

**Universidade Federal de Ouro Preto**

Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas  
PPG CBIOL

---

Tese

---

**EFEITOS DO TREINAMENTO  
FÍSICO ASSOCIADO À  
SUPLEMENTAÇÃO COM AÇAÍ  
SOBRE PARÂMETROS  
HEPÁTICOS E CARDÍACOS DE  
RATOS SUBMETIDOS A UMA  
DIETA HIPERLIPÍDICA**

*Victor Neiva Lavorato*

Ouro Preto  
2019



**UFOP**

**VICTOR NEIVA LAVORATO**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO ASSOCIADO À SUPLEMENTAÇÃO  
COM AÇAÍ SOBRE PARÂMETROS HEPÁTICOS E CARDÍACOS DE RATOS  
SUBMETIDOS A UMA DIETA HIPERLIPÍDICA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica

**OURO PRETO**

**MINAS GERAIS – BRASIL**

**2019**

L414e

Lavorato, Victor Neiva .

Efeitos do treinamento físico associado à suplementação com açaí sobre parâmetros hepáticos e cardíacos de ratos submetidos a uma dieta hiperlipídica [manuscrito] / Victor Neiva Lavorato. - 2019.

84f.: il.: color; graf; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Dieta. 2. Açaí. 3. Exercícios físicos. 4. Fígado - Doenças. 5. Coração - Doenças.  
I. Silva, Marcelo Eustáquio. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 616.39

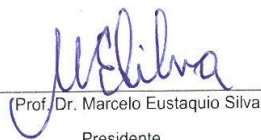


**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**Biológicas**

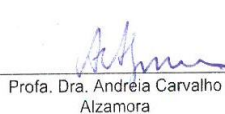


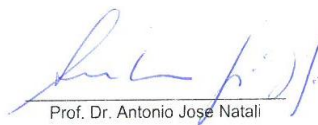
**ATA DE DEFESA DE DOUTORADO**

Aos 19 dias do mês de agosto do ano de 2019, às 13:30 horas, nas dependências Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas (Nupeb), foi instalada a sessão pública para a defesa de tese do doutorando **Victor Neiva Lavorato**, sendo a banca examinadora composta pelo Prof. Dr. Marcelo Eustaquio Silva (Presidente - UFOP), pela Profa. Dra. Andreia Carvalho Alzamora (Membro - UFOP), pelo Prof. Dr. Antonio Jose Natali (Membro - Externo), pela Profa. Dra. Emily Correna Carlo Reis (Membro - Externo), pelo Prof. Dr. Mauro Cesar Isoldi (Membro - UFOP) e pela Profa. Dra. Maria Lucia Pedrosa (Co-Orientadora - UFOP). Dando início aos trabalhos, o presidente, com base no regulamento do curso e nas normas que regem as sessões de defesa de tese, concedeu ao doutorando 30 minutos para apresentação do seu trabalho intitulado "Efeitos do Treinamento Físico Associado à Suplementação com Açaí Sobre Parâmetros Hepáticos e Cardíacos de Ratos Submetidos a Uma Dieta Hiperlipídica.", na área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica. Terminada a exposição, o presidente da banca examinadora concedeu, a cada membro, um tempo máximo de 45 minutos para perguntas e respostas ao candidato sobre o conteúdo da tese, na seguinte ordem: Primeiro, Profa. Emily Correna Carlo Reis; segundo, Prof. Antonio Jose Natali; terceiro, Profa. Andreia Carvalho Alzamora; quarto, Prof. Mauro Cesar Isoldi; quinto, Profa. Maria Lucia Pedrosa; sexto, Prof. Marcelo Eustaquio Silva. Dando continuidade, ainda de acordo com as normas que regem a sessão, o presidente solicitou aos presentes que se retirassem do recinto para que a banca examinadora procedesse à análise e decisão, anunciando, a seguir, publicamente, que o doutorando foi aprovado por unanimidade, sob a condição de que a versão definitiva da tese deva incorporar todas as exigências da banca, devendo o exemplar final ser entregue no prazo máximo de 60 (sessenta) dias à Coordenação do Programa. Para constar, foi lavrada a presente ata que, após aprovada, vai assinada pelos membros da banca examinadora e pelo doutorando. Ouro Preto, 19 de agosto de 2019.

  
Prof. Dr. Marcelo Eustaquio Silva  
Presidente

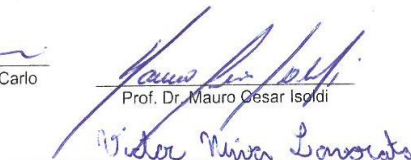
  
Profa. Dra. Maria Lucia Pedrosa

  
Profa. Dra. Andreia Carvalho Alzamora

  
Prof. Dr. Antonio Jose Natali

  
Profa. Dra. Emily Correna Carlo Reis

  
Prof. Dr. Mauro Cesar Isoldi

  
Doutorando

*Aos meus pais Luiz Fernando e  
Sônia, meus maiores exemplos.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me iluminar e abençoar durante todo processo.

Aos meus pais, Luiz Fernando e Sônia Maria, e à minha irmã, Stefânia, por todo amor e carinho. Agradeço também ao apoio e condições que me proporcionaram desde que cheguei em Ouro Preto.

Ao Prof. Marcelo Eustáquio Silva, a quem conheci em 2014, e desde então foi um mestre para mim! Não só pela sabedoria, mas também pela pessoa que é. Agradeço pelo respeito e apoio durante esses anos trabalhando em conjunto.

À Prof<sup>a</sup>. Maria Lúcia Pedrosa e aos demais membros do Labnex e LBM, pelo apoio sempre que precisei.

Ao Prof. Antônio José Natali, por fornecer todas as condições necessárias para o desenvolvimento do projeto em Viçosa e por toda ajuda ao longo do processo.

À Prof<sup>a</sup>. Maria do Carmo Gouveia Peluzio, pela ajuda nas análises de cromatografia e estresse oxidativo. Agradeço também pelos debates que ajudaram a esclarecer os caminhos do meu estudo.

Ao Prof. Mauro Cesar Isoldi, pela ajuda na qualificação e, principalmente, com as análises de PCR em tempo real.

À Prof<sup>a</sup>. Emily, pela ajuda com as análises ecocardiográficas.

À Denise, por todo apoio, seja no desenvolvimento dos experimentos ou no companheirismo do dia a dia! Obrigado por todo amor, compreensão e paciência!

Aos meus amigos Filipe e Leôncio, por toda ajuda nos experimentos no Bioex e no Departamento de Biologia Celular e Estrutural.

Ao Leonardo, pelas análises de percentual de gordura corporal.

Ao Laboratório de Imunovirologia da UFV, pela oportunidade de realizar as análises de PCR em tempo real.

Ao Laboratório de Sistemática Molecular da UFV, que proporcionou a realização das fotomicrografias histológicas.

Aos meus amigos da van da FAGOC, que deixaram minha vida mais leve durante esse processo!

À Universidade Federal de Ouro Preto, pela recepção e acolhimento! Muito obrigado, UFOP!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas pela oportunidade de poder concluir a pós-graduação em um curso de ótima qualidade!

Ao CNPq, CAPES e FAPEMIG, pelo fundamental auxílio financeiro.

Aos animais de experimentação e a todos que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xiv
LISTA DE TABELAS .....	xix
RESUMO .....	xx
ABSTRACT .....	xxi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Dietas hiperlipídicas, doença hepática gordurosa não alcoólica e o desenvolvimento de disfunções cardiovasculares.....	1
1.2 Tratamentos não farmacológicos para os efeitos impostos pela dieta hiperlipídica .....	12
1.2.1 Açai ( <i>Euterpe oleracea</i> Martius).....	12
1.2.2 Exercício físico aeróbio.....	16
2. OBJETIVOS.....	21
2.1. Objetivo Geral.....	21
2.2. Objetivos Específicos .....	21
3. METODOLOGIA.....	22
3.1. Animais.....	22
3.2. Tratamento dietético .....	23
3.3. Protocolo de treinamento físico aeróbio .....	23
3.3.1. Teste de tolerância à fadiga.....	23
3.3.2. Treinamento aeróbio de corrida em esteira rolante.....	24
3.4. Análises de metabólitos e enzimas séricas .....	24
3.5. Extração lipídica animal .....	24
3.6. Perfil de ácidos graxos do fígado e fezes.....	25
3.7. Análise histológica do fígado.....	25
3.8. Análise histológica do coração .....	26
3.9. Análise ecocardiográfica.....	27
3.10. Isolamento dos cardiomiócitos .....	27
3.11. Soluções de isolamento.....	28
3.11.1. Solução de perfusão Tampão HEPES .....	29
3.12. Contratilidade Celular.....	29
3.13. Medidas do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ .....	31



3.14. Análise do estresse oxidativo cardíaco .....	33
3.15. Análise da expressão de RNA mensageiro do coração.....	34
3.16. Análise estatística .....	35
4. RESULTADOS .....	36
4.1 Características gerais e análises hepáticas .....	36
4.2 Análises cardíacas .....	46
5. DISCUSSÃO .....	56
5.1. Características gerais e adaptações hepáticas .....	56
5.2. Adaptações cardíacas .....	60
6. CONCLUSÃO.....	67
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68
8. ANEXOS .....	85
8.1. Anexo 1.....	85
8.2. Anexo 2.....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\gamma$ -GCS – Gama-glutamilcisteína sintetase

ACC: Acetil-CoA carboxilase

Adipo R2: Receptor de adiponectina 2

AG: Ácidos graxos

AKT: Proteína quinase B

ALT: Alanina aminotransferase

AMPK: Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato

ApoB 100: Apolipoproteína B 100

AST: Aspartato aminotransferase

Bad: Promotor de morte associado à Bcl-2

Bax: Proteína X associada à Bcl-2

C: Grupo controle

C 14:0: Ácido mirístico

C 16:0: Ácido palmítico

C 18:0: Ácido esteárico

C 16:1: Ácido palmitoléico

C 18:1: Ácido oleico

C 18:2: Ácido linoleico

C 18:3n3: Ácido  $\alpha$ -linolênico

C 18:3n6: Ácido  $\gamma$ -linolênico

Ca<sup>2+</sup>: Íon cálcio

CaMKII: Proteína quinase II dependente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina

ChREBP: Proteína de ligação a elemento de resposta sensível a carboidratos

COX-2: Ciclo-oxigenase 2

CPT-1 $\alpha$ : Carnitina palmitoil transferase 1 $\alpha$

CV: Veia central

DMV: Dilatação modulada por fluxo

DNL: Lipogênese *de novo*

DVDd: Dimensão diastólica do ventrículo direito

DVEed: Dimensão diastólica do ventrículo esquerdo

DVEs: Dimensão sistólica do ventrículo esquerdo

DHGNA: Doença hepática gordurosa não alcoólica

EF: Fração de ejeção

EGTA: Ácido tetracético etilenoglicol

EHNA: Esteato-hepatite não alcoólica

EPPVEed: Espessura da parede posterior do VE ao final da diástole

EPPVEs: Espessura da parede posterior do VE ao final da sístole

EROs: Espécies reativas de oxigênio

ESIVd: Espessura diastólica do septo interventricular

ESIVs: Espessura sistólica do septo interventricular

FAS: Ácido graxo sintase

FLB: Fosfolambam

FS: Fração de encurtamento

GLUT 4: Transportador de glicose tipo 4

GPx: Glutathione peroxidase

GSH: Glutathione oxidada

GSSG: Glutathione reduzida

GST: Glutathione S-transferase

H: Grupo hiperlipídico

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrogênio

HA: Grupo hiperlipídico + açai

HAP: Hipertensão arterial pulmonar

HAT: Grupo hiperlipídico + açai + treinamento aeróbio

HDL: Lipoproteína de alta densidade

HEPES: Ácido etanosulfônico-hidroxietil piperazina

HMG-CoA: 3-hidróxil-3-metilglutaril-CoA

HT: Grupo hiperlipídico + treinamento aeróbio

HVP: Hipertensão venosa pulmonar

IL-1 $\beta$ : Interleucina 1 $\beta$

IL-6: Interleucina 6

IL-10: Interleucina 10

IRS: Substrato do receptor de insulina

JNK: Janus quinase

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

LDL-ox: LDL oxidada

LDL-r: Receptor de LDL

LXR: Receptor nuclear X do fígado

MAMs: Membranas associadas a mitocôndrias

MDA: Malondialdeído

mRNA: Ácido ribonucleico mensageiro

MUFA: Ácidos graxos monoinsaturados

NCX: Trocador de sódio/cálcio

NF- $\kappa$ B: Fator de transcrição nuclear kappa B

NO: Óxido nítrico

Nox-2: NADPH oxidase 2

Nox-4: NADPH oxidase 4

Nrf-2: fator de transcrição derivado de eritróide 2

OH $\cdot$ : Radical hidroxila

pFLB<sub>ser16</sub>: Fosfolambam fosforilada na serina 16

pFLB<sub>tre17</sub>: Fosfolambam fosforilada na treonina 17

PKA: Proteína quinase A

PON-1: Paraoxonase-1

PPAR $\gamma$ : Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama

PT: Tríade portal

PUFA: Ácidos graxos polinsaturados

RyR2: Receptor de rianodina tipo 2

SCD-1: Esteraoil-CoA desaturase 1

SERCA2a: Ca<sup>2+</sup> ATP-ase do retículo sarcoplasmático

SFA: Ácidos graxos saturados

SOD: Superóxido dismutase

SREBP-1c: Proteína de ligação a elemento regulador de esterol 1

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TFA: Treinamento físico aeróbio

TG: Triglicerídeos

TGF- $\beta$ : Fator de transformação do crescimento  $\beta$

TIMP-1: Inibidor de matriz de metaloproteinase 1

TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral  $\alpha$

TNF- $\beta$ : Fator de necrose tumoral  $\beta$

TTF final: Tempo total até à fadiga final

TTF inicial: Tempo total até à fadiga inicial

Túbulos T: Túbulos transversos

UCP-2: Proteína desacopladora 2

VD: Ventrículo direito

VDAC: Canais de ânion voltagem-dependentes

VDF: Volume diastólico final

VE: Ventrículo esquerdo

VS: Volume sistólico

VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espectro de condições clínicas que compõe a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Esquema da progressão da DHGNA (A). O acúmulo de triacilgliceróis nos hepatócitos causa a esteatose. A esteatose associada à inflamação, morte celular e fibrose caracteriza a esteato hepatite não alcoólica (EHNA) que pode evoluir para cirrose e hepatocarcinoma celular. Seções histológicas ilustrando o fígado normal, esteatose, EHNA e cirrose (B). As fibras de colágeno estão coradas em azul pelo tricrômico de Masson. CV, veia central. PT, tríade portal. Fonte: Adaptado de COHEN; HORTON; HOBBS (2011).....2

Figura 2. Hipótese múltipla para o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). AG: ácidos graxos. TG: triglicerídeos. DNL: lipogênese *de novo*. Fonte: Adaptado de BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS (2016).....3

Figura 3. Relação entre DHGNA e o desenvolvimento de disfunção miocárdial. Fonte: Adaptado de VANWAGNER et al. (2015).....5

Figura 4. Efeitos da dieta hiperlipídica sobre o coração. O diagrama mostra as alterações hemodinâmicas que resultam do excessivo acúmulo de tecido adiposo e os subsequentes efeitos na morfologia cardíaca e função ventricular. VD, ventrículo direito. VE, ventrículo esquerdo. HAP, hipertensão arterial pulmonar. HVP, hipertensão venosa pulmonar. Fonte: Adaptado de ALPERT et al. (2018).....8

Figura 5. Esquema representativo do processo de acoplamento excitação-contração. As setas vermelhas representam o processo de entrada de  $Ca^{2+}$  no citosol (canais do tipo L e RyR2) até a contração muscular. As setas verdes representam a recaptção de  $Ca^{2+}$  pelas proteínas SERCA2a/FLB, NCX e pela via mitocondrial. O quadro menor representa de cinza o potencial de ação, de vermelho a concentração de  $Ca^{2+}$  ou transiente de  $Ca^{2+}$  e azul representa a contração muscular. Fonte: BERS (2014).....10

Figura 6. Fotos mostrando A: Palmeira Euterpe oleraceae Martius; B: O fruto do açaí; C: Despolpamento mecânico, polpa e suco de açaí. Fonte: [www.agrosoft.org.br](http://www.agrosoft.org.br).....12

Figura 7. Estrutura química das antocianinas presentes no açaí. Fonte: Adaptado de SCHAUSS et al. (2006b).....	14
Figura 8. Benefícios do exercício físico após o consumo de dietas hiperlipídicas. DMF, dilatação modulada pelo fluxo. EF, fração de ejeção. VDF, volume diastólico final. VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade. VS, volume sistólico. Fonte: Adaptado de ROMERO-GÓMEZ; ZELBER-SAGI; TRENELL (2017).....	18
Figura 9. Representação do programa utilizado para aquisição das imagens e dos registros das contrações dos cardiomiócitos isolados. A definição das bordas direita e esquerda é projetada através dos picos verde e vermelho, respectivamente (CARNEIRO-JUNIOR, 2013).....	30
Figura 10. Traçado representativo de uma contração celular estimulada na frequência de 1 Hz.....	31
Figura 11. Traçado representativo dos parâmetros avaliados através do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ .....	33
Figura 12. Tempo total até à fadiga em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. $\Phi$ , diferença para o mesmo grupo ao início do estudo.....	38
Figura 13. Fotomicrografias representativas de secções de fígado de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. As lâminas foram coradas com H&E. Setas pretas indicam esteatose marovesicular. Setas brancas indicam esteatose microvesicular. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico.....	40
Figura 14. Representação gráfica da esteatose microvesicular e macrovesicular em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e	



treinamento físico aeróbio. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Nos painéis A e B os dados são expressos em mediana  $\pm$  interquartil. Nos painéis C e D os dados são expressos em porcentagem. \*, diferença para o grupo H.....41

Figura 15. Representação gráfica do grau de inflamação através das células de Kupffer em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. No painel A os dados são expressos em mediana  $\pm$  interquartil. No painel B os dados são expressos em porcentagem. \*, diferença para o grupo H.....41

Figura 16. Massa do fígado e níveis séricos de AST e ALT em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. (A) Massa do fígado (g). (B) Alanina aminotransferase (ALT) (U/L). (C) Aspartato aminotransferase (AST) (U/L). C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....42

Figura 17. A: Fotomicrografias representativas de secções de ventrículos esquerdos de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. B: Percentual de cardiomiócitos. C: Percentual de matriz extracelular. As lâminas foram coradas com H&E. Setas pretas indicam cardiomiócitos. Setas brancas indicam matriz extracelular. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico.....48

Figura 18. A: Fotomicrografias representativas de secções de ventrículos esquerdos de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. B: Percentual de colágeno. C: Percentual de matriz extracelular. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. As lâminas foram coradas com

Picrosirius Red. Setas brancas indicam presença de colágeno. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. \*, diferença para o grupo H.....49

Figura 19. Contratilidade dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C.c.r., comprimento celular de repouso. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média ± desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....51

Figura 20. Transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média ± desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....52

Figura 21. Expressão de genes responsáveis pela homeostase de  $Ca^{2+}$  em cardiomiócitos do ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média ± desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....53

Figura 22. Marcadores oxidativos e atividade de enzimas antioxidantes no ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média ± desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....54

Figura 23. Expressão de mRNA de UCP-2 no ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média ± desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....55

