UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA NUTRICIONAL
E BIOLOGIA MOLECULAR

RAFAELA ROSA DA SILVA

EFEITO HEPATOPROTETOR DO GUARANÁ (*Paullinia Cupana*) EM PÓ NA INFLAMAÇÃO CAUSADA POR DOSE TÓXICA DE PARACETAMOL EM RATOS

Ouro Preto - MG
2025

RAFAELA ROSA DA SILVA

EFEITO HEPATOPROTETOR DO GUARANÁ (*Paullinia Cupana*) EM PÓ NA INFLAMAÇÃO CAUSADA POR DOSE TÓXICA DE PARACETAMOL EM RATOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Profª Drª Melina Oliveira de Souza
Coorientadora: Mestranda Tamara Anastácio de Oliveira

Ouro Preto - MG

2025

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S586e Silva, Rafaela Rosa Da.
Efeito hepatoprotetor do guaraná (Paullinia Cupana) em pó na inflamação causada por dose tóxica de paracetamol em ratos. [manuscrito] / Rafaela Rosa Da Silva. - 2025.
59 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Melina Oliveira de Souza.
Coorientadora: Tamara Anastácio de Oliveira.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Graduação em Nutrição .

1. Acetaminofen. 2. Inflamação. 3. Citocinas. 4. Insuficiência Hepática Aguda. 5. Guaraná. 6. Paullinia Cupana. 7. Polifenóis. I. Souza, Melina Oliveira de. II. Oliveira, Tamara Anastácio de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 613.2

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247

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

FOLHA DE APROVAÇÃO

Rafaela Rosa da Silva

Efeito hepatoprotetor do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó na inflamação causada por dose tóxica de paracetamol em ratos

Monografia apresentada ao Curso de Nutrição da Universidade Federal
de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Nutricionista

Aprovada em 14 de fevereiro de 2025

Membros da banca

Profª. Drª. Melina Oliveira de Souza - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestranda Tamara Anastácio de Oliveira - Co-orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Profª. Drª. Júlia Cristina Cardoso Carraro - Universidade Federal de Ouro Preto
Msc. Thainá Gomes Peixoto - Universidade Federal de Ouro Preto

Melina Oliveira de Souza, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 20/02/2025

Documento assinado eletronicamente por **Melina Oliveira de Souza**, **PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 19/02/2025, às 10:04, 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 **0862252** e o código CRC **0C39809E**.

Dedico este trabalho à minha família, pelo apoio em todos os momentos e por terem sido meu suporte ao longo dessa caminhada. Cada um de vocês foi essencial para que esta conquista fosse possível, e por isso, minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar agradecendo à minha falecida mãe, Sônia, que sempre foi minha base, meu alicerce e minha companheira, nunca duvidou do meu potencial, e me incentivou em tudo que eu me propusesse a fazer. Como eu sinto sua falta e gostaria que você pudesse ver onde estou agora!

Também quero agradecer à minha tia e segunda mãe, Benvinda, que me considera como filha, esteve presente durante toda minha vida e possibilitou a realização desse curso. Agradeço pois você, assim como minha mãe, me estimulou a estudar desde cedo, sabendo que era a única maneira de conseguir uma estabilidade no futuro. Além disso, te agradeço por todo cuidado e carinho, especialmente, mas não exclusivamente, nos momentos difíceis.

Também agradeço aos meus primos/irmãos, Samara e Wanderson, ao meu pai, Adelson, e à minha madrinha, Fabíola. Sem o apoio de vocês, nada disso seria possível. Sei que sou muito distante e mantenho pouco contato, mas estou de longe desejando todo o sucesso e coisas boas para vocês, assim como sei que vocês estão por mim.

Às minhas amigas, Helena, Isabella e Bruna, cuja amizade surgiu durante o curso, mas espero que dure por muito tempo, meu também muito obrigada. Me sinto muito grata por ter criado um vínculo tão profundo, sincero e que surgiu de maneira despretensiosa com vocês. Tenho certeza de que a jornada teria sido muito mais difícil sem seu apoio.

Um agradecimento especial à minha orientadora, Melina. Eu me sinto a aluna mais abençoada da ENUT por te ter como orientadora, algo que faço questão de falar para todos que me dão oportunidade. Você é uma professora única e excepcional, pois além de orientar de maneira espetacular, se preocupa com seus alunos como um todo, como um ser humano, e isso é raro.

Agradeço à minha coorientadora e parceira de laboratório, Tamara. Também me sinto muito realizada por te ter como coorientadora, pois você é extremamente inteligente, esforçada e determinada, e também deseja tudo de positivo para seus orientandos. Sei que te dei muito trabalho, assim como à Clécia, mas sou grata pelo acompanhamento de vocês. Além disso, meu muito obrigada aos meninos do Projeto Guaraná, Camila, Carol, Ana Rosa, Daiane e Paulo.

Agradeço à banca, pela contribuição neste trabalho.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Ouro Preto e à Escola de Nutrição, especialmente aos professores, por acompanharem minha jornada de estudos e terem compartilhado seus conhecimentos. Ainda, ao técnico do Laboratório de Bioquímica

Nutricional e Biologia Molecular, Gustavo, aos funcionários do CCA e à FAPEMIG, meu muito obrigada por permitirem e auxiliarem na realização desse projeto.

Não são nossas habilidades que revelam quem realmente somos. São nossas escolhas.
(J. K. Rowling, Harry Potter e a Câmara Secreta)

RESUMO

O paracetamol é um antipirético e analgésico de fácil acesso, inclusive sem receita médica. O consumo desse medicamento em doses acima do recomendado (4000 mg/dia) pode gerar hepatotoxicidade, uma vez que sua metabolização pelo fígado leva à produção de uma substância tóxica para os hepatócitos, NAPQI, que se acumula no órgão, gerando lesão e resultando em estresse oxidativo e subsequente necrose das células hepáticas. Com a necrose, são liberados Padrões Moleculares Associados ao Dano (DAMPs), que são reconhecidos por células do sistema imune, estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, que geram uma resposta inflamatória sistêmica. Apesar de a inflamação constituir um mecanismo de defesa do corpo, a inflamação crônica é danosa ao organismo, e no fígado acaba por agravar a lesão hepática causada pela dose tóxica de paracetamol, gerando um quadro de Insuficiência Hepática Aguda (IHA). Essa patologia é caracterizada pela ocorrência de icterícia, encefalopatia hepática, coagulopatia, podendo resultar em falência múltipla de órgãos e morte. Sabe-se que a nutrição tem um grande papel na saúde, sendo um deles a prevenção de doenças por meio da alimentação. O guaraná (*Paullinia cupana*) é um fruto nativo da região amazônica descrito como importante fonte de polifenóis, compostos bioativos estudados por apresentarem, dentre outros fatores, importante atividade anti-inflamatória. Dessa maneira, o objetivo desse estudo foi averiguar o efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó na inflamação em um modelo de IHA induzida por dose tóxica de paracetamol, por meio da dosagem da concentração hepática de citocinas inflamatórias. Para realização do trabalho, foram utilizados 32 ratos *Wistar* machos, divididos em 4 grupos experimentais, cada um contendo 8 animais: grupo controle (C), grupo guaraná (G), grupo paracetamol (P) e grupo paracetamol + guaraná (PG). Os animais dos grupos G e PG receberam 300 mg de guaraná em pó/Kg de massa corporal durante 7 dias para análise da capacidade hepatoprotetora. No oitavo dia do experimento, os animais dos grupos P e PG receberam 3 g de paracetamol/Kg de massa corporal, para indução da hepatotoxicidade. No nono dia, os 32 animais foram eutanasiados e tiveram o sangue e o fígado coletados. Para análise da atividade inflamatória, foi quantificada a concentração hepática das citocinas pró-inflamatórias IL-1β, IL-6, IL-18 e TNF, e para análise da lesão hepática foi quantificada a atividade sérica das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Além disso, também foram observados os parâmetros murinométricos dos animais. Após a realização do experimento, foi possível observar que a ingestão de dose tóxica de paracetamol causou inflamação hepática, com observado aumento da concentração hepática de todas as citocinas analisadas, além de dano hepático, comprovado pelo aumento da atividade sérica das enzimas ALT e AST. Já a suplementação com guaraná em pó agiu como hepatoprotetora e preveniu o aumento da concentração hepática da IL-1β e TNF, além de prevenir o aumento da atividade sérica das enzimas hepáticas, sem alterar os parâmetros murinométricos dos animais. Estes resultados encontrados são possivelmente atribuídos ao teor de polifenóis totais presentes no guaraná, assim como pela presença de outros nutrientes e não nutrientes presentes no fruto.

Palavras-chave: Paracetamol; Inflamação; Citocinas; Insuficiência Hepática Aguda; Guaraná; *Paullinia Cupana*; Polifenóis.

ABSTRACT

Paracetamol is an antipyretic and analgesic that is easily accessible, even without a medical prescription. The consumption of this medication in doses above the recommended (4000 mg/day) can cause hepatotoxicity, since its metabolism by the liver leads to the production of a substance toxic to hepatocytes, NAPQI, which accumulates in the organ, causing injury and resulting in oxidative stress and subsequent necrosis of liver cells. With necrosis, Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) are released, which are recognized by immune system cells, stimulating the production of pro-inflammatory cytokines, generating a systemic inflammatory response. Although inflammation constitutes a defense mechanism of the body, chronic inflammation is harmful to the organism, and in the liver, it ends up worsening the hepatic injury caused by the toxic dose of paracetamol, leading to a condition of Acute Liver Failure (ALF). This pathology is characterized by the occurrence of jaundice, hepatic encephalopathy, coagulopathy, and may result in multiple organ failure and death. It is known that nutrition plays a major role in health, one of which is disease prevention through diet. Guarana (*Paullinia cupana*) is a fruit native to the Amazon region described as an important source of polyphenols, bioactive compounds studied for presenting, among other factors, significant anti-inflammatory activity. Therefore, the objective of this study was to investigate the effect of preventive treatment with guarana powder on inflammation in a model of ALF induced by a toxic dose of paracetamol, through the measurement of hepatic concentration of inflammatory cytokines. For the execution of the study, 32 male *Wistar* rats were used, divided into 4 experimental groups, each containing 8 animals: control group (C), guarana group (G), paracetamol group (P), and paracetamol + guarana group (PG). The animals in groups G and PG received 300 mg of guarana powder/wt of body mass for 7 days to analyze the hepatoprotective capacity. On the eighth day of the experiment, the animals in groups P and PG received 3 g of paracetamol/wt of body mass to induce hepatotoxicity. On the ninth day, the 32 animals were euthanized, and their blood and liver were collected. To analyze inflammatory activity, the hepatic concentration of the pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, IL-18, and TNF was quantified, and to analyze hepatic injury, the serum activity of the liver enzymes alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) was quantified. Additionally, the murinometric parameters of the animals were also observed. After conducting the experiment, it was observed that the ingestion of a toxic dose of paracetamol induced hepatic inflammation, evidenced by an increase in the hepatic concentration of all analyzed cytokines, as well as liver damage, confirmed by the elevated serum activity of ALT and AST enzymes. In contrast, supplementation with guarana powder exhibited a hepatoprotective effect, preventing the increase in hepatic concentrations of IL-1β and TNF, as well as the rise in serum activity of hepatic enzymes, without altering the murinometric parameters of the animals. These results are possibly attributed to the total polyphenol content present in the guarana, as well as the presence of other nutrients and non-nutrients in the fruit.

Keywords: Paracetamol; Inflammation; Cytokines; Acute Liver Failure; Guarana; *Paullinia Cupana*; Polyphenols.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenvolvimento da resposta inflamatória e posterior reparação tecidual..... 17

Figura 2: Classificação dos polifenóis..... 22

Figura 3: Estrutura química dos flavonóides..... 23

Figura 4: Arbustos de Paullinia cupana com frutos maduros..... 25

Figura 5: Formas comerciais do guaraná..... 26

Figura 6: Fluxograma representando as etapas para obtenção do extrato aquoso..... 28

Figura 7: Curva padrão empregando ácido gálico realizada para a quantificação de polifenóis totais no extrato aquoso do guaraná em pó..... 29

Figura 8: Divisão dos grupos experimentais..... 30

Figura 9: Delineamento experimental..... 31

Figura 10: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre os parâmetros do consumo alimentar de ratos Wistar..... 35

Figura 11: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre os parâmetros biométricos de ratos Wistar.... 37

Figura 12: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre a atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase..... 39

Figura 13: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre a concentração hepática das citocinas inflamatórias IL-1β, IL-6, IL-18 e TNF..... 41

Figura 14: Resumo gráfico dos resultados encontrados..... 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade de polifenóis totais presente no guaraná em pó analisado..... 33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT - Alanina aminotransferase

AST - Aspartato aminotransferase

C - Grupo controle

CAMs - Moléculas de adesão celular

CCl_4 - Tetracloreto de carbono

CEA - Coeficiente de eficiência alimentar

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CGPCC - Coeficiente de Ganho de Peso por Consumo Calórico

Cm^2 - Centímetros quadrados

CNA - Comprimento naso-anal

COX - Ciclo-oxigenase

DAMPs - Padrões moleculares associados a danos

EAG - Equivalente de ácido gálico

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EROs - Espécies reativas de oxigênio

EUA - Estados Unidos da América

g - Força g

G - Grama

G - Grupo guaraná

HCl - Ácido clorídrico

ICAM-1 - Molécula de Adesão Intercelular-1

IFN - Interferon

IHA - Insuficiência hepática aguda

IkB - Proteína inibitória kappa B

IL - Interleucina

KCl - Cloreto de potássio

KCs - Células de Kupffer

Kg - Quilo

KH_2PO_4 - Fosfato de potássio monobásico

LOX - Lipoxigenase

MAPK - Quinases de proteínas ativadas por mitógeno

Mg - Miligrama

mL - Mililitro

MoMF - Macrófagos derivados de monócitos

Na_2CO_3 - Carbonato de sódio

Na_2HPO_4 - Fosfato de sódio dibásico

NaCl - Cloreto de sódio

NAPQI - N-acetil-p-benzoquinonaimina

NF-κB - Fator Nuclear Kappa B

NOX - NADPH oxidase

P - Grupo paracetamol

PBS - Phosphate-buffered saline

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PG - Grupo paracetamol + guaraná

SISGEN - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

STAT - Transdutor de sinal e ativador de transcrição

TGF - Fator de Crescimento Transformador

TLRs - Receptores do tipo Toll-like

TNF - Fator de Necrose Tumoral

TNFR1 - Receptor 1 do Fator de Necrose Tumoral

UFOP - Universidade Federal de Ouro Preto

UL - Microlitro

VCAM-1 - Molécula 1 de Adesão Vascular Celular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....15

2 REFERENCIAL TEÓRICO.....16

2.1 Inflamação.....16

2.2 O papel da inflamação na insuficiência hepática aguda.....19

2.3 O efeito anti-inflamatório dos polifenóis.....22

2.4 Guaraná.....25

3 OBJETIVOS.....27

3.1 Objetivo geral.....27

3.2 Objetivos específicos.....27

4 METODOLOGIA.....27

4.1 Obtenção do guaraná em pó.....27

4.2 Quantificação de polifenóis totais.....28

4.2.1 Preparo do extrato aquoso.....28

4.2.2 Quantificação de polifenóis totais no extrato aquoso de guaraná.....28

4.3 Animais e condições experimentais.....30

4.4 Parâmetros murinométricos.....32

4.4.1 Avaliação do consumo alimentar.....32

4.4.2 Análise da composição corporal.....32

4.5 Avaliação da função hepática.....32

4.6 Concentração hepática de citocinas inflamatórias.....32

4.6.1 Preparo do tecido hepático.....33

4.6.2 Interleucina-1β.....33

4.6.3 Interleucina-6.....33

4.6.4 Interleucina-18.....34

4.6.5 Fator de necrose tumoral.....34

4.7 Análise estatística.....34

5 RESULTADOS.....34

5.1 Quantificação de polifenóis totais.....34
5.2 Parâmetros murinométricos..... 35
5.2.1 Avaliação do consumo alimentar..... 35
5.2.2 Análise da composição corporal..... 36
5.3 Função hepática.....39
5.4 Concentração hepática de citocinas inflamatórias..... 40
6 DISCUSSÃO.....43
7 CONCLUSÃO.....47
REFERÊNCIAS.....48
ANEXOS.....57

1 INTRODUÇÃO

A insuficiência hepática aguda (IHA) é uma síndrome caracterizada pela ocorrência de um episódio agudo de disfunção hepatocelular grave em um paciente sem doença hepática preexistente (IONITA-RADU *et al.,* 2020). Tal patologia ocorre mais frequentemente em indivíduos jovens, sendo marcada por quadros de icterícia, coagulopatia, encefalopatia hepática, e, em muitos casos, progressiva falência multissistêmica e morte, apresentando desafios únicos na prática clínica (MONTRIEF, T., 2019; SHINGINA *et al.*, 2023).

No que tange a etiologia, nos países em desenvolvimento, a principal forma de aparecimento da IHA é viral, com as infecções por hepatite A, B e E identificadas como as principais causas em diversos países. Medidas de saúde pública, a exemplo da vacinação e da melhoria da sanitização, são alguns dos fatores que corroboraram para a redução da incidência dessas infecções nos Estados Unidos da América (EUA) e na Europa Ocidental. Em tais localidades, a lesão hepática induzida por drogas, principalmente o paracetamol, é a etiologia mais comum de IHA (MONTRIEF, T., 2019), e representa um percentual de 46% de todos os casos de IHA nos EUA. A ingestão de dose tóxica de paracetamol pode ocorrer de maneira intencional, geralmente em tentativas de suicídio, ou não intencional, também conhecida como acidente terapêutico, sendo a maioria dos casos de IHA relacionados ao paracetamol causados por erros terapêuticos (LEE *et al.,* 2024). É importante destacar que apesar de a dose tóxica de paracetamol apresentar maiores proporções como causa de IHA na atualidade, nas décadas anteriores essa etiologia já alcançava altos valores. No final da década de 1990, um relatório multicêntrico do *Acute Liver Failure Study Group* identificou a toxicidade por paracetamol como a causa de IHA em 20% dos casos (CHUN *et al*., 2009).

O paracetamol é um medicamento da classe dos anti-inflamatórios não esteroidais. Devido seu efeito antipirético e analgésico, além do baixo custo e fácil acesso, o paracetamol é muito utilizado pela população, mesmo sem prescrição médica. Em relação ao seu metabolismo, este é feito pelo fígado, com o medicamento apresentando alta capacidade hepatotóxica quando ingerido em quantidades acima do recomendado (CONCEIÇÃO *et al.*, 2024).

A lesão hepática induzida por paracetamol ocorre por consequência do aumento da produção de N-acetil-p-benzoquinonaimina (NAPQI), um metabólito tóxico do paracetamol que se acumula no fígado, resultando em estresse oxidativo e posterior necrose dos hepatócitos (MONTRIEF, T., 2019). Durante esse processo há liberação de Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs) e seu reconhecimento desencadeia uma resposta

inflamatória por causas estéreis (NECA, C. S. M., 2022). De maneira subsequente, o reconhecimento dos DAMPs por células do sistema imune leva à produção de citocinas pró-inflamatórias, que, por sua vez, estimulam uma resposta inflamatória sistêmica (ZINDEL, J., 2020). Embora a inflamação desempenhe um papel essencial na reparação e regeneração dos tecidos, a inflamação crônica não resolvida é danosa ao hospedeiro e pode resultar no agravamento da lesão hepática induzida por paracetamol por intensificar a necrose dos hepatócitos, resultando na instauração da IHA (DONG *et al.*, 2019; GONG, T., 2020).

Vários compostos naturais são estudados por suas capacidades anti-inflamatórias e antioxidantes, podendo ser benéficos na prevenção de patologias como a IHA. Um deles são os polifenóis, metabólitos secundários das plantas, incluindo ervas, chás, frutas e vegetais, e presentes em quase toda dieta equilibrada, especialmente onde frutas e vegetais constituem a base da alimentação (GASMI *et al.*, 2022). A característica anti-inflamatória dos polifenóis está relacionada à sua atividade antioxidante, como a remoção de espécies reativas de oxigênio (EROs), além de sua capacidade de alterar a expressão de vários genes pró-inflamatórios, como as cicloxigenases, as sintases de óxido nítrico (NOS), múltiplas citocinas e lipoxigenases (SOBHANI, M., 2020).

Um fruto muito conhecido pelo alto teor de cafeína e que também é importante fonte de compostos fenólicos é o guaraná, originário do guaranazeiro (*Paullinia cupana*), pertencente à família *Sapindaceae*. O pó de guaraná é muito popular devido à sua versatilidade e facilidade de utilização em diversos produtos, como alimentos, bebidas, suplementos dietéticos, cosméticos e produtos farmacêuticos. Apesar de muito estudado pelo seu conteúdo de cafeína e pelos efeitos observados no sistema nervoso central, as bioatividades do guaraná de forma sistêmica foram pouco exploradas, principalmente em modelos animais, deixando aberta uma lacuna de conhecimento no que tange a esse alimento (TEIXEIRA, C. D., 2024).

Assim sendo, o objetivo desse estudo é analisar o efeito preventivo do guaraná em pó sobre a inflamação em um modelo de IHA causada por dose tóxica de paracetamol em ratos, por meio da dosagem da concentração hepática de citocinas inflamatórias.

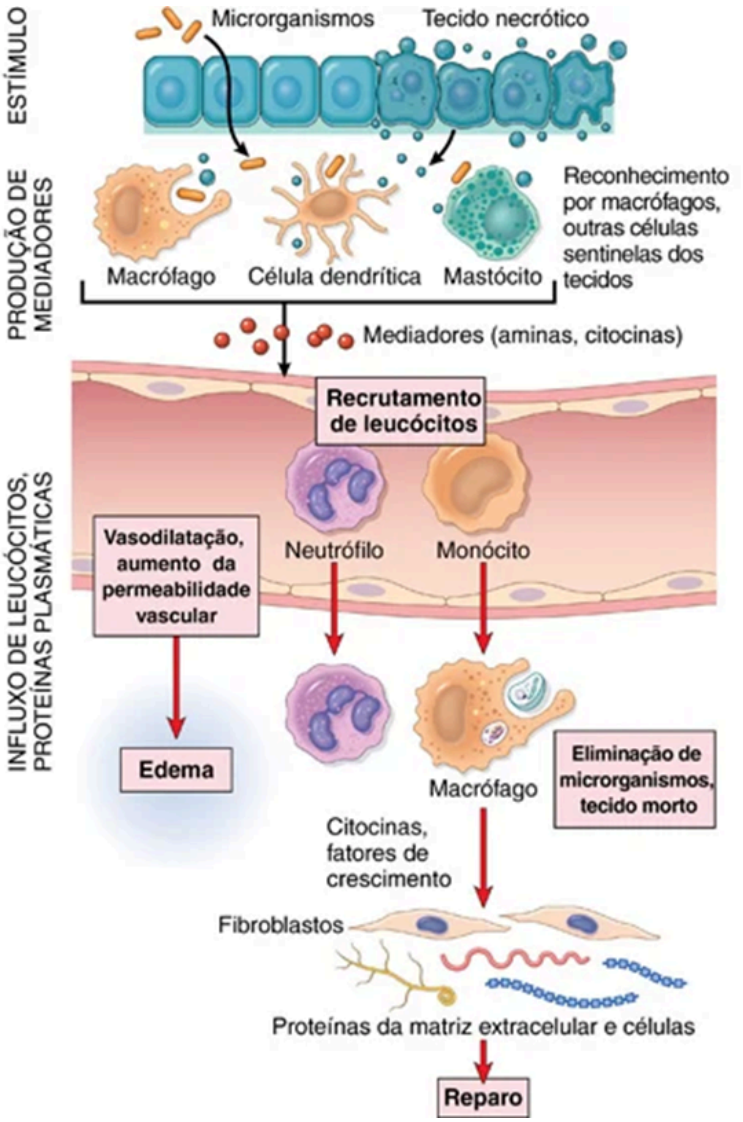
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Inflamação

Inflamação (do latim *inflammare*, sendo a ação ou efeito de incendiar ou queimar) (ORONSKY, B., 2022), em termos biológicos, é a resposta dos tecidos vascularizados às infecções e aos danos teciduais sofridos, que atraem componentes do sistema imune do indivíduo da circulação para as regiões infectadas ou lesadas, com o objetivo de neutralizar e eliminar estímulos capazes de causar ou exacerbar uma lesão (KUMAR, V., 2018).

A inflamação pode ser classificada em dois tipos: aguda e crônica. A inflamação aguda é aquela resposta inicial e rápida contra os danos causados aos tecidos. Ela se desenvolve em questão de minutos e horas e tem uma duração curta de, no máximo, dias. Suas principais características são a saída de líquidos e proteínas plasmáticas do interior dos vasos para os tecidos circundantes e emigração de leucócitos, especialmente neutrófilos. Após a resolução do propósito de eliminar os agentes agressivos, a reação inflamatória diminui e a reparação tecidual é iniciada. Contudo, caso a resposta inicial de defesa do organismo não seja capaz de eliminar o estímulo originário da inflamação, a reação evolui para um tipo de inflamação mais duradoura denominada inflamação crônica, que pode seguir de uma inflamação aguda preexistente ou surgir de uma nova lesão ou infecção. É uma reação de maior durabilidade e está relacionada à maior presença de macrófagos e linfócitos, destruição de tecidos, angiogênese e fibrose (Figura 1) (KUMAR, V., 2018).

Figura 1: Desenvolvimento da resposta inflamatória e posterior reparação tecidual.



Fonte: KUMAR, V., 2018.

Apesar de a resposta inflamatória ser uma das mais importantes maneiras de execução da resposta imune e constituir um mecanismo de defesa crucial contra inúmeras agressões, em várias situações ela também pode danificar o organismo, como no caso da inflamação estéril (FILHO, G. B., 2021). Inflamação estéril é aquela que acomete órgãos sólidos, como o fígado, na ausência de patógenos, e está comumente correlacionada ao reconhecimento de conteúdos intracelulares, também conhecidos como Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs). Os DAMPs são fatores endógenos normalmente isolados no interior das células e, desse modo, impedidos de serem reconhecidos pelo sistema imune em condições fisiológicas normais. Entretanto, sob condições de lesão celular, essas moléculas podem ser liberadas no meio extracelular por células danificadas e estimular inflamação em condições estéreis (MURAO, A., 2021).

Como uma maneira de alertar o sistema imune sobre as lesões teciduais e dar início a uma resposta de regeneração tecidual, são liberadas citocinas durante a necrose celular relacionada a lesões estéreis (WOOLBRIGHT, B. L., 2017). Produzidas por células no foco da inflamação ou formadas por meio de precursores circulantes inativos, as citocinas são moléculas que mediam os processos inflamatórios, estando envolvidas no seu início, evolução e término. Determinadas citocinas atuam para promoção da resolução e inibição da resposta inflamatória, sendo as citocinas anti-inflamatórias, como interleucina (IL) -10, fator de crescimento transformador (TGF) -β e IL-4. Outras citocinas favorecem a inflamação, sendo nomeadas citocinas pró-inflamatórias, como IL-1β, fator de necrose tumoral (TNF), IL-6 e IL-18 (FILHO, G. B., 2021).

Em relação aos meios de ação das referidas citocinas pró-inflamatórias, muitas das características clássicas da inflamação podem ser produzidas pelos efeitos locais do TNF nas células endoteliais, como três dos cinco sinais cardinais: calor, rubor e edema. O TNF também estimula a expressão de moléculas de adesão celular (CAMs) e selectinas, que, juntamente com a vasodilatação, permitem o recrutamento de diferentes populações de leucócitos para atuarem na inflamação (BRADLEY, J. R, 2007; ZELOVÁ, 2013). Já a IL-1β é responsável pela indução da febre, facilitando as funções dos linfócitos, que em mamíferos são mais pronunciados em temperaturas superiores a 37°C, amplificar a proliferação de linfócitos B e T a antígenos/mitógenos, estimular a neutrofilia e proteínas de fase aguda, induzir a produção de enzimas proteolíticas e prostaglandinas por fibroblastos, condrócitos e outras células, aumentar a expressão e produção de quimiocinas (IL-8, Proteína quimioatraente de monócitos-1) e citocinas inflamatórias (TNF, IL-6, a própria IL-1), e induzir a produção de EROs e óxido nítrico (NO) (BORASCHI, D., 2022). A IL-6 atua sobre células endoteliais induzindo a ativação do Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição (STAT) 3, a expressão de quimiocinas e o aumento da Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1), contribuindo para a inflamação local ao também ativar o recrutamento de leucócitos (HIRANO, T., 2021). Por fim, a IL-18 promove respostas de Interferon (IFN) γ, além de aumentar a expressão da Molécula 1 de Adesão Vascular Celular (VCAM-1), uma CAM que também permite o extravasamento de células imunológicas (KEVEL, P. A. 2014; SOMM, E., 2022).

2.2 O papel da inflamação na insuficiência hepática aguda

Situado no hipocôndrio direito, o fígado é o maior órgão do corpo humano, atuando no armazenamento e degradação de substâncias, produção de hormônios, síntese e secreção de

sais biliares, regulação do metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, além de se envolver nas respostas imunes (RUSSO, A. J. F., 2018).

O termo insuficiência hepática aguda se refere a uma síndrome observada de lesão aos hepatócitos, células efetoras do fígado. A IHA é impremeditada e possui um início rápido, se diferenciando da cirrose descompensada ou da insuficiência hepática crônica por não haver uma doença preexistente no fígado, afetando indivíduos inicialmente saudáveis, com um desfecho muitas das vezes fatal (STRAVITZ, R. T., 2019).

Etiologias de IHA englobam hepatite viral, lesão hepática induzida por drogas, falência hepática induzida pela gravidez e hepatite autoimune, mas há também um grande número de casos por causas indeterminadas (ARSHAD, M. A., 2020).

Apesar de possuir várias causas, a IHA se caracteriza por quadros clínicos consideravelmente semelhantes, que envolvem o prolongamento do tempo de protrombina, encefalopatia hepática, icterícia, instabilidade cardiovascular, susceptibilidade à infecção, lesão renal aguda e presença de edema cerebral (STRAVITZ, R. T., 2019).

Dentre os marcadores de lesão no fígado, a atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são os mais comumente usados na prática clínica. Essas enzimas são encontradas nas células hepáticas e liberadas no sangue em consequência de lesão e subsequente rompimento da membrana plasmática do hepatócito. Além do fígado, a AST está presente em outros órgãos, como rins e pâncreas; já a ALT está presente em grandes concentrações nos hepatócitos e muito baixa em outros órgãos, ofertando, desta maneira, uma maior especificidade para sinalizar injúria hepática, especialmente quando se eleva conjuntamente à AST (MCGILL, M. R., 2016).

A causa mais frequentemente observada de IHA é a toxicidade induzida por excesso de paracetamol (STRAVITZ, R. T., 2019). O paracetamol (N-acetil-para-aminofenol) é um medicamento utilizado para aliviar a dor e combater a febre, sendo amplamente utilizado pela população e vendido sem receita médica. Tal analgésico é considerado seguro e eficiente em sua dose terapêutica padrão, que para adultos corresponde a uma ingestão de 1000 mg a cada 4 horas, conforme necessário, até uma dose diária máxima de 4 g, mas quando consumido em quantidades além das recomendadas**,** pode ocasionar hepatotoxicidade com evolução para a IHA (OHASHI, N. 2020). Na intoxicação por paracetamol, é formado um metabólito intensamente reativo, o NAPQI, que se acumula no fígado. Esse subproduto é especialmente tóxico para as mitocôndrias, desacoplando as reações oxidativas que ocorrem na cadeia respiratória, resultando em estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. O distúrbio dessas organelas, acompanhado da fragmentação nuclear relacionada, resulta em um processo de

necrose dos hepatócitos. Após a necrose, há liberação de DAMPs, e o reconhecimento dessas moléculas estimula a resposta inflamatória por causas estéreis (NECA, C. S. M, 2022).

As primeiras células que operam no processo inflamatório hepático induzido pelo consumo tóxico de paracetamol são as células de Kupffer (KCs), que compõem uma população de macrófagos residentes no fígado. A liberação de DAMPs ativa as KCs, que expressam receptores do tipo Toll-like (TLRs), que são moléculas de reconhecimento de padrões, em suas membranas. A ativação das KCs resulta na produção de citocinas e quimiocinas, além ativação da via do fator nuclear kappa B (NF-κB), que promove a regulação positiva de diversos mediadores pró-inflamatórios. As altas concentrações de citocinas e quimiocinas liberadas por KCs no sangue promovem o recrutamento de várias células imunes inatas para o fígado, como neutrófilos e monócitos, além de estimular outros macrófagos residentes (WOOLBRIGHT, B. L., 2017).

Além de produzirem citocinas e quimiocinas, as KCs produzem EROs por meio da enzima NADPH oxidase (NOX) 2. Após estímulo, as KCs induzem um desequilíbrio oxidativo vascular, resultando em morte celular dos hepatócitos através da ativação do sistema do complemento. Desse modo, as KCs inicialmente ativadas pela necrose dos hepatócitos, aumentam o processo de necrose nas demais células hepáticas (WOOLBRIGHT, B. L., 2017).

No que tange aos neutrófilos recrutados, sua chegada no fígado ocorre no intervalo de 3 a 9 horas seguintes do início da toxicidade, e seu recrutamento em grandes quantidades também pode ocasionar estresse oxidativo suficiente para lesionar os hepatócitos, mediante liberação de produtos secretórios e de várias espécies citotóxicas (WOOLBRIGHT, B. L., 2017).

Os macrófagos derivados de monócitos (MoMF) são uma população celular também atuante na resposta inflamatória no fígado. No momento da lesão hepática, monócitos presentes na corrente sanguínea são recrutados para o fígado, onde se convertem em macrófagos. Os macrófagos M1 geralmente intensificam a inflamação, liberam citocinas pró-inflamatórias, e, em algumas situações, contribuem para a morte celular. De maneira alternativa, os macrófagos M2 contribuem para a resolução da inflamação, secretando grandes quantidades de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 (WOOLBRIGHT, B. L., 2017).

Sendo assim, a toxicidade inicial causada pelo consumo excessivo de paracetamol leva à necrose dos hepatócitos, havendo liberação de DAMPs, que são reconhecidos por células do sistema imune, resultando numa resposta inflamatória estéril, e havendo produção de citocinas

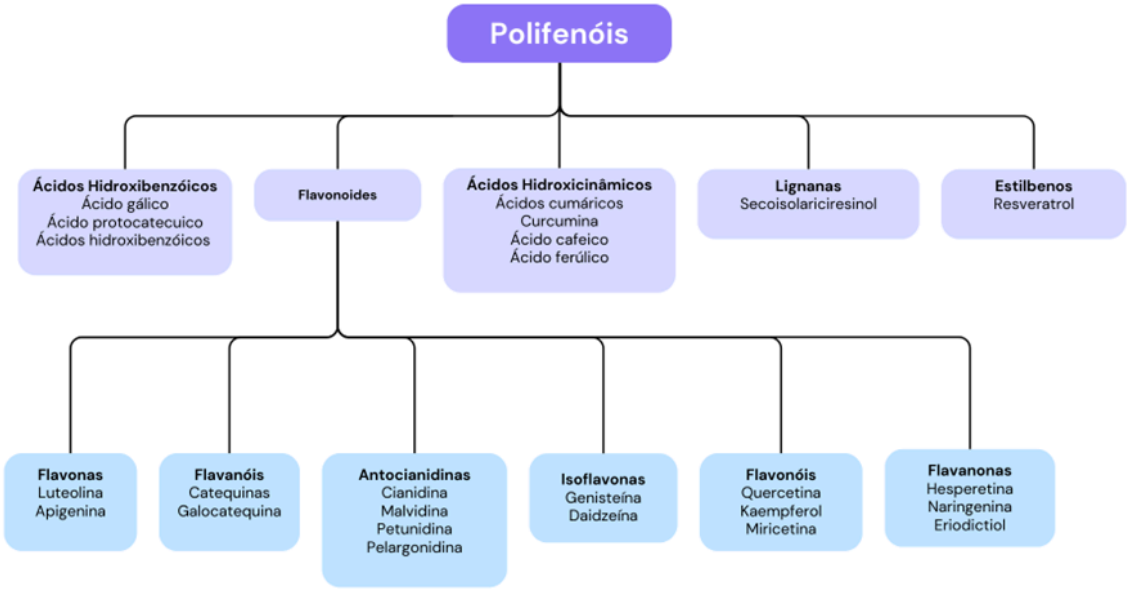
inflamatórias que agravam a lesão hepática induzida por paracetamol por intensificar a necrose dos hepatócitos, e resultando na instauração da IHA (STRAVITZ, R. T., 2019).

2.3 O efeito anti-inflamatório dos polifenóis

Os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis, compõem um dos grupos de metabólitos secundários mais amplos e onipresentes no reino vegetal. Possuem capacidades bioativas, como a competência para modular o estresse oxidativo e inflamatório, alterar a digestão de macronutrientes e realizar efeitos semelhantes aos prebióticos na microbiota intestinal (BERTELLI. A., 2021). Além de estarem presentes em uma ampla gama de produtos vegetais, possuem baixa toxicidade e uma especificidade de resposta. No entanto, são metabolizados rapidamente e apresentam, consequentemente, uma baixa biodisponibilidade (RASOULI, H., 2017). Tais compostos são absorvidos no trato gastrointestinal e metabolizados após a absorção intestinal antes de serem distribuídos pela circulação sanguínea para diferentes órgãos e tecidos para efetuarem suas múltiplas ações (ZHANG. H., 2016).

Existem diversas maneiras de classificar os polifenóis, sendo uma delas a subdivisão entre as classes flavonoides e não flavonoides (Figura 2). Os flavonoides constituem o maior grupo de polifenóis, e a diversidade estrutural de suas moléculas é resultado de variações no padrão de hidroxilação e no estado de oxidação do anel pirânico central, sucedendo em uma diversidade de compostos: antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavanois, flavonóis, flavanonas e isoflavonas (BERTELLI. A., 2021).

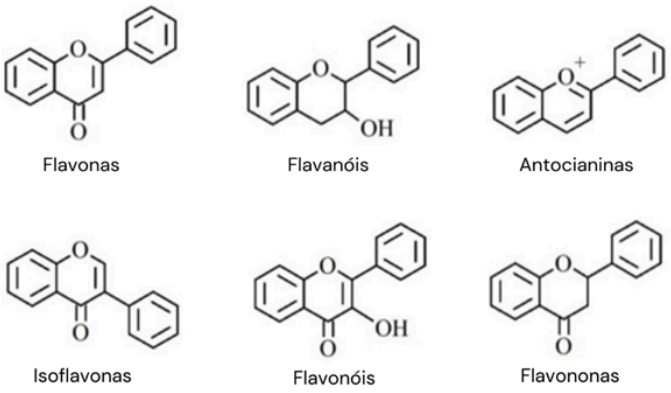
Figura 2: Classificação dos polifenóis.



Fonte: ABOLAJI, A., 2018.

No que tange à organização química, os compostos fenólicos possuem um anel aromático com um grupo hidroxila, enquanto os polifenóis podem ter um ou mais anéis aromáticos ligados a um ou mais grupo hidroxila (Figura 3). As capacidades antioxidantes e anti-inflamatórias, além de outras funções biológicas dos polifenóis, foram profusamente atribuídas às estruturas químicas particulares. A presença de anéis aromáticos com múltiplos grupos hidroxila fazem desses compostos bons doadores de elétrons ou átomos de hidrogênio, com capacidade de neutralizar espécies reativas (ZHANG. H., 2016).

Figura 3: Estrutura química dos flavonóides.



Fonte: BERTELLI, A., 2021.

Na dieta, os polifenóis estão presentes em alimentos de origem vegetal como frutas, sementes, nozes e hortaliças, e em bebidas como chá, vinho e cerveja. Eles são relativamente responsáveis pelas qualidades sensoriais e nutricionais dos alimentos vegetais, como odor, cor e adstringência, dependendo das concentrações (BERTELLI. A., 2021). Na maioria das vezes esses alimentos possuem uma mistura de polifenóis, e diversos aspectos podem afetar as concentrações desses compostos, englobando fatores ambientais, como exposição ao sol e a chuva, e fatores bioquímicos, como o tipo de armazenamento, o método de preparo e o grau de maturação (RASOULI, H., 2017).

Como supracitado, a literatura científica mostra que os polifenóis apresentam importante capacidade anti-inflamatória, que ocorre por diferentes mecanismos. Um deles é a atividade antioxidante. A maior produção de EROs está correlacionada ao estresse oxidativo, podendo ocasionar lesão tecidual, que pode dar início a resposta inflamatória. Os polifenóis atuam como antioxidantes e, consequentemente, como anti-inflamatórios, pois são capazes de eliminar EROs, inibir a atividade de enzimas responsáveis pela geração dessas espécies e quelar íons metálicos, resultando na diminuição de substâncias extremamente oxidantes (YAHFOUFI, N., 2018).

Alguns polifenóis também são capazes de inibir as enzimas geradoras de eicosanoides, englobando a ciclo-oxigenase (COX) e a lipoxigenase (LOX). Tal inibição resulta na queda das concentrações de ácido araquidônico, leucotrienos e prostanoides, indutores de resposta inflamatória por promoção de vasodilatação e aumento da permeabilidade tecidual (MAGRONE. T., 2020).

Os polifenóis também são capazes de reduzir a resposta inflamatória por meio da inibição da via do fator de transcrição NFκB, um complexo proteico que desempenha um papel central nas respostas inflamatórias por meio da indução da transcrição de diversos genes que codificam citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo, o TNF (YAHFOUFI, N., 2018).

Apesar do papel central do NF-κB na expressão de genes relacionados à inflamação, esse fator de transcrição necessita da assistência de outros fatores proteicos específicos, dentre os quais, as quinases de proteínas ativadas por mitógeno (MAPK). As MAPKs são uma família de quinases que regulam importantes processos celulares, incluindo a síntese de mediadores inflamatórios, e suas atividades podem ser moduladas pelos compostos fenólicos, que interferem, dessa maneira, na resposta inflamatória (MAGRONE. T., 2020).

Desse modo, os polifenóis são de suma importância para o organismo, realizando diversas ações metabólicas, a exemplo das anti-inflamatórias e atuando na prevenção e/ou tratamento das doenças crônicas não transmissíveis.

2.4 Guaraná

Paullinia cupana, da família Sapindaceae, popularmente conhecida como guaranazeiro, é uma espécie nativa da região amazônica utilizada por séculos pelas comunidades indígenas da região por suas propriedades estimulantes e medicinais (TORRES, E. A. F. S., 2022).

O guaranazeiro é um arbusto trepador, lenhoso, tropical de baixa altitude, adaptado a um clima quente e úmido. Seu caule principal possui sulcos profundos, com casca muito escura e corpo lenhoso simples. Apresenta folhas compridas e largas e flores pequenas. Os frutos são cápsulas elipsoidais ou esféricas, que são vermelhas quando maduras e possuem uma ou duas sementes ovais brilhantes, marrom-púrpura ou marrom-preta (Figura 4) (MARQUES, L. L. M., 2019).

Figura 4: Arbustos de *Paullinia cupana* com frutos maduros.

Fonte: EMBRAPA, 2016.

O guaraná é cultivado em pequenas e grandes fazendas, e sua colheita se dá manualmente na estação seca. Depois de colhidos, os frutos são embalados em sacos e armazenados em local ventilado por um período de dois a três dias, para o processo de

fermentação leve. A fermentação dos frutos facilita o despolpamento, que pode ser praticado manualmente ou por despolpadores. Após essa etapa, as sementes são lavadas e secas em tachos ou ao sol. Depois de secos e torrados, os grãos são guardados em sacas de fibra de juta e passam cerca de 2 a 4 meses defumando para conceder um sabor singular (AMAZONAS, 2021). O guaraná pode ser comercializado de diferentes formas: torrado, em bastão, em pó ou transformado em xaropes e essências (Figura 5) (CAMPOS, A. F., 2018).

Figura 5: Formas comerciais do guaraná.

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Quimicamente, as sementes de guaraná contêm mais cafeína do que qualquer outra planta no mundo, com níveis próximos à 5%. Além disso, são ricas em outros compostos, como polifenóis (catequina, epicatequina, taninos), metilxantinas (teobromina, teofilina, além da cafeína), saponinas, amido, proteínas, polissacarídeos, pigmentos, ácidos graxos, vitaminas (tiamina, colina, vitamina A) e minerais (fósforo, potássio, ferro, magnésio, cálcio) (HACK, B., 2023; TORRES, E. A. F. S., 2022).

Em relação a composição nutricional do guaraná, de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA), 100 g do alimento ofertam 377 calorias, 71,6 gramas de carboidrato, 16,5 gramas de proteína, 2,76 gramas de lipídios, 1,03 gramas de cinzas e 8,17 gramas de umidade (TBCA, 2024). No que tange a sua composição de polifenóis, em análise realizada por nosso grupo de pesquisa, o guaraná apresenta uma concentração de polifenóis totais de 4459,41 ± 88,23 mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de amostra (Dados não publicados).

Dentre os efeitos colaterais decorrentes da ingestão do guaraná, especialmente em virtude da alta concentração de cafeína, encontram-se: insônia, nervosismo, ansiedade, palpitação, náuseas, vômitos, cefaléia e espasmos abdominais (MIRANDA, M. V., 2010).

Relativamente à sua funcionalidade, além de ser amplamente utilizado na indústria alimentícia para a produção de refrigerantes e bebidas alcoólicas e pela indústria de cosméticos em produtos para pele e cabelos, o guaraná vem sendo cada vez mais utilizado pela indústria farmacêutica (MARQUES, L. L. M., 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Averiguar o efeito do tratamento preventivo com guaraná (*Paullinia cupana*) em pó na inflamação hepática causada pelo consumo de dose tóxica de paracetamol por ratos.

3.2 Objetivos específicos

- Efetuar a quantificação de polifenóis totais do guaraná em pó utilizado;
- Em ratos que receberam uma dose tóxica de paracetamol, analisar:
    1. Parâmetros murinométricos;
    2. Função hepática;
    3. Perfil de citocinas inflamatórias no fígado.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção do guaraná em pó

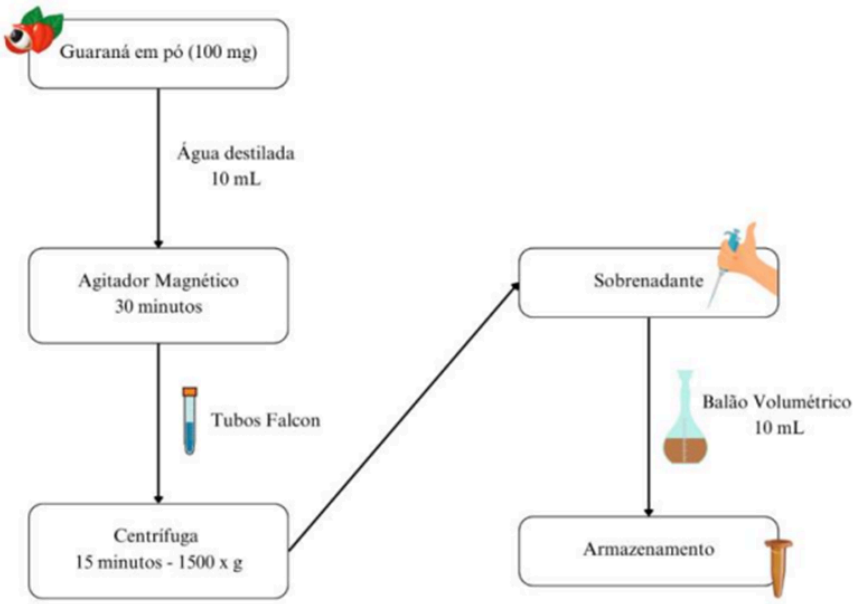
Para realização deste trabalho foi utilizado o guaraná em pó originário da Associação de Agricultores Familiares da Comunidade Ribeirinha e Tradicional de Jatuarana, localizada em Manaus, no estado do Amazonas, vinculada à Embrapa Amazônia Ocidental, uma das unidades descentralizadas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Após aquisição, foram feitas alíquotas do guaraná, que foram armazenadas em embalagens escuras e acondicionadas sob refrigeração. Visando acatar a Lei nº 13.123/2015, o guaraná em pó manipulado foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), com cadastro de nº AB4ACC4 (Anexo 1).

4.2 Quantificação de polifenóis totais

4.2.1 Preparo do extrato aquoso

Inicialmente, foi realizada a pesagem de 100 mg de guaraná em pó, no qual foram adicionadas 10 ml de água deionizada. Para uma melhor homogeneização, essa mistura foi submetida a agitação magnética durante 30 minutos. Logo após, a solução foi centrifugada em rotação de 10.015 g no decorrer de 15 minutos. Em seguida, a preparação teve o sobrenadante coletado e vertido em um balão volumétrico de 10 mL, com utilização de uma pipeta. Após esse processo, o volume do balão foi completado em 10 ml, resultando em um extrato aquoso com concentração de 10 mg/mL, que foi, por fim, homogeneizado e aliquotado em frascos de cor âmbar, conservados a -20 °C (Figura 6) (EMBRAPA, 2007).

Figura 6: Fluxograma representando as etapas para obtenção do extrato aquoso.



Fonte: PEDRO, C. C., 2024.

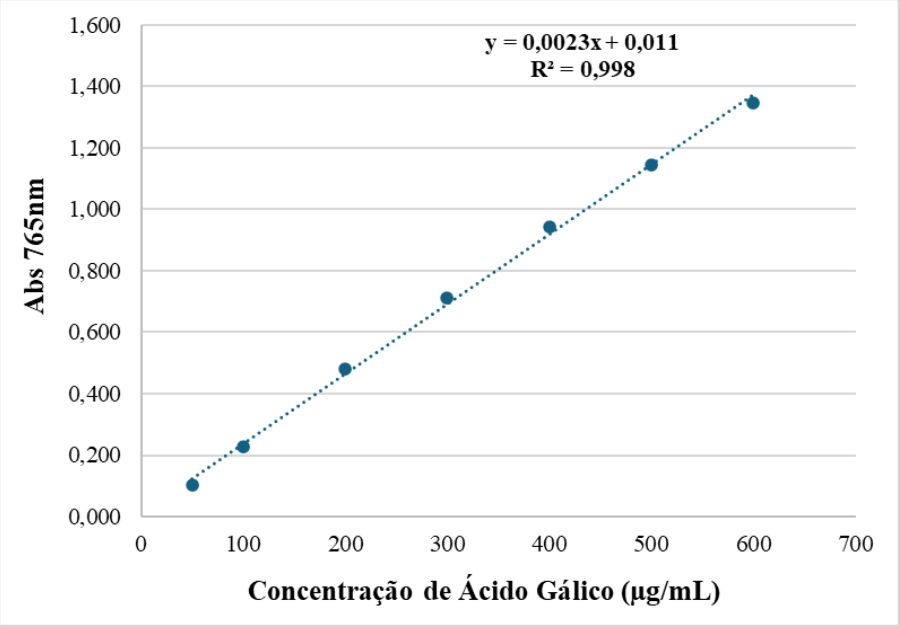
4.2.2 Quantificação de polifenóis totais no extrato aquoso de guaraná

A quantificação de polifenóis totais presentes no extrato aquoso do guaraná em pó foi realizada empregando o método colorimétrico de *Folin Ciocalteau*, sendo este um reagente originário da combinação entre os ácidos fosfotúngstico e fosfomolíbdico, e cuja coloração é

esverdeada (OBANDA; OWUOR, 1997). O método se baseia na premissa de que, em um meio básico, haverá transferência de elétrons dos compostos fenólicos para os ácidos presentes, sendo essa uma reação de oxidação, resultando em óxidos de cor azul, que absorvem cor no comprimento de onda de 750 nm.

Para a quantificação de polifenóis totais no extrato aquoso de guaraná obtido, as análises foram realizadas em triplicatas. Inicialmente, foi adicionado 450 µL de água destilada, 50 µL do extrato aquoso de guaraná em pó de concentração de 10 mg/mL e 50 µL do reagente *Folin Ciocalteau* (SigmaAldrich, Darmstadt, Alemanha) em tubos tipo *eppendorf*. O preparo da curva padrão foi feito utilizando o ácido gálico (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha) em concentrações distintas: 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL e 600 µg/mL. As soluções foram agitadas em vórtex e mantidas em repouso nos 5 minutos subsequentes em ambiente escuro. Posteriormente, foram incorporados 500 µL de carbonato de sódio 7% (Na_2CO_3) e 200 µL de água destilada, e as soluções foram mantidas em repouso durante 90 minutos em local escuro. Em seguida, pipetou-se 200 µL de cada *eppendorf* para uma microplaca e a leitura foi realizada a 765 nm no leitor de placas EpochTM Microplate Spectrophotometer (BioTek, Winooski, VT). A equação da reta resultante foi y = 0,0023x + 0,011, como o R^2 = 0,998, e o teor de polifenóis totais foi expresso em mg de EAG/g de amostra (Figura 7).

Figura 7: Curva padrão empregando ácido gálico realizada para a quantificação de polifenóis totais no extrato aquoso do guaraná em pó.



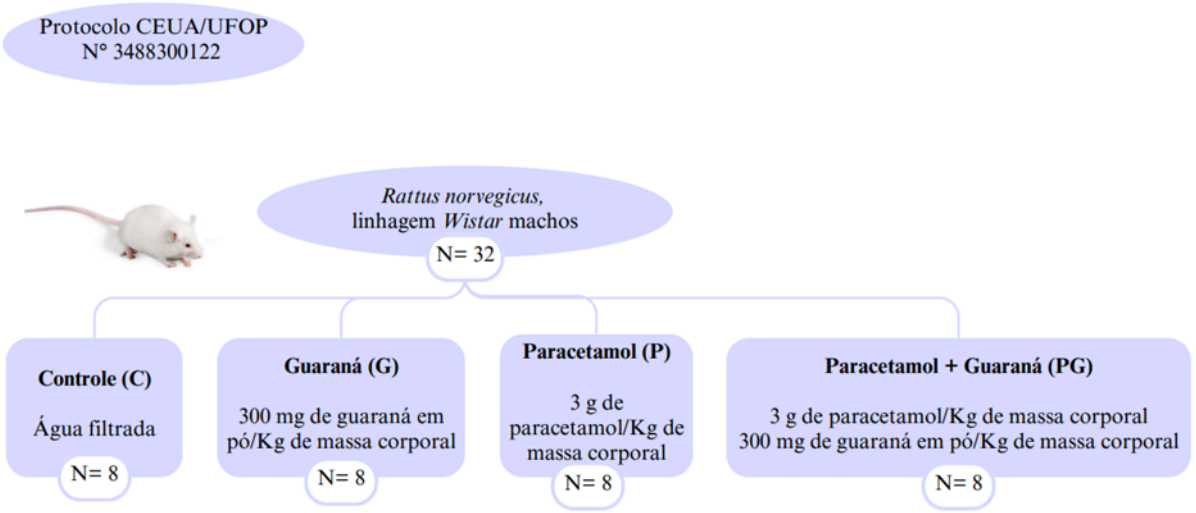
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

4.3 Animais e condições experimentais

O conjunto de todos os experimentos deste trabalho passou pela aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), com o protocolo de número 3488300122.

Para realização dos procedimentos foram utilizados 32 ratos albinos machos, da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem *Wistar* e pesos variando entre 180 e 200 g. Durante todo o estudo, aos ratos foram ofertadas ração para roedores Nuvilab® (Quimtia, Colombo, Brasil) e água *ad libitum.* Antes de dar início aos procedimentos, os 32 ratos foram igualmente divididos em 4 grupos compostos por 8 animais, sendo os quais: grupo controle (C), grupo guaraná (G), grupo paracetamol (P) e grupo paracetamol + guaraná (PG) (Figura 8).

Figura 8: Divisão dos grupos experimentais.

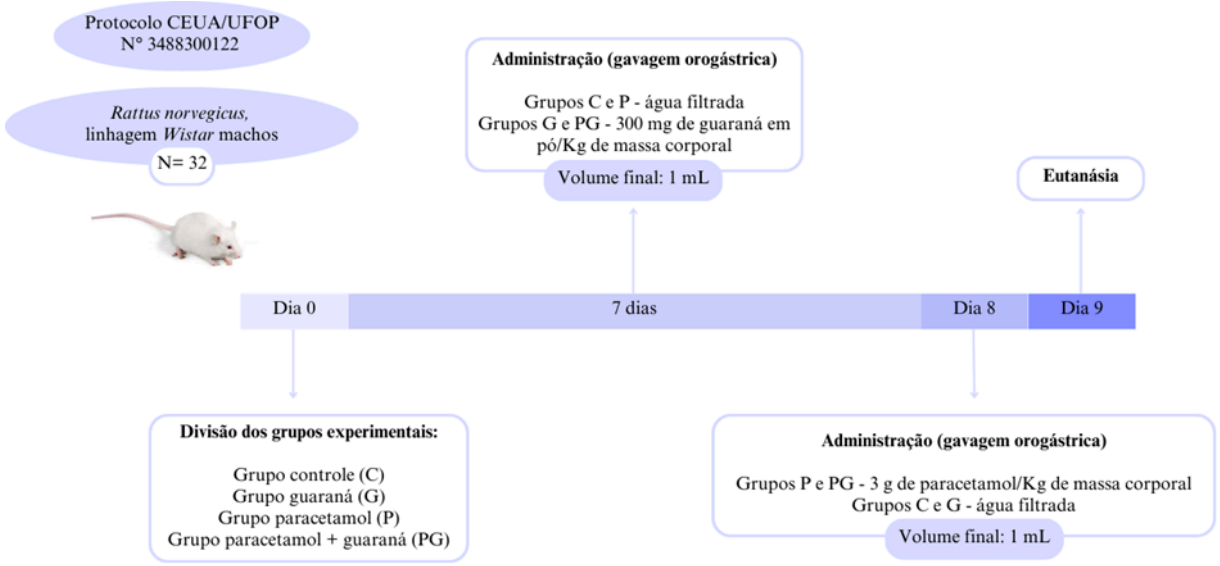


Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

No delineamento dos experimentos, durante 7 dias, os animais dos grupos G e PG receberam uma dose de 300 mg de guaraná/Kg de peso, diluída em água filtrada, com volume final de 1 mL (KOBER *et al*., 2016) e administrada via gavagem orogástrica (Figura 9). A solução ofertada foi preparada diariamente e levada a um agitador magnético (Mod. 257; FANEM®, São Paulo, Brasil) para melhor homogeneização. Visando submeter os animais às mesmas condições, os animais dos grupos C e P também receberam 1 mL de água filtrada via gavagem orogástrica, contudo, sem adição do guaraná.

Na segunda semana do experimento, realizada no 8° dia, os grupos P e PG ingeriram uma dose de 3 g de paracetamol/Kg de peso diluída em água para indução da hepatotoxicidade (BARROS *et al*., 2017; SINAGA *et al*., 2021; KAUR *et al.,* 2021), e os grupos C e G receberam 1 mL de água filtrada, todos via gavagem orogástrica. No decorrer do experimento, todos os procedimentos de gavagem foram realizados no mesmo horário e os animais foram submetidos a 1 hora de jejum antes e depois do procedimento, visando uma melhor absorção do medicamento. Os animais foram mantidos em temperaturas de 24±2 °C e controle do ciclo claro/escuro de 12 horas cada.

Figura 9: Delineamento experimental.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Depois de transcorridas 24 horas da ingestão de paracetamol ou água filtrada, os 32 animais foram eutanasiados por meio de inalação ao vapor do anestésico isoflurano a 6% (BioChimico®, Rio de Janeiro, Brasil), seguida de decapitação com utilização de guilhotina (Mod: EB 271; Insight, São Paulo, Brasil) (BARROS *et al*., 2017; SINAGA *et al*., 2021; KAUR *et al*., 2021). No momento da eutanásia, o sangue dos ratos foi coletado para posterior obtenção do soro por meio de centrifugação a 2000 g por 15 minutos. Os animais também tiveram o fígado coletado, e foram feitas alíquotas de todas as amostras, que foram identificadas e armazenadas em temperatura de -80°C para subsequentes estudos.

4.4 Parâmetros murinométricos

4.4.1 Avaliação do consumo alimentar

Para avaliação do consumo alimentar dos ratos foi analisada a ingestão alimentar diária, o Coeficiente de Ganho de Peso por Consumo Calórico (CGPCC) e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA). Durante todo o processo, para mensurar a ingestão alimentar diária dos animais, foi realizada a pesagem da dieta ofertada, além da sobra da mesma no dia posterior, com subsequente subtração entre os dois valores. O CEA foi calculado por meio da razão entre o ganho de peso e a quantidade de alimento ingerido, utilizando a seguinte fórmula: CEA = (Peso final (g) - Peso inicial (g)) / Quantidade total de ração ingerida no período experimental. Já o CGPCC foi obtido relacionando-se o ganho de peso dos animais pela quantidade de calorias ingeridas (NERY *et al*., 2011).

4.4.2 Análise da composição corporal

A massa corporal dos animais foi aferida diariamente durante todo o experimento, assim como o comprimento naso-anal (CNA) para posterior cálculo do Índice de Lee, obtido através da razão entre a raiz cúbica do peso corporal e o CNA ($\sqrt[3]{}$Peso (g) / CNA (cm)) (NERY *et al*., 2011; LEE, 1929).

4.5 Avaliação da função hepática

A determinação da atividade sérica das enzimas AST e ALT foi realizada no intuito de avaliar a função do fígado dos animais. A atividade sérica da enzima AST foi avaliada utilizando-se o kit comercial AST/GOT Liquiform (Labtest Diagnóstica S.A.®, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Já a atividade sérica da enzima ALT foi avaliada a partir do kit comercial ALT/GPT Liquiform (Labtest Diagnóstica S.A.®, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), sendo todas as análises realizadas seguindo as instruções técnicas do fabricante.

4.6 Concentração hepática de citocinas inflamatórias

Para mensurar a concentração de citocinas inflamatórias no tecido hepático foi efetuada a quantificação das citocinas IL-1β, IL-6, IL-18 e TNF.

4.6.1 Preparo do tecido hepático

Objetivando averiguar a concentração de mediadores inflamatórios, a preparação do tecido hepático ocorreu utilizando *Phosphate-buffered saline* (PBS) a 1 mM com inibidor de protease 1x (Termo Fischer Scientific, Carlsbad, CA) (CHAZOTTE, 2012). Para preparação do PBS, foram adicionados em um béquer vazio, que se encontrava sobre o agitador magnético, 8 g de cloreto de sódio (NaCl) (Alphatec ®, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil), 0,2 g de cloreto de potássio (KCl) (Cinética Química, Monterrey, Nuevo León, México), 1,44 g de fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4) (AMRESCO ®, Radnor, Pensilvânia, EUA), 0,24 g de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil) e 800 mL de água destilada. Em seguida, o agitador magnético foi ligado e se aguardou até que todos os sais se solubilizassem. Para ajuste do pH da solução, foi inserido, com o agitador magnético ainda em funcionamento, o eletrodo do pHmetro e, com auxílio do conta gotas, o pH foi ajustado à 7,4 por meio da adição de ácido clorídrico (HCl). Logo após, visando acertar o volume da solução até completar 1 L, transferiu-se a solução para uma proveta, com posterior adição de água destilada. Por fim, a solução foi dispensada em alíquotas, que foram esterilizadas em autoclave durante 20 minutos a 15 psi (1,05 Kg/cm²) e armazenadas em temperatura ambiente (ARAÚJO, L. A., 2015).

Para homogeneização do tecido propriamente dita, foram utilizados 990 uL de PBS + 10 uL de inibidor de protease a cada 0,1 g de tecido hepático. Nesse processo, foi utilizado o equipamento Polytron, e, para evitar desnaturação proteica, o tecido hepático foi submetido à sua ação por 3 vezes com duração de 30 segundos, permanecendo no gelo durante intervalos de 1 minuto entre cada sessão. Após a homogeneização, o material foi levado à centrífuga a 4 °C por 10 minutos a 2000 g, e seu sobrenadante, coletado e congelado em freezer a -80 °C (ARAÚJO, L. A., 2015).

4.6.2 Interleucina-1β

Para mensuração da concentração da IL-1β no fígado dos animais foi operado o kit de Elisa para IL-1β de ratos (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha) (#RABO277-1KT), de acordo com as instruções técnicas do fabricante.

4.6.3 Interleucina-6

Para determinação da concentração da IL-6 no fígado dos animais foi operado o kit de Elisa para IL-6 de ratos (Termo Fischer Scientific, Carlsbad, CA) (#ERA32RB), de acordo com as instruções técnicas do fabricante.

4.6.4 Interleucina-18

Para aferição da concentração da IL-18 no tecido hepático, foi utilizado o kit de ELISA para IL-18 de roedores (Thermo Fischer Scientific, Carlsbad, CA) (#KRC2341), conforme as orientações técnicas do fabricante.

4.6.5 Fator de necrose tumoral

Para mensuração da concentração do TNF foi empregado o kit de Elisa para TNF de ratos (Termo Fischer Scientific, Carlsbad, CA) (#ERA57RB), sendo todos os procedimentos efetuados seguindo as instruções técnicas do fabricante.

4.7 Análise estatística

A avaliação dos resultados encontrados foi realizada por meio do software GraphPad Prism® versão 8.0 para Windows. Em um primeiro momento, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido pelo teste ANOVA two-way e, por fim, pelo pós-teste de Bonferroni. As diferenças estatísticas para $p<0,05$ foram consideradas significantes, e os valores foram expressos como média ± desvio padrão.

5 RESULTADOS

5.1 Quantificação de polifenóis totais

Na Tabela 1 está exposto o resultado encontrado na análise da quantidade de polifenóis totais do guaraná em pó, sendo esse resultado igual a 4134,74 ± 50,62 mg EAG em 100 g de guaraná em pó.

Tabela 1: Quantidade de polifenóis totais presente no guaraná em pó analisado.

Componente	Polifenóis totais
Guaraná em pó	4134,74 ± 50,62 mg EAG/100 g de guaraná

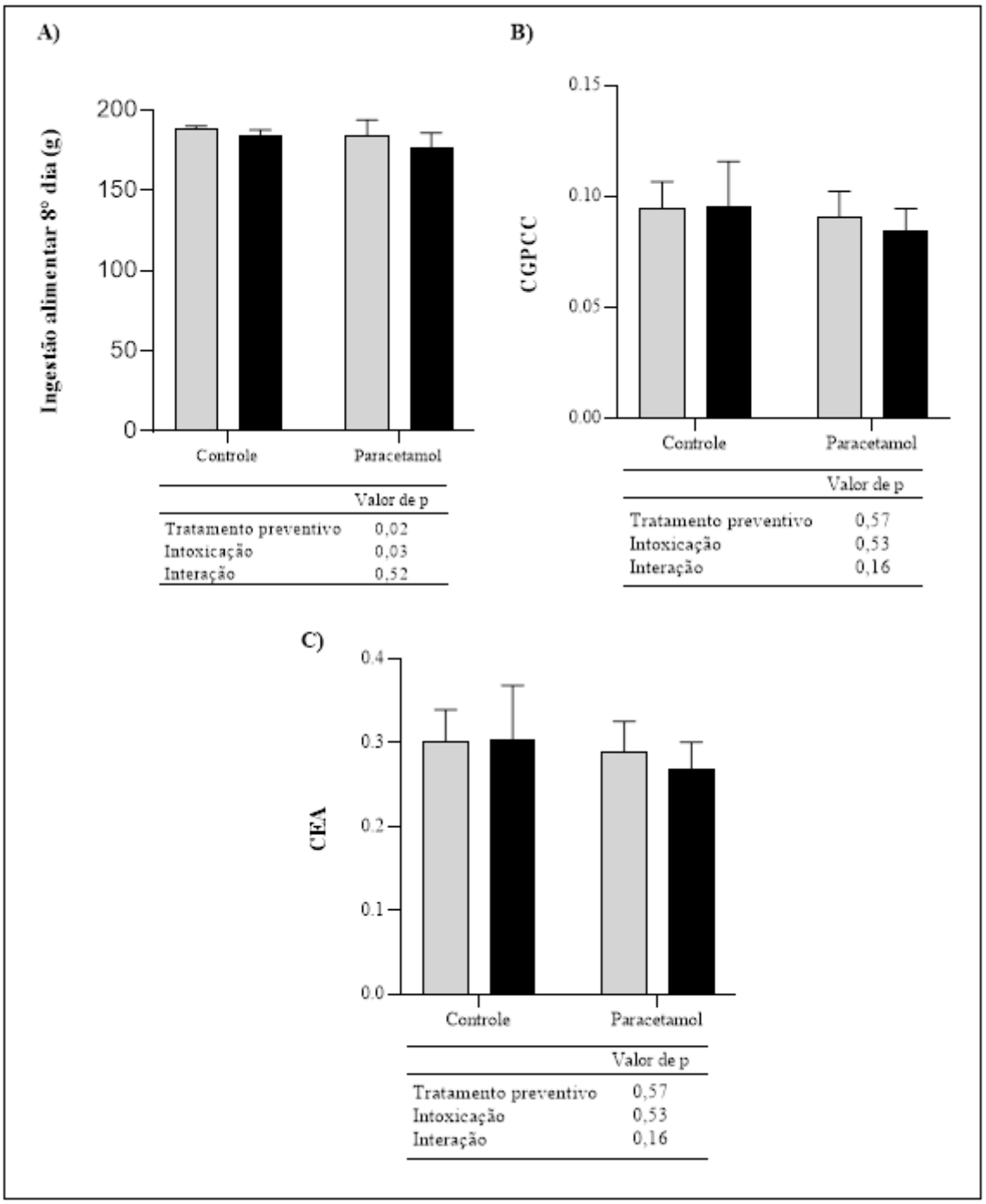
Legenda: EAG, Equivalentes de Ácido Gálico. Dados expressos em média ± desvio padrão. Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

5.2 Parâmetros murinométricos

5.2.1 Avaliação do consumo alimentar

Na figura 10 estão representados os resultados encontrados na análise do consumo alimentar dos animais. Após cálculo da ingestão alimentar média ao longo de todo o período experimental, foi possível observar que houve efeito do tratamento preventivo ($p=0.02$) e da intoxicação ($p=0.03$), contudo, o pós-teste de Bonferroni não demonstrou a diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Figura 10A). Para os parâmetros de CGPCC (Figura 10B) e CEA (Figura 10C) não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Figura 10: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre os parâmetros do consumo alimentar de ratos *Wistar*.

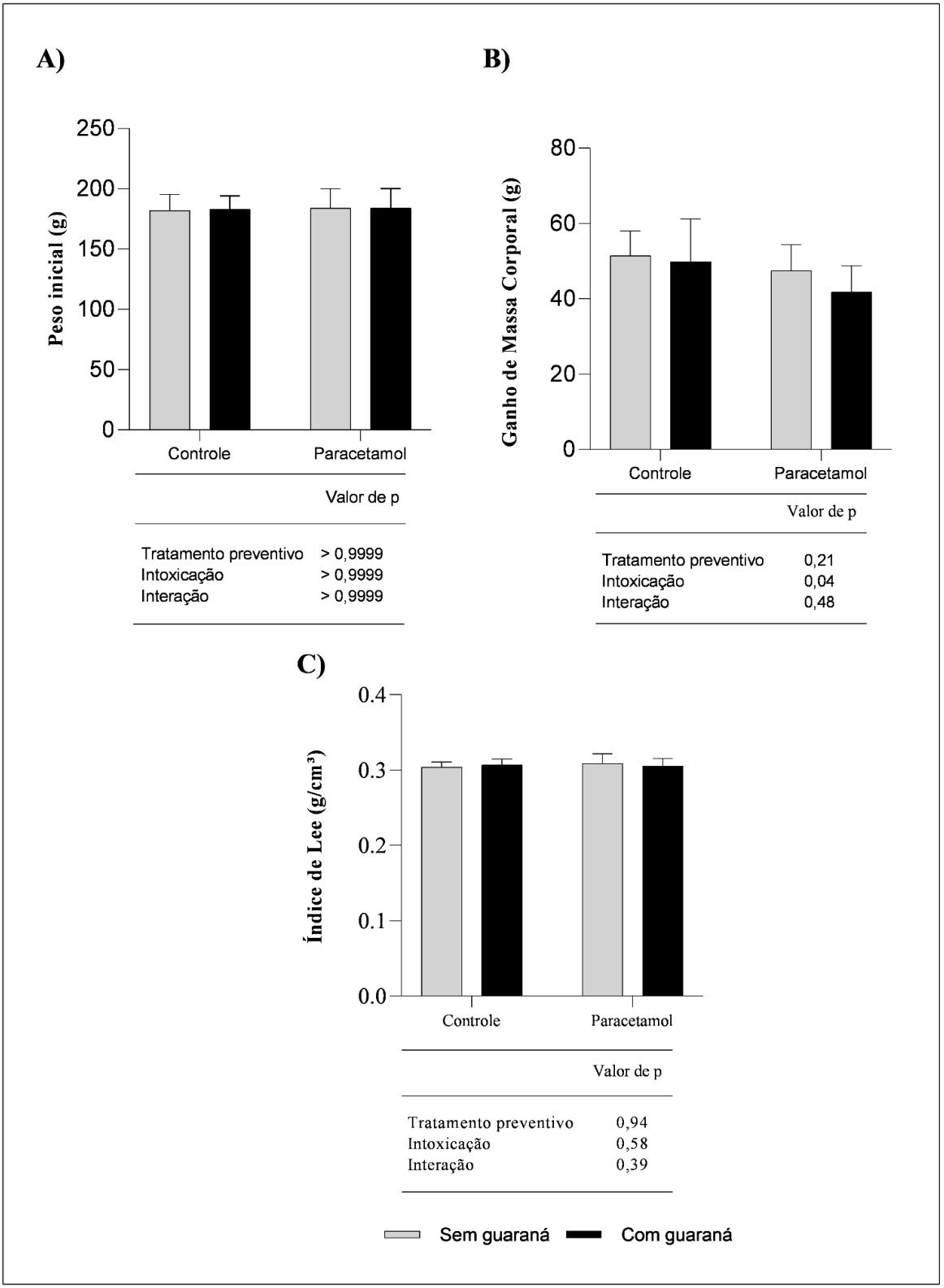


A) Ingestão alimentar total média, expressa em gramas. B) Coeficiente de Ganho de Peso por Consumo Calórico (CGPCC). C) Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA). N = 8. Foi utilizado o teste ANOVA TWO-WAY seguido do pós-teste de Bonferroni. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

5.2.2 Análise da composição corporal

Na figura 11 estão representados os resultados encontrados na análise dos parâmetros biométricos dos animais. Como indicado na figura 11A, o peso inicial dos animais de todos os grupos experimentais foi semelhante. O ganho de massa corporal (Figura 11B) apresentou diferenças significativas na intoxicação ($p= 0,04$), mas não significativas nos outros parâmetros, assim como o Índice de Lee (Figura 11C), que também não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais.

Figura 11: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre os parâmetros biométricos de ratos *Wistar*.



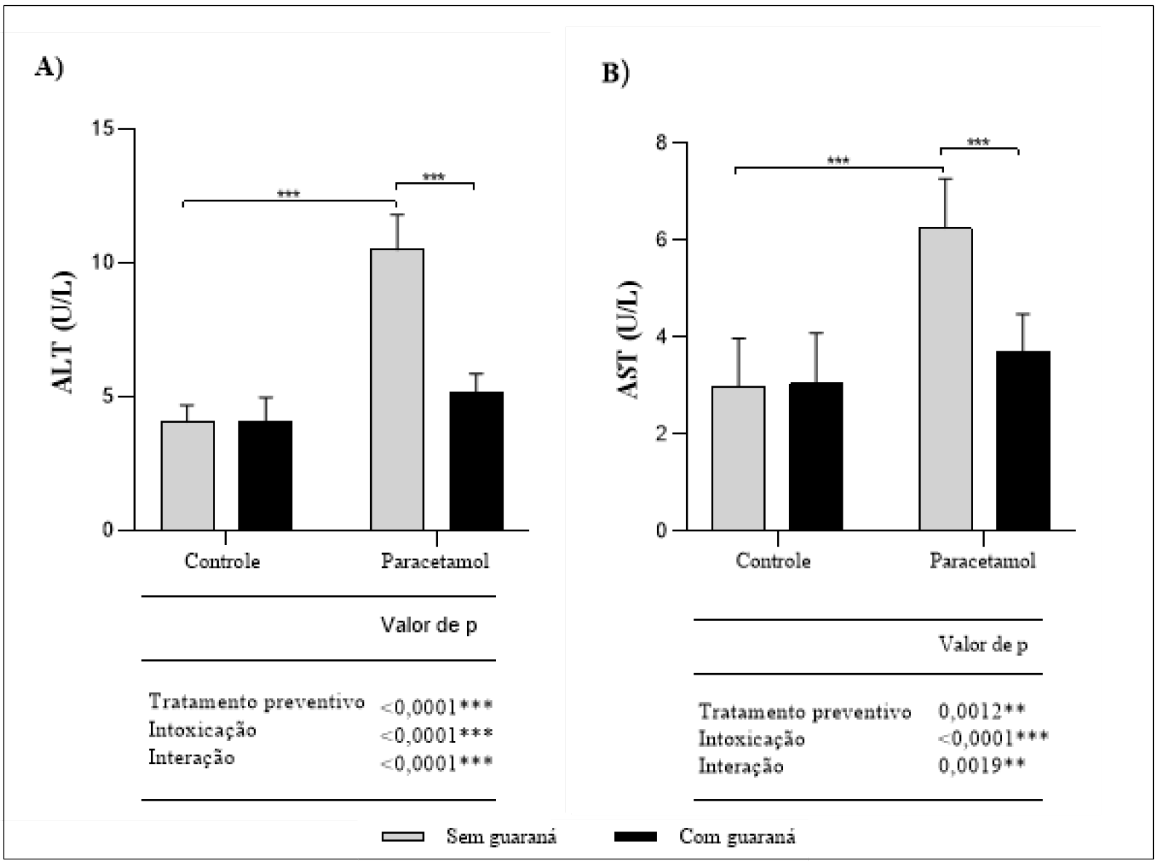
A) Peso inicial dos animais em gramas. B) Ganho de massa corporal em gramas. C) Índice de Lee em gramas por cm³. N = 8. Foi utilizado o teste ANOVA TWO-WAY seguido do pós-teste de Bonferroni. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

5.3 Função hepática

Na figura 12 estão representados os resultados encontrados na análise da função hepática dos ratos. A atividade sérica da enzima hepática ALT (Figura 12A) apresentou resultados estatisticamente significativos no tratamento preventivo ($p< 0,0001$), na intoxicação ($p< 0,0001$) e na interação entre eles ($p< 0,0001$). No que se refere à intoxicação por paracetamol, foi encontrado um aumento de ~2,59 vezes na atividade sérica da enzima nos animais do grupo P em relação aos animais dos grupos C ($p< 0,0001$). Já o tratamento preventivo com o guaraná em pó foi capaz de prevenir esse aumento em ~2,04 vezes nos animais do grupo PG, quando comparado ao grupo P ($p< 0,001$) (Figura 11A).

Para a atividade sérica da enzima hepática AST (Figura 12B) também foram encontrados resultados estatisticamente significativos no tratamento preventivo ($p= 0,0012$), na intoxicação ($p< 0,0001$) e na interação entre eles ($p= 0,0019$). Em relação à intoxicação, foi encontrado um aumento de ~2,09 vezes nos animais do grupo P em relação aos animais dos grupos C ($p< 0,0001$). Já o tratamento preventivo com guaraná em pó foi capaz de prevenir o aumento da atividade sérica da enzima AST em ~1,69 vezes nos animais do grupo PG quando comparado ao grupo P ($p< 0,0012$).

Figura 12: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre a atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase.



A) Atividade da enzima alanina aminotransferase em U/L; B) Atividade da enzima aspartato aminotransferase em U/L. N = 8. Foi utilizado o teste ANOVA TWO-WAY seguido do pós-teste de Bonferroni. Valor de p< 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

5.4 Concentração hepática de citocinas inflamatórias

Na figura 13 estão representados os resultados encontrados na análise da concentração hepática de citocinas inflamatórias nos ratos estudados. A concentração hepática da IL-1β (Figura 13A) apresentou resultados estatisticamente significativos na intoxicação (p<0,0001), no tratamento preventivo (p<0,0001) e na interação (p<0,0001). Em relação à intoxicação, foi encontrado um aumento de ~2,6 vezes da concentração desse mediador no fígado dos animais do grupo P quando comparados aos animais do grupo C e de ~1,49 vezes dos animais do grupo PG quando comparados aos animais do grupo G (p<0,0001). No que diz respeito ao tratamento preventivo, a ingestão de guaraná em pó preveniu o aumento da IL-1β em ~1,7 vezes no grupo PG quando comparado ao grupo P (p<0,0001).

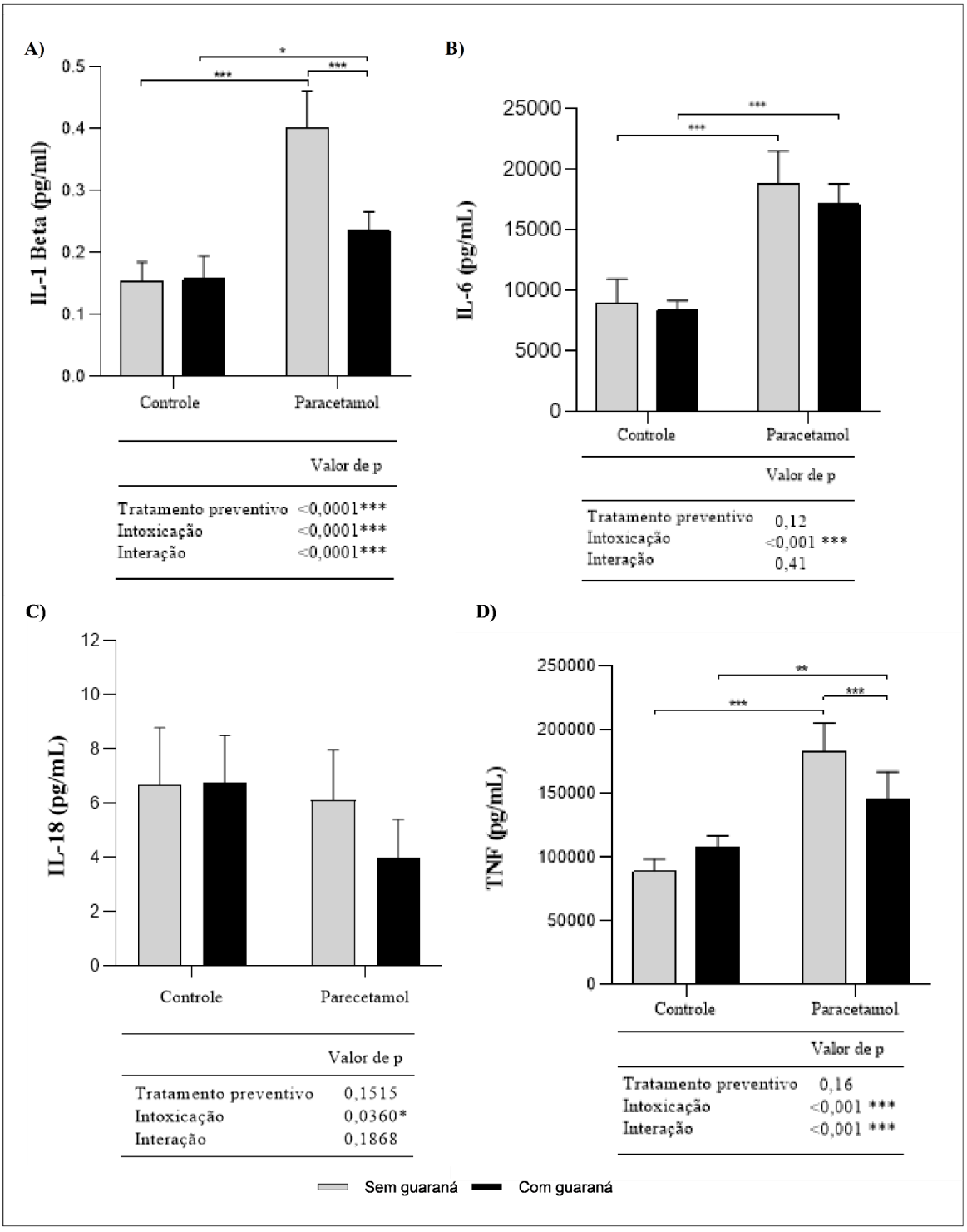
A concentração hepática da IL-6 (Figura 13B) apresentou resultados estatisticamente significativos na intoxicação (p<0,001), havendo sido encontrado um aumento de ~2,1 vezes

da concentração dessa citocina no fígado dos animais do grupo P quando comparados aos animais do grupo C, e de ~2,04 vezes nos animais do grupo PG quando comparado ao grupo G ($p<0,001$).

A concentração hepática da IL-18 (Figura 13C) apresentou resultados estatisticamente significativos na intoxicação ($p<0,0158$). Foi observada uma diminuição de ~1,85 vezes da concentração desse mediador no fígado dos animais do grupo PG quando comparado ao grupo G ($p=0,0825$).

A concentração hepática do TNF (Figura 13D) apresentou resultados estatisticamente significativos na intoxicação ($p<0,001$) e na interação ($p<0,001$). Em relação à intoxicação, houve um aumento de ~2,06 vezes da concentração dessa citocina no fígado dos animais do grupo P em relação aos animais do grupo C ($p<0,001$) e de ~1,34 vezes nos animais do grupo PG quando comparados ao grupo G ($p<0,001$). Ademais, o tratamento preventivo com guaraná em pó foi capaz de prevenir o aumento da concentração hepática de TNF em ~1,26 vezes no grupo PG quando comparado ao grupo P ($p=016$).

Figura 13: Efeito do tratamento preventivo com guaraná em pó ofertado durante 7 dias na hepatotoxicidade induzida por paracetamol sobre a concentração hepática das citocinas inflamatórias IL-1β, IL-6, IL-18 e TNF.



A) Concentração hepática de interleucina-1β (IL-1 β) em pg/mL. B) Concentração hepática de interleucina-6 (IL-6) em pg/mL. C) Concentração hepática de interleucina-18 (IL-18) em pg/mL. D) Concentração hepática de fator de necrose tumoral (TNF) em pg/mL. N = 8. Foi utilizado o teste ANOVA TWO-WAY seguido do pós-teste de Bonferroni. Valor de p< 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

6 DISCUSSÃO

Esse estudo teve como objetivo analisar o efeito preventivo do guaraná em pó sobre a inflamação em um modelo de IHA induzida por dose tóxica de paracetamol, por meio da dosagem da concentração hepática de citocinas inflamatórias. Para isso, foram utilizados ratos, os quais foram divididos em grupos experimentais buscando conhecer o efeito inflamatório da dose tóxica de paracetamol no fígado e o possível efeito hepatoprotetor do uso diário do guaraná em pó. Após converter a dose de guaraná administrada aos animais para humanos, o valor encontrado indicaria uma suplementação de 48,6 mg/Kg. Desse modo, tomando como exemplo um indivíduo adulto de 70 Kg, a suplementação de guaraná em pó seria de aproximadamente 3,5 g, o que, em medida caseira, corresponderia a uma colher de chá cheia por dia (REAGAN-SHAW *et al*., 2007).

O guaraná foi escolhido para realização deste estudo pois buscas em sites não científicos, mas de amplo conhecimento pela população, mostram que ele é amplamente utilizado em *shots* matinais. Algumas características facilitam seu uso, como facilidade de compra, fácil diluição em água, ausência de sabor e de cheiro. Além disso, o guaraná é descrito como fonte de polifenóis, tendo sido encontrado na análise quantitativa deste estudo um valor de 4134,74 ± 50,62 mg EAG em 100 g de guaraná em pó, que, segundo a literatura, o classifica como médio teor de polifenóis totais (VASCO *et al.*, 2008), sendo comparável com outros frutos amazônicos, como a jabuticaba, o açaí e o puçá-preto (RUFINO *et al*., 2010). A literatura já descreve os principais polifenóis presentes no guaraná, sendo as classes catequina, epicatequina e procianidinas (B1, B2 e B3) as mais encontradas (TEIXEIRA, C. D., 2024), cabendo ressaltar que a catequina é o principal polifenol presente no chá verde, um alimento muito estudado (LUO *et al*., 2020; XING *et al*., 2019).

Já é conhecido na literatura que polifenóis possuem efeito hepatoprotetor (CUI *et al*., 2014; GAO *et al*., 2022; WANG *et al*., 2016). Como observado no presente trabalho, o excesso de paracetamol causou aumento da atividade sérica das enzimas ALT e AST, indicando que houve lesão no fígado dos animais, assim como mostrado por outros ensaios (AKTHER *et al.,* 2013*;* COELHO *et al*., 2022; ELKOMY *et al*., 2016). No que tange ao referido efeito hepatoprotetor dos polifenóis, nossa análise mostrou resultados semelhantes aos estudos preexistentes, e, de maneira positiva, foi encontrado um resultado benéfico no fígado dos animais que consumiram preventivamente o guaraná, com prevenção do aumento sérico das enzimas analisadas quando comparados aos animais que não consumiram o guaraná e foram intoxicados por paracetamol.

Um estudo realizado por Kober *et al*., (2016) encontrou resultados similares. No experimento, a hepatotoxicidade foi induzida por tetracloreto de carbono (CCl_4) em ratos *Wistar* machos divididos em 6 grupos: controle, CCl_4, silimarina e guaraná em 3 diferentes concentrações. Os dados bioquímicos indicaram aumento sérico de ALT e AST no grupo CCl_4 quando comparado ao grupo controle, e o pré-tratamento com guaraná em todas as concentrações utilizadas neste experimento diminuiu significativamente a atividade sérica das enzimas de função hepática, assim como o grupo que ingeriu silimarina, um agente hepatoprotetor já bem documentado. Dessa maneira, pode-se sugerir que os compostos bioativos presentes no guaraná, principalmente os polifenóis, também estão tendo essa ação hepatoprotetora no presente estudo para a lesão hepática induzida por dose tóxica de paracetamol.

Como, além do efeito hepatoprotetor, os polifenóis são descritos por apresentarem efeito anti-inflamatório (COMALADA *et al*., 2006; CROUVEZIER *et al*., 2001; ZHAN *et al*., 2014), e o excesso de paracetamol induz um estado inflamatório hepático (BANDEIRA *et al*., 2017; BLAZKA *et al*., 1995; FISHER *et al*., 2013), resolvemos quantificar a concentração de algumas citocinas inflamatórias para avaliar se essa ação hepatoprotetora do guaraná seria por atenuar a inflamação.

Acerca das citocinas inflamatórias avaliadas, foi observado que a intoxicação por paracetamol foi capaz de causar um estado inflamatório característico de uma IHA, com aumento na concentração da IL-1β, IL-6, IL-18 e TNF. Os efeitos biológicos do TNF são mediados pela ligação no Receptor 1 do Fator de Necrose Tumoral (TNFR1), expresso na superfície de quase todos os tipos de células humanas (exceto eritrócitos) (ZELOVÁ, H., 2013). Essa ligação desencadeia uma série de eventos intracelulares que, em última instância, resultam na ativação do NF-κB, responsável pela expressão induzível de genes importantes para diversos processos biológicos, incluindo resposta inflamatória (CHEN, G., 2002). A via canônica de ativação do NF-κB, ativada pelo TNFR1 através do TNF, resulta na translocação nuclear e transcrição dos genes-alvo do NF-κB, que promovem inflamação, resultando na produção de outras citocinas pró-inflamatórias (WERTZ, I. E., 2014), como IL-1β, IL-6 (BLACKWELL, T. S., 1996) e IL-18 (LAURINDO *et al*., 2023), que propiciam a atividade do sistema imunológico instalando e exacerbando a inflamação (IHIM, S. A. *et al*., 2022).

Como mostrado, a suplementação com guaraná preveniu os danos inflamatórios previamente relatados, sendo essa prevenção evidenciada pelas menores concentrações hepáticas de TNF e IL-1β nos animais que receberam a dose tóxica de paracetamol e consumiram o guaraná previamente.

Além do guaraná, outros frutos ricos em polifenóis são estudados por seu potencial anti-inflamatório. Um estudo realizado por Molina *et al.,* (2015) investigou, dentre outros fatores, a capacidade de redução da produção de citocinas inflamatórias em ratos *Wistar* suplementados com extrato de chá verde (*Camellia sinensis*), que tem sido amplamente investigado como um alimento funcional devido ao seu conteúdo de flavonoides, principalmente as catequinas. No experimento, os ratos tiveram obesidade induzida por dieta de cafeteria durante 8 semanas, e foram divididos em 4 grupos: grupo controle, grupo chá verde, grupo obeso e grupo obeso + chá verde. O extrato de chá verde foi ofertado na dose de 500 mg/kg de peso corporal, com período total de gavagem de 90 dias (de segunda a sexta-feira). Ao final do experimento, observou-se que os grupos que receberam a suplementação com chá verde reduziram a produção das citocinas IL-2, IL-1β, IL-6 e TNF por linfócitos. Além disso, os ratos obesos apresentaram uma redução de 43% na produção de IL-10, uma citocina anti-inflamatória, em comparação ao grupo controle, enquanto o tratamento dos ratos obesos com chá-verde aumentou a produção de IL-10 em 64%.

Já Freitas *et al.,* (2017) estudaram a expressão de mediadores inflamatórios em ratos *Wistar* machos suplementados com açaí juçara (*Euterpe edulis*), fruto com bioatividade bem relatada pela literatura devido ao seu alto conteúdo de polifenóis, especialmente antocianinas. Os resultados encontrados no estudo indicaram redução na expressão dos mediadores pró-inflamatórios IL-17, IFN-γ e TNF nos animais que receberam a dieta suplementada com extrato de açaí liofilizado e desengordurado. Além disso, também foi observado um aumento na expressão dos mediadores anti-inflamatórios IL-4 e IL-10 quando comparados aos outros grupos experimentais.

A literatura busca investigar o caminho pelo qual os polifenóis conseguem exercer esse efeito anti-inflamatório, sendo um deles a inibição da produção de citocinas induzidas por NF-κB. Em células não estimuladas, o NF-κB permanece no citoplasma como um heterodímero inativo composto por duas subunidades, p50 e p65, ligado a proteínas inibidoras, proteína inibitória kappa B (IkB) -α ou IkB-β. Sua ativação ocorre de diversas maneiras, sendo uma delas por meio do reconhecimento de DAMPs liberados durante a inflamação estéril, que leva à fosforilação e degradação de IkB, permitindo com que o NF-κB se transloque para o núcleo, onde se liga a sequências específicas de DNA presentes nos promotores de inúmeros genes-alvo, codificando citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-2 e IL-6. Desse modo, foi observado que um dos possíveis mecanismos pelo qual os polifenóis agem como anti-inflamatórios é por meio da inibição da sinalização inflamatória mediada por NF-κB, impedindo sua translocação para o núcleo das células (KARUNAWEERA et al.,

2015). Outros estudos também já mostraram que os polifenóis possuem esse efeito anti-inflamatório e atuam na via do NF-κB, e apesar de o presente trabalho não ter estudado a via como um todo, nós avaliamos os produtos finais, sendo observada a inflamação por dose tóxica de paracetamol e um efeito hepatoprotetor do guaraná em pó por redução dos mediadores inflamatórios.

Como já mencionado anteriormente, além de rico em polifenóis, o guaraná também apresenta altas concentrações de cafeína, e sua composição pura pode conter até 5,3% desse composto (HACK *et al*., 2023). A cafeína é considerada a droga psicoativa mais popular consumida mundialmente, com uma ingestão aproximada de 120.000 toneladas por ano. Ela é metabolizada em três dimetilxantinas metabólicas: paraxantina, teobromina e teofilina (BARCELOS *et al*., 2020). Apesar desse estudo ter se concentrado nos efeitos anti-inflamatórios do guaraná em virtude da presença de compostos fenólicos, evidências acumuladas indicam que a cafeína e seus metabólitos metilxantinas também atuam como anti-inflamatórias por diferentes mecanismos, como por meio da regulação da expressão de citocinas pró-inflamatórias ou supressão da ativação do NF-κB (BARCELOS *et al*., 2020; HORRIGAN, L. A., 2006; HWANG *et al*., 2016). Como foi ofertado aos ratos o alimento como um todo e não como um composto isolado, é importante lembrar do efeito sinérgico de todos os componentes da matriz alimentar, e, como já discutido, tanto a cafeína quanto os polifenóis são referenciados como anti-inflamatórios, porém, o segundo composto apresenta mais estudos, e, dessa maneira, foi o foco deste trabalho.

Ademais, embora seja abordado que a introdução de um alimento possa alterar a composição corporal, isso não foi observado nesse estudo, não havendo alterações da ingestão alimentar e composição corporal dos animais estudados. Conforme descrito pelo Guia Alimentar Para a População Brasileira, a introdução de frutos em uma dieta equilibrada não altera diretamente a composição corporal, mas oferece benefícios funcionais que vão além da nutrição básica, como a observada redução da inflamação, melhora da digestão e apoio ao funcionamento do sistema imunológico (BRASIL, 2014).

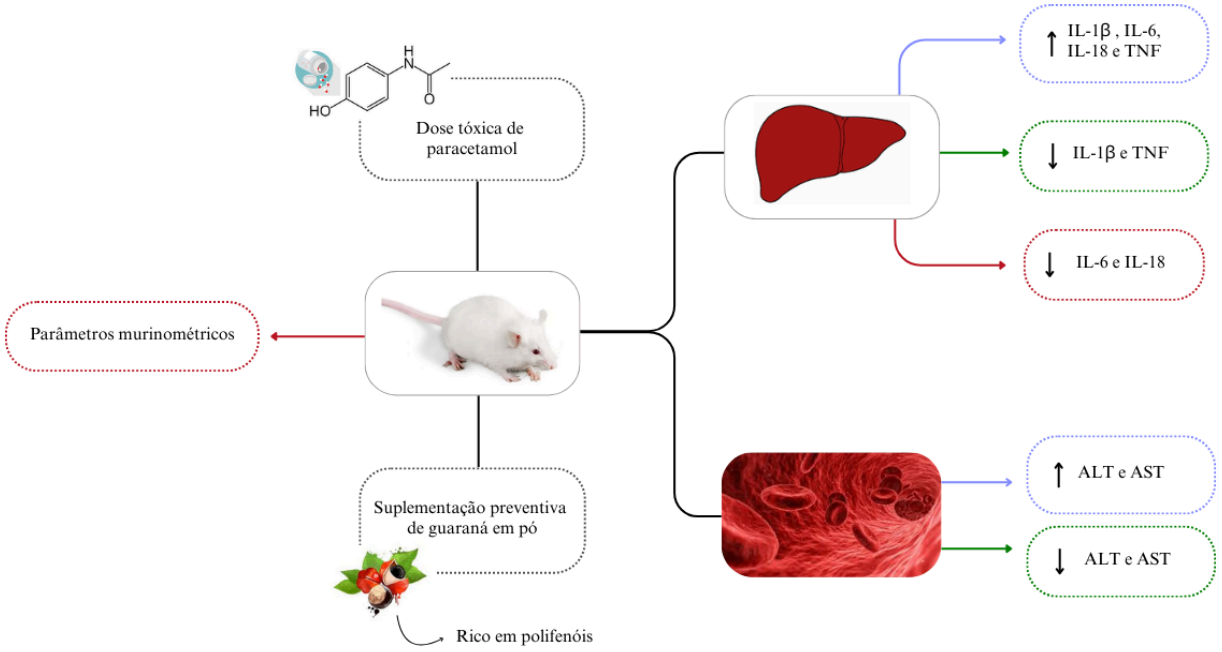
A limitação desse trabalho foi não estudar vias mais complexas para justificar como as citocinas estão realmente atuando no corpo, o que justifica trabalhos futuros para analisar possíveis vias, como a via do inflamassoma, da ciclo-oxigenase ou do NF-κB com técnicas mais robustas e aprofundadas. Um dos meios seria a utilização da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que se baseia no uso da DNA polimerase, consistindo em uma replicação in vitro de sequências específicas de DNA (KADRI, K., 2019). Dessa maneira, seria possível conhecer o mecanismo anti-inflamatório pelo qual o tratamento preventivo com

o guaraná está atuando e resultando em um efeito hepatoprotetor em um modelo de IHA causada por ingestão de dose tóxica de paracetamol.

7 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos no presente estudo, foram observados resultados significativos para a inflamação provocada pela intoxicação por paracetamol após análise das citocinas IL-1β, IL-6, IL-18 e TNF, além de comprovada a lesão hepática, evidenciada pelo aumento da atividade sérica das enzimas ALT e AST. Adicionalmente, pôde-se concluir que o tratamento preventivo com guaraná em pó foi capaz de exercer uma atividade hepatoprotetora com importantes efeitos em marcadores inflamatórios, prevenindo o aumento da concentração hepática da IL-1β e TNF e da atividade sérica das enzimas hepáticas, mas sem alterar a composição corporal e ingestão alimentar dos animais (Figura 14). Como discutido, o efeito encontrado está possivelmente associado à presença de polifenóis e também à uma ação sinérgica dos outros compostos, nutrientes e não nutrientes, encontrados no fruto.

Figura 14: Resumo gráfico dos resultados encontrados.



As setas na cor azul indicam as alterações promovidas pela ingestão de dose tóxica de paracetamol. As setas na cor verde indicam as alterações promovidas pela suplementação diária de guaraná em pó. As setas na cor vermelha indicam inalterações com a suplementação diária de guaraná em pó. Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

REFERÊNCIAS

ABOLAJI, A., *et al*. **Health benefits of polyphenols: A concise review.** Journal of Food Biochemistry, vol. 505, n.2, p. 1042-1048, 2018. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfbc.14264. Acesso em: 21 jun. 2024.

AKTHER, N. *et al*. **Hepatoprotective activity of *Marrubium vulgare* against paracetamol induced toxicity**. Journal of Pharmacy Research, v. 7. n. 7, p. 565-570, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.06.023. Acesso em: 29 nov. 2024.

AMAZONAS (estado). Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. **Cultivo do guaranazeiro na agricultura familiar do Amazonas**. Manaus, AM: IDAM, 2021. Acesso em: 19 jun. 2024.

ARAÚJO, L. A. **Protocolo Phosphate-buffered saline (PBS) para homogeneizar com inibidor de protease.** Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2015.

ARSHAD, M. A., *et al*. **Acute liver failure**. Clinical medicine, vol. 20,5, p. 505-508, 2020. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7539708/. Acesso em: 19 jun. 2024.

BANDEIRA, A. C. B. *et al*. **Lycopene pretreatment improves hepatotoxicity induced by acetaminophen in C57BL/6 mice**. Bioorganic and Medicinal Chemistry, v. 25, n. 3, p. 1057-1065, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.12.018. Acesso: em 28 nov. 2024.

BARCELOS, R. P. *et al*. **Caffeine effects on systemic metabolism, oxidative-inflammatory pathways, and exercise performance**. Nutrition Research, v. 80, p. 1-17, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.05.005.

BARROS, Pedro Paulo, *et al*. **Hepatoprotective effect of quercetin pretreatment against paracetamol-induced liver damage and partial hepatectomy in rats.** Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 60, 2017.

BERTELLI. A., *et al.* **Polyphenols: From Theory to Practice**. Foods, vol. 10, n. 11. p. 2595, 2021. Disponível em: https://www.mdpi.com/2304-8158/10/11/2595. Acesso em: 17 maio 2024.

BLACKWELL, T. S.; CHRISTMAN, J. W. **The Role of Nuclear Factor- κ B in Cytokine Gene Regulation**. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, v. 17, n. 1, 1996. Disponível em: https://doi.org/10.1165/ajrcmb.17.1.f132. Acesso em: 03 dez. 2024.

BLAZKA, M. E. *et al.* **Role of Proinflammatory Cytokines in Acetaminophen Hepatotoxicity**. Toxicology and Applied Pharmacology, v. 133, n. 1, p. 43-52, 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1006/taap.1995.1125. Acesso em: 28 nov. 2024.

BORASCHI, D. **What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution**. Frontiers in Immunology, vol. 23, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.872155. Acesso em: 12 nov. 2024.

BRADLEY, J. R. **TNF-mediated inflammatory disease**. The Journal of Pathology, v. 214, n. 2, p. 149-160, 2008. DOI: 10.1002/path.2287. Acesso em: 11 nov. 2024.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia Alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf. Acesso em: 07 nov. 2024.

CAMPOS, A. F. **Efeitos do guaraná (Paullinia cupana) na saúde cardiovascular: uma revisão sistemática.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.11606/D.6.2018.tde-27082018-120729. Acesso em: 12 jul. 2024.

CHAZOTTE, Brad. **Labeling Golgi with Fluorescent Ceramides**. Cold Spring Harbor Protocols, v. 2012, n. 8, 2012.

CHEN, G.; GOEDDEL, D. V. **TNF-R1 Signaling: A Beautiful Pathway**. Science, v. 296, n. 5573, p. 1634-1635, 2002. DOI:10.1126/science.1071924. Acesso em: 03 dez. 2024.

CHUN, L. J. *et al*. **Acetaminophen Hepatotoxicity and Acute Liver Failure**. Journal of Clinical Gastroenterology, v. 43, n. 4, 2009. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31818a3854. Acesso em: 13 nov. 2024.

COELHO, A. M. *et al*. **Temporal analysis of paracetamol-induced hepatotoxicity.** Drug and Chemical Toxicology, v. 46. n. 3, p. 472-481, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1080/01480545.2022.2052891. Acesso em: 29 nov. 2024.

COMALADA, M. *et al.* **Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: Analysis of the structure–activity relationship.** Biochemical Pharmacology, v. 72, p. 1010-1021, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.07.016. Acesso em: 28 nov. 2024.

CONCEIÇÃO, H. N. *et al*. **Falência Hepática induzida por paracetamol: fisiopatologia, diagnóstico e manejo clínico.** Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences, v. 6, n. 6, p. 1735-1743, 2024. Disponível em: https://bjihs.emnuvens.com.br/bjihs/article/view/2401/2613. Acesso em: 26 out. 2024.

CROUVEZIER, S. *et al*. **The effects of phenolic components of tea on the production of pro- and anti-inflammatory cytokines by human leukocytes in vitro.** Cytokine, v. 13, n. 5,

p. 280-286, 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1006/cyto.2000.0837. Acesso em: 28 nov. 2024.

CUI, Y. *et al*. **Protective effects of polyphenols-enriched extract from Huangshan Maofeng green tea against CCl_4-induced liver injury in mice**. Chemico-Biological Interactions, v. 220, p. 75-83, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.06.018. Acesso em: 29 nov. 2024.

DONG, V. *et al*. **Pathophysiology of Acute Liver Failure.** Nutricional in Clinic Practice, v. 35, n. 1, p. 24-29, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1002/ncp.10459. Acesso em: 25 out. 2024.

DURAZZO, A. et al. **Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health.** Phytotherapy Research, v. 33, n. 9, p. 2221-2243, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1002/ptr.6419. Acesso em: 27 out. 2024.

ELKOMY, A. *et al*. **Paracetamol induced hepatic toxicity and amelioration by cinnamon in rats.** International Journal of Pharmacology and Toxicology, v. 4, n. 2, p. 187-190, 2016. DOI: doi: 10.14419/ijpt.v4i2.6529. Acesso em: 29 nov. 2024.

EMBRAPA (2007). Comunicado Técnico 125. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP).

EMBRAPA, Rosa. Felipe Santos da. **Embrapa Amazônia Ocidental**. 2016. Disponível em: < https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/3387002/cultivar-de-guaranazeiro-brsmaues>. Acesso em: 20 jun. 2024.

FILHO, G. B. **Bogliolo - Patologia**. 10. ed. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2021. E-book (1553 p.). Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527738378/. Acesso em: 10 maio 2024.

FISHER, J. E. *et al*. **Role of Kupffer cells and toll-like receptor 4 in acetaminophen-induced acute liver failure.** Journal of Surgical Research, v. 180, n. 1, p. 147-155, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jss.2012.11.051. Acesso em: 28 nov. 2024.

FREITAS, R. B., *et al*. **Euterpe edulis extracts positively modulates the redox status and expression of inflammatory mediators**, Food and Agricultural Immunology, v. 29, n. 1, p. 95-108, 2017. DOI: 10.1080/09540105.2017.1360255. Acesso em: 07 nov. 2024.

GAO, H. *et al*. **Protective Effect of *Lycium ruthenicum* Polyphenols on Oxidative Stress against Acrylamide Induced Liver Injury in Rats.** Molecules, v. 27, n. 13, p. 4100, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules27134100. Acesso em: 29 nov. 2024.

GASMI, A. *et al*. **Polyphenols in Metabolic Diseases,** Molecules, v. 27, n. 19. P. 6280, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules27196280. Acesso em: 27 out. 2024.

GONG, T., LIU, L., JIANG, W. *et al*. **DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases.** Nature Reviews Immunology, v.20, p.95–112, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41577-019-0215-7. Acesso em: 26 out. 2024.

HACK, B., *et al*. **Effect of Guarana (*Paullinia cupana*) on Cognitive Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis.** Nutrients, v. 15, n. 2, p. 434, 2023. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/15/2/434.

HIRANO, T. **IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer.** International Immunology, v. 33, n. 3, p. 127-148, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078. Acesso em: 14 nov. 2024.

HORRIGAN, L. A.; KELLY, J. P.; CONNOR, T. J. **Immunomodulatory effects of caffeine: Friend or foe?** Pharmacology & Therapeutics, v. 111, n. 3, p. 877-892, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.02.002.

HWANG, J. H. *et al*. **Caffeine prevents LPS-induced inflammatory responses in RAW264.7 cells and zebrafish.** Chemico-Biological Interactions, v. 248, p. 1-7, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.01.020.

IHIM, S. A. *et al*. **Interleukin-18 cytokine in immunity, inflammation, and autoimmunity: Biological role in induction, regulation, and treatment**. Frontiers in Imunology, vol. 13, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.919973. Acesso em: 12 nov. 2024.

IONITA-RADU, F. *et al.* **Liver Diseases. A Multidisciplinary Textbook**. Springer, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-24432-3. Acesso em: 05 nov. 2024.

JANG, D., *et al*. **The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α) in Autoimmune Disease and Current TNF-α Inhibitors in Therapeutics**. International Journal of Moecular Sciencies, v. 22, n. 5, p. 2719, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijms22052719. Acesso em: 10 nov. 2024.

KADRI, K. **Polymerase chain reaction (PCR): Principle and applications**. Synthetic Biology-New Interdisciplinary Science, p. 1-17, 2019.

KARUNAWEERA, N. *et al*. **Plant polyphenols as inhibitors of NF-κB induced cytokine production—a potential anti-inflammatory treatment for Alzheimer's disease?** Frontiers in Molecular Neuroscience, vol. 8, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00024. Acesso em: 06 nov. 2024.

KAUR, Pardeep, *et al*. **Biofunctional significance of multi-herbal combination against paracetamol-induced hepatotoxicity in Wistar rats**. Environmental Science And Pollution Research, [S.L.], v. 28, n. 43, p. 61021-61046, 24 jun. 2021.

KEVEL, P. A. **How is inflammation initiated? Individual influences of IL-1, IL-18 and HMGB1.** Cytokine, vol. 69, n. 1, p. 136-145, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.03.007. Acesso em: 12 nov. 2024.

KOBER, H., *et al*. **Genoprotective and hepatoprotective effects of Guarana (Paullinia cupana Mart. var. sorbilis) on CCl4-induced liver damage in rats.** Drug Chem Toxicol, v. 39, n. 1, p. 48-52, 2016. DOI: 10.3109/01480545.2015.1020546. Acesso em: 09 nov. 2024.

KUMAR, V. **Robbins Patologia Básica**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2018. E-book (934 p.). Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595151895/. Acesso em: 11 maio 2024.

LAURINDO, L. F. *et al.* **Phytochemicals and Regulation of NF-kB in Inflammatory Bowel Diseases: An Overview of In Vitro and In Vivo Effects**. Metabolites, v. 13, n. 1. P. 96, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/metabo13010096. Acesso em: 03 dez. 2024.
LEE, M. *et al.* **Intravenous acetaminophen associated with acute liver failure**. Drug and Therapeutics Bulletin, vol. 62, n. 8, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1136/dtb.2024.251305rep. Acesso em: 13 nov. 2024.

LEE, Milton O. **Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results**. American Journal Of Physiology-Legacy Content, v. 89, n. 1, p. 24-33, 1929.

LUO, Q., *et al*. **Green Extraction of Antioxidant Polyphenols from Green Tea (Camellia sinensis).** Antioxidants, v. 9, n. 9, p. 775, **2020**. Disponível em: https://doi.org/10.3390/antiox9090785. Acesso em: 10 nov. 2024.

MAGRONE. T., et al. **Recent Advances on the Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Red Grape Polyphenols: In Vitro and In Vivo Studies.** Antioxidants, vol. 9, n. 1, p. 35, 2020. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-3921/9/1/35. Acesso em: 19 jun. 2024.

MARQUES, L. L. M., *et al*. **Paullinia cupana: a multipurpose plant – a review**. Revista Brasileira de Farmacognosia, vol. 29, p. 77-110, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X18303533. Acesso em: 21 maio 2024.

MCGILL, M. R. **The past and presente of sérum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers**. Excli Lournal, v.15, p. 817-828, 2016. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5318690/pdf/EXCLI-15-817.pdf. Acesso em: 13 maio 2024.

MIRANDA, M. V.; METZENER, B. S. **Paullinia cupana: revisão da materia médica**. Revista de homeopatia. v. 73, n. 1/2, 2010. Disponível em: http://revista.aph.org.br/index.php/aph/article/view/38/60. Acesso em: 25 maio 2024.

MOLINA, N.; BOLIN, A. P.; OTTON, R. **Green tea polyphenols change the profile of inflammatory cytokine release from lymphocytes of obese and lean rats and protect against oxidative damage.** International Immunopharmacology, v. 28, n. 2, p. 985-996, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.08.011. Acesso em: 02 dez. 2024.

MONTRIEF, T. KOYFMAN, A. BRIT, L. **The American Journal of Emergency** Medicine, v. 37, n. 2, p. 329-337, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ajem.2018.10.032. Acesso em: 25 out. 2024.

MURAO. A., *et al*. **Release mechanisms of major DAMPs**. Springer, vol. 26, p.152-162, 2021. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s10495-021-01663-3. Acesso em: 19 jun. 2024.

NECA, C. S. M., *et al*. **Perigo da automedicação irresponsável do Paracetamol: uma revisão de literatura.** Research, Society and Development, v. 11, n. 1711. p. e23111738103, 2022. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/38103. Acesso em: 14 maio 2024.

NERY, Cybelle da Silva *et al*. **Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 17, n. 1, p. 49-55, 2011.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. **Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas**. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, v.74, n.2, p.209-215, 1997.

OHASHI, N., KOHNO, T. **Analgesic Effect of Acetaminophen: A Review of Known and Novel Mechanisms of Action**. Frontiers in Pharmacololy, v. 11, 2020. doi: 10.3389/fphar.2020.580289. Acesso em: 05 out. 2024.

ORONSKY, B.; CAROEN, S.; REID, T. **What Exactly Is Inflammation (and What Is It Not).** International Journal of Molecular Sciences, v. 23, n. 23, p. 14905, 2022. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/23/23/14905. Acesso em: 21 jun. 2024.

PEDRO, C. C. **Determinação da composição centesimal e da atividade antioxidante in vitro do guaraná em pó (Paullinia cupana).** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024. 68 p.

RASOULI, H., FARZAEI, M. H.; KHPDARAHMI. R. **Polyphenols and their benefits: A review.** International Journal of Food Properties, vol. 20, p. 1700–1741, 2017. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1354017. Acesso em: 19 maio 2024.

REAGAN-SHAW, S. *et al*. **Dose translation from animal to human studies revisited**. The Faseb Journal, v. 22, n. 3, p. 659-661, 2007. DOI: 10.1096/fj.07-9574LSF. Acesso em: 07 nov. 2024.

RUFINO, Maria do Socorro M. *et al*. **Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil**. Food Chemistry, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010. Doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.037. Acesso em: 07 nov. 2024.

RUSSO, A. J. F, *et al*. **The importance of livers in the immunological approach: a report of experience.** Brazilian Journal of health Review, v.2, n. 4, p. 3608-3612, 2019. Disponível em: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/2530/2547. Acesso em: 11 maio 2024.

SOBHANI, M., FARZAEI, M. H., KIANI, S., KHODARAHMI, R. **Immunomodulatory; Anti-inflammatory/antioxidant Effects of Polyphenols: A Comparative Review on the Parental Compounds and Their Metabolites.** Food Reviews International, v. 37, n. 8, p. 759–811, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1717523. Acesso em: 27 out, 2024.

SOMM, E.; JORNAYVAZ, F. R. **Interleukin-18 in metabolism: From mice physiology to human diseases.** Frontiers in Endrocrinology, vol. 13, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fendo.2022.971745. Acesso em: 12 nov. 2024.

SHINGINA, A. MD *et al*. **Acute Liver Failure**. The American Journal of Gastroenterology, v. 118, n.7, p. 1128-1153, 2023. Disponível em: 10.14309/ajg.0000000000002340. Acesso em: 25 out. 2024.

SINAGA, Ernawati, *et al*. **Hepatoprotective effect of Pandanus odoratissimus seed extracts on paracetamol-induced rats.** Pharmaceutical Biology, v. 59, n. 1, p. 31-39, 2021.

STEWART, A. G.; Beart, P. M. **Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules.** British journal of pharmacology, vol. 173, n. 4, p. 631-634, 2016. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4742297/. Acesso em: 08 maio 2024.

STRAVITZ, R. T.; Lee, M. W. **Acute liver failure**. Lancet, vol. 394, n. 10201, p. 869-881, 2019. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10836844/. Acesso em: 13 maio 2024.

TBCA, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.** Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2024. Disponível em: http://www.fcf.usp.br/tbca. Acesso em: 25 maio 2024.

TEIXEIRA, C. D., BARBOSA, P. O., SOUZA, M. O. **Effects of guarana (*Paullinia cupana)* powder on obesity-associated diseases in animal models: A systematic review.** Journal of Functional Foods, v. 112, p. 105944, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105944. Acesso em: 27 out. 2024.

TORRES, E. A. F. S., *et al*. **Effects of the consumption of guarana on human health: A narrative review.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, vol. 21, p. 272-295, 2022. Disponível em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12862. Acesso em: 25 maio 2024.

VASCO, Catalina *et al*. **Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador**. Food Chemistry, [S.L.], v. 111, n. 4, p. 816-823, 15 dez. 2008.

WANG, F. *et al*. **Hepatoprotective effect of apple polyphenols against concanavalin A-induced immunological liver injury in mice.** Chemico-Biological Interactions, v. 258, p. 159-165, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.08.018. Acesso em: 29 nov. 2024.

WERTZ, I. E. **TNFR1-activated NF-κB signal transduction: regulation by the ubiquitin/proteasome system.** Current Opinion in Chemical Biology, v. 23, p. 71-77, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.10.011. Acesso em: 03 dez. 2024.

WOOLBRIGHT, B. L., *et al*. **The impact of sterile inflammation in acute liver injury.** Journal of clinical and translational research, v. 3, n. 1, p.170-188, 2017. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5488807/. Acesso em: 17 maio 2024.

XING, L., *et al*. **Recent Advances in the Understanding of the Health Benefits and Molecular Mechanisms Associated with Green Tea Polyphenols**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 67, n. 4, p. 1029-1043, 2019. doi: 10.1021/acs.jafc.8b06146. Acesso em: 10 nov. 2024.

YAHFOUFI, N., *et al*. **The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols.** Nutrients, v. 10, n. 11, p. 1618, 2018. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/10/11/1618. Acesso em: 20 maio 2024.

ZELOVÁ, H., HOŠEK, J. **TNF-α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances.** Inflammation Research. v. 62, p. 641–651, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00011-013-0633-0.

ZHANG. H; RONG, T. **Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects.** Current Opinion in Food Science, v. 8, p. 33-42, 2016. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799316300133. Acesso em 19 maio 2024.

ZHANG, X. *et al*. **Flavonoid Apigenin Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response through Multiple Mechanisms in Macrophages.** Plos one, v. 9, n. 9, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107072. Acesso em: 28 nov. 2024.

ZINDEL, J., KUBES, P. **DAMPs, PAMPs, and LAMPs in immunity and sterile inflamation.** Annual Review of Patology: Mechanisms of Disease, v. 15, p. 493-518, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847. Acesso em: 26 out. 2024.

ANEXOS

Anexo 1: Cadastro SISGEN

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AB4ACC4

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	**AB4ACC4**
Usuário:	**UFOP**
CPF/CNPJ:	**23.070.659/0001-10**
Objeto do Acesso:	**Patrimônio Genético/CTA**
Finalidade do Acesso:	**Pesquisa**

Espécie

Paullinia cupana

Paullinia cupana

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade:	**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DO GUARANÁ EM PÓ (Paullinia cupana) EM MODELO DE HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA POR PARACETAMOL EM RATOS**

Equipe

Melina oliveira	**UFOP**
Clécia Dias Teixeira	**Universidade Federal de Ouro Preto**
Paloma Letícia Gonçalves	**Universidade Federal de Ouro Preto**
Joana Ferreira do Amaral	**Universidade Federal de Ouro Preto**

Anexo 2: Certificado CEUA - UFOP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

UFOP

PROPP - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do efeito anti-inflamatório e antioxidante do guaraná em pó (Paullinia cupana) em modelo de hepatotoxicidade induzida por paracetamol em ratos.", protocolada sob o CEUA nº 3488300122 (ID 000759), sob a responsabilidade de **Melina Oliveira de Souza** *e equipe; CLECIA DIAS TEIXEIRA* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA/UFOP) na reunião de 20/05/2022.

We certify that the proposal "Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant effect of guarana powder (Paullinia cupana) in model of paracetamol-induced hepatotoxicity in rats.", utilizing 50 Heterogenics rats (50 males), protocol number CEUA 3488300122 (ID 000759), under the responsibility of **Melina Oliveira de Souza** *and team; CLECIA DIAS TEIXEIRA* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Ouro Preto Federal University (CEUA/UFOP) in the meeting of 05/20/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 06/2022 a 01/2024 Área: Ciências Biológicas

Origem:	Centro de Ciência Animal						
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo:	Machos	idade:	4 a 5 semanas	N:	50
Linhagem:	Wistar			Peso:	180 a 200 g		

Local do experimento: Os experimentos serão realizados nas dependências do Biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto.

Ouro Preto, 09 de setembro de 2022

Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Emerson Cruz de Oliveira
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Ouro Preto

Anexo 3: Certificado de participação em Iniciação Científica

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Setor de Pesquisa e Iniciação Científica

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO EM PROJETOS DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Certificamos que **RAFAELA ROSA DA SILVA**, Matrícula 21.1.7023, CPF 700.603.936-37, aluno(a) do curso de NUTRICAO participa/participou do(s) projeto(s) abaixo relacionado(s) com a(s) respectiva(s) função(ões), vigência(s) e carga(s) horária(s):

Programa	Projeto	Função	Orientador	Vigência	C.H. Semanal	Situação
PIP-2S/UFOP	EFEITO DO GUARANÁ EM PÓ (Paullinia cupana) SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS EM UM MODELO DE HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA POR PARACETAMOL.	BOLSISTA UFOP	MELINA OLIVEIRA DE SOUZA (DEALI)	01/09/2023-31/08/2024	15	CONCLUÍDO

Plano de Trabalho

01/09/2023	31/08/2024	Revisão bibliográfica do tema proposto. Leitura de artigos científicos sobre a metodologia proposta no projeto e participação das reuniões semanais do grupo do laboratório.
01/09/2023	01/10/2023	Separação e identificação do material biológico a ser estudado.
02/10/2023	20/12/2023	Processamento das amostras (preparo do homogenato) e análise de proteínas totais.
10/01/2024	01/03/2024	Padronização da análise dos mediadores inflamatórios propostos.
02/03/2024	01/06/2024	Análise das concentrações hepática dos mediadores inflamatórios nas amostras dos animais do experimento.
02/06/2024	01/07/2024	Tabulação e análise estatística dos dados.
02/07/2024	31/08/2024	Análise dos resultados, elaboração do relatório final e apresentação dos resultados em eventos científicos.

Documento emitido às 19:02 de 18/12/2024.

A autenticação deste documento poderá ser confirmada na página da Universidade Federal de Ouro Preto na Internet, no endereço www.ufop.br/autenticacao por meio do código 4JKEF6AO

gov.br

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB II - Sala 29 - 35400-000 - Ouro Preto (MG) - Brasil
Homepage: http://www.propp.ufop.br - Email: pesquisa@ufop.br - Telefone: (0XX31) 3559-1368