicos, e desde 2006 muitos estudos têm sido realizados buscando avaliar seu potencial efeito antioxidante (SCHAUSS et al., 2006a; YAMAGUCHI et al., 2015). Souza et al. (2010) investigaram o potencial hipocolesterolêmico e antioxidante da polpa de açaí em ratos submetidos as dietas padrão e hipercolesterolemiantes. Os resultados mostraram que o consumo deste fruto apresentou significativo efeito hipocolesterolêmico, reduzindo colesterol total e frações aterogênicas do colesterol. Além disso, este fruto exibiu importante efeito antioxidante em um modelo de hipercolesterolemia induzida por dieta, prevenindo o aumento da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e a formação de produtos de oxidação proteica. O açaí também teve seu efeito antioxidante avaliado em um modelo experimental de DHGNA desenvolvido em camundongos pelo consumo de uma dieta hiperlipídica. Os resultados obtidos mostram que animais que receberam uma dieta hiperlipídica obtiveram maior ganho de massa corporal, resistência a insulina, hepatomegalia, esteatose hepática, alterações dos níveis de mRNA de genes envolvidos no metabolismo lipídico hepático e um desequilíbrio do *status* oxidativo. O consumo de açaí foi capaz de reduzir o quadro de estresse oxidativo no fígado e atenuar o desenvolvimento de DHGNA (GUERRA et al., 2015).

Até o momento, sabe-se que o açaí, devido a sua composição nutricional e fitoquímica, possui importante efeito antioxidante, no metabolismo de lipídeos e no curso do desenvolvimento da DHGNA. Entretanto, ainda não foi estudado se o consumo deste fruto associado à uma dieta hiperlipídica durante os períodos de gestação e lactação poderia influenciar no desenvolvimento da DHGNA na mãe e na prole. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí durante a gestação e a lactação sobre o estado oxidativo hepático de ratas e suas proles.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Por definição, a DHGNA é caracterizada por um acúmulo de gordura nos hepatócitos (superior a 5% do peso do fígado) na ausência de história prévia de ingestão excessiva de álcool. O TAG, é o tipo de lipídeo mais encontrado quando ocorre infiltração gordurosa no fígado, porém outras classes de lipídeo também podem ser identificadas (CRUZ et al., 2016; BORGES et al., 2011).

Esta doença inicia-se com uma condição clínica definida como esteatose simples (também chamada de fígado gorduroso), podendo progredir para uma condição mais grave denominada EHNA, caracterizada por balonismo celular com presença ou ausência de fibrose (CHIESA; ANDREOLI; PACIFICO, 2019). O balonismo hepatocelular consiste no alargamento, em torno de 1,5 a 2 vezes do diâmetro dos hepatócitos, associado à presença de linfócitos e células de *Kupffer* (GIORGIO et al., 2013). Posteriormente, pode evoluir para cirrose e levar a apoptose dos hepatócitos, e em casos mais graves, um carcinoma hepatocelular (CRUZ et al., 2016) (Figura 1). Um estudo sugere que 15% a 39% dos pacientes com DHGNA desenvolverão cirrose hepática em um período de 10 anos (GHETTI, 2019). Além disso, 13% dos pacientes que desenvolvem cirrose, terão uma evolução para carcinoma hepatocelular dentro de 3 anos (WHITE et al., 2012).

A prevalência de DHGNA é de aproximadamente 2% a 5% na população em geral, e aproximadamente 70% dos indivíduos com obesidade mórbida são diagnosticados com essa alteração hepática (WANLESS; LENTZ, 1990; BROWNING et al., 2004; LOSEKANN et al., 2015). É importante destacar que a DHGNA não atinge somente a população adulta, mas acomete também a população infantil (CHIESA; ANDREOLI; PACIFICO, 2019). A prevalência exata da DHGNA na população infantil é incerta, porém a literatura demonstra uma prevalência de 3% a 10% em populações pediátricas em geral, podendo aumentar para 60% a 70% em indivíduos com comorbidades metabólicas associadas (HAGSTRÖM et al., 2018). Benetolo et al. (2019) descreveram a prevalência de 28% da DHGNA entre crianças e adolescentes brasileiros acompanhados em uma clínica ambulatorial de obesidade.

A DHGNA é uma doença multissistêmica, afetando vários órgãos extra-hepáticos, e pode ser um fator causal de várias doenças metabólicas extra-hepáticas como, por exemplo, obesidade, hipertensão, dislipidemias, resistência periférica à insulina, diabetes mellitus e

doenças cardiovasculares (PORTELA; MELO; SAMPAIO, 2013; CHIESA; ANDREOLI; PACIFICO, 2019). Vale ressaltar, que essas doenças metabólicas também podem atuar como fatores de risco para o desenvolvimento da DHGNA. Outro importante fator de risco para o aparecimento da DHGNA é o consumo excessivo de dietas hipercalóricas, gorduras saturadas, carboidratos refinados e frutose (BENETOLO et al., 2019; GHETTI, 2019).

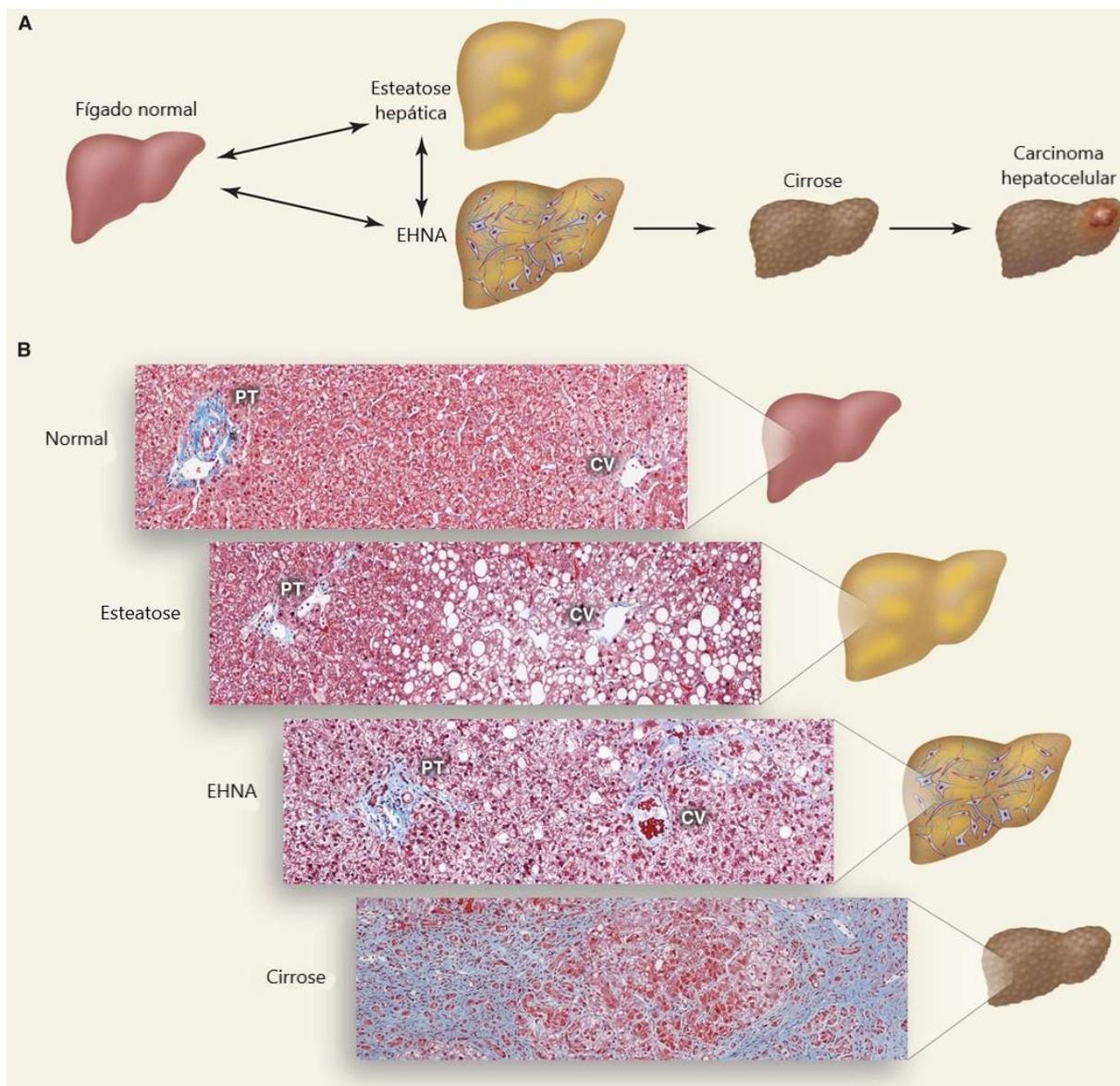


Figura 1 - Espectro das condições clínicas da DHGNA.

Esquema da progressão da DHGNA. O acúmulo de TAG nos hepatócitos provoca o desenvolvimento de esteatose. A esteatose associada à inflamação leva a morte celular e fibrose sendo chamada de Esteatose Hepática Não Alcoólica (EHNA), que pode evoluir para Cirrose. Indivíduos com cirrose têm um risco aumentado de desenvolver Carcinoma Hepatocelular. (B) Seções histológicas ilustrando fígado normal, esteatose hepática, EHNA e cirrose. As fibras de colágeno estão coradas de azul utilizando o tricrômico de Masson. PT: tríade portal, que consiste na artéria hepática, veia porta e ducto biliar; CV: veia central. Fonte: Cohen e Horton et al., 2011.

Neste sentido, a etiopatogenia da DHGNA pode ser explicada pela teoria proposta por Day e James (1998), que sugere o aparecimento de dois “*hits*”. No primeiro *hit* ocorre o aumento do fluxo de AGL na corrente sanguínea e uma redução na liberação hepática das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) para os tecidos. Isto provoca um acúmulo de TAG no fígado em forma de gotículas de gordura, tornando o órgão mais susceptível a uma disfunção mitocondrial, com concomitante aumento na produção de espécies reativas do oxigênio (ERO) (ANSTEE; GOLDIN, 2006; MOURA et al., 2012; GIORGIO et al., 2013; MAGGIONI, 2014). Esse aumento na produção de ERO pode desencadear o segundo *hit*, onde um aumento do dano oxidativo pode contribuir para uma progressão da fibrose e reações de oxidação de lipídeos, levando a um dano hepatocelular por inibição mitocondrial das enzimas da cadeia respiratória, inativação da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase e dos canais de sódio na membrana. Além da lesão hepatocelular, ocorre um aumento na produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias e de endotoxinas resultantes do sistema imune inato, evoluindo assim, para uma esteato-hepatite e progressão da doença hepática (ROLO, 2011; GIORGIO et al., 2013; MAGGIONI, 2014) (Figura 2).

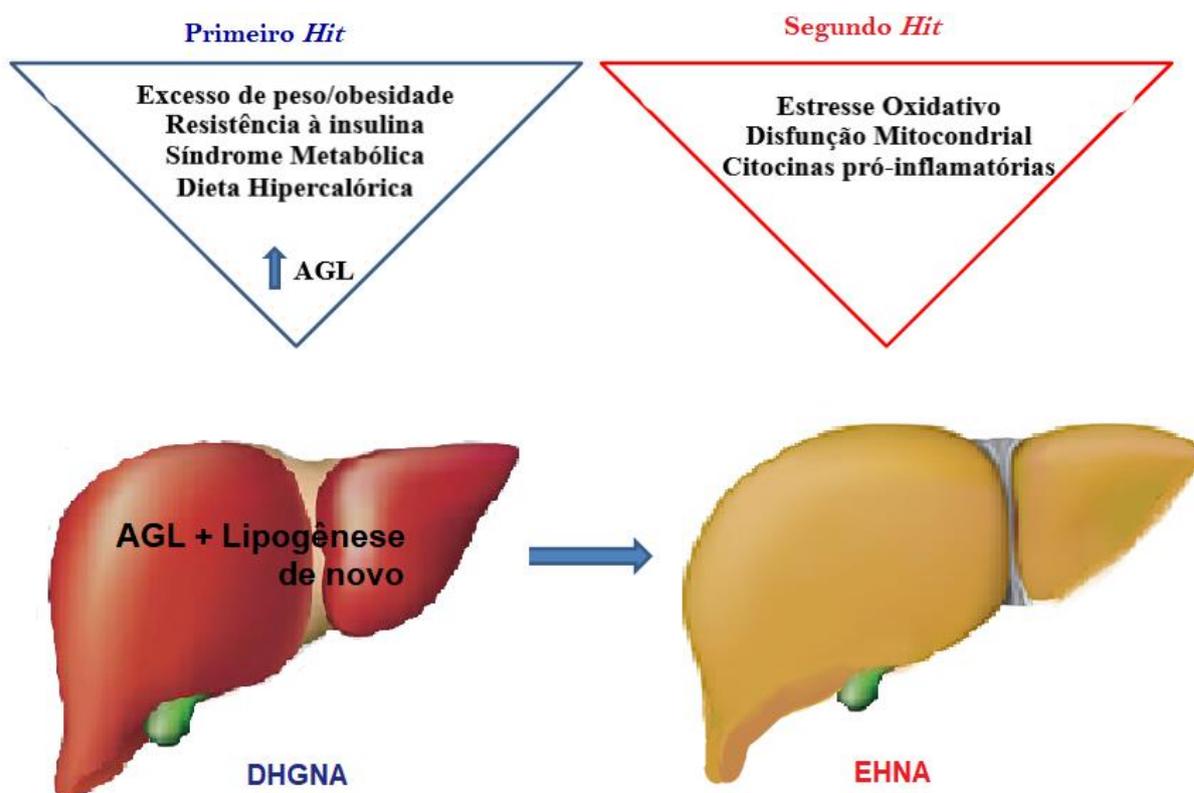


Figura 2- Etiopatogenia da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA), teoria dos dois “hits”. O primeiro *hit* é ocasionado pelo excesso de peso/obesidade, resistência à insulina, síndrome metabólica ou dieta hipercalórica, que leva ao aumento de ácidos graxos livres (AGL). O segundo *hit* seria quando essas situações levam ao aumento do estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e produção de citocinas pró-inflamatórias. Esses dois eventos levariam a Esteatose Hepática não Alcoólica (EHNA). Fonte: Adaptado de GIORGIO et al., 2013.

Entretanto, estudos evidenciam que esses mecanismos não são suficientes para explicar as múltiplas vias que podem estar envolvidas no surgimento da DHGNA. Portanto, foi proposto uma nova hipótese de múltiplos “hits” para explicar a fisiopatologia da doença, a qual está associada a hábitos alimentares, fatores ambientais e genéticos (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016; MANNE; HANDA; KOWDLEY, 2018).

2.2 PROGRAMAÇÃO METABÓLICA

Pensando nesses múltiplos “hits” desencadeadores da doença hepática, estudos têm sido realizados para propor alguns mecanismos que expliquem o aparecimento da DHGNA durante a infância. Os resultados encontrados, nestes estudos mostram que a dieta materna é capaz de influenciar alterações metabólicas nos primeiros estágios da vida do feto que está em

desenvolvimento, e esta alteração metabólica é persistente após o nascimento (McCURDY et al. 2009; SILVA et al., 2015).

Ao decorrer do período pré ou pós-natal do desenvolvimento, a criança está exposta a estímulos ambientais, os quais podem alterar o desenvolvimento e/ou regulação do hipotálamo, gerando modificações tardias no comportamento alimentar (LEVIN; DUNN-MEYNELL, 2000; BILBO; TSANG, 2010). Estudos epidemiológicos evidenciam que o consumo materno de uma dieta hiperlipídica, durante a fase fetal precoce, desenvolve na prole o risco aumentado de desenvolvimento e progressão da obesidade e síndrome metabólica, com o aumento da adiposidade. A explicação para essas alterações precoces se baseiam no conhecimento que o feto e os neonatos recebem estímulos nutricionais e hormonais durante a gestação e lactação, que podem romper a regulação homeostática e a capacidade de detecção de nutrientes nos circuitos hipotalâmicos (BILBO; TSANG, 2010; SULIVAN et al., 2011; CHEN et al., 2017; MCGILLICK et al., 2017).

A obesidade e a alta ingestão calórica durante a gestação e lactação podem induzir a lipogênese e desencadear a lipólise por meio de uma via de oxidação como compensação, o que causa aumento do peso corporal, tolerância à glicose diminuída, colesterol sérico elevado e esteatose hepática (HUANG et al., 2017). Conseqüentemente, essas alterações podem promover no feto um desenvolvimento de um fenótipo dismetabólico (OBEN et al., 2010). Porém, muitas questões ainda precisam ser respondidas para que seja capaz de elucidar os mecanismos desencadeadores desta doença e também elaborar medidas de prevenção e/ou tratamento.

2.3 ESPÉCIES REATIVAS, ESTRESSE OXIDATIVO E DEFESAS ANTIOXIDANTES

Analisando os múltiplos “*hits*” que podem ocasionar o desenvolvimento/progressão da DHGNA, o estresse oxidativo parece exercer um papel central (SERVIDDIO; BELLANTI; VENDEMIALE, 2013). Em linhas gerais, o estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio, em qualquer compartimento celular, entre as ERO e as espécies reativas derivadas do nitrogênio (ERN) e o sistema de defesa antioxidante (OLIVEIRA; VALENTIM; GOULART, 2009).

No nosso organismo são formadas as ERO e as ERN. As espécies reativas incluem não somente os radicais, superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO) e radical hidroxila (OH^\bullet), mas

também os intermediários neutros ou carregados, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxinitrito ($ONOO^-$) e outras espécies que são capazes de formar radicais livres como o O_2^- , ozônio (O_3), ferro (Fe), cobre (Cu) (OLIVEIRA; VALENTIM; GOULART, 2009). O H_2O_2 apesar de não ser um radical livre, através de catálise forma um radical altamente reativo que é OH^\bullet (MATTOS et al., 2003).

Espécies reativas são formadas constantemente ao longo dos processos metabólicos, tanto os normais como no metabolismo aeróbico, quanto nos patogênicos, ou são oriundos de fontes exógenas físicas e químicas. Elas podem atuar como mediadores de transferência de elétrons em vários processos bioquímicos, como por exemplo, durante o processo de fagocitose as ERO são produzidas para eliminar o agente agressor por oxidação. Adicionalmente, as ERO podem atuar de forma a modular vias de sinalização *redox* celulares (HALLIWELL, 2007; OLIVEIRA, VALENTIM e GOULART, 2009).

Porém, em excesso as ERO podem causar danos celulares, oxidando proteínas, polissacarídeos, lipídeos e ácidos nucleicos que são essenciais à manutenção da integridade celular (OLIVEIRA, VALENTIM e GOULART, 2009; ALMEIDA, 2015). A oxidação de lipídeos produz o dialdeído malônico (MDA), um aldeído produzido a partir da oxidação de fosfolipídios insaturados da membrana plasmática. Danos em proteínas geram produtos de carbonilação e oxidação da cadeia lateral, com o acúmulo de proteínas carboniladas (PIRINCCIOGLU et al., 2010).

Esse quadro de estresse oxidativo provocado por um excesso de ERO e a favor de reações de oxidação, pode ser prevenido por dois sistemas antioxidantes: 1) endógeno, que são as enzimas antioxidantes produzidas pelo organismo, e 2) exógeno, que é realizado por nutrientes e compostos bioativos obtidos através da dieta (NASCIMENTO et al., 2011).

O sistema enzimático endógeno é formado pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) (NASCIMENTO et al., 2011). A SOD é a principal enzima antioxidante celular na primeira linha de defesa contra o O_2^- transformando-o em H_2O_2 e O_2 . Existem 3 tipos de SOD que podem ser encontrados em mamíferos: SOD-Cu/Zn (SOD1) encontrada no citosol, SOD-Mn (SOD2) encontrada na matriz mitocondrial e SOD extracelular (SOD3) (ZELKO; MARIANI; FOLZ, 2002; PISOSCHI; POP, 2015).

A CAT é uma enzima presente nos peroxissomos e em menor quantidade no citosol, ela decompõe o H_2O_2 , formando H_2O e O_2 . A enzima GPx, assim como a CAT, também é responsável pela neutralização do H_2O_2 . A glutathione é sintetizada endogenamente no fígado, contém selênio e catalisa na mitocôndria a redução do H_2O_2 . A redução do H_2O_2 , resulta da

conversão da glutatona reduzida para a glutatona oxidada, sendo catalisada pela GPx (NASCIMENTO et al., 2011) (Figura 3).

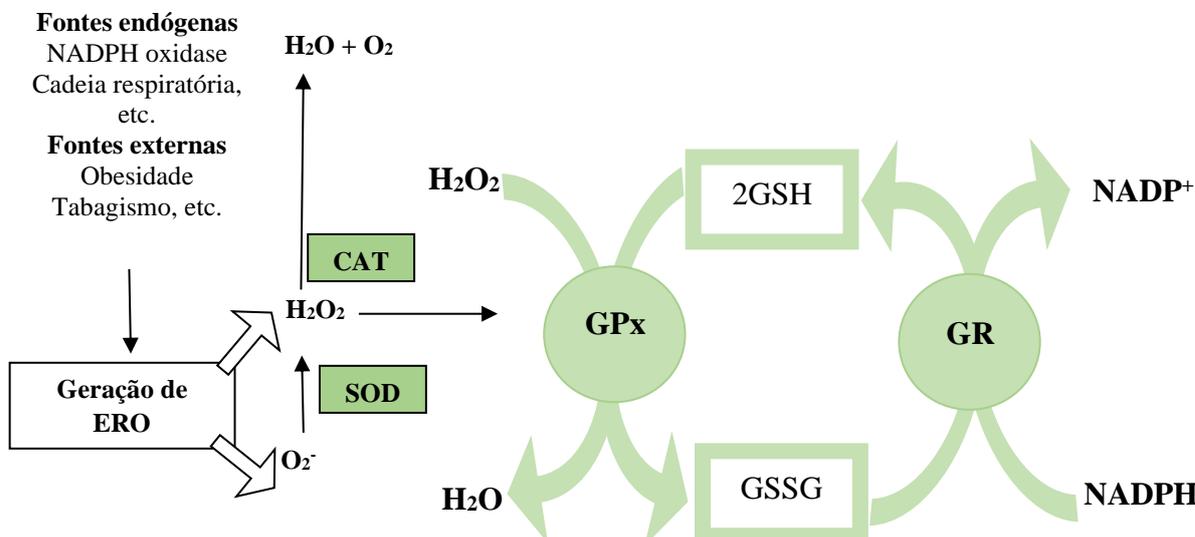


Figura 3- Produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e atividade das enzimas antioxidantes. A superóxido dismutase (SOD) transforma o O_2^- em H_2O_2 . A catalase (CAT) a decompõe o H_2O_2 formando H_2O e O_2 . A glutatona peroxidase (GPx) neutraliza H_2O_2 em H_2O , formando a glutatona oxidada (GSSG). A GSSG é reduzida pela ação da glutatona redutase (GR) com o gasto energético do Fosfato de Dinucleotídeo de Adenina e Nicotinamida (NADPH), originando a glutatona reduzida (2GSH), a qual poderá ser reutilizada nesse ciclo para neutralizar o H_2O_2 . Fonte: Adaptado de Halliwell e Gutteridge, 2001.

A segunda linha de defesa antioxidante é exercida por nutrientes e compostos bioativos encontrados naturalmente em alimentos, recebendo o nome de compostos antioxidantes, como ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), β - caroteno, selênio, zinco, cobre, L-cisteína, curcumina, catequinas, quercetinas, ácido gálico, taninos, carotenoides, dentre outros (SIES, H., 1993; BIANCHI; ANTUNES, 1999; NASCIMENTO et al., 2011).

Os compostos fenólicos, são antioxidantes presentes em uma ampla variedade de frutas, legumes, cereais e em bebidas de origem vegetal, tais como café, chá e vinho. Estes alimentos exibem importante atividade antioxidante, podendo exercer um efeito direto (eliminando as ERO) ou indireto (aumentando a atividade ou expressão de enzimas antioxidantes) (NASCIMENTO et al., 2011).

2.4 AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA MARTIUS*)

A palmeira (*Euterpe oleracea Mart.*) é uma planta nativa da Amazônia. Seu cultivo apresenta grande importância socioeconômica para a região, devido o potencial de aproveitamento integral de sua matéria-prima. Nos últimos anos, o fruto dessa palmeira, o açaí, ganhou destaque nacional e internacional por apresentar vários efeitos benéficos à saúde (CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018). Mas, além do consumo da polpa deste fruto, o as sementes do açaí também são utilizadas no artesanato e como adubo orgânico, a palmeira fornece um palmito de excelente qualidade e suas folhas são utilizadas para cobertura de casas dos habitantes do interior da região (EMBRAPA, 2006)

O açaí possui uma forma globosa com cerca de 1 a 2 cm de diâmetro e peso médio de 1,5g. Seu epicarpo pode ser roxo ou verde, seu consumo pode ser apreciado de diversas formas atrativas e agrada diferentes paladares. Por exemplo, na forma de geleias, licor, polpa congelada, xarope, pó, creme e sorvetes. No mercado brasileiro o açaí é comercializado com finalidade de ser uma bebida energética, o que se difere da sua comercialização no exterior, onde é considerada uma bebida exótica (CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018) (Figura 4).

O estado do Pará é o principal produtor de açaí e a região Norte do Brasil produz aproximadamente 187 mil toneladas de açaí extrativo, sendo que cerca de 110 mil toneladas são produzidas para o consumo nacional e aproximadamente 800 mil toneladas são destinadas à exportação para diferentes países como, Japão, China, Estados Unidos e Europa (SAGRI, 2015). A fim de realizar a expansão e a manutenção do mercado, as indústrias têm investido não somente no cultivo do açaí, mas também na qualificação da mão de obra (CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018).

O açaí em sua composição fitoquímica, apresenta uma alta concentração de compostos bioativos, principalmente os compostos fenólicos. O principal composto fenólico presente é da classe dos flavonóides, a antocianina. Flavonóide é uma classe de composto fenólico de baixa massa molecular, os quais possuem um esqueleto de 15 carbonos composto por 2 anéis de benzeno. Os flavonoides podem ser encontrados como agliconas na forma de glicosídeos e/ou derivados metilados e/ou acilados. As modificações dessa substância faz com que seja dividida em subclasses: chalconas, flavanonas, flavanonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009). As antocianinas são responsável pela coloração vermelho-rochada dos frutos e verduras, as quais podem ser

dividas em cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-sambubiosídeo, peonidina-3-glicosídeo e peonidina-3-rutinosídeo (SCHAUSS et al., 2006b; CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018).



Figura 4- Açazeiro, a polpa e produtos derivados do açáí.
Fonte: Embrapa, 2006.

Além da sua composição fitoquímica, o açáí possui uma composição nutricional muito interessante, apresentando uma quantidade de 32,5 % de lipídeos, 52,2 % de carboidratos, dos quais são 44,2 % de fibras e 1,3 % de açúcares, e 8,1 % de proteína. Dos ácidos graxos presente no açáí, 11,1% são poliinsaturados (linoléico), 60,2% são monoinsaturados (oléico) e 28,7% são saturados (palmítico) (SCHAUSS et al., 2006b). De acordo com Bobbio et al. (2000) o

açai é um alimento altamente nutritivo e possui um grande potencial devido a sua composição fitoquímica e nutricional para apresentar diversos efeitos benéficos à saúde ao ser consumido.

Vários estudos utilizando métodos *in vitro* e em diferentes modelos experimentais, demonstram a apreciável atividade antioxidante do açai e, segundo Bonomo et al. (2014), os compostos bioativos encontrados neste fruto, podem melhorar a capacidade antioxidante do organismo por mecanismos diretos e indiretos.

O estudo realizado por Souza et al. (2010) avaliou o efeito da polpa de açai adicionada à dietas experimentais em dois grupos de ratos, um controle e outro hipercolesterolêmico, os resultados demonstram que a polpa de açai apresenta importante efeito sobre o estado oxidativo e o perfil lipídico de animais hipercolesterolêmicos que receberam a polpa de açai. Com relação ao estado oxidativo foi encontrado uma redução sérica na concentração de proteína carbonilada e um aumento na concentração de grupos sulfridrilas, que é um radical protetor de lesão oxidativa. A melhora do perfil lipídico foi caracterizada por uma redução sérica do colesterol total e um aumento na atividade da enzima paraoxonase, que dentre as suas principais atividades previne a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL).

O estudo de Barbosa et al. (2016), avaliou o efeito da ingestão de polpa de açai na prevenção de danos oxidativos em mulheres. A amostra foi de 35 mulheres aparentemente saudáveis que consumiram 200 g por dia de polpa de açai durante 4 semanas. A ingestão da polpa de açai proporcionou no soro das voluntárias um aumento na capacidade antioxidante total e na atividade da catalase, associada a uma diminuição na produção de EROs por células porlimofonucleares. Além disso, reduziu a concentração sérica de proteína carbonilada e aumentou os níveis de grupos sulfidrilas totais. Portanto houve uma melhora do estado oxidativo, com aumento na atividade de enzimas antioxidantes e redução de ERO e biomarcadores de oxidação.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí durante a gestação e a lactação sobre o estado oxidativo de ratas e suas proles.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre a ingestão alimentar, a massa corporal e o peso do fígado de ratas ;
- ✓ Analisar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre a massa corporal e o peso do fígado das proles;
- ✓ Verificar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre o grau de esteatose hepática das ratas e das proles;
- ✓ Quantificar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx, no fígado das ratas e das proles;
- ✓ Quantificar o efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre a concentração de marcadores do estresse oxidativo, dialdeído malônico e proteína carbonilada, no fígado das ratas e das proles.

4. METODOLOGIA CIENTÍFICA

4.1 POLPA CONGELADA DE AÇAÍ

Foi utilizada polpa de açaí da empresa Icefruit Comércio de Alimentos LTDA, São Paulo, Brasil (Icefruit Polpa de Açaí Médio), obtida no comércio local da cidade de Ouro Preto. Toda a quantidade de polpa de açaí necessária para o desenvolvimento do projeto foi adquirida em uma única remessa de um mesmo fornecedor garantindo a homogeneidade da polpa durante todo o experimento. De acordo com o fabricante, a polpa de açaí é pasteurizada, embalada a vácuo e mantida à -18°C. Não contêm corantes e conservantes. Foi realizado o cadastro deste estudo no SISGEN.

4.2 DIETAS EXPERIMENTAIS

Os animais foram alimentados com dieta padrão AIN-93G, que é recomendada para fases de crescimento, gravidez e lactação (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), ou dieta hiperlipídica, contendo 32 % de banha de porco e 1 % de colesterol, suplementadas ou não com polpa de açaí (2 %). Os valores de banha de porco e colesterol, foram definidos segundo valores estabelecidos por trabalhos previamente publicados (BURGUENO et al., 2013; GUERRA et al., 2015). A suplementação com polpa de açaí foi baseada em trabalho experimental prévio realizado por Souza et al. (2010). Os ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.

Ingredientes (g/1000g de dieta)	Controle (C)	Hiperlipídica (HF)	Controle + açai (CA)	Hiperlipídica + açai (HFA)
Caseína	200	260	200	260
Sacarose	100	100	100	100
Amido Milho	530,7	170,7	510,7	150,7
Óleo de Soja	70	40	70	40
Colina	2,5	2,5	2,5	2,5
Mist. Minerais	35	35	35	35
Mist. Vitaminas	10	10	10	10
Celulose	50	50	50	50
Metionina	1,8	1,8	1,8	1,8
Colesterol	0	10	0	10
Banha de porco	0	320	0	320
Polpa de Açai	0	0	200	200

¹ Mistura de minerais (expresso em g/kg da mistura): NaCl – 139,3 / KI- 0,79 / MgSO₄.7H₂O- 57,3 / CaCO₃- 381,4 / MnSO₄.H₂O – 4,01 / FeSO₄.7H₂O – 0,548 / CuSO₄. 5H₂O – 0,477 / CoCl₂.6H₂O – 0,023 / KH₂PO₄ – 389,0.

² Mistura de vitaminas (expresso em mg/kg da mistura): Acetato de retinol – 690; colecalciferol – 5; ácido paminobenzóico – 10 000; inositol – 10 000; niacina – 4000; riboflavina – 800; tiamina HCL – 500; ácido fólico – 200; biotina – 40; cianocobalamina – 3; dl- α - tocoferol – 6 700; sacarose – q.s.p. 1000.

A composição química das dietas experimentais, controle (C), hiperlipídica (HF), controle + açai (CA) e hiperlipídica + açai (HFA) foi quantificada utilizando a TACO - Tabela de composição de alimentos (2011) e os rótulos dos ingredientes utilizados na elaboração das dietas (Tabela 2).

Tabela 2- Composição química das dietas experimentais*.

Composição química	Controle (C)	Hiperlipídica (HF)	Controle + açai (CA)	Hiperlipídica + açai (HFA)
Proteína (g)	173,48	222,32	173,54	222,38
Carboidrato (g)	563,24	250,10	546,28	233,14
Lipídeo total (g)	74,50	375,85	75,29	376,64
Gordura saturada (g)	10,64	112,74	10,4	112,74
Gordura monoinsaturada (g)	16,3	9,32	16,3	9,32
Gordura poliinsaturada (g)	42,00	24	42	24
Colesterol (g)	0	10	0	10
Fibra (g)	53,71	51,19	54,03	51,51
Valor energético proteína (Kcal)	693,93	889,29	694,17	889,53
Valor energético carboidrato (Kcal)	2252,96	1000,40	2185,13	932,57
Valor energético lipídeo(Kcal)	670,5	3382,65	677,61	3389,76
Valor energético total (Kcal)	3617,40	5472,35	3556,90	5211,86

*Valores expressos por 1 quilo de dieta.

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Durante todo o tempo experimental as ratas e as proles foram mantidas em gaiolas de polietileno no biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição, UFOP, em ambiente com controle de fotoperíodo (12h claro/12h escuro) e temperatura a $21^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ}$. Todos os procedimentos desse projeto foram submetidos à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP e aprovado pelo protocolo de número CEUA 2015/15 (Anexo A).

Foram utilizadas 32 ratas fêmeas, espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Fischer, com aproximadamente 90 dias de idade. Os animais foram obtidos do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto. Inicialmente as ratas foram divididas aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=8) de acordo com a dieta recebida: controle (C), hiperlipídica (HF), controle + açai (CA) e hiperlipídica + açai (HFA). No início do experimento foi aferido o peso dos animais.

As ratas permaneceram por um período de 1 semana de adaptação às dietas experimentais em gaiolas individuais e recebendo dieta e água *ad libitum*. Na segunda semana

recebendo as dietas experimentais, foi realizado o acompanhamento da ingestão alimentar durante 5 cinco dias. Diariamente, foi quantificado a quantidade de dieta oferecida ao animal e a sobra da mesma. Após esse período de duas semanas recebendo as dietas experimentais, foi tomado o peso pré-gravídico das ratas e posteriormente foi realizado o acasalamento aleatório poligâmico, o qual duas fêmeas foram colocadas com um macho em uma gaiola de polipropileno durante 5 dias.

Ao longo, do período de gestação e lactação, sendo 21 dias para cada etapa, as fêmeas continuaram a receber suas respectivas dietas experimentais e água *ad libitum*. Ao nascer, as proles do sexo masculino foram distribuídas aleatoriamente entre as ratas do mesmo grupo experimental, permanecendo até 6 filhotes por rata, a fim de proporcionar um crescimento homogêneo da ninhada, os filhotes permaneceram na gaiola junto com a mãe durante todo o período de lactação. A escolha do sexo se deu devido aos estudos epidemiológicos que demonstram que a prevalência da DHGNA é maior no sexo masculino quando comparada ao sexo feminino (PADILHA et al., 2010). Ao final do período de lactação, foram selecionados aleatoriamente 8 animais machos de cada grupo experimental (C, CA, HF, HFA), totalizando 32 animais.

Após o desmame, que ocorreu na 9ª semana de experimento, as proles e as matrizes foram deixadas por 12 horas de jejum, anestesiadas com isoflurano e eutanasiadas (Figura 5). Os animais foram eutanasiados por exsanguinação, seguido por retirada dos fígados, os quais foram lavados em solução salina gelada, pesados, devidamente identificados e armazenados a -80°C para análises posteriores. Antes da eutanásia foi realizada a aferição do peso corporal das matrizes e das proles.

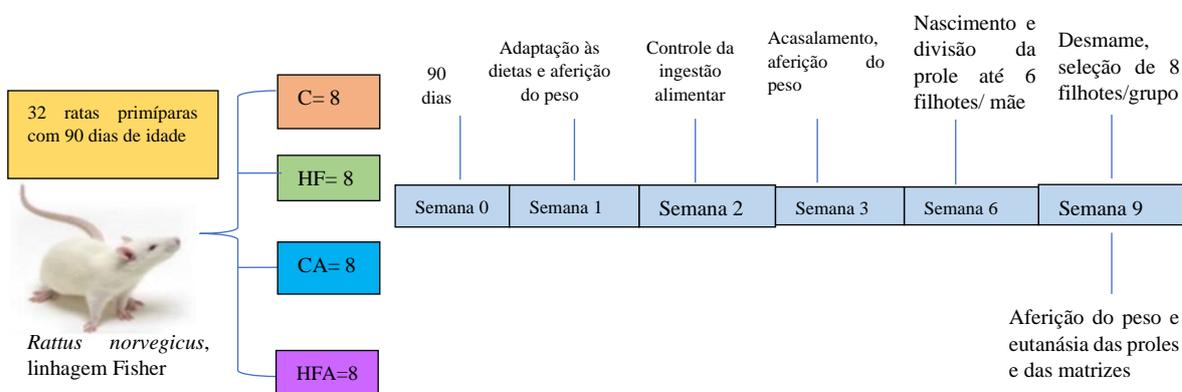


Figura 5- Delineamento experimental do estudo

4.4 ANÁLISES MORFOHISTOLÓGICAS

Foram realizadas análises morfohistológicas do tecido hepático das ratas e suas proles, para verificar se o consumo de dieta hiperlipídica foi capaz de promover o desenvolvimento da DHGNA. Para a realização das análises morfohistológicas do tecido hepático, utilizou-se o menor lobo do fígado dos animais. Assim que os animais foram eutanasiados, os fígados foram lavados com solução salina gelada, pesados e o menor lobo do órgão armazenado em formol tamponado 4%. Seguidamente, os lobos foram cortados transversalmente e processados em concentrações decrescentes de álcool, e por fim, selados em parafina. Após esse processo, utilizando um micrótomo semiautomático, as secções parafinadas foram laminadas e coradas com hematoxilina e eosina (H&E), a fim de identificar o acúmulo de lipídeos nos hepatócitos. Foram obtidas as fotomicrografias utilizando-se um microscópio acoplado a câmera digital.

4.5 AVALIAÇÃO DO ESTADO OXIDATIVO NO FÍGADO

Para avaliar o efeito da polpa de açaí sobre o estado oxidativo hepático das ratas primíparas e suas proles, foi quantificado a atividade das enzimas antioxidantes, SOD, CAT e GPx e os marcadores de oxidação por ERO em lipídeos e proteínas no homogenato tecidual do fígado.

4.5.1 Preparação do tecido hepático

. O tampão a ser preparado para o homogenato varia de acordo com o composto a ser identificado em cada amostra. Para avaliar a atividade das enzimas antioxidantes, quantificar os marcadores do estresse oxidativo e as proteínas totais, o protocolo para o preparo do homogenato foi baseado no estudo de Ramos-Vasconcelos e Hermes-Lima (2003).

Para o preparo do homogenato, tomou-se aproximadamente 100 mg do fígado de cada animal, adicionou-se 1ml tampão gelado (fosfato 50mM e EDTA 0,5mM, pH 7,2). Antes da homogeneização foi incorporado 10 µmol do Fenilmetilsulfonil Fluoreto (PMSF), onde foi colado 1mM, diluído em etanol no microtubo, um potente inibidor de protease, a fim de evitar a degradação das enzimas. As amostras foram homogeneizadas durante 30 segundos e colocadas no gelo durante 1 minuto segundos, procedimento foi repetido 3 vezes.

As amostras foram então centrifugadas a 10000 rpm a 4°C, durante 10 minutos. Retirou-se o sobrenadante e transferiu-se para novos tubos de polipropileno. O homogenato coletado foi armazenado no freezer a -80°C em alíquotas e posteriormente utilizado para quantificar a atividade das enzimas antioxidantes e a concentração dos marcadores do estresse oxidativo e de proteínas totais, para a expressão dos resultados.

4.5.2 Atividade das enzimas antioxidantes

4.5.2.1 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da enzima SOD foi determinada pelo método proposto por Madesh e Balasubramanian (1998). As reações consistem na capacidade da enzima em neutralizar o O_2^- produzido pela oxidação do pirogalol em meio alcalino. O corante MTT [3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il) 2,5-difenil tetrazólio brometo] é reduzido a cristais de formazan em reação dependente de O_2^- produzindo um composto de cor arroxeada que pode ser quantificado utilizando-se espectrofotometria. Por meio da quantificação em unidades relativas, tem-se que a capacidade de uma unidade de atividade enzimática (1U) da SOD em inibir a redução do MTT.

Na microplaca de 96 poços foi distribuída uma alíquota de 30 μ L das amostras (homogenato do fígado), ou padrão e em cada poço adicionou-se 99 μ L de solução tampão fosfato de potássio a 50 mM e EDTA a 0,5mM, descritas anteriormente. Foram adicionados 6 μ L de MTT (diluído no tampão) e por fim 15 μ L de Pirogalol. A microplaca foi incubada em estufa a 37°C durante 5 minutos. Parou-se a reação utilizando 150 μ L de DMSO (dimetil sulfóxido) em todos os poços e foi realizado a leitura no espectrofotômetro (Epoch, Biotek®, Tigan St, Winooski, USA) em um comprimento de onda de 570nm.

Para realizar o cálculo da reação enzimática foi utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade enzimática} = \frac{1\text{U de SOD} \times \text{Abs da amostra}}{\text{Abs do padrão}}$$

Os resultados foram expressos em U de SOD por mg de proteínas totais.

4.5.2.2 Atividade da Catalase (CAT)

Para avaliar a atividade da CAT foi utilizado o método desenvolvido por Aebi (1984). O método baseia-se na avaliação da atividade da enzima, a qual é diretamente proporcional à decomposição do H₂O₂.

Primeiramente, foi preparada a solução de H₂O₂ a 0,3 M em água destilada. Foram adicionados em microtubos 955 µL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,0) e 10 µL de amostra diluída de 1:20 (homogenato do fígado). Em seguida, adicionou-se 35 µL de H₂O₂ a 0,3 M. O conteúdo foi transferido para uma cubeta de quartzo e realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 240 nm durante 2 minutos, medindo-se a absorbância a cada 30 segundos. A partir da média da subtração do valor inicial de absorbância pelo valor ao final de 2 minutos de leitura, obteve-se o delta, o qual foi utilizado para o cálculo da atividade de CAT utilizando a fórmula abaixo:

$$\text{Atividade (U/L)} = \frac{\Delta Abs}{\Delta t} \times \frac{1}{\epsilon_{H_2O_2}} \times \frac{VT}{VA} \times 1000 \times 20$$

Sendo:

ΔAbs = Variação da absorbância por 1 minuto de cinética enzimática linear

Δt = 2 minuto

$\epsilon_{H_2O_2}$ (240 nm) = 40 L.mmol⁻¹.cm⁻¹

VT = Volume total de reação

VA = Volume de amostra

10³ = Conversão de mmol para µmol (de acordo com a definição de atividade enzimática)

20 = Fator de diluição da amostra

Os resultados foram expressos em U de CAT por mg de proteínas totais.

4.5.2.3 Atividade da Glutathione Peroxidase (GPx)

A GPx possui uma ação não específica sobre o H₂O₂, atuando sobre outros substratos, como os hidroperóxidos orgânicos. Sua atividade pode ser quantificada pela taxa de oxidação de NADPH na presença de GSH e GR. A azida sódica é adicionada para inibir a catalase (WENDEL, 1981; FLOHÉ; GUNZLER, 1984; MILLS, 1960).

Primeiramente, em tubos de ensaio foram adicionados 82,5 µL de tampão fosfato de potássio (143 mM; pH 7,5, com EDTA 1 mM), 125 µL de NADPH (0,29 mM), 5 µL de Azida Sódica (100 mM), 12,5 µL de GSH (20 mM, diluída em ácido ortofosfórico 5%), 2,5 µL de GR (10 U/ml), 12,5 µL de hidróxido de tert-butil (10 mM) e 2,5 µL de Cianeto de potássio (KCN)

9 mM. O conteúdo dos tubos de ensaio foi homogeneizado e adicionou-se 5 µl de amostra diluída (homogenato de fígado, 1:20).

Posteriormente, realizou-se rapidamente a leitura no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 340 nm durante 2 minutos. Os valores de absorvância inicial e após 1 minuto, foram coletados e devidamente anotados para calcular a atividade da GPx.

Para a obtenção dos resultados foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade (U/L)} = \frac{\Delta \text{Abs}}{\Delta t} \times \frac{1}{\epsilon_{\text{NADPH}}} \times \frac{VT}{VA} \times 1000 \times 20$$

Sendo:

ΔAbs = Variação absorvância por 1 minuto de cinética enzimática linear

Δt = 1 minuto

ϵ_{NADPH} = 6,22 L.mmol⁻¹.cm⁻¹

VT = Volume total de reação (µL)

VA = Volume de amostra (µL)

103 = Conversão de mmol para µmol (conforme definição de U.L-1)

20 = fator de diluição

Os resultados foram expressos em U de GPx por mg de proteínas totais.

4.5.3 Quantificação de marcadores do estresse oxidativo

O estresse oxidativo pode ser mensurado através de alguns produtos que são gerados a partir do dano oxidativo, em reações de peroxidação lipídica e oxidação proteica. Neste trabalho foram avaliados os produtos MDA e proteína carbonilada.

4.5.3.1 Concentração de Dialdeído malônico (MDA)

Um dos principais alvos do EROs são os lipídeos que estão presentes nas membranas celulares. Uma das formas de avaliar o estresse oxidativo é avaliando a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), onde o MDA, um aldeído produzido a partir da oxidação de fosfolipídicos insaturados da membrana plasmática, é um dos principais tipos de TBA. A quantificação de MDA foi realizada conforme o procedimento descrito por Esterbauer e Cheeseman (1990).

Primeiramente, foram adicionados em um tubo tipo microtubo 50 µl de hidroxitoluenobutilado (10 mM), 500 µl de ácido tricloroacético (20%), 500 µl de ácido tiobarbitúrico (1%), 250 µl da amostra (homogenato do fígado) ou água destilada para o branco ou séries de padrões. A mistura foi homogeneizada e incubada a 100 °C durante um período de 60 minutos. Posteriormente, os tubos foram resfriados em água com gelo e adicionou-se 1,5 ml de butanol. Realizou-se uma centrifugação a 2500 g durante 5 min em temperatura ambiente e o sobrenadante foi transferido para uma cubeta de quartzo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 532 nm.

Para realização da curva padrão, foi utilizado o 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMTP) (Sigma®), previamente diluído em água deionizada nas concentrações de 125 µM, 62,5 µM, 31,2 µM, 15,6 µM, 7,8 µM, 3,9 µM e 1,9 µM.

As absorbâncias da curva-padrão foram utilizadas para a construção do gráfico de concentração versus absorbância e após regressão linear foi obtida a equação da reta permitindo o cálculo da concentração de MDA nas amostras. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/mg de proteínas totais.

4.5.3.2 Concentração de Proteína Carbonilada

A oxidação de proteína por ERO leva à formação de produtos carbonílicos, os quais podem ser mensurados por métodos sensíveis, principalmente os que utilizam o 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). O DNPH reage com esses grupos carbonílicos gerando a hidrazona correspondente, que pode ser analisada espectrofotometricamente. Para determinar a concentração de proteína carbonilada foi realizado o ensaio descrito por Levine et al. (1990).

Em tubos de polipropileno foram adicionados 100 µl das amostras (homogenato do fígado) e 600 µl de DNPH (Sigma®). A mistura obtida foi mantida em um ambiente escuro à temperatura ambiente durante 60 minutos e a cada 10 minutos foram homogeneizados no vórtex. Ao decorrer deste tempo, foram adicionados 600 µL de ácido tricloroacético (20%) e novamente a mistura foi homogeneizado no vórtex.

Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 10.000 g durante 10 minutos à temperatura de 4°C. Logo após, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se 800 µl da mistura etanol - acetato de etila (1:1) no precipitado formado. Em seguida, o precipitado foi homogeneizado no vórtex até sua dissolução completa na mistura e novamente centrifugados a 10.000 g a 4°C, durante 10 minutos. Este último passo foi repetido mais duas vezes.

Ao final dessas repetições, o sobrenadante foi novamente descartado e em seguida adicionou-se 900 µl de guanidina no precipitado. Os microtubos foram então colocados em banho-maria durante 60 minutos a 37° C. No final, foi a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro no comprimento de onda de 360 nm.

O conteúdo de proteína carbonilada foi calculado usando o coeficiente de absorção molar do DNPH 22000 M⁻¹ cm⁻¹. A concentração de proteína carbonilada foi expressa em nmoles/mg de proteína.

4.5.3.3 Determinação de Proteínas Totais

As proteínas totais presentes no homogenato de fígado foram quantificadas segundo o método de Bradford (1976), utilizando a albumina bovina como padrão.

Primeiramente foi realizado o preparo do reagente de cor “Coomassie Blue” 0,01% dissolvido em 50 ml de etanol 95% e 100 ml de ácido fosfórico 85%. Após a diluição completa do corante, o volume foi completado em um balão volumétrico de 1L com água deionizada. Filtrou-se o reagente em papel de filtro e armazenou em frasco âmbar em geladeira. Para o preparo da curva-padrão utilizou-se a albumina sérica bovina (BSA) 2,0 mg/ml. A partir dessa solução, diferentes diluições foram utilizadas com concentrações variando entre 0,2 e 1,4 mg/ml de BSA.

As amostras (homogenato de fígado) foram diluídas em água destilada (1:20). Realizou-se o ensaio adicionando 10 µl de amostra diluída ou da série de padrões e 190 µl do reagente de cor. Os tubos foram mantidos em ambiente escuro por 3 min e em seguida, foi realizada a leitura das absorbâncias no espectrofotômetro em um comprimento de onda de 595 nm. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. O branco foi realizado utilizando água deionizada.

As absorbâncias da curva-padrão foram utilizadas para a construção do gráfico de concentração versus absorbância e após regressão linear foi obtida a equação da reta permitindo o cálculo da concentração de proteínas totais nas amostras.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e apresentaram distribuição gaussiana. Os dados dos quatro grupos experimentais foram analisados pelo teste ANOVA *Two-way* seguido pelo post teste de *Bonferroni* para detectar

diferenças entre os quatro os efeitos da dieta hiperlipídica e do açai. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *GraphPad Prism 6 for Windows* (GraphPad Software, San Diego, CA). Diferenças foram consideradas significantes para $p < 0,05$ e todos os dados foram expressos como média \pm desvio padrão.

5. RESULTADOS

5.1 EFEITO DO CONSUMO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA POLPA DE AÇAÍ SOBRE INGESTÃO ALIMENTAR, MASSA CORPORAL E PESO DO FÍGADO DAS RATAS E SUAS PROLES

Foi avaliado o efeito das dietas experimentais em parâmetros como, ingestão alimentar, massa corporal, peso relativo e absoluto dos fígados das ratas mães e em suas proles.

Ao avaliar a ingestão alimentar diária das ratas, observou-se efeito da dieta ($p < 0,0001$) e do açaí ($p < 0,05$). Os animais que receberam a dieta hiperlipídica possuíram uma redução em 30% em sua ingestão alimentar diária em relação aos animais alimentados com dieta controle. A suplementação da dieta hiperlipídica com polpa de açaí reduziu em 26% este parâmetro quando comparado ao grupo CA (Figura 6).

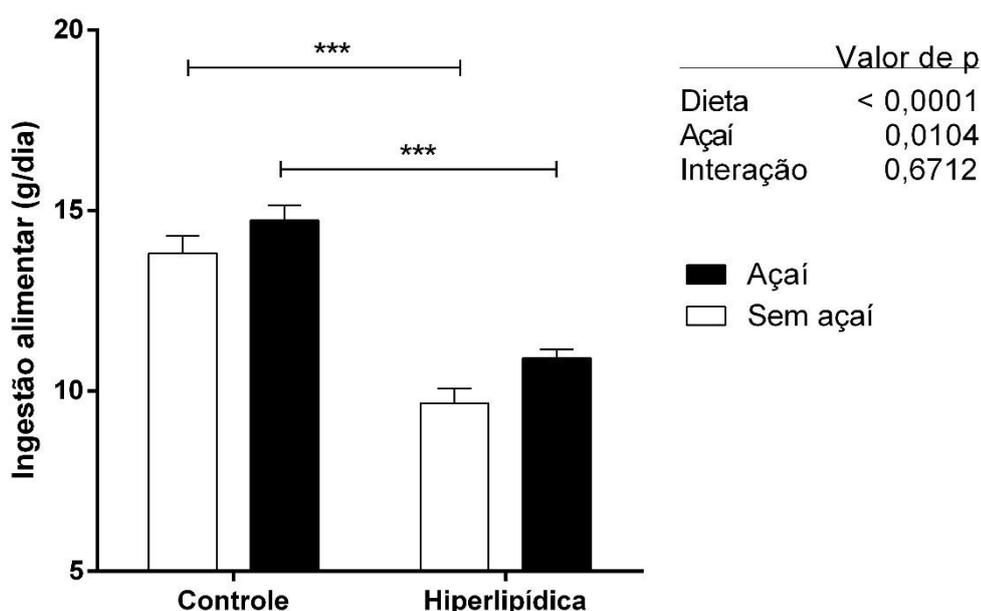


Figura 6- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre a ingestão alimentar diária pré-gestacional das ratas mães.

Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo pós-teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo $*** < 0,001$.

No início do experimento, as ratas dos quatro grupos experimentais apresentaram a mesma massa corporal (Figura A). Com relação a massa corporal pré-gestacional teve efeito da dieta ($p < 0,05$) e interação ($p < 0,05$). A adição da polpa de açaí na dieta hiperlipídica promoveu um aumento em 9% na massa corporal pré-gestacional em relação aos animais que receberam

a dieta controle suplementada com polpa de açaí (Figura 7B). Com relação a massa corporal das ratas no final do experimento foi encontrado um efeito do açaí ($p < 0,0001$). Mas o pós teste não apresentou diferenças entre a massa corporal. Ao final do experimento os grupos experimentais apresentaram a mesma massa corporal (Figura 7C).

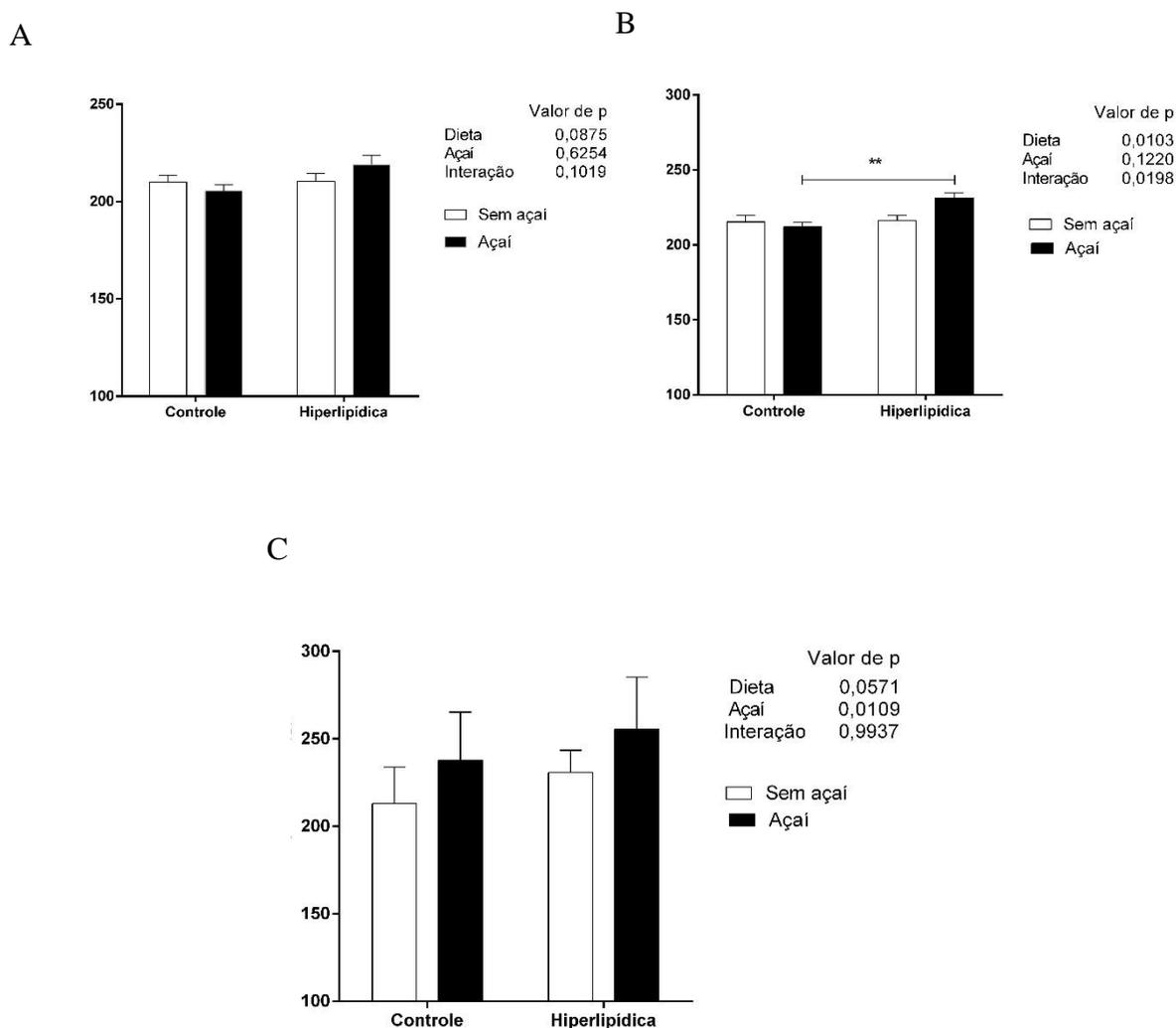


Figura 7- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) massa corporal inicial das ratas, B) massa pré-gestacional das ratas e C) massa final das ratas.

Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo $* < 0,05$, $** < 0,01$.

Avaliando o peso relativo desse órgão, foi encontrado efeito da dieta ($p < 0,01$) e do açaí ($p < 0,01$). O peso relativo do fígado as ratas do grupo HF aumentou em 1,3 vezes em relação ao grupo C. Quando a polpa de açaí foi suplementada na dieta hiperlipídica ela preveniu em 26% o aumento deste parâmetro (Figura 8).

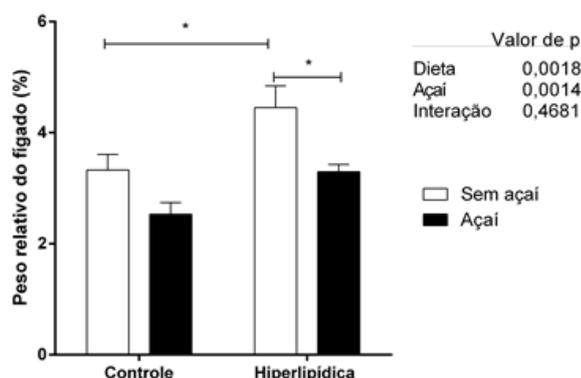


Figura 8- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre relativo do fígado das ratas. Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo *** $< 0,001$; * $< 0,05$.

Em relação à massa corporal das proles foi encontrado o efeito da dieta ($p < 0,0001$) (Figura 9A). Ao adicionar a polpa de açaí, o grupo HFA obteve um aumento da massa corporal em 1,6 vezes quando comparado ao grupo CA. Avaliando o peso absoluto do fígado também se observou efeito da dieta ($p < 0,0001$). O grupo HF apresentou um aumento de 1,5 vezes em relação ao grupo C neste parâmetro.). Quando avaliado o peso relativo do fígado das proles foi encontrado efeito da dieta ($p < 0,05$). Os animais do grupo HF apresentaram um aumento deste parâmetro em 1,3 vezes em relação ao grupo C. A adição da polpa de açaí na dieta hiperlipídica preveniu um aumento de 17% no peso relativo do fígado das proles (Figura 9B).

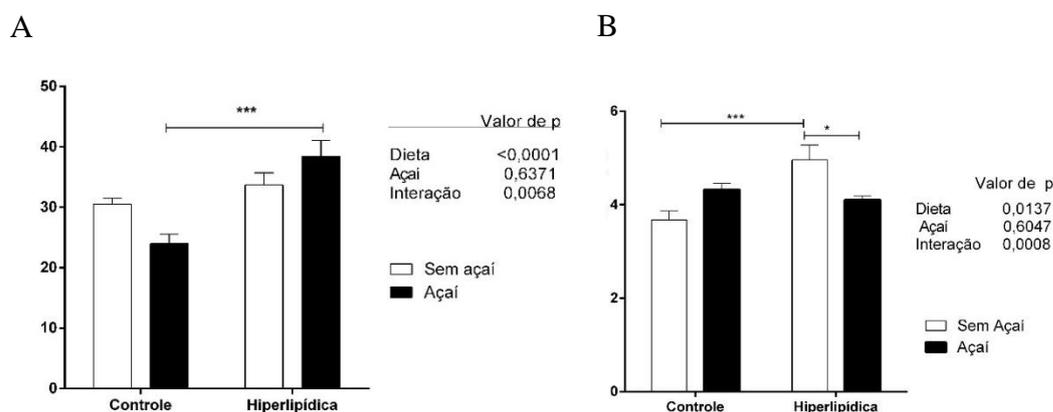


Figura 9- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) massa corporal das proles e B) peso relativo do fígado das proles.

Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo $*** < 0,001$; $* < 0,05$.

5.2 EFEITO DO CONSUMO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA POLPA DE AÇAÍ SOBRE ASPECTOS MORFOHISTOLÓGICOS NAS RATAS E SUAS PROLES

Realizou-se a avaliação das características morfológicas do tecido hepático das ratas mães (Figuras 10) e suas proles (Figuras 11), a fim de identificar o acúmulo de gordura nos hepatócitos e o grau de esteatose.

Nas ratas, os resultados mostram presença de macroesteatose no grupo C, e no grupo HF a presença de macroesteatose e microesteatose. Adicionalmente, também foi observado no grupo HF a presença de um infiltrado de células do sistema imunológico, demonstrando a presença de processo inflamatório, devido ao acúmulo de gotículas de gordura no fígado. No grupo CA não foi encontrado presença de acúmulo de gordura. No grupo HFA houve diminuição das macrovesículas e microvesículas de gordura e do infiltrado inflamatório (Figura 10).

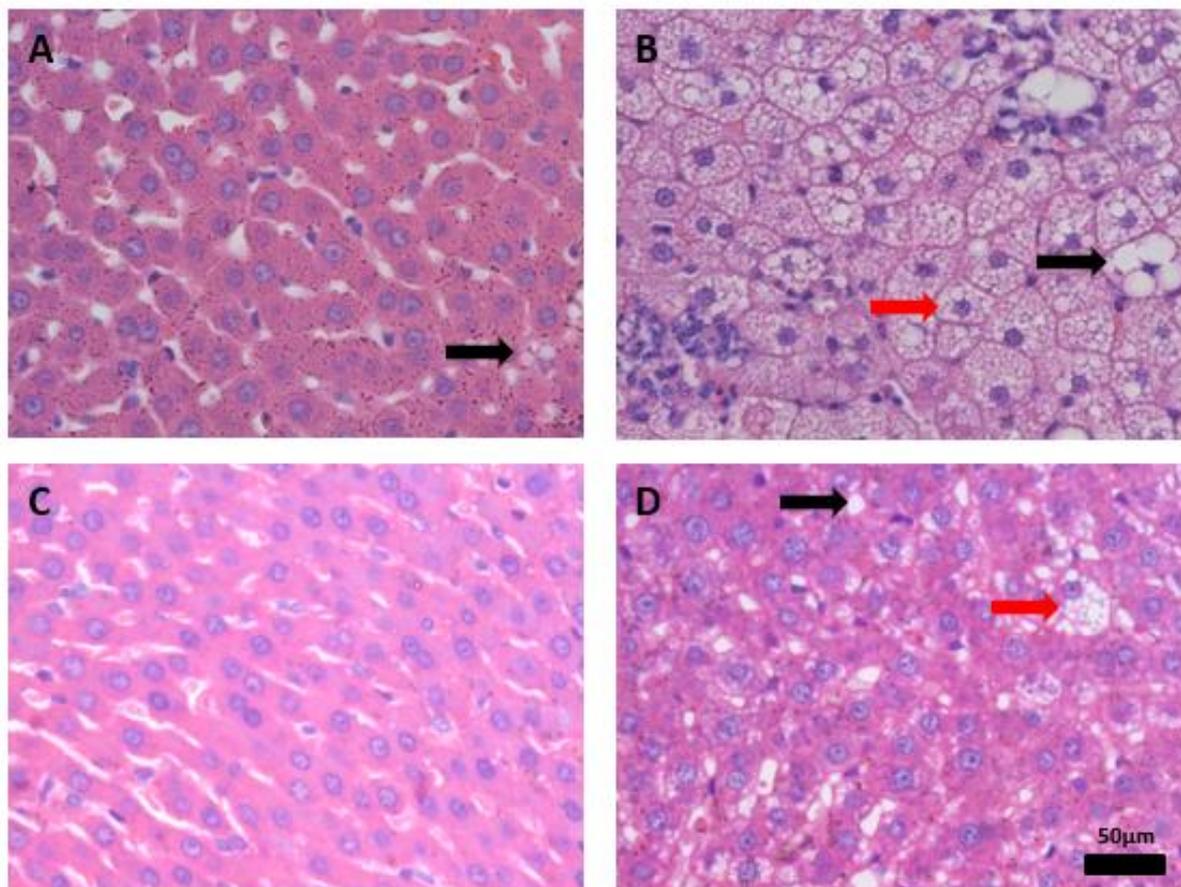


Figura 10- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre os aspectos morfohistológicos do fígado das ratas.

A: Grupo Controle; B: Grupo Hiperlipídico; C: Grupo Controle Açaí; D: Grupo Hiperlipídico e Açaí. Tecido corado com hematoxilina e eosina. A seta preta indica macroesteatose e a seta vermelha indicca microestetaose. As imagens foram fotografadas com uma ampliação de 400 ×. Escala de Barra = 50 µm.

Dados de cortes histológicos dos fígados das proles mostram a presença de macroesteatose em filhos das ratas que consumiram uma dieta hiperlipídica com ou sem a suplementação com a polpa de açaí (Grupos HF e HFA) (Figura 11).

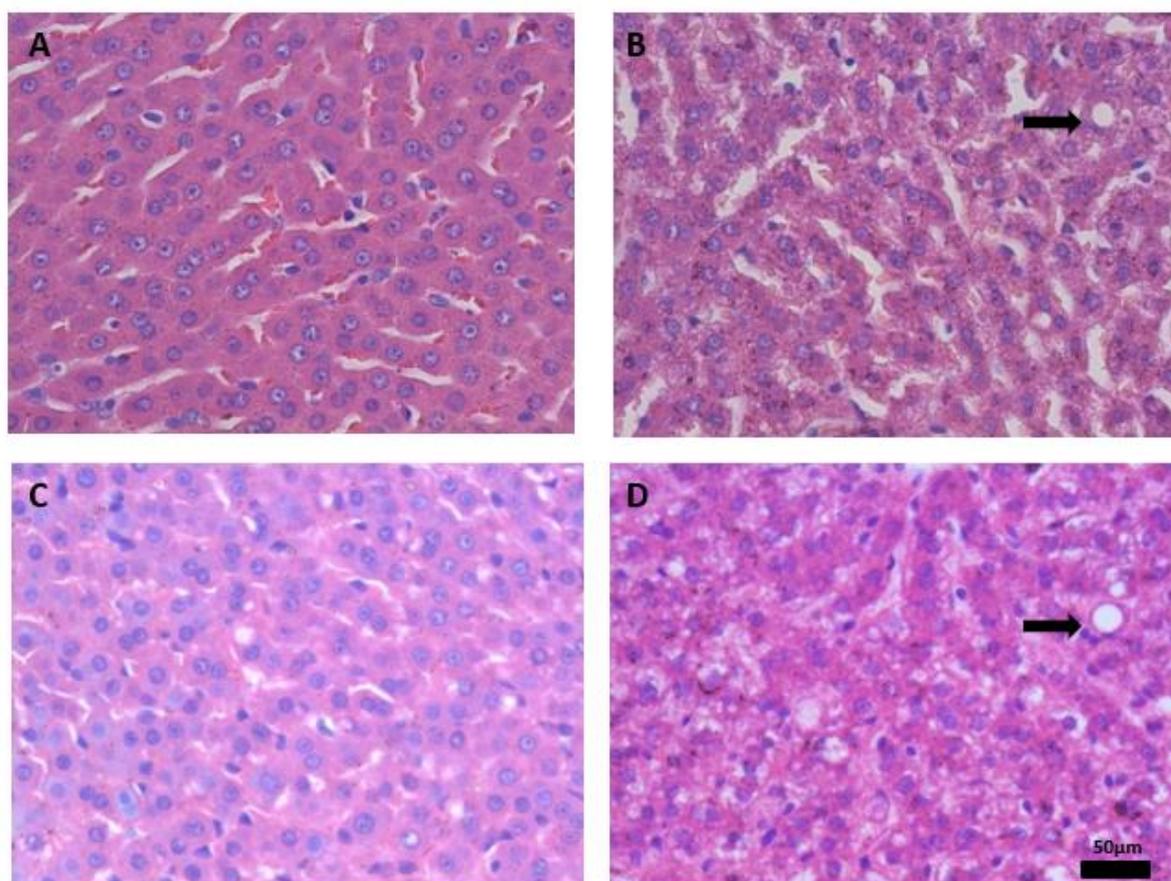


Figura 11- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açai sobre os aspectos morfohistológicos do fígado das proles.

A: Grupo Controle; B: Grupo Hiperlipídico; C: Grupo Controle Açai; D: Grupo Hiperlipídico e Açai. Tecido corado com hematoxilina e eosina. A seta preta indica macroesteatose. As imagens foram fotografadas com uma ampliação de 400 ×. Escala de Barra = 50 µm.

5.3 EFEITO DO CONSUMO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA POLPA DE AÇAÍ SOBRE A ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES NAS RATAS E SUAS PROLES

O efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açai foi avaliado sobre a atividade hepática das enzimas antioxidantes, SOD, GPx e CAT das ratas mães. Com relação à atividade de SOD foi encontrado efeito da dieta ($p < 0,0001$), do açai ($p < 0,05$) e interação ($p < 0,05$). A dieta hiperlipídica promoveu um aumento de aproximadamente 90 % na atividade de SOD quando comparado ao grupo C. Foi observado que a polpa de açai suplementada na dieta hiperlipídica preveniu o aumento deste parâmetro. Quando a polpa de açai é adicionada a dieta hiperlipídica o animal tem a atividade hepática de SOD maior em 53% comparado ao grupo CA (Figura 12A). Foi encontrado efeito da dieta ($p < 0,001$) e do açai ($p < 0,001$) na atividade de GPx. No

grupo HF foi verificado um aumento de 1,4 vezes na atividade dessa enzima em comparação ao grupo C. A adição de polpa de açaí à dieta hiperlipídica preveniu esse aumento da atividade de GPx, tendo os animais do grupo HFA uma redução de 30% neste parâmetro em comparação as ratas do grupo HF, sendo estatisticamente igual aos grupos C e CA (Figura 12B). Com relação a atividade de CAT observou-se efeito da dieta ($p < 0,0001$), do açaí ($p < 0,05$) e interação ($p < 0,01$). O grupo HF apresentou um aumento de 2,4 vezes neste parâmetro em comparação ao grupo C. A adição de polpa de açaí à dieta hiperlipídica preveniu esse aumento da atividade de CAT, tendo um valor de 31% menor em comparação com as ratas do grupo HF, sendo estatisticamente igual à atividade de CAT do grupo CA (Figura 12C).

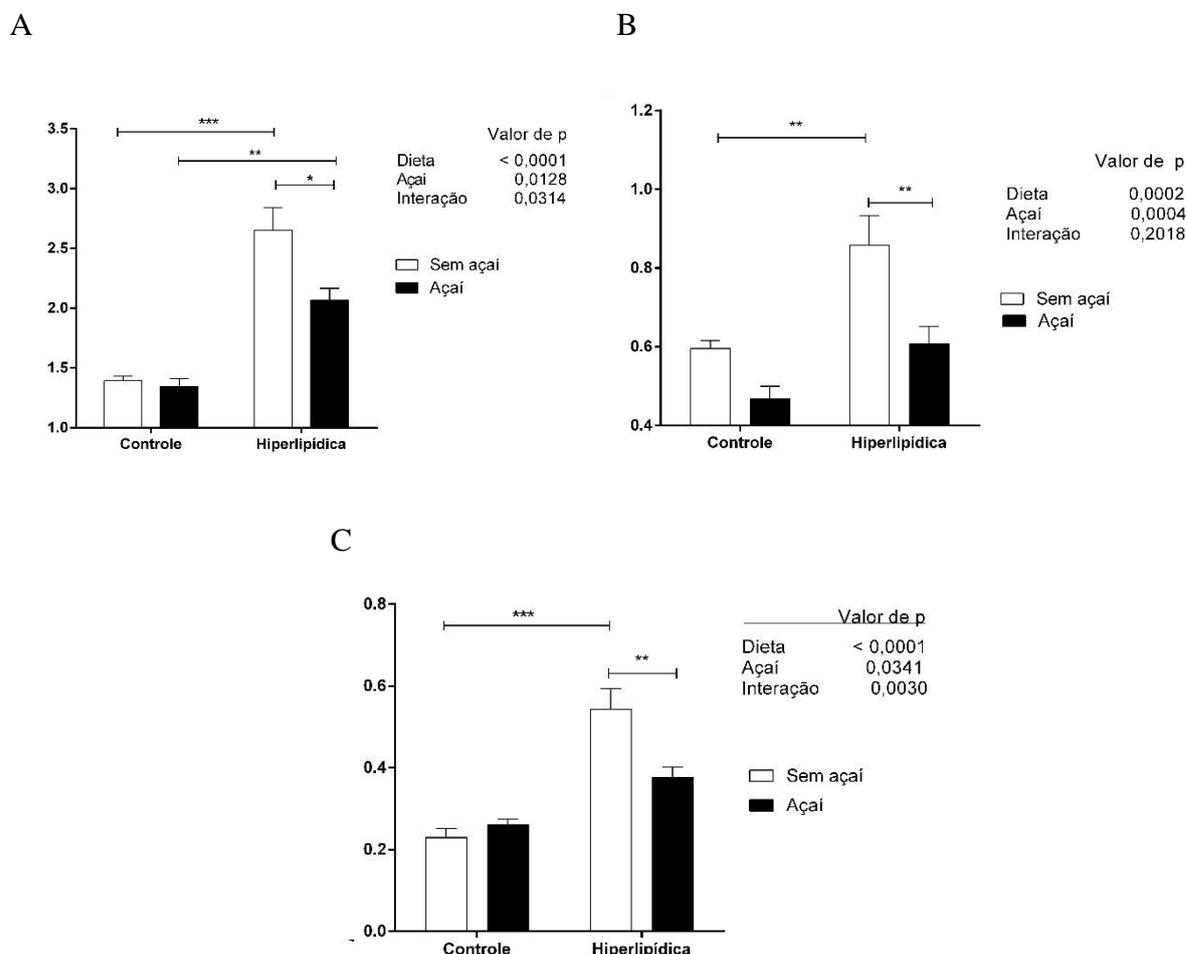


Figura 12- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) atividade hepática da superóxido dismutase das ratas, B) atividade hepática da glutatona peroxidase das ratas e C) atividade hepática da catalase das ratas.

Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste Two-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo *** $< 0,001$; ** $< 0,01$. SOD (Superóxido Dismutase); GPx (Glutaciona Peroxidase); CAT (Catalase).

Para verificar se a dieta hiperlipídica e a polpa de açaí consumidos pela mãe durante os períodos de gestação e lactação seriam capazes de promover alterações metabólicas no sistema enzimático das proles, também foi avaliado a atividade das enzimas antioxidantes no fígado das proles pós-desmame. Os dados encontrados mostram que não houve diferença estatística em relação a atividade hepática de SOD, GPx e CAT nas proles (Figura 13).

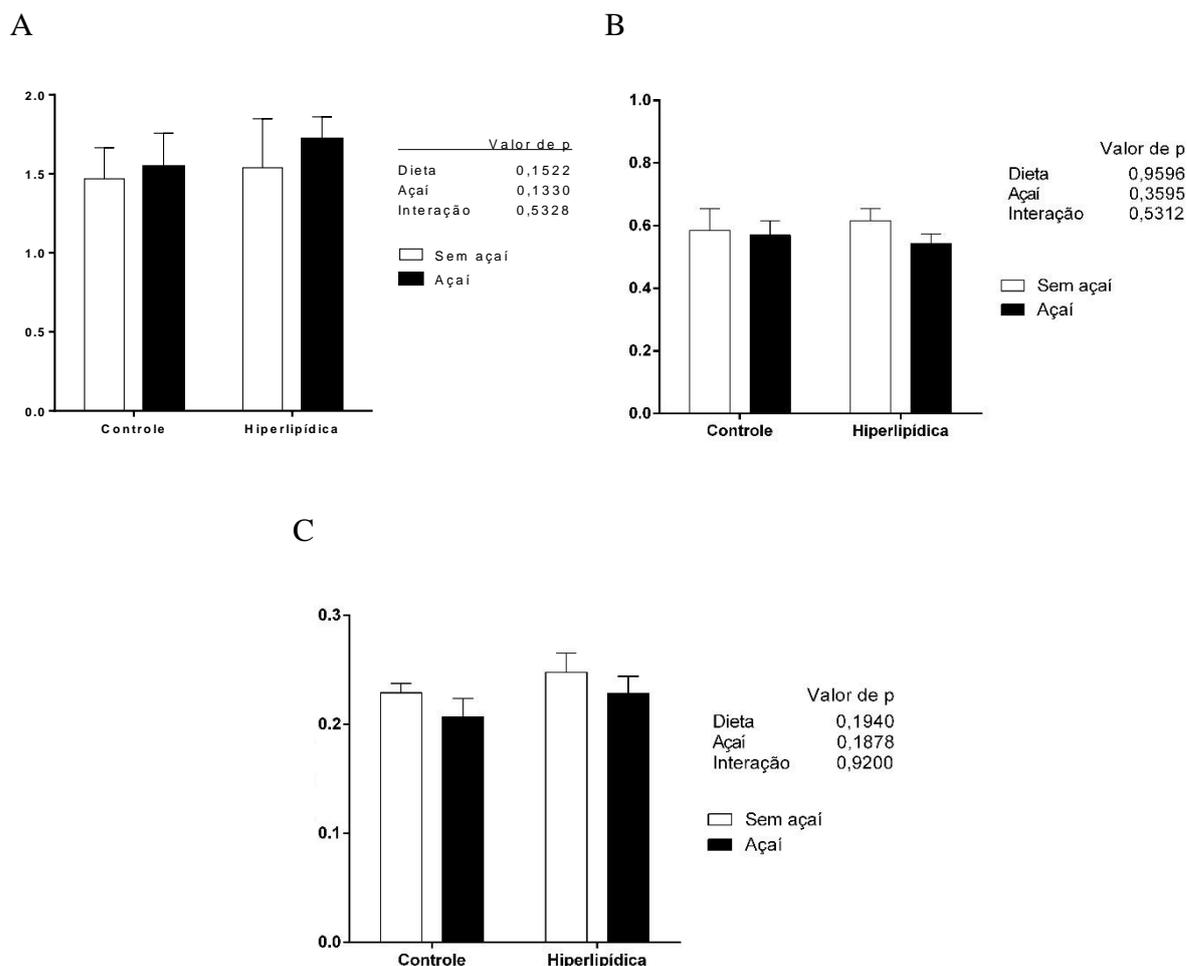


Figura 13-- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) atividade hepática da superóxido dismutase das proles, B) atividade hepática da glutatona peroxidase das proles e C) atividade hepática da catalase das proles.

Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais. SOD (Superóxido Dismutase); GPx (Glutathione Peroxidase); CAT (Catalase).

5.4 EFEITO DO CONSUMO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA POLPA DE AÇAÍ SOBRE OS MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO NAS RATAS E SUAS PROLES

As concentrações hepáticas de biomarcadores do estresse oxidativo em lipídeos e proteínas foram determinadas nas ratas mães e nas proles (Figuras 14 e 15, respectivamente).

Com relação a concentração hepática de MDA nas ratas, foi observado efeito da dieta ($p < 0,001$), do açaí ($p < 0,01$) e interação ($p < 0,05$). O grupo HF apresentou um maior dano

lipídico, apresentando concentrações de MDA 3 vezes a mais em relação ao grupo C. A suplementação com polpa de açaí na dieta hiperlipídica foi capaz de prevenir esse dano oxidativo, uma vez que a concentração de MDA reduziu em 53 % em relação ao grupo HF, apresentando valores semelhantes aos grupos C e CA (Figura 14A). Com relação a concentração hepática de proteína carbonilada nas ratas houve efeito da dieta ($p < 0,01$) e interação ($p < 0,05$). O grupo HF apresentou um maior dano hepático protéico, apresentando concentração de proteína carbonilada 1,7 vezes maior que o grupo C. A suplementação com polpa de açaí na dieta hiperlipídica foi capaz de prevenir o aumento deste parâmetro, uma vez que a concentração de proteína carbonilada foi 29% menor que do grupo HFA, e estatisticamente semelhante aos grupos C e CA (Figura 14B).

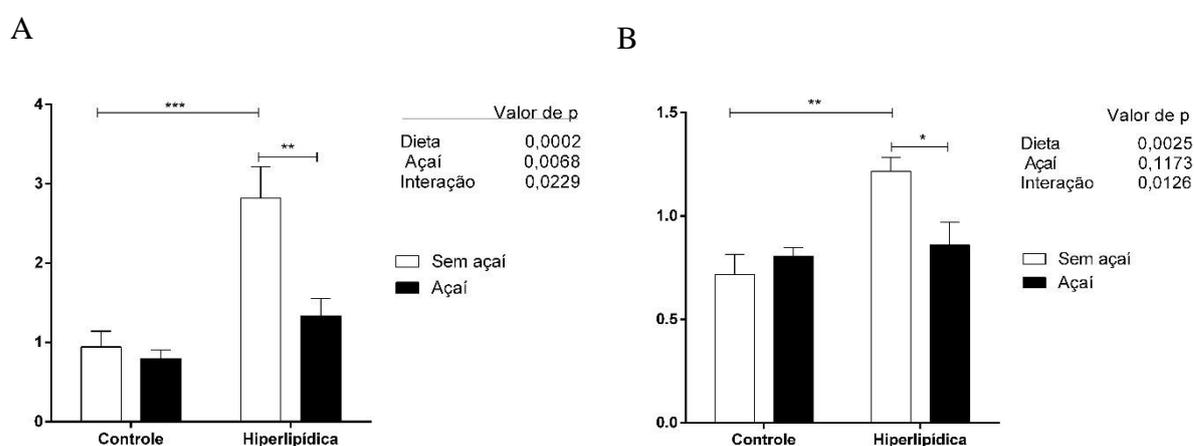


Figura 14- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) Concentração hepática de dialdeídomalônico das ratas e B) concentração de proteína carbonilada das ratas.

Para à análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo *** $< 0,001$; * $< 0,05$. MDA (Dialdeídomalônico).

Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos experimentais para os marcadores de oxidação lipídica e protéica nos fígados das proles (Figura 15).

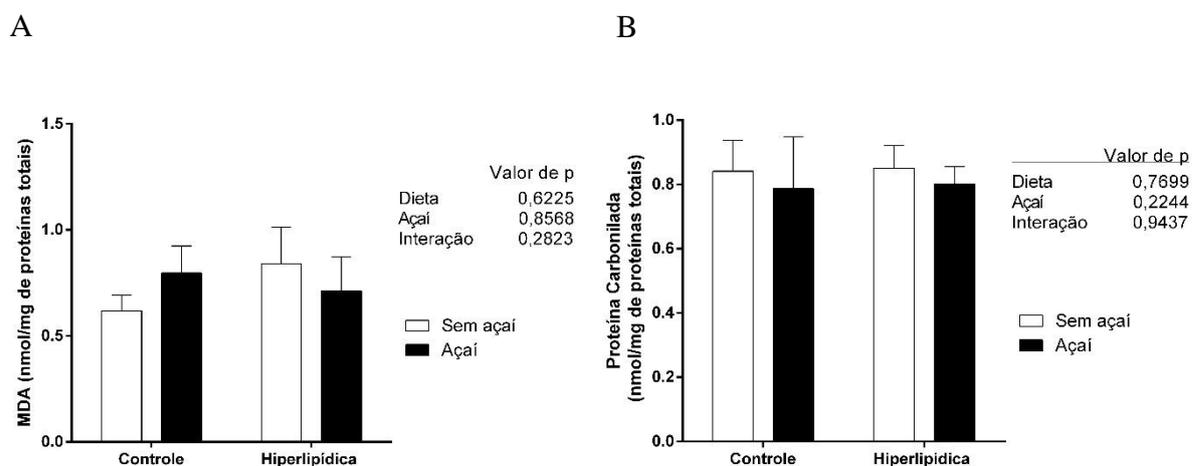


Figura 15- Efeito da dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí sobre: A) concentração hepática de dialdeído malônico das proles e B) concentração de proteína carbonilada das proles.

Para à análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste Two-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, *** $< 0,001$; * $< 0,05$. MDA (Dialdeído malônico).

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliado o efeito da dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí durante a gestação e a lactação sobre o estado oxidativo hepático de ratas e suas proles. Os resultados obtidos mostram a eficácia do modelo de indução de DHGNA nas ratas e nas proles, através do consumo de uma dieta hiperlipídica pelas ratas durante os períodos de gestação e lactação.

O consumo da dieta hiperlipídica pelas ratas foi capaz de promover redução da ingestão alimentar e aumento da massa corporal pré-gestacional. No fígado das ratas foi observado aumento do peso, presença de macroesteatose, microesteatose e infiltrado inflamatório, aumento da atividade das enzimas SOD, CAT e GPx e um maior dano lipídico e proteico. Esse efeito da ingestão da dieta hiperlipídica pelas ratas promoveu em suas proles um aumento da massa corporal e no fígado um aumento do peso e presença de macroesteatose. A suplementação da polpa de açaí na dieta materna hiperlipídica foi capaz de atenuar parâmetros da DHGNA nas ratas, promovendo uma prevenção do aumento do peso do fígado, da atividade das enzimas antioxidantes e dos danos oxidativos. Nas proles o que foi encontrado foi uma redução do peso do fígado quando o açaí foi adicionado à dieta hiperlipídica materna.

Dietas hiperlipídicas apresentam uma maior densidade calórica. Estudo realizado com ratos mostra resultados semelhantes ao que foi encontrado, onde animais apresentam uma ingestão alimentar diária menor quando alimentados com este tipo de dieta (Campanella et al., 2014). Franco et al. (2009) mostraram o efeito de dietas controle e hiperlipídica (adicionada de 14% de óleo de soja) em ratos *Wistar* sedentários ou submetidos ao exercício físico por um período de 8 semanas. A dieta hiperlipídica promoveu uma redução significativa na ingestão alimentar diária nos grupos de animais sedentários e com exercício. A redução da ingestão alimentar de ratos ao receberem dietas hiperlipídicas é, em partes, explicada pelo aumento da saciedade, uma menor eficiência alimentar e maior eficiência metabólica ocasionado pela presença de lipídeos na dieta (BERNARDES et al., 2004; SANTOS et al., 2011). A maior perfusão de gordura intraduodenal diminui a fome e aumenta a saciedade, por meio de propriedades físico-químicas da gordura (como o comprimento da cadeia) e liberação de hormônios regulatórios como a colecistoquinina (FELTRIN et al., 2004).

Interessantemente, o tipo de gordura da dieta influencia funções metabólicas que podem levar a mudanças na massa corporal, ainda que não haja ingestão hiperenergética (GAÍVA et al., 2003). A dieta controle tem como sua principal fonte de gordura, o óleo de soja,

que é constituído segundo o estudo de Fonseca e Gutierrez (1974), de 15 % de gordura saturada e 85 % de gordura insaturada. Já a dieta hiperlipídica, além de conter 4% de óleo de soja, possui 1% de colesterol e 32% de banha de porco, que segundo Fonseca e Gutierrez (1974), é composta por 40 % de gordura saturada e 60 % de gordura insaturada. Portanto, a dieta hiperlipídica tem maior quantidade de gordura saturada do que a dieta controle. Outros estudos também reforçam esse achado, em que o ganho de peso dos animais alimentados com dieta hiperlipídica, rica em gordura saturada, foi relativamente maior do que os alimentados com dieta normolipídica (ROPELLE et al., 2006; SETH et al., 2012).

Uma das alterações metabólicas resultantes do maior consumo de lipídeos é um acúmulo deste nutriente no fígado (SAMUELSSON et al., 2008), o que pode justificar o aumento no tamanho deste órgão e a presença de macro e microesteatose. Essa maior oferta de lipídeos associada a uma baixa taxa de catabolismo, promove um desequilíbrio entre absorção, síntese e exportação, gerando acúmulo de ácidos graxos no fígado e desenvolvimento da DHGNA (BODEN; SHULMAN, 2002; GOLDBERG; GINSBERG, 2006). A adição de polpa de açaí a dieta materna hiperlipídica preveniu o aumento no peso e o acúmulo de gordura nos fígados das ratas. Esses achados estão de acordo com estudos prévios realizados com dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica suplementadas com açaí, que demonstram a capacidade deste fruto em melhorar a EHNA em camundongos e ratos (GUERRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2016). O consumo de outros compostos ricos em polifenóis, como a curcumina e a capsaicina, também está associado com a redução do peso do fígado em animais alimentados com dieta hiperlipídica (TANRIKULU-KÜÇÜK et al., 2019).

Vários estudos relatam que dietas ricas em gordura consumidas durante a gravidez e a lactação podem ter consequências metabólicas na criança desde o desmame até a idade adulta (FAHRENKROG et al., 2004; TAMASHIRO et al., 2009; PURCELL et al., 2011). Segundo Tinoco et al. (2007), o perfil de ácidos graxos do leite materno se assemelha ao perfil da dieta materna. Neste estudo, a polpa de açaí na dieta materna hiperlipídica foi capaz de prevenir o aumento do peso do fígado da prole, sugerindo que o consumo de açaí pelas mães durante a gestação e lactação é capaz de modificar o metabolismo hepático dos filhos. Tiao et al. (2018), demonstrou que o composto fenólico, resveratrol, foi eficaz de reduzir o acúmulo de lipídeos hepáticos na prole proveniente de ratas que receberam dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação. Embora não tenha sido avaliado a composição do leite materno das ratas, é possível que a adição de açaí na dieta materna hiperlipídica também modifique a característica do leite materno das ratas, resultando na prevenção da DHGNA

A maioria dos estudos realizados com o açaí justificam seus efeitos benéficos à saúde pelo seu alto conteúdo de polifenóis. Porém, este fruto também apresenta em sua composição química nutrientes que podem desempenhar um importante papel no metabolismo lipídico, como as fibras, em 100 gramas da polpa de açaí tem-se aproximadamente 2,7 g de fibras alimentares sendo, 2,3 g de fibra insolúvel e 0,4 g de fibra solúvel (BARBOSA et al., 2019).

As fibras alimentares, principalmente as solúveis, agem no lúmen intestinal, promovendo a ligação dos ácidos biliares durante a formação de micelas. Ocasionalmente uma redução na absorção intestinal do colesterol via quilomícrom, pois atuam como barreira fisiológica entre o lúmen e a borda em escova, levando ao aumento na excreção fecal desses ácidos (FERNANDEZ et al., 1997; SCHNEEMAN, 1999; FUKUSHIMA et al., 2001; FERNANDEZ, 2001). Assim, o fígado necessita de uma maior produção de ácidos biliares e colesterol, que será mobilizado do sangue (BROWN et al., 1999). Além disso, as fibras podem bloquear parcialmente a circulação entero-hepática e evitar a reutilização de ácidos biliares pelo fígado (VAN BENNEKUM et al., 2005). As fibras solúveis no intestino grosso podem ser fermentadas por bactérias presentes no colón, e produtos desta fermentação como, ácidos graxos de cadeia curta, podem influenciar no metabolismo lipídico hepático (KOH et al., 2016). Adicionalmente, a polpa de açaí apresenta uma alta concentração lipídica. Destes, aproximadamente 70 % são ácidos graxos insaturados, monoinsaturado e poliinsaturado, gorduras que possuem a capacidade de reduzir o acúmulo hepático de gordura na prole de camundongos, através de um mecanismo regulatório de expressão gênica (GREGORIO et al., 2010).

Dietas ricas em gorduras também estão relacionadas com o desequilíbrio do estado oxidativo hepático (BRUCE et al., 2009; GREGORIO et al., 2010; SUTER et al., 2012). Esse quadro de estresse oxidativo foi bem demonstrado nas ratas alimentadas com a dieta hiperlipídica, pelo aumento da atividade das enzimas antioxidantes e dos marcadores de danos oxidativos. Em um estudo realizado por Barbosa et. al (2010), também foi demonstrado que a dieta rica em gordura promove um aumento na atividade da SOD e na concentração da glutatona total em ratos. O açaí, por exercer um efeito antioxidante, foi capaz de prevenir o aumento na atividade hepática das enzimas SOD, CAT e GPx. Resultado semelhante foi demonstrado por Souza et al. (2010), onde ratos que receberam dieta hipercolesterolêmica suplementada com polpa de açaí apresentaram uma menor atividade de SOD em comparação com os animais que não receberam a suplementação.

Embora nenhum resultado significativo nas atividades de SOD, CAT e GPx no fígado da prole, a literatura mostra que a dieta materna hiperlipídica pode levar a uma disfunção mitocondrial na prole, demonstrada por uma redução da capacidade oxidativa desta organela (BRUCE et al., 2009; BORENGASSER et al., 2011). Um estudo avaliando o efeito do consumo de chá verde por ratas mães durante a gestação e lactação, mostrou uma redução na atividade da CAT nas ratas e de SOD na prole (HACHUL et al., 2018).

O quadro de estresse oxidativo pode ser avaliado tanto pela atividade das enzimas antioxidantes como pela concentração de marcadores gerados pelo dano oxidativo. Bonomo et al. (2014) descrevem que os compostos bioativos presentes no açaí desempenham importantes efeitos diretos na neutralização das espécies reativas. Esse achado se confirmou neste estudo, uma vez que a presença de açaí na dieta hiperlipídica reduziu a concentração hepática de MDA e proteína carbonilada. Souza et al. (2010) também encontraram uma redução de 48% na concentração de proteína carbonílica nos animais onde as dietas hiperlipídicas foram suplementadas com açaí. Qu et al. (2014) demonstrou que o tratamento com açaí, em modelo experimental de esteatose alcoólica em ratos diminuiu os níveis de MDA. Outros compostos fenólicos também são descritos por exibirem esse efeito antioxidante direto.

Apesar de não ter sido encontrado nenhuma diferença na atividade das enzimas antioxidantes e na concentração de MDA e proteína carbonilada no fígado das proles, estudos em roedores já demonstraram que uma dieta materna rica em gordura é capaz de alterar a concentração hepática de grupos tiol, proteína carbonilada e 4-Hidroxinonenal (produto de peroxidação lipídica) na prole (Miranda et al., 2018). Neste sentido, outras vias metabólicas envolvidas no desequilíbrio do *status* oxidativo e desenvolvimento da DHGNA na prole precisam ser investigadas para poder conhecer o efeito de uma dieta materna hiperlipídica suplementada com um fruto rico em compostos com efeito antioxidante.

7. CONCLUSÃO

O consumo de dieta hiperlipídica por ratas durante os períodos de gestação e lactação reduziu a ingestão alimentar e aumentou a massa corporal pré-gestacional. Adicionalmente, promoveu o desenvolvimento da DHGNA nas ratas, caracterizada por acúmulo de gordura, presença de infiltrado inflamatório e desequilíbrio do *status* oxidativo no fígado. A presença de polpa de açaí na dieta hiperlipídica foi capaz de atenuar o quadro de DHGNA nestes animais.

Esse efeito da ingestão da dieta hiperlipídica pelas ratas mães durante os períodos de gestação e lactação promoveu em suas proles o aparecimento de características típicas da DHGNA, aumento da massa corporal, aumento do fígado e presença de macroesteatose hepática, sugerindo um efeito de programação metabólica no desenvolvimento desta doença. A polpa de açaí na dieta hiperlipídica materna foi capaz de prevenir o aumento do fígado das proles pós-desmame. Entretanto, não foi encontrado efeito deste fruto em parâmetros relacionados com o *status* oxidativo nas proles.

Portanto, torna-se necessário mais estudos em modelos animais, a fim de elucidar o papel dos eventos que antecedem o desenvolvimento das doenças metabólicas ainda no útero. Assim como, identificar intervenções adjuntivas no tratamento e prevenção dessa doença. Uma possível melhoria das adaptações metabólicas maternas associadas à obesidade pré-gestacional, incorporando o acúmulo de lipídios nos hepatócitos e o estresse oxidativo no organismo, pode ser um objetivo terapêutico durante o período gestacional. No período pós-natal, é fundamental a aprimoração de métodos de triagem em populações pediátricas de risco e, precocemente, de forma que as ações imediatas possam ser introduzidas para retardar o desenvolvimento da DHGNA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105: **Academic Press**, v. 105, p. 121-126, 1984.

ALMEIDA, R. R. S. **Alterações hepáticas na expressão gênica e atividade da Catalase e Superóxido dismutase em ratos diabéticos induzidos por Estreptozotocina**. 44 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte Centro de Biociências, Natal, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/20734/1/AlteracoesHep%C3%A1ticasExpressao_Almeida_2015.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2019.

ANSTEE, Q. M.; GOLDIN, R. D.; Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. **International Journal of Experimental Pathology**, v.87, n.1, p. 1-16, 2006.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; DE CÁSSIA GONÇALVES ALFENAS, R.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BARBOSA, P. O.; PALA D.; SILVA, C. T.; DE SOUZA, M. O.; DO AMARAL, J. F.; VIEIRA, R. A.; FOLLY, G. A.; VOLP, A. C.; DE FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v. 32, n.6, p. 674-80, 2016.

BARBOSA, P. O.; DE SOUZA, M. O.; PAIVA, D. P. D.; LIMA W.G.; BERMANO G., FREITAS R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Martius) supplementation in the diet during gestation and lactation attenuates liver steatosis in dams and protects offspring. **European Journal of Nutrition** (2019). <https://doi.org/10.1007/s00394-019-02040-2>

BENETOLO, P. O.; FERNANDES, M. I.; CIAMPO, I.R, ELIAS-JUNIOR, J.; SAWAMURA, R. Evaluation of nonalcoholic fatty liver disease using magneticresonance in obese children and adolescents. **Jornal de Pediatria**, v. 95, n.1, p. 34-40, 2019.

BERNARDES D.; MANZONI M. S. J.; SOUZA C. P.; TENÓRIO N.; DÂMASO A. R. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 18, n. 2, p. 191-200, 2004.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição (Campinas)**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999. DOI: 10.1590/s1415-52731999000200001.

BILBO, S. D.; TSANG, V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **The FASEB Journal**, v. 24, n. 6, p. 2104-2115, 2010.

BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 20, n., p. 388-390, 2000.

BODEN, G.; SHULMAN, G. I. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. **European journal of clinical investigation**, v. 32, p. 14-23, 2002.

BONOMO, L. F.; SILVA, D. N.; BOASQUIVIS, P. F.; PAIVA, F. A.; GUERRA, J. F. C.; MARTINS, T. A.; et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Modulates Oxidative Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans* by Direct and Indirect Mechanisms. **PLoS ONE** v. 9, n. 3, p. e89933, 2014.

BORENGASSER, S. J.; LAU, F.; KANG, P.; BLACKBURN, M. L.; RONIS, M. J.; BADGER, T. M.; SHANKAR, K. "Maternal obesity during gestation impairs fatty acid oxidation and mitochondrial SIRT3 expression in rat offspring at weaning." **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. e24068, 2011.

BORGES, V. F. A.; DINIZ, A. L. D.; COTRIM, H. P.; ROCHA, H. L. O. G.; SALOMÃO, F. C. Dopplerfluxometria da veia hepática em pacientes com esteatose não alcoólica. **Radiologia Brasileira**, v. 44, n. 1, p. 1-6, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BROWN, L.; ROSNER, B.; WILLET, W.; SACKS, S. M. Cholesterol – lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **The American journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 1, p. 30-42, 1999.

BROWNING, J. D.; SZCZEPANIAK, L. S.; DOBBINS, R.; NUREMBERG, P.; HORTON, J. D.; COHEN, J. C.; GRUNDY, S. M.; HOBBS, H. H. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. **Hepatology**, v. 40, n. 6, p.1387–1395, 2004.

BRUCE, K. D.; CAGAMPANG, F. R.; ARGENTON, M.; ZHANG, J.; ETHIRAJAN, P. L.; BURDGE, G. C.; BATEMAN, A. C.; CLOUGH, G. F.; POSTON, L.; HANSON, M. A.; MCCONNELL, J. M.; BYRNE, C. D. "Maternal high-fat feeding primes steatohepatitis in adult mice offspring, involving mitochondrial dysfunction and altered lipogenesis gene expression." **Hepatology**, v. 50, n. 6, p. 1796-1808, 2009.

BRUNT, Elizabeth M. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 7, n. 4, p. 195, 2010.

BURGUENO, A. L.; CABRERIZO, R.; GONZALES MANSILLA, N.; SOOKOIAN, S.; PIROLA, C. J. "Maternal high-fat intake during pregnancy programs metabolic-syndrome-related phenotypes through liver mitochondrial DNA copy number and transcriptional activity of liver PPARGC1A." **J Nutr Biochem**, v. 24, n. 1, p. 6-13, 2013.

BUZZETTI, Elena; PINZANI, Massimo; TSOCHATZIS, Emmanuel A. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Metabolism**, v. 65, n. 8, p. 1038-1048, 2016.

CAMPANELLA, L. C. A.; SILVA A. C.; FREYGANG J.; MAGRO D. D. D. Efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre o peso corporal, perfil lipídico, glicídico e antioxidante de ratos wistar induzidos a obesidade. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 141-147, 2014.

CEDRIM, P, C, A. S.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, T. G. Antioxidant properties of acai (*Euterpe oleracea*) in the metabolic syndrome. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

CHEN, L. W.; ARIS, I. M.; BERNARD, J. Y.; TINT, M. T.; COLEGA, M.; GLUCKMAN, P. D.; TAN, K. H.; SHEK, L. P.; CHONG, Y. S.; YAP, F.; GODFREY, K. M.; VAN DAM, R. M.; CHONG, M. F.; LEE, Y. S. (2017). "Associations of maternal macronutrient intake during pregnancy with infant BMI peak characteristics and childhood BMI." **The American journal of clinical nutrition**, v. 105, n. 3, p. 705-713, 2017.

CHIESA, C.; ANDREOLI, G. M.; PACIFICO, L. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease. **Jornal de pediatria**, v. 95, n. 1, p. 4-6, 2019.

COHEN, J. C.; HORTON, J. D.; HOBBS, H. H. (2011). "Human fatty liver disease: old questions and new insights." **Science**, v. 332, n. 6037, p. 1519-1523, 2011.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CRUZ, J. F.; REZENDE, K. F.; SILVA, P. M. C.; CRUZ, M. A. F.; SANTANA, D. S.; OLIVEIRA, C. C. C.; LIMA, S. O. Relação entre a esteatose hepática não alcoólica e as alterações dos componentes da síndrome metabólica e resistência à insulina. **Rev Soc. Bras. Clin Med.** v. 14, n. 2, p. 79-83, 2016.

DAY, C. P.; JAMES, O. F. W. Hepatic steatosis: innocent bystander or guilty party?. **Hepatology**, v. 27, n. 6, p. 1463-1466, 1998.

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. Sistemas de produção do açaí. Sistemas de produção, 4 - 2ª Edição. ISSN 1809-4325. Versão Eletrônica Dez./2006. Disponível em<http://sistemas.deproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed>.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1990. p. 407-421.

FAHRENKROG, S.; HARDER, T.; STOLACZYK, E.; MELCHIOR, K.; FRANKE, K.; DUDENHAUSEN JW, PLAGEMANN A. Cross-fostering to diabetic rat dams affects early development of mediobasal hypothalamic nuclei regulating food intake, body weight, and metabolism. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 3, p. 648-654, 2004.

FELTRIN KL; LITTLE, T. J.; MEYER, J. H.; HOROWITZ M.; SMOUT, A. J. P. M.; WISHART, J.; PILICHIEWICZ, A. N.; RADES T.; CHAPMAN, I. M.; FEINLE-BISSET, C. Effects of intraduodenal fatty acids on appetite, antropyloroduodenal motility, and plasma CCK and GLP-1 in humans vary with their chain length. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 287, n. 3, p. R524-R533, 2004.

FERNANDEZ, M. L. Soluble fiber and indigestible carbohydrate effects on plasma lipid and cardiovascular risks. **Current opinion in lipidology**, v. 12, n. 1, p. 35-40, 2001.

FERNANDEZ, M. I.; VERGARA-JIMENEZ, M.; CONDE, K.; BEHR, T.; ABDEL-FATTAH, G. Regulation of apolipoproteins by dietary soluble fiber in guinea pigs. **The American journal of clinical nutrition**, v. 65, n. 3, p. 814-822, 1997.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. [12] Assays of glutathione peroxidase. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1984. p. 114-120.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Composição em ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras animais. **An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz** [online]. 1974, vol.31, pp.485-490. ISSN 0071-1276. <http://dx.doi.org/10.1590/S0071-12761974000100038>.

FRANCO, L. D. P; CAMPOS, J. A. D. B; DEMONTE, A. Dietary fat content, serum lipid levels and body weight of exercised rats. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 359-366, 2009.

FUKUSHIMA, M.; OHASHI, T.; FUJIWARA, Y.; SONOYAMA, K.; NAKANO, M. (2001). Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 226, n. 8, p. 758-765, 2001.

GAÍVA, M. H.; COUTO, R. C.; OYAMA, L. M.; COUTO, G. E.; SILVEIRA, V. L.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. **Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 144-149, 2003.

GHETTI, F. F. **Efeitos da intervenção dietética na microbiota intestinal e perfil metabólico-nutricional de pacientes com esteato-hepatite não alcoólica: um ensaio clínico randomizado**. 126 f. Tese (Doutorado em Saúde) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2019.

GIORGIO, V.; PRONO, F.; GRAZIANO, F.; NOBILI V. Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. **Bio Med Central Pediatric**, Rome, Italy, v. 40, n. 13, p.1471-2431, 25 mar. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3620555/pdf/1471-2431-13-40.pdf>>. Acesso em: 09 abr. 2019.

GOLDBERG, Ira J.; GINSBERG, Henry N. Ins and outs modulating hepatic triglyceride and development of nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v. 130, n. 4, p. 1343-1346, 2006.

GREGORIO, B. M.; SOUZA-MELLO, V.; CARVALHO, J. J.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; AGUILA, M. B. "Maternal high-fat intake predisposes nonalcoholic fatty

liver disease in C57BL/6 offspring." **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 203, n. 5, p. 495. e1-495. e8, 2010.

GUERRA, J. F. C.; MACIEL, P. S.; ABREU, I. C. M. E.; PEREIRA, R. R.; SILVA, M.; CARDOSO, L. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; LIMA, W. G.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. "Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice." **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 192-202, 2015.

HACHUL, A. C. L.; BOLDARINE, V. T.; NETO, N. I. P.; MORENO, M. F.; RIBEIRO, E. B.; CM, O. D. N.; OYAMA, L. M. "Maternal consumption of green tea extract during pregnancy and lactation alters offspring's metabolism in rats." **PLoS One** **13**, v. 13, n. 7, p. e0199969, 2018.

HAGSTRÖM, H.; TYNELIUS, P.; RASMUSSEN, F. High BMI in late adolescence predicts future severe liver disease and hepato cellular carcinoma: a national, population-based cohort study in 1.2million men. **Gut**, v. 67, n. 8, p. 1536-1542, 2018.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans**, v. 35, n. Pt 5, p. 1147-1150, 2007.

HUANG, Y.; Ye, T.; Liu, C.; Fang, F.; Chen, Y.; Dong, Y. Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation affects hepatic lipid metabolism in early life of offspring rat. **Journal of biosciences**, v. 42, n. 2, p. 311-319, 2017.

HUGHES, A. N.; OXFORD, J. T. "A lipid-rich gestational diet predisposes offspring to nonalcoholic fatty liver disease: a potential sequence of events." **Hepatic medicine: evidence and research**, v. 6, p. 15, 2014.

KOH, A.; DE VADDER, F.; KOVATCHEVA-DATCHARY, P.; BACKHED, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332-1345, 2016.

LEVIN, B. E.; DUNN-MEYNELL, A. A. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, n. 1, p. R231-R237, 2000.

LEVINE, R. L.; GARLAND, D.; OLIVER, C. N.; AMICI, A.; CLIMENT, I.; LENZ, A. G.; AHN, B. W.; SHALTIEL, S.; STADTMAN, E. R [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1990. p. 464-478.

LOSEKANN, A.; WESTON, A. C.; MATTOS, A. A.; TOVO, C. V.; CARLI, L. A.; ESPINDOLA, M. B.; PIONER, S. R.; CORAL, G. P. Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): Risk Factors in Morbidly Obese Patients. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 10, p. 25552-25559, 2015.

MADESH, M.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. **Indian journal of biochemistry & biophysics**, v. 35, n. 3, p. 184-188, 1998.

MAGGIONI, L. S. **A lipoperoxidação plasmática como preditor de esteatohepatite não alcoólica em obesos mórbidos com doença hepática gordurosa não alcoólica**. 2014. Dissertação (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde) —Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre.

MANNE, V., HANDA, P., KOWDLEY, K. V. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. **Clinics in Liver Disease**, v. 22, n. 1, p. 23-37, 2018.

MATTOS, I. L.; SHIRAISHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. Hydrogen peroxide: importance and determination. **Química Nova**, Bauru, Sp, v. 26, n. 3, p.373-380, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v26n3/15664.pdf](http://www.scielo.br/pdf/qn/v26n3/15664.pdf)>. Acesso em: 09 abr. 2019.

MCCURDY CE, BISHOP JM, WILLIAMS SM, et al. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of non human primates. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 2, p. 323-335, 2009.

MCGILLICK, E. V.; LOCK, M. C.; ORGEIG, S.; MORRISON, J. L. "Maternal obesity mediated predisposition to respiratory complications at birth and in later life: understanding the implications of the obesogenic intrauterine environment." **Paediatric respiratory reviews**, v. 21, p. 11-18, 2017.

MILLS, Gordon C. Glutathione peroxidase and the destruction of hydrogen peroxide in animal tissues. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 86, n. 1, p. 1-5, 1960.

MIRANDA, R. A.; DE ALMEIDA, M. M.; ROCHA, C. P. D. D.; DE BRITO FASSARELLA, L.; DE SOUZA, L. L.; SOUZA, A. F. P.; ANDRADE, C. B. V.; FORTUNATO, R. S.; PAZOS-MOURA, C. C.; TREVENZOLI, I. H. Maternal high-fat diet consumption induces sex-dependent alterations of the endocannabinoid system and redox homeostasis in liver of adult rat offspring. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 14751, 2018.

MOURA, L. P.; DALIA, R. A.; ARAÚJO, M. B.; SPONTONI, A. C. S.; PAULI, J. R.; MOURA, R. F.; MELLO, M. A. R. Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. **Revista de Nutrição**, p. 685-693, 2012.

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; CALDWELL, S. H. Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference. **Hepatology**, v. 37, n. 5, p. 1202-1219, 2003.

NASCIMENTO, J. C.; LAGE, L. F. O.; CAMARGOS, C. R. D.; AMARAL, J. C.; COSTA, L. M.; SOUSA, A. N.; OLIVEIRA, F. Q. Antioxidant determination activity by DPPH method and assay for total flavonoids in leaves extracts of *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, Belo Horizonte, v. 4, n. 92, p.327-332, 12 nov. 2011.

OBEN J.A.; MOURALIDARANE, A.; SAMUELSSON, A. M.; MATTHEWS, P. J.; MORGAN, M. L.; MCKEE, C.; SOEDA, J.; FERNANDEZ-TWINN, D. S.; MARTIN-GRONERT, M. S.; OZANNE, S. E.; SIGALA, B.; NOVELLI, M.; POSTON, L.; TAYLOR, P. D. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in mice. **Journal of hepatology**, v. 52, n. 6, p. 913-920, 2010.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, Alagoas, v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

PADILHA, P. C.; ROCHA, H. F.; ALVES, N.; PERES, W. A. F. "Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents: a systematic review." **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 4, p. 387-393, 2010.

PACIFICO, L., POGGIOGALLE, E., CANTISANI, V., MENICHINI, G., RICCI, P., FERRARO, F., & CHIESA, C. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease: A clinical and laboratory challenge. **World journal of hepatology**, v. 2, n. 7, p. 275, 2010.

PAVLIDES, M.; COBBOLD, J. F. L. Non-alcoholic fatty liver disease. **Medicine**, v. 43, n. 10, p. 585–589, 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303915001875>.

PEREIRA, R. R.; DE ABREU, I. C.; GUERRA, J. F.; LAGE, N. N.; LOPES, J. M.; SILVA, M.; DE LIMA, W. G.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. (2016). "Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) Upregulates Paraoxonase 1 Gene Expression and Activity with Concomitant Reduction of Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-Fed Rats." **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

PIRINCCIOGLU, A. G.; GÖKALP, D.; PIRINCCIOGLU, M.; KIZIL, G.; KIZIL, M. Malondialdehyde (MDA) andproteincarbonyl (PCO) levels as biomarkersofoxidative stress in subjectswith familial hypercholesterolemia. **Clinical biochemistry**, v. 43, n. 15, p.1220-1224, 2010.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role ofantioxidants in thechemistryofoxidative stress: a review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, n., p. 55-74, 2015.

PORTELA, C. L. M., MELO, M. L. P., SAMPAIO, H. A. C. Aspectos fisiopatológicos e nutricionais da doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA). **Revista brasileira de nutrição clínica**, v. 28, n. 1, p. 54-60, 2013.

PURCELL, R. H.; SUN, B.; PASS, L. L.; POWER, M. L.; MORAN, T. H.; TAMASHIRO, K. L. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior. **Physiology & behavior**, v. 104, n. 3, p. 474-479, 2011.

QUIDEAU, S.; DEFFIEUX, D.; DOUAT-CASASSUS, C.; POUYSEGU, L. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 3, p. 586-621, 2011.

QU, S.; ZHANG, J.; LI, Y.; ZHENG, Y.; ZHU, Y.; WANG, L. [Protective effect of Acai berries on chronic alcoholic hepatic injury in rats and their effect on inflammatory cytokines]. **Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica**, v. 39, n. 24, p. 4869-4872, 2014.

RAMOS-VASCONCELOS, Gabriella R.; HERMES-LIMA, Marcelo. Hypometabolism, antioxidant defenses and free radical metabolism in the pulmonate land snail *Helix aspersa*. **Journal of experimental biology**, v. 206, n. 4, p. 675-685, 2003.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C., JR. (1993). "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." **J Nutr** 123(11): 1939-1951.

ROBERTS, E. A.; YAP, J. Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): approach in the adolescent patient. **Current treatment options in gastroenterology**, v. 9, n. 5, p. 423-431, 2006.

ROLO, A. P., TEODORO, J. S., & PALMEIRA, C. M. (2011). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 1, p. 59-69, 2012.

ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; PRADA, P. O.; DE SOUZA, C. T.; PICARDI, P. K.; FARIA, M. C.; CINTRA, D. E.; FERNANDES, M. F.; FLORES, M. B.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J.; CARVALHEIRA, J. B. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. **The Journal of physiology**, v. 577, n. 3, p. 997-1007, 2006.

SAGRI/SIMA (2015). Produção agrícola do estado do Pará, 2000-2012. Disponível em: <<http://sagri.gov.br/SIMA>>. Acessado em: 21 de abril de 2019.

SAMUELSSON, A. M.; MATTHEWS, P. A.; ARGENTON, M.; CHRISTIE, M. R.; MCCONNELL, J. M.; JANSEN, E. H. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyper-phagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 383-392, 2008.

SANTOS, A. C. A.; Lopes, A. C. T.; Cruz, G. C. X.; Garcia, B. C.; Kodama, Y.; Camargo, R. C. T.; Camargo Filho, J. C. S. Estudo Biométrico de ratos alimentados com dois tipos de dieta. In: **Colloquium Vitae**. Universidade do Oeste Paulista-UNOESTE, 2011.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. "Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* mart. (acai)." **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8604-8610, 2006a.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. P. "Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* mart. (acai)." **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8598-8603, 2006b.

SCHNEEMAN, B. O. (1999). Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. **The Journal of nutrition**, v. 129, n. 7, p. 1424S-1427S, 1999.

SERVIDDIO, G.; BELLANTI, F.; VENDEMIALE, G. Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 65, n. 0, p. 952-968, 2013.

SETH D, GARMO H, WIGERTZ A, HOLMBERG L, HAMMAR N, JUNGNER I, LAMBE M, WALLDIUS G, VAN HEMELRIJCK M. Lipid profiles and the risk of endometrial cancer in the Swedish AMORIS study. **International journal of molecular epidemiology and genetics**, v. 3, n. 2, p. 122, 2012.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **Eur J Biochem**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SILVA, J. P., LAMOUNIER, J. A., CREMASCO, G. N., SILVA, V.R. Interferências da programação metabólica no desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades. **Salus Journal of Health Sciences**, v. 1, n. 1, p. 91-99, 2015.

SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, R. P.; PEDROSA, M. L. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 804-810, 2010.

SULIVAN, E. L.; SMITH, M.S.; GROVE, K. L. Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. **Neuroendocrinology**, v. 93, n. 1, p. 1-8, 2011.

SUTER, M. A.; CHEN, A.; BURDINE, M. S.; CHOUDHURY, M.; HARRIS, R. A.; LANE, R. H.; FRIEDMAN, J. E.; GROVE, K. L.; TACKETT, A. J.; AAGAARD, K. M. (2012). A maternal high-fat diet modulates fetal SIRT1 histone and protein deacetylase activity in nonhuman primates. **The FASEB Journal**, v. 26, n. 12, p. 5106-5114, 2012.

TAMASHIRO KL, TERRILLION CE, HYUN J, KOENIG JI, TIMOTHY H, MORAN1 HT. Prenatal Stress or High-Fat Diet Increases Susceptibility to Diet-Induced Obesity in Rat Offspring. **Diabetes**, v. 58, n. 5, p. 1116-1125, 2009.

TANRIKULU-KÜÇÜK S, BAŞARAN-KÜÇÜKGERGIN C, SÖĞÜT İ, TUNÇDEMİR M, DOĞRU-ABBASOĞLU S, SEYITHANOĞLU M, KOÇAK H, ÖNER-İYİDOĞAN Y. Dietary curcumin and capsaicin: Relationship with hepatic oxidative stress and apoptosis in rats fed a high fat diet. **Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University**, v. 28, n. 8, p.1013-1020, 2019.

TIAO, M. M.; LIN, Y. J.; YU, H. R.; SHEEN, J. M.; LIN, I. C.; LAI, Y. J.; TAIN, Y. L.; HUANG, L. T.; TSAI, C. C. (2018). "Resveratrol ameliorates maternal and post-weaning high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease via renin-angiotensin system." **Lipids in health and disease**, v. 17, n. 1, p. 178, 2018.

TINOCO, S.M., SICHIERI, R., MOURA, A.S., SANTOS, F.S. and CARMO, M. Importancia dos ácidos graxos essenciais e os efeitos dos ácidos graxos trans do leite materno para o

desenvolvimento fetal e neonatal. **Cadernos de Saude Publica**, v. 23, n. 3, p. 525-534, 2007. PMID:17334567.<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2007000300011>.

VAN BENNEKUM, A. M.; NGUYEN, D. V.; SCHULTHESS, G.; HAUSER, H.; PHILLIPS, M. C. (2005). Mechanisms of cholesterol-lowering effects of dietary insoluble fibres relationships with intestinal and hepatic cholesterol parameters. **British Journal of Nutrition**, v. 94, n. 3, p. 331-337, 2005.

VIZZOTO, M; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância – Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2010. 16 p. – (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 316).

VOS M. B., ABRAMS S. H., BARLOW S. E., CAPRIO S., DANIELS S. R., KOHLI R., MOUZAKI M., SATHYA P., SCHWIMMER J. B., SUNDARAM S. S., XANTHAKOS S. A. NASPGHAN clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children: recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 64, n. 2, p. 319, 2017.

WANG, D.; WEI, Y.; PAGLIASSOTTI, M. J. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. **Endocrinology**, v. 147, n. 2, p. 943-951, 2006.

WANLESS, I.R.; LENTZ, J.S. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. **Hepatology**, v. 12, n. 5, p. 1106–1110, 1990.

WENDEL, Albrecht. [44] Glutathione peroxidase. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1981. p. 325-333.

WHITE, D.L.; KANWAL, F.; EL-SERAG, H.B. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v. 10, n. 12, p. 1342-1359. e2, 2012.

YAMAGUCHI, K. K.; PEREIRA, L. F.; LAMARAO, C. V.; LIMA, E. S.; DA VEIGA-JUNIOR, V. F. "Amazon acai: chemistry and biological activities: a review." **Food chemistry**, v. 179, p 137-151, 2015.

YOUNOSSI, Z. M.; KOENIG, A. B.; ABDELATIF, D.; FAZEL, Y.; HENRY, L.; WYMER, M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. **Hepatology**, v. 64, n. 1, p. 73-84, 2016.

ZELKO, I. N.; MARIANI, T. J.; FOLZ, R. J. Superoxide dismutase multigene family: a Comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 3, p.337-349, 2002.

ANEXO

ANEXO A- Certificado de aprovação do projeto pela CEUA.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370
Email: ceua@ufop.br



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais n.º 2015/15, intitulado "*Efeito do consumo de açai (Euterpe oleracea Mart.) e da dieta high fat sobre a programação metabólica da doença hepática gordurosa não alcoólica em ratos.*", que tem como responsável o/a Prof(a). Dr(a). **Renata Nascimento de Freitas**, foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP, de acordo com tabela abaixo:

Dados dos Animais Aprovados			
Espécie/linhagem	N.º de Animais	Idade	Sexo
Rato heterogênico Fischer	176	90 dias	Fêmeas

Restrição de dieta: () sim (X) não

Especificar:

Este Certificado expira em: 30/03/2019.

Ouro Preto, 29 de fevereiro de 2016.

Prof.^a Dr.^a Lenice Kappes Becker
Coordenadora da CEUA/UFOP