Figura 24. Expressão de mRNA de IL-6 e IL-10 no ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.....55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais (g/Kg de dieta).....	23
Tabela 2. Sequência dos primers para PCR em tempo real.....	35
Tabela 3. Composição corporal, ingestão e eficiência alimentar em ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.....	37
Tabela 4. Concentração de metabólitos séricos em ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.....	39
Tabela 5. Perfil de ácidos graxos do fígado de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.....	44
Tabela 6. Perfil de ácidos graxos das fezes de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.....	45
Tabela 7. Comprimento dos cardiomiócitos, massa dos ventrículos e coração e massa relativa dos ventrículos e coração de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.....	47
Tabela 8. Avaliação ecocardiográfica de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.....	50

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do treinamento físico aeróbio (TFA) e da suplementação com açaí sobre a funcionalidade e estrutura cardíaca, em nível molecular, celular e tecidual, em conjunto com o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) em um modelo animal submetido à dieta hiperlipídica. Para isso, foram utilizados ratos Fisher com sessenta dias de idade, divididos em cinco grupos experimentais: C: Controle; H: Dieta Hiperlipídica; HA: Dieta Hiperlipídica + Açaí; HT: Dieta Hiperlipídica + TFA; HAT: Dieta Hiperlipídica + Açaí + TFA. Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica receberam 21,8% de banha e 1% de colesterol. Os grupos suplementados com açaí liofilizado (HA e HAT) receberam 1% de açaí na dieta. Os animais dos grupos treinados (HT e HAT) foram submetidos a um programa progressivo de corrida em esteira por 8 semanas, sendo a duração e a intensidade final de 60 minutos e 60-70% da velocidade máxima de corrida, respectivamente. O grupo que recebeu dieta hiperlipídica aumentou as concentrações plasmáticas de amilase, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), lipase, proteínas totais e globulinas. No fígado, foi identificado presença de esteatose microvesicular, macrovesicular e inflamação. Além disso, ocorreu aumento do total de ácidos graxos monoinsaturados no fígado e ácidos graxos saturados e monoinsaturados, com diminuição do total de ácidos graxos polinsaturados nas fezes. No ventrículo esquerdo, a dieta hiperlipídica aumentou o percentual de colágeno, a expressão de NADPH oxidase 4 (Nox-4) e proteína desacopladora 2 (UCP-2), a concentração de malondialdeído (MDA) e reduziu a atividade de catalase e glutathione S-transferase (GST). Além disso, a dieta hiperlipídica causou efeitos deletérios nos parâmetros mecânicos e do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , com redução da expressão de trocador de sódio/cálcio (NCX). O grupo que recebeu a suplementação com açaí reduziu os níveis plasmáticos de colesterol total e AST, sem alterar o perfil de ácidos graxos totais do fígado e fezes. O tratamento com açaí diminuiu o percentual de esteatose macrovesicular e de inflamação de grau 3. No coração, a suplementação com açaí reduziu o percentual de colágeno, a expressão de Nox-4 e UCP-2, a concentração de MDA e aumentou a atividades de catalase e GST. Em relação à contratilidade dos cardiomiócitos, observou-se aumento da amplitude de contração celular e redução do tempo para o pico do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , com aumento da expressão de NCX. O grupo treinado aerobicamente não alterou os parâmetros séricos e o perfil de ácidos graxos do fígado e fezes. No fígado, o TFA foi capaz de atenuar a inflamação estabelecida pela dieta hiperlipídica e reduzir o percentual de esteatose macrovesicular de grau 3. No ventrículo esquerdo, o TFA reduziu o percentual de colágeno, a expressão de Nox-4 e UCP-2, a concentração de MDA e aumentou a atividades de catalase e GST. No que diz respeito à contratilidade dos cardiomiócitos, o TFA melhorou todos os danos ocasionados pela dieta hiperlipídica, com aumento da expressão de receptor de rianodina do tipo 2 (RyR2) e NCX. O TFA também aumentou a expressão de interleucina 10 (IL-10). O tratamento associado entre açaí e TFA apresentou benefícios nas análises hepáticas e cardíacas, porém sem efeitos adicionais.

**Palavras chave:** Dieta hiperlipídica. *Euterpe oleracea* Mart. Treinamento físico aeróbio. Doença hepática gordurosa não alcoólica. Coração.

## ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the effect of aerobic physical training and açai supplementation on the functional and cardiac structure at the molecular, cellular and tissue level, together with the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in a model animal submitted to the hyperlipid diet. For this, 60-day-old Fisher rats were divided into five experimental groups: C: Control; H: Hyperlipidic diet; HA: Hyperlipidic Diet + Açai; HT: Hyperlipidic Diet + Aerobic physical training; HAT: Hyperlipidic Diet + Açai + Aerobic physical training. The groups fed a hyperlipid diet received 21.8% of lard and 1% of cholesterol. The groups supplemented with lyophilized açai (HA and HAT) received 1% of açai in the diet. The animals in the trained groups (HT and HAT) underwent a progressive treadmill running program for 8 weeks, with the duration and final intensity being 60 minutes and 60-70% of the maximum running speed, respectively. The hyperlipidic diet increased the plasma concentrations of amylase, creatinine, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lipase, total proteins and globulins. In the liver, the presence of microvesicular, macrovesicular and inflammatory steatosis was identified. In addition, there was an increase in total monounsaturated fatty acids in the liver and saturated and monounsaturated fatty acids, with a decrease in total polyunsaturated fatty acids in feces. In the left ventricle, the hyperlipid diet increased the percentage of collagen, the expression of NADPH oxidase 4 (Nox-4) and uncoupling protein 2 (UCP-2), the concentration of malondialdehyde (MDA) and reduced the activity of catalase and glutathione S-transferase (GST). In addition, the hyperlipidic diet caused deleterious effects on the mechanical and  $[Ca^{2+}]_i$  transient parameters, with reduction of sodium / calcium exchanger (NCX) expression. The group receiving açai supplementation reduced plasma levels of total cholesterol and AST, without altering the total fatty acid profile of the liver and feces. Treatment with açai decreased the percentage of macrovesicular steatosis and inflammation grade 3. In heart, açai supplementation reduced collagen percentage, Nox-4 and UCP-2 expression, MDA concentration and increased catalase and GST activities. Regarding the contractility of cardiomyocytes, there was an increase in the cellular contraction amplitude and a reduction in the time to the transient peak of  $[Ca^{2+}]_i$ , with increased NCX expression. The aerobically trained group did not alter the serum parameters and the fatty acid profile of the liver and feces. In the liver, aerobic physical training was able to attenuate the inflammation established by the hyperlipid diet and reduce the percentage of grade 3 macrovesicular steatosis. In the left ventricle, aerobic physical training reduced the percentage of collagen, expression of Nox-4 and UCP-2, a concentration of MDA and increased to catalase and GST activities. Regarding cardiomyocyte contractility, aerobic physical training improved all the damage caused by the hyperlipidic diet, with increased expression of ryanodine type 2 receptor (RyR2) and NCX. Aerobic physical training also increased the expression of interleukin 10 (IL-10). The synergistic treatment between açai and TFA had benefits in the liver and cardiac analyzes, but without additional effects.

**Key words:** Hyperlipidic diet. *Euterpe oleracea* Mart. Aerobic physical training. Non-alcoholic fatty liver disease. Heart.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Dietas hiperlipídicas, doença hepática gordurosa não alcoólica e o desenvolvimento de disfunções cardiovasculares.

Atualmente, a obesidade é um grave problema de saúde pública. Em 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos estavam com sobrepeso, dos quais 650 milhões foram classificados com obesidade (WHO, 2017). No Brasil, 53,8% da população adulta das capitais está com excesso de peso, sendo que 18,9% estão obesos (VIGITEL, 2016).

A obesidade é definida como doença na qual o excesso de gordura corporal se acumula a ponto de afetar a saúde (WHO, 1998). O indivíduo que apresenta índice de massa corporal igual ou acima de 30 é considerado obeso. A obesidade se caracteriza pela combinação entre o consumo energético excessivo, ausência de atividade física e predisposição genética (SILVEIRA et al., 2017).

Nos países ocidentais, aproximadamente 40% das calorias ingeridas na dieta são compostas por lipídeos, sendo que as recomendações nutricionais são 5 a 10% menores (GAILLARD; PASSILLY-DEGRACE; BESNARD, 2008). Esse tipo de dieta pode gerar o desenvolvimento de distúrbios metabólicos, renais, hepáticos, pancreáticos e cardiovasculares (COHEN; HORTON; HOBBS, 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011; WHITE et al., 2013; RAMLI et al., 2014; GUERRA et al., 2015; HAN; LEAN, 2016). As complicações incluem obesidade, acúmulo de gordura na região abdominal, resistência insulínica, hipertensão, alterações na função cardíaca, desenvolvimento de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), disfunção endotelial, aumento de inflamação e apoptose (COHEN; HORTON; HOBBS, 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011; PANCHAL; POUDYAL, BROWN, 2012; RAMLI et al., 2014).

Dentre os acometimentos gerados por consumo de dietas hiperlipídicas, destaca-se a DHGNA. Essa é uma condição metabólica que abrange um espectro de doenças hepáticas que vão desde a esteatose simples até a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), podendo progredir para fibrose e cirrose (LUDWIG et al., 1980). A fim de uma melhor classificação das fases da DHGNA, Day; Jaymes (1998) propuseram o “modelo de dois *hits*”, aonde o primeiro *hit* consiste no acúmulo de gordura hepática excessiva devido ao quadro de resistência insulínica. Quando a insulina se liga ao seu receptor, o substrato do receptor de insulina (IRS) é fosforilado na tirosina, o que gera uma cascata de eventos

levando à translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT 4) para membrana celular, possibilitando a captação de glicose. Durante a resistência à insulina, ocorre o bloqueio da fosforilação do IRS e, portanto, menor captação de glicose na célula. Diante disso, ocorre hiperinsulinemia compensatória e aumento da atividade lipolítica, já que será necessária mais energia proveniente das gorduras. Esse quadro leva ao aumento do fluxo de ácidos graxos livres para o fígado, onde serão oxidados para o fornecimento de energia nas mitocôndrias ou esterificados, formando os triacilgliceróis. O acúmulo de triacilgliceróis no citoplasma do hepatócito leva ao desenvolvimento da esteatose hepática. O segundo *hit* consiste do aumento da liberação de citocinas e adipocinas, disfunção mitocondrial e estresse oxidativo, os quais levam ao desenvolvimento de EHNA e fibrose (DAY; JAMES, 1998; DOWMAN; TOMLINSON; NEWSOME, 2010). A progressão da DHGNA pode ser observada na Figura 1.

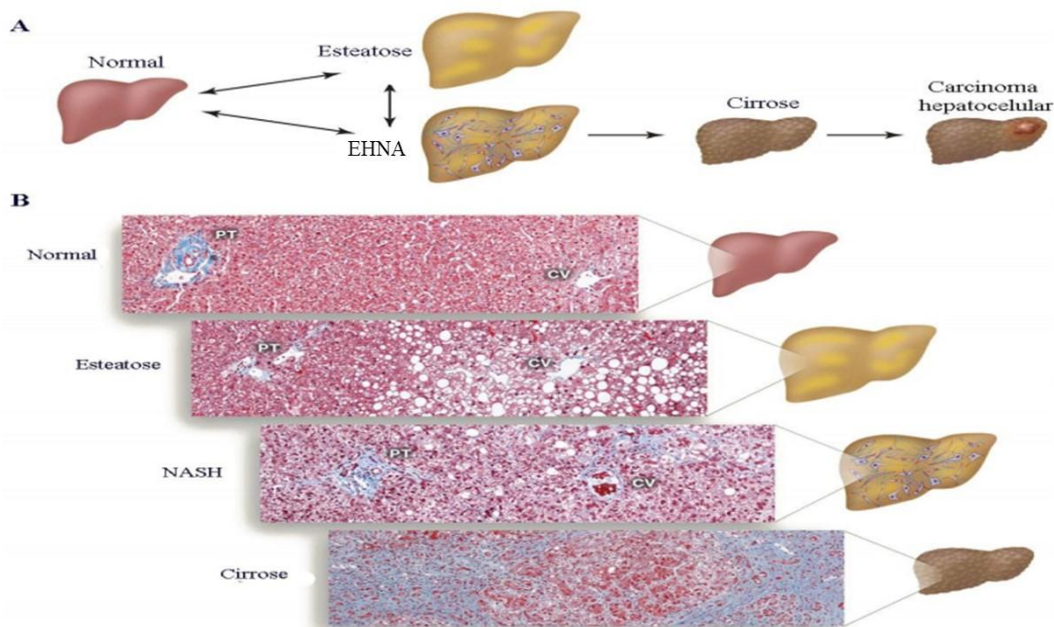


Figura 1. Espectro de condições clínicas que compõe a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Esquema da progressão da DHGNA (A). O acúmulo de triacilgliceróis nos hepatócitos causa a esteatose. A esteatose associada à inflamação, morte celular e fibrose caracteriza a esteato hepatite não alcoólica (EHNA) que pode evoluir para cirrose e hepatocarcinoma celular. Seções histológicas ilustrando o fígado normal, esteatose, EHNA e cirrose (B). As fibras de colágeno estão coradas em azul pelo tricrômico de Masson. CV, veia central. PT, tríade portal. Fonte: Adaptado de COHEN; HORTON; HOBBS (2011).

Com o passar dos anos, a teoria dos dois *hits* foi modificada por outras, uma vez que existem múltiplos fatores envolvidos fazendo com que a DHGNA se apresente de forma complexa. Assim sendo, tem sido proposto o modelo de múltiplos *hits*, o qual considera que a esteatose hepática se instala por diferentes mecanismos patogênicos, agindo em indivíduos predispostos geneticamente. Esses *hits* incluem resistência



insulínica, adipocinas, microbiota intestinal, fatores nutricionais, genéticos e epigenéticos (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016). Nesse modelo, o primeiro *hit* é representado pela resistência insulínica associada a disfunções metabólicas, ocasionando esteatose hepática e expondo o fígado aos demais *hits*, que incluem aumento do estresse oxidativo, liberação de citocinas pró inflamatórias, estresse de retículo endoplasmático, além de ativação de vias apoptóticas e fibróticas, levando à EHNA e cirrose hepática (BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS, 2016). O modelo de múltiplos *hits* pode ser observado na Figura 2.

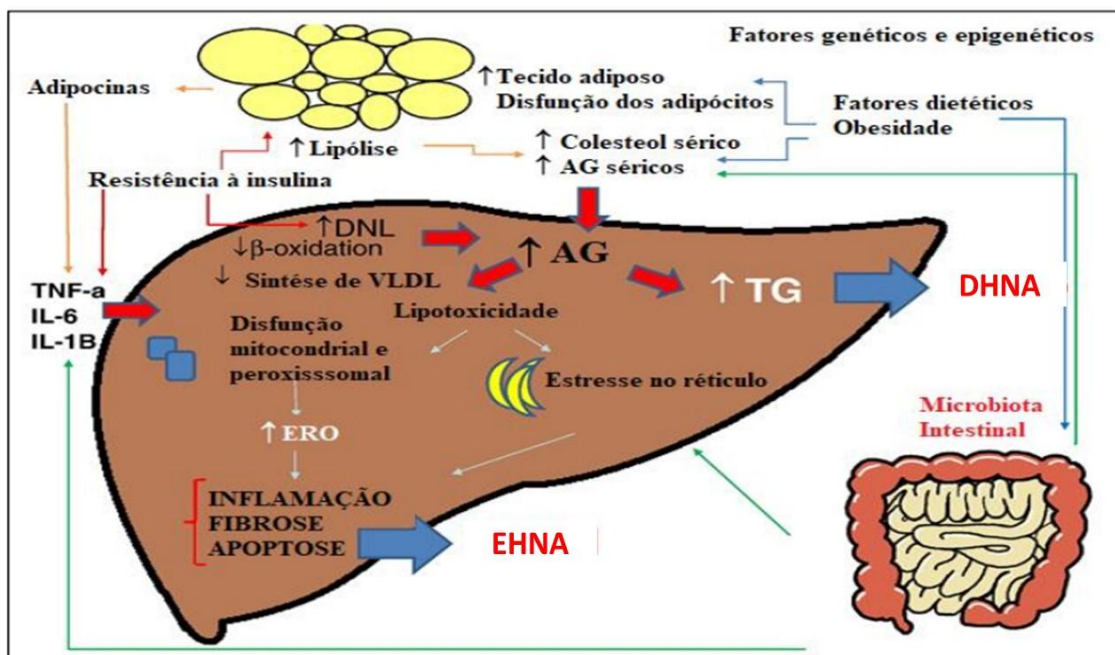


Figura 2. Hipótese múltipla para o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). AG: ácidos graxos. TG: triglicerídeos. DNL: lipogênese *de novo*. Fonte: Adaptado de BUZZETTI; PINZANI; TSOCHATZIS (2016).

Em termos histológicos, a esteatose pode ser classificada em duas formas: micro e macrovesicular. Na manifestação microvesicular os hepatócitos são preenchidos por múltiplas vesículas lipídicas. De acordo com a etiologia da esteatose essas microvesículas podem envolver o lóbulo hepático ou concentrar em determinada região do órgão. Nesse tipo de esteatose pode ou não ocorrer lesões fibróticas e necróticas. A esteatose microvesicular é considerada mais grave quando comparada à macrovesicular, sendo essa última considerada uma lesão benigna na ausência de lesões hepáticas. A esteatose macrovesicular é uma manifestação mais recorrente em humanos e é caracterizada por um grande vacúolo de gordura, ocupando todo o volume do hepatócito e impele o núcleo para a periferia da célula (LEWIS; ZIMMERMAN, 1989).

Enzimas hepáticas como a alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato

aminotransferase (AST) vêm sendo utilizadas como marcadores da DHGNA. Embora os níveis das transaminases sejam a primeira anormalidade observada em pacientes com esteatose hepática, boa parte desses pacientes pode apresentar níveis normais dessas enzimas. Além disso, não existem marcadores bioquímicos que podem distinguir esteatose hepática, EHNA e cirrose (OBIKA; NOGUCHI, 2012).

Durante o desenvolvimento da DHGNA, muitas vias metabólicas estão implicadas, incluindo a liberação de ácidos graxos não esterificados a partir de tecido adiposo branco, aumento da síntese *de novo* de ácidos graxos e diminuição da  $\beta$ -oxidação (POSTIC; GIRARD, 2008). A ativação potencializada da via lipogênica contribui para o desenvolvimento da esteatose hepática. Em resposta à insulina e à glicose, os fatores de transcrição de proteína de ligação a elemento regulador de esterol 1 (SREBP-1c) e de proteína de ligação de elemento de resposta sensível a carboidratos (ChREBP) são ativados, respectivamente, e induzem a expressão de genes lipogênicos, incluindo acetil-CoA carboxilase (ACC), ácido graxo sintase (FAS) e esteroil-CoA desaturase-1 (SCD-1). SREBP-1c e ChREBP também são transativados pelo receptor nuclear X do fígado (LXR), que regula o metabolismo de colesterol e ácidos graxos (POSTIC; GIRARD, 2008). Aragno et al. (2009) mostraram que houve aumento da expressão de SREBP-1C no hepatócito de ratos alimentados com dieta rica em gordura, com 4% de colesterol e 10% de frutose. Outro estudo que utilizou dieta rica em gordura, onde 45% das Kcal eram provenientes de óleo de soja, mostrou que houve aumento na expressão proteica de SREBP-1c e ChREBP nos hepatócitos (SHAO et al., 2012).

Outro fator de transcrição que é alterado durante a DHGNA é o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR $\gamma$ ), que participa da regulação do metabolismo lipídico. SREBP-1c pode ativar PPAR $\gamma$ , levando à estimulação de enzimas lipogênicas, o que exacerba a esteatose hepática. Pettinelli; Videla (2011) mostraram que pacientes que possuíam esteatose ou esteato-hepatite tiveram aumento dos níveis de PPAR $\gamma$  e SREBP-1c. Camundongos alimentados com dieta rica em gorduras apresentaram elevação da expressão de RNA mensageiro (mRNA) de PPAR $\gamma$  após 2, 4, 6, 8 e 12 semanas de aplicação da dieta (INOUE et al., 2005). Corroborando com esses achados, Seo et al. (2008) mostraram que ratos que consumiram dieta rica em gorduras e tratados com um agonista de PPAR $\gamma$ , obtiveram menores níveis de triglicerídeos séricos.

A biossíntese do colesterol também pode ser afetada pela DHGNA. Essa inicia-se pela reação de três moléculas de acetil-CoA, formando 3-hidróxil-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Essa reação é catalisada pela enzima HMG-CoA sintetase. Posteriormente,

ocorre ação da enzima HMG-CoA redutase, sendo o HMG-CoA reduzido a mevalonato. Por fim, ocorre a formação de pirofosfato de isopentenila, a ciclização do esqualeno e a conversão de lanosterol em colesterol (COSTA; SABARENSE; PELUZIO, 2008). Ji et al. (2011) investigaram os efeitos da dieta hiperlipídica contendo 60% das calorias compostas por lipídeos. Foi verificado que os animais tratados com a dieta desenvolveram DHGNA e essa estava relacionada com a elevação dos níveis proteicos de HMG-CoA redutase.

A DHGNA tem sido associada ao desenvolvimento de alterações cardiovasculares, dentre essas, aumento da massa e espessura do ventrículo esquerdo (VE); disfunção diastólica; disfunção endotelial e estresse oxidativo; aumento do conteúdo de triacilgliceróis, lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), além de redução de lipoproteínas de alta densidade (HDL) séricas; angiogênese (remodelação vascular); liberação de citocinas e quimiocinas na circulação sistêmica; distúrbios elétricos (arritmia) (GILL et al., 2011; DOGRU et al., 2013; STONER et al., 2013; TARGHER et al., 2013; SIDDIQUI et al., 2015; VANWAGNER et al., 2015; FRANCQUE; VAN DER GRAAFF; KWANTEN, 2016). O aumento da resistência insulínica, da lipotoxicidade e da inflamação sistêmica na DHGNA, pode acarretar danos cardíacos levando à disfunção miocárdial (VANWAGNER et al., 2015). A relação entre DHGNA e disfunção cardíaca pode ser observada na Figura 3.

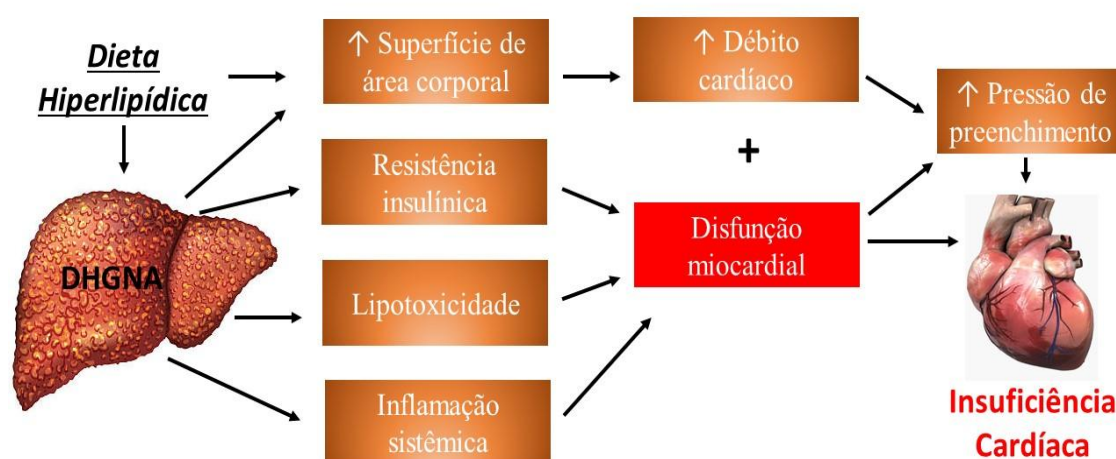


Figura 3. Relação entre DHGNA e o desenvolvimento de disfunção miocárdial. Fonte: Adaptado de VANWAGNER et al. (2015).

A dieta hiperlipídica leva ao desenvolvimento de complicações cardiovasculares em nível molecular, celular ou tecidual. A obesidade causada pela dieta hiperlipídica leva ao acúmulo de lipídeos no coração, que é associado com o aumento do estresse oxidativo

nos cardiomiócitos (GHOSH et al., 2011). O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidantes (SIES, 1986).

Uma das consequências do aumento do estresse oxidativo é a oxidação proteica. Essa pode reagir com produtos da peroxidação lipídica, metabólitos oxidados e açúcares, formando, posteriormente, agregados proteicos e promovendo disfunção celular (ANSCHAU, 2011). Nesse sentido, Wang et al. (2012) verificaram aumento da concentração de proteína carbonilada no VE de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (45% kcal de lipídios) durante 22 semanas.

O estresse oxidativo também leva à oxidação de lipídeos, processo conhecido como peroxidação lipídica. A oxidação dos lipídeos pode gerar alterações no transporte iônico, inibição de processos metabólicos e modificações na fluidez da membrana citoplasmática (NIGAM; SCHEWE, 2000). Muthulakshmi; Saravan (2013) mostraram os efeitos de uma dieta contendo 35,2% de lipídeos sobre o estresse oxidativo do coração de camundongos. Os autores observaram diminuição da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione redutase, glutathione peroxidase (GPx) e glutathione reduzida (GSSG), com aumento da peroxidação lipídica avaliada pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no coração dos animais tratados com a dieta hiperlipídica.

A dieta hiperlipídica também aumenta a inflamação do tecido cardíaco, que é associada com a elevação do estresse oxidativo. Fernandes et al. (2017), utilizando de ratos alimentados com dieta contendo 35% de banha e 20% de óleo de soja, encontraram aumento da quantidade de lipídeos no coração, associado com a elevação do estado inflamatório pela expressão de ciclo-oxigenase 2 (COX-2). No mesmo sentido, o estudo de Wang et al. (2012) avaliaram camundongos alimentados com dieta possuindo 45% das Kcal em lipídeos e verificaram elevação dos níveis de interleucinas pró-inflamatórias 1 $\beta$  e 6 (IL-1 $\beta$  e IL-6) e redução de adiponectina (ação anti-inflamatória). Somado a isso, Medeiros et al. (2011) mostraram que o tecido cardíaco de ratos alimentados com dieta contendo 32,1% de banha apresentou aumento da expressão de fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), podendo levar ao crescimento da transcrição de genes inflamatórios.

Outra consequência do consumo exacerbado de lipídeos na dieta, é o aumento da apoptose dos cardiomiócitos, devido, em parte, ao aumento do estresse oxidativo e inflamação (BALLAL et al., 2010). Um estudo que utilizou ratos que receberam dieta

com 15,47% de manteiga em pó, encontrou redução da expressão de Bcl-2 e Bcl-xL, com aumento da expressão de caspase 8 e caspase 3 nos cardiomiócitos (WANG, et al., 2015). Bcl-2 e Bcl-xL atuam como proteínas anti-apoptóticas impedindo a liberação de citocromo C. Esse último quando liberado, leva à ativação sequencial das caspases, as quais ativam a resposta apoptótica. Da mesma forma, Lin et al. (2017) avaliaram ratos que receberam 45% das Kcal da dieta provenientes de gordura. Os autores analisaram a expressão de proteínas pró-apoptóticas (Bax, Bad, caspase 3, caspase 8 e caspase 9) e anti-apoptóticas (Bcl-2 e Bcl-xL). Foram verificados aumentos na relação Bax/Bcl-2, caspase 3, caspase 8 e caspase 9, com diminuição em Bcl-xL. Hsu et al. (2016), utilizando da técnica de marcação de células apoptóticas por anexina V, observaram aumento da porcentagem de células em apoptose de ratos tratados com 45% das energias da dieta advindas por meio de lipídeos.

Os efeitos da dieta hiperlipídica citados anteriormente, contribuem para alterações funcionais e estruturais no coração, desenvolvendo um processo de remodelamento cardíaco. O aumento da demanda metabólica imposta pelo tecido adiposo excessivo na obesidade leva a uma circulação hiperdinâmica, com aumento do volume sanguíneo e conseqüente aumento da pré-carga. Além disso, a pós-carga do VE também é elevada na obesidade, devido ao aumento da resistência vascular periférica e maior rigidez arterial. A pós-carga do ventrículo direito (VD) pode ser elevada por alterações no VE (VASAN, 2003). Os possíveis efeitos da dieta hiperlipídica sobre o coração estão apresentados na Figura 4.

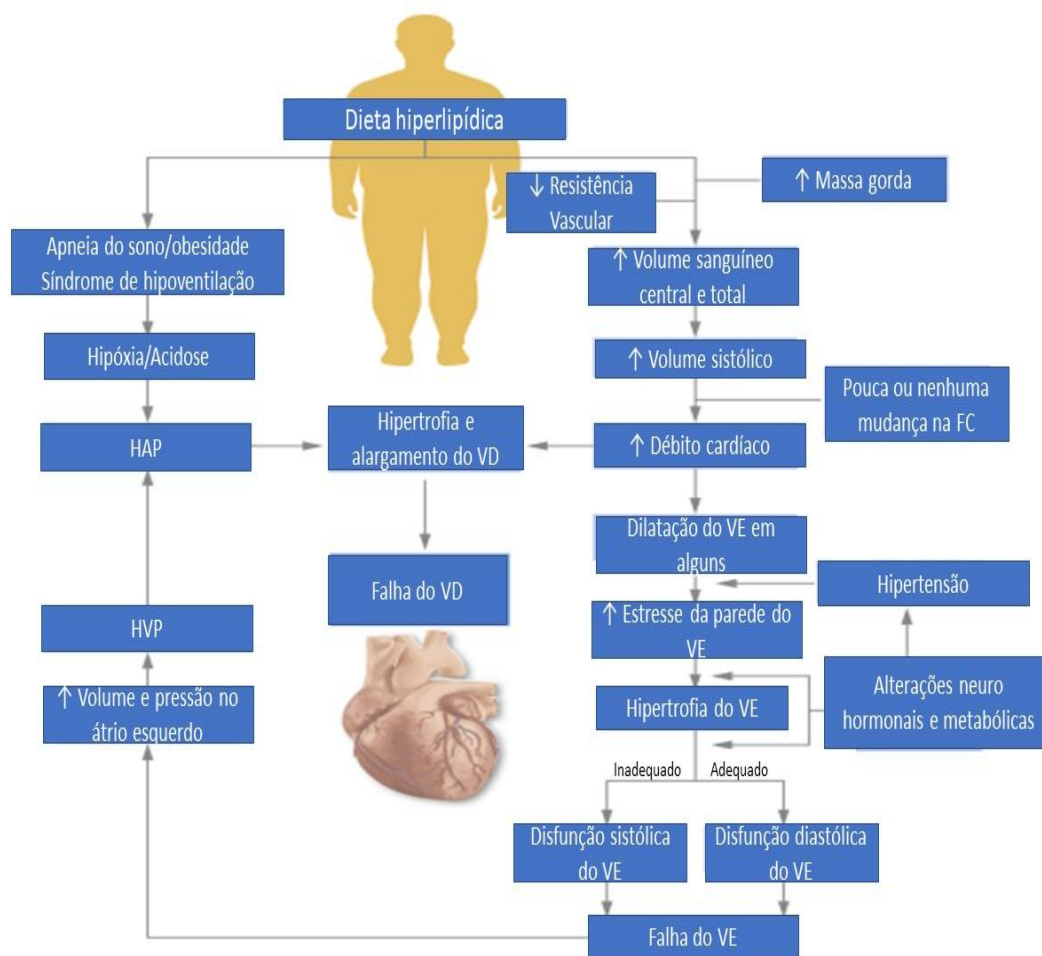


Figura 4. Efeitos da dieta hiperlipídica sobre o coração. O diagrama mostra as alterações hemodinâmicas que resultam do excessivo acúmulo de tecido adiposo e os subsequentes efeitos na morfologia cardíaca e função ventricular. VD, ventrículo direito. VE, ventrículo esquerdo. HAP, hipertensão arterial pulmonar. HVP, hipertensão venosa pulmonar. Fonte: Adaptado de ALPERT et al. (2018).

A partir disso, estudos vêm avaliando as alterações causadas pela dieta hiperlipídica em diversos parâmetros cardíacos. Um estudo utilizando ratos tratados durante 16 semanas com dieta rica em gordura bovina, leite condensado e frutose, encontrou aumento de fibrose e da massa do VE, com elevação da espessura da parede do septo ao final da sístole e da diástole, diminuição da fração de ejeção e de encurtamento e aumento do volume sistólico (PANCHAL; POUDYAL; BROWN, 2012). Mais tarde, o mesmo grupo de pesquisadores utilizando da mesma dieta, porém durante 32 semanas de intervenção, verificaram elevação da pressão arterial sistólica (PAS) e aumento da espessura da parede do septo ao final da diástole, do volume sistólico e da massa do VE (POUDYAL et al., 2012). Corroborando com esses estudos, Jeckel et al. (2011) identificaram aumento da espessura da parede ventricular esquerda durante a sístole e diástole de ratos que receberam dieta contendo 50% de lipídeos durante 32 semanas.

Ademais, Kang et al. (2015), utilizando de ratos alimentados com dieta hiperlipídica (45% Kcal em lipídeos) durante 10 semanas, observaram aumento da dimensão do VE durante a sístole e da parede do mesmo ventrículo durante a diástole, além de redução da fração de ejeção. Por outro lado, um estudo que avaliou animais que receberam dieta com 25% de azeite de dendê e 5% de colesterol durante 10 semanas, não encontrou alterações funcionais na sístole e diástole (WATANABE et al., 2017).

Alterações hemodinâmicas em conjunto com alterações hormonais, modificam a expressão de genes no miocárdio, gerando o remodelamento da matriz extracelular (GALINIER et al., 2005). Nesse sentido, Carroll; Tyagi (2005) demonstraram que coelhos com dieta padrão acrescida de 10% de gordura, aumentaram os níveis de colágeno I e III no coração após 12 semanas de intervenção. Indo de encontro a esses achados, Silva et al. (2014), verificaram aumento de colágeno I no coração de ratos alimentados com dieta contendo 49,2% de Kcal de gordura durante 30 semanas.

A hipótese hemodinâmica tradicional mostra que os acometimentos que aumentam a carga hemodinâmica do coração causam insuficiência cardíaca através da indução dos efeitos deletérios na contratilidade dos cardiomiócitos (FRANCIS, 2001). Isso ocorre devido à distribuição anormal de carga no ventrículo esquerdo. Apesar disso, outros fatores como alterações na estrutura cardíaca, morte celular, utilização anormal de energia e distúrbios neuro hormonais que ocorrem após o consumo de dietas hiperlipídicas, contribuem para a piora da função de bomba do coração, independente dos danos na contratilidade dos cardiomiócitos (JECKEL et al., 2011; WANG et al., 2012; KANG et al., 2015 WANG et al., 2015 WATANABE et al., 2017; SANCHEZ et al., 2018).

Estudos têm verificado que parte desses efeitos prejudiciais à contração do miocárdio deve-se a modificação da função de proteínas reguladoras do transiente de cálcio intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ) (Figura 5) (BALLAL et al., 2010; PAULINO et al., 2010; CHENG et al., 2011; LEOPOLDO et al., 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2014).

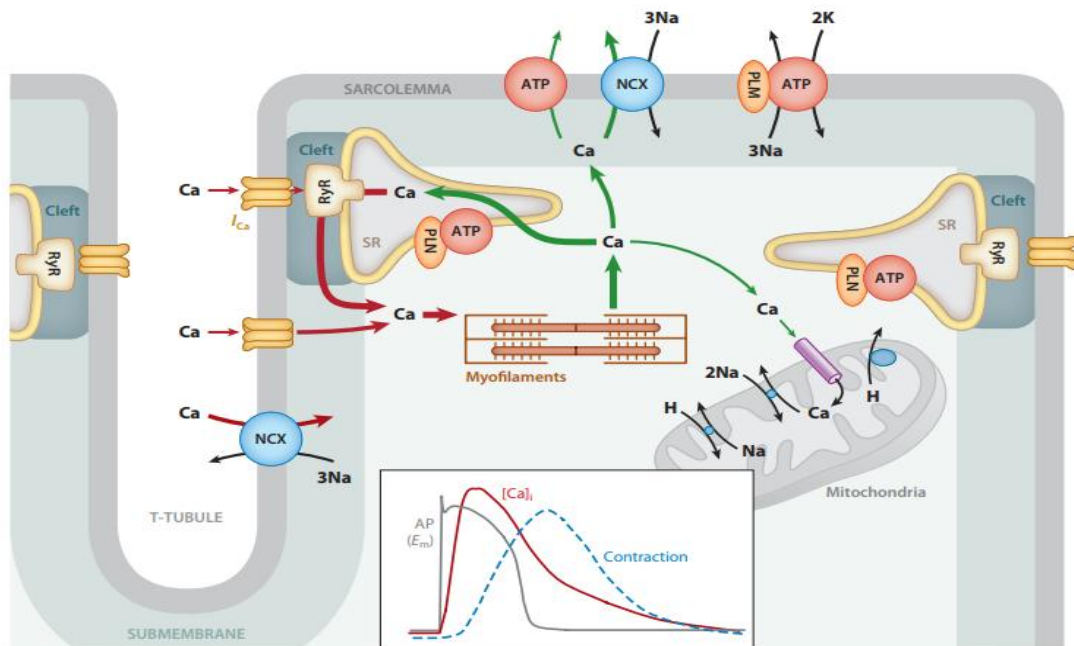


Figura 5. Esquema representativo do processo de acoplamento excitação-contracção. As setas vermelhas representam o processo de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  no citosol (canais do tipo L e RyR2) até a contracção muscular. As setas verdes representam a recaptação de  $\text{Ca}^{2+}$  pelas proteínas SERCA2a/FLB, NCX e pela via mitocondrial. O quadro menor representa de cinza o potencial de ação, de vermelho a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  ou transiente de  $\text{Ca}^{2+}$  e azul representa a contracção muscular. Fonte: BERS (2014).

Após a despolarização do sarcolema pelo potencial de ação, ocorre abertura dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L e tipo T nos túbulos transversos (túbulos T), fazendo com que ocorra a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  no cardiomiócito. Uma vez no citosol, o  $\text{Ca}^{2+}$  se liga aos Receptores de Rianodina tipo 2 (RyR2) presentes no retículo sarcoplasmático. Dessa forma, ocorre a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  presente no retículo sarcoplasmático, que é direcionado para os miofilamentos aonde ativar a contracção (BERS, 2002). No que diz respeito às alterações nas proteínas que regulam o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  e, conseqüentemente, a contracção no cardiomiócito, Da Silva et al. (2017) encontraram redução da expressão proteica de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L no VE de ratos submetidos à dieta contendo 49,2% de Kcal advindas de lipídeos durante 32 semanas. Em contrapartida, Lima-Leopoldo et al. (2014), utilizando de dieta semelhante porém durante 33 semanas de intervenção, não observaram modificações na expressão de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L no VE de ratos.

A dieta hiperlipídica acomete também as proteínas responsáveis pela retirada de  $\text{Ca}^{2+}$  do citosol, para que aconteça o relaxamento celular. Durante esse processo, a maior parte do  $\text{Ca}^{2+}$  presente no citosol retorna para o retículo sarcoplasmático via  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a), que tem como inibidor endógeno a Fosfolambam (FLB). Outra parte do  $\text{Ca}^{2+}$  é direcionada para a mitocôndria ou sofre efluxo celular via trocadores de sódio e cálcio (NCX) e ATPase do sarcolema (BERS,



2002). Um estudo mostrou que ratos que consumiram dieta com 45% de gorduras, apresentaram diminuição da expressão proteica de SERCA2a no coração, culminando no acúmulo de  $\text{Ca}^{2+}$  no citosol e favorecimento o aumento de apoptose (BALLAL et al., 2010). Agregado a isso, Lima-Leopoldo et al. (2014) identificaram redução dos níveis de fosfolambam fosforilada na serina 16 ( $\text{pFLB}_{\text{ser16}}$ ) no VE de ratos com obesidade induzida por 33 semanas. O mesmo grupo de pesquisadores encontrou, em outro estudo, que a dieta hiperlipídica administrada durante 15 semanas foi capaz de diminuir a expressão proteica de FLB no VE de ratos (LEOPOLDO et al., 2014).

Essas alterações nas proteínas que controlam a homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$  podem ser explicadas pelo aumento do estímulo simpático, ativando proteína quinase A (PKA), que gera hiperfosforilação de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, RyR2 e FLB. Da mesma forma, o aumento do estímulo simpático causa elevação da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico que ativa proteína quinase II dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina (CaMKII), levando à hiperfosforilação de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, RyR2 e FLB (LIMA-LEOPOLDO, 2010).

Com a hiperfosforilação dos RyR2, a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo sarcoplasmático poderia ficar desregulada. Esses canais se comunicam com membranas associadas a mitocôndrias (MAMs), facilitando o transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  para o interior dessas organelas. Além disso, íons de  $\text{Ca}^{2+}$  do citosol entram na mitocôndria por meio de canais de ânion voltagem-dependentes (VDAC) ou através de um uniporte de  $\text{Ca}^{2+}$ . Altos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$ , uma vez na mitocôndria, estimulam a atividade da cadeia transportadora de elétrons, levando a maior geração de espécies reativas de oxigênio (EROs). Parte dessas EROs se direcionam ao retículo sarcoplasmático e têm como alvo, dentre outras estruturas, SERCA2a e RyR2, comprometendo ainda mais a contratilidade (GORLACH et al., 2015). Sabe-se que os RyR2 possuem cerca de 90 resíduos de cisteína por unidade, dos quais aproximadamente 20 estão em estado reduzido, sendo alvos para modificações redox por meio de S-nitrosilação, S-glutationilação e reticulação de dissulfeto. Já a SERCA2a pode ser modificada por oxidação de cisteína e nitração de tirosina (SANTOS et al., 2011).

As alterações nas proteínas que controlam a homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$  acarretam modificações no transiente de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  e, por consequência, nas propriedades mecânicas de cardiomiócitos. Camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica contendo 45% de lipídeos durante 5 meses, apresentaram redução da amplitude do transiente de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  e da amplitude de contração, com aumento do tempo para o decaimento de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  e do tempo para 90% do relaxamento celular (ZHANG et al., 2012). Cheng et al. (2011) mostraram

que cardiomiócitos do VE de ratos que receberam uma dieta com 60% de lipídeos durante 8 semanas, exibiram menor amplitude do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ .

Verifica-se assim, o importante papel do remodelamento cardíaco causado por dietas hiperlipídicas, que por um lado permite que o coração mantenha suas funções básicas em resposta ao aumento de carga hemodinâmica e, por outro, é um fator de risco para a disfunção ventricular e insuficiência cardíaca.

## 1.2 Tratamentos não farmacológicos para os efeitos impostos pela dieta hiperlipídica

### 1.2.1 Açaí (*Euterpe oleracea* Martius)

Açaí é o nome popular do fruto da palmeira *Euterpe oleracea* Martius. Essa árvore é nativa da região norte da América do Sul, encontrada principalmente nos estados brasileiros do Pará, Amapá, Amazonas e Maranhão, além das Guianas e Venezuela. A palmeira pode alcançar 25 metros de altura, com troncos de 9 a 16 cm de diâmetro (SHANLEY; MEDINA, 2005). O fruto é de cor púrpura a preta, esférico, com diâmetro de 1 a 1,5 cm e peso de 2 a 3g, além de conter uma semente que corresponde a 85% do fruto (Figura 6) (DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004).



Figura 6. Fotos mostrando A: Palmeira *Euterpe oleracea* Martius; B: O fruto do açaí; C: Despolpamento mecânico, polpa e suco de açaí. Fonte: [www.agrosoft.org.br](http://www.agrosoft.org.br).

O cultivo do açaí tem grande valor econômico. O fruto e o palmito podem ser consumidos, sendo que o primeiro é utilizado para a fabricação de bebidas energéticas e sorvetes. Além disso, a semente é usada para artesanato, o óleo para a fabricação de cosméticos e os troncos como vigas para estruturas de casas rústicas (SHANLEY; MEDINA, 2005). A produção de açaí por todos os estados brasileiros produtores em 2015 foi de aproximadamente 216 mil toneladas, gerando um movimento monetário estimado de R\$ 4.719.518,00 (IBGE, 2015).

Na América Latina, comunidades geograficamente isoladas e com acesso médico restrito utilizam as plantas como recurso para encontrar a cura de muitas doenças. O açaí é utilizado nessas comunidades no tratamento contra a malária, leishmaniose e diarreias (YAMAGUCHI et al., 2015).

Recentemente, o açaí recebeu muita atenção, sendo considerado um “superfruto”. A partir de então, as propriedades desse fruto começaram a ser investigadas, sendo observada, principalmente, alta capacidade antioxidante, anti-apoptótica e anti-inflamatória (BOBBIO et al., 2000; DE SOUZA, et al., 2010; MOURA et al., 2012; BONOMO LDE et al., 2014; GUERRA et al., 2015).

A polpa do açaí é composta por 32,5% de lipídeos, 8,1% de proteínas e 52,2% de carboidratos, além de sódio, vitamina A, vitamina C, cálcio e ferro. Do total de ácidos graxos, 26,1% são classificados como saturados, 60,6% monoinsaturados e 13,3% polinsaturados. O ácido oleico constitui 56,2% dos ácidos graxos presentes na polpa de açaí. O fruto também é rico em fitosteróis, com destaque para o  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol e campesterol (SCHAUSS et al., 2006b).

O açaí é classificado como um alimento funcional, ou seja, ele é capaz de suprir as necessidades nutricionais básicas e ao mesmo tempo fornecer propriedades benéficas ao organismo, como também prevenir o aparecimento de doenças (ROBERFROID, 2002). Os componentes químicos que caracterizam um alimento como funcional são chamados de compostos fitoquímicos. Esses são divididos em compostos fenólicos, carotenoides, compostos nitrogenados e organosulfurados (LIU, 2004).

Em relação à composição fitoquímica da polpa do açaí, destaca-se a alta concentração de polifenóis ou compostos fenólicos. Esses são caracterizados por serem substâncias que possuem uma hidroxila ligada a um anel aromático. São encontrados em frutos, vegetais e cereais. Os polifenóis possuem capacidade antioxidante neutralizando EROs, uma vez que são capazes de transferir átomos de hidrogênio ou ativando sistemas de defesa antioxidantes por meio da atuação como ligantes de fatores de transcrição, promovendo alterações na expressão gênica de gama-glutamylcisteína sintetase ( $\gamma$ -GCS), GPx, SOD, catalase e glutathione S-transferase (GST) (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; KONG et al., 2001; GUERRA et al., 2015).

Os polifenóis predominantes na polpa de açaí são as antocianinas, proantocianidinas e outros flavonoides (DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012). As antocianinas presentes em

maior quantidade na polpa do açaí são a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutenosídeo (Figura 7) (SCHAUSS et al., 2006a; GUERRA et al., 2015; GARZÓN et al., 2017).

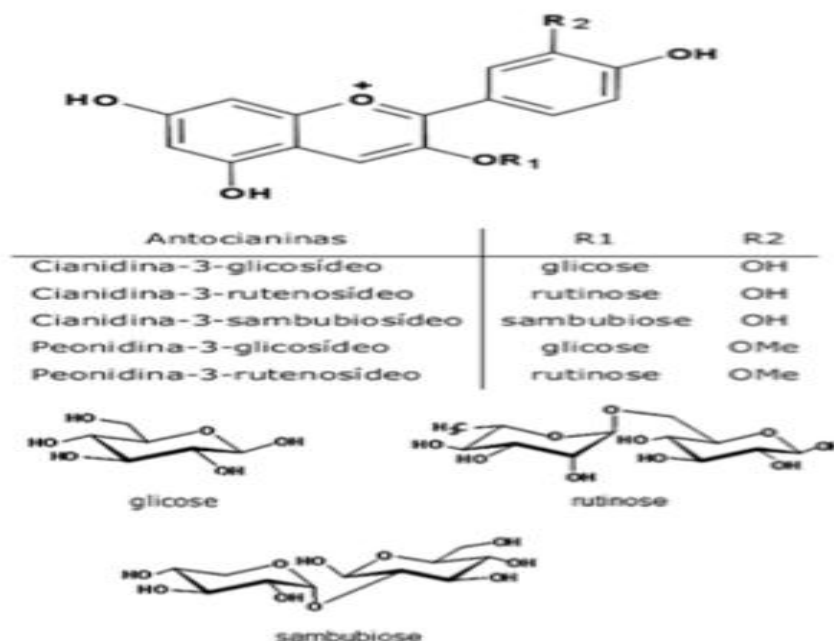


Figura 7. Estrutura química das antocianinas presentes no açaí. Fonte: Adaptado de SCHAUSS et al. (2006b).

Por possuir grande capacidade antioxidante, o açaí vem sendo estudado para combater distúrbios de caráter metabólico e cardiovascular impostos por dietas hiperlipídicas.

Estudos do nosso grupo de pesquisa têm verificado o potencial antioxidante da polpa de açaí no fígado e no soro sanguíneo de animais tratados com dieta hiperlipídica (DE SOUZA, et al., 2010; DE SOUZA, et al., 2012; GUERRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2016).

Souza et al. (2011) analisaram os efeitos do consumo de açaí (2%) sobre animais alimentados com dieta composta por 25% de óleo de soja e 1% de colesterol. O açaí foi capaz de aumentar os níveis de sulfidrilas plasmáticas, que são considerados os maiores e mais frequentes antioxidantes no plasma. Além disso, a atividade de paraoxonase-1 (PON-1) foi aumentada nos ratos tratados com açaí. PON-1 impede a produção e acúmulo de lipoperóxidos em partículas de LDL.

Mais tarde, Souza et al. (2012), analisaram os efeitos da mesma dieta citada acima sobre o metabolismo de colesterol no fígado de ratos. Os autores observaram que o açaí aumentou os níveis de mRNA de receptores de LDL (LDL-r) e diminuiu apolipoproteína B 100 (ApoB 100), o que pode resultar em melhora dos níveis de LDL plasmáticos. O

estudo também verificou elevação dos níveis de proteínas transportadoras de cassetes de ligação de ATP (ABCG5 e ABCG8), que exercem o papel de excretar o colesterol na bile.

Guerra et al. (2015) avaliaram os efeitos de uma dieta hiperlipídica (32% de banha, 4% de óleo de soja, 1% de colesterol) e administração de açaí via gavagem (3 g/kg) em camundongos. O tratamento reduziu os níveis de ALT e triacilgliceróis no fígado. Além disso, verificou-se aumento da expressão de mRNA de adiponectina, receptor de adiponectina 2 (AdipoR2), PPAR- $\alpha$  e carnitina palmitoil transferase I (CPT-1 $\alpha$ ), com diminuição de ACC1. A adiponectina reduz a acumulação de lipídeos hepáticos pela sensibilização de seu receptor AdipoR2, que por sua vez, ativa PPAR- $\alpha$ . Esse último aumenta a transcrição de CPT-1 $\alpha$ , estimulando a  $\beta$ -oxidação e reduzindo o acúmulo de triacilgliceróis.

Outro estudo do nosso grupo de pesquisa mostrou que ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica (25% de óleo de soja, 1% de colesterol) e tratados com polpa de açaí (2 g/kg) obtiveram redução do conteúdo de triacilgliceróis no fígado e da atividade de ALT, com diminuição de LDL oxidada (LDL-ox) e PON-1 no soro sanguíneo. Também foi verificada correlação forte e negativa entre PON-1 e ALT (PEREIRA et al., 2016).

O estudo de Oliveira et al. (2015) investigou os efeitos de uma dieta com 32% de banha em conjunto com um tratamento por meio de gavagem de extrato da semente do açaí (300 mg/kg/dia) sobre os mecanismos que controlam o desenvolvimento da DHGNA. O extrato da semente do açaí associado à dieta hiperlipídica foi capaz de reduzir os níveis de colesterol e triacilgliceróis no soro sanguíneo e no fígado. Além disso, o tratamento por meio do açaí conseguiu modular a expressão de proteínas responsáveis pelo metabolismo de lipídeos e colesterol no fígado (SREBP-1c, pAMPK, pACC/ACC e HMG-CoA redutase), diminuiu a peroxidação proteica e lipídica (proteína carbonilada e malondialdeído) e aumentou a atividade de enzimas antioxidantes (SOD, catalase e GPx).

A dieta hiperlipídica pode gerar o aumento da deposição de lipídeos no coração, elevando a produção de EROs e, em última instância, causando alterações funcionais e estruturais (WANG et al., 2012). Dessa forma, o açaí, por sua ação antioxidante, torna-se uma opção para o combate do estresse oxidativo nas estruturas cardiovasculares.

Um estudo com humanos saudáveis que consumiram bebida Monavie, tendo como ingrediente principal o açaí, observou aumento da proteção antioxidante dos eritrócitos, reduzindo a formação de EROs em células polimorfonucleares, diminuição da migração para quimioatrativos pró-inflamatórios e inibição da peroxidação lipídica (JENSEN et al., 2008).

Feio et al. (2012) mostraram que coelhos que receberam uma dieta rica em colesterol com adição de açaí (3%), diminuíram o processo aterosclerótico com redução da massa corporal, triacilgliceróis e aumento de HDL. No mesmo sentido, Xie et al. (2011) avaliaram ratos com deficiência na apolipoproteína E (Apo E) e alimentados com dieta contendo 5% de suco de açaí. Deficiência em Apo E é associada com desenvolvimento de aterosclerose. Os autores verificaram que os animais tratados com açaí obtiveram menor área de lesão na aorta descendente.

Em modelo de infarto do miocárdio, ratos que receberam 100 mg/kg/dia de açaí via gavagem apresentaram aumento da pressão sistólica e redução da pressão diastólica do VE, além de diminuir a fração de colágeno no mesmo (ZAPATA-SUDO et al., 2014). No mesmo modelo experimental, Alegre (2017) ofertou 5% de açaí na dieta de ratos, encontrando aumento da atividade das enzimas catalase, SOD e GPx, além da elevação da atividade de enzimas da cadeia respiratória mitocondrial no coração.

Além do extrato aquoso da polpa de açaí, alguns autores têm utilizado o açaí liofilizado a fim de investigar seus potenciais benefícios. Liofilização é um processo de desidratação em que o produto é congelado a vácuo, sendo o gelo formado sublimado. O açaí liofilizado apresenta concentração superior de polifenóis totais. Fernando (2013) avaliou os efeitos da administração de açaí liofilizado na água (12 g/250 mL) de ratos, mostrando que houve melhora da esteatose macrovesicular. O estudo de Rocha et al. (2007) observou que culturas celulares endoteliais tratadas com 100 µg/mL de açaí liofilizado aumentaram a formação de óxido nítrico (NO), promovendo um efeito vasodilatador. Além disso, o trabalho de Oliveira et al. (2015) mostrou que camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e recebendo 300 mg/kg/dia de açaí liofilizado, apresentaram menores níveis de triacilgliceróis, colesterol e malondialdeído plasmáticos.

Entretanto, estudos que avaliaram o efeito do açaí liofilizado sobre a estrutura e função cardíaca de modelos experimentais de dieta hiperlipídica ainda não foram relatados.

### **1.2.2 Exercício físico aeróbio**

O exercício físico aeróbio é caracterizado pelo uso do oxigênio (O<sub>2</sub>) no processo de produção de energia, envolve a participação de grandes grupamentos musculares e é uma atividade sistematizada e estruturada com duração superior a dois minutos

(MCARDLE; KATCH; KATCH, 2008). Esse vem sendo utilizado amplamente como um tratamento não farmacológico para os efeitos impostos pela dieta hiperlipídica.

O exercício físico aeróbio tem importante papel na manutenção da saúde proporcionando benefícios de forma sistêmica. Ele está envolvido com a regulação do metabolismo de lipídeos, homeostasia da glicose, sensibilidade insulínica, efeito hipotensor arterial e hipertrofia cardíaca excêntrica, perda de massa gorda com ganho de massa muscular, modulação redox, redução da concentração de marcadores pró-inflamatórios, dentre outros (CADE et al., 1984; KATZEL et al., 1997; NASSIS et al., 2005; JOHNSON et al., 2009; JARRETE et al., 2014).

Pelos benefícios apresentados pelo exercício físico aeróbio, esse tem sido uma importante ferramenta no combate da DHGNA desenvolvida pela obesidade. Foi verificado que o exercício de corrida voluntário aplicado a um modelo de ratos obesos (*Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty*) diminuiu o conteúdo de triacilgliceróis no fígado, o escore de esteatose e os níveis proteicos de PPAR- $\alpha$ , com aumento da expressão de CPT-1, ACC, FAS e SREBP-1c (RECTOR et al., 2011). O exercício físico aeróbio em esteira (8 semanas, 5 dias/semana, 60 min/dia, 25m/min) associado à dieta hiperlipídica foi capaz de modular mediadores pró-inflamatórios (IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\beta$ ) e a sinalização insulínica (substrato de receptor de insulina (IRS), janus quinase (JNK) e proteína quinase B (AKT)) (PASSOS et al., 2015). Zacarias et al. (2017) mostraram que a natação (6 semanas, 5 dias/semana, 60 min/dia, carga de 2,5% da massa corporal) reduziu o estresse oxidativo no fígado de ratos alimentados com dieta hiperlipídica via redução da concentração de malondialdeído e proteínas carboniladas, com aumento da atividade de catalase e diminuição de GSSG.

Os efeitos benéficos do exercício físico aeróbio sobre a DHGNA causada pela obesidade podem gerar melhora no quadro de resistência insulínica, lipotoxicidade e inflamação sistêmica (VANWAGNER et al. 2015). Essas e outras adaptações sistêmicas e locais advindas do exercício físico aeróbio levam à melhora estrutural e funcional do coração. Durante o treinamento físico aeróbio (TFA), como corrida e natação, ocorrem alterações hemodinâmicas que acarretam em sobrecarga de volume, causando hipertrofia excêntrica, a qual gera tanto aumento da cavidade quanto da espessura da parede do VE (MAGALHÃES et al., 2008; HASHIMOTO et al., 2011). Além disso, o TFA gera outras alterações cardiovasculares, tais como aumento da capilarização, melhora da resposta mecânica da musculatura esquelética, aumento de atividades enzimáticas, melhor relação ventilação/perfusão, aumento da capacidade funcional pulmonar, aumento do débito

cardíaco e da extração de  $O_2$  pelos tecidos (SCHEUER; TIPTON, 1977; GHORAYEB et al., 2005). Um estudo que avaliou ratos com baixa e alta capacidade de corrida alimentados com dieta hiperlipídica, constatou que a dieta diminuiu o volume diastólico final e o volume de ejeção nos animais com baixa capacidade de corrida (DEMARCO et al., 2012). Silveira et al. (2017) mostraram que ratos Zucker obesos treinados por 10 semanas (5 dias/semana, 60 min/dia, 4% da massa corporal) reduziram o conteúdo de colágeno no VE em comparação ao seu controle. Por sua vez, Fernandes et al. (2017) verificaram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica e que realizaram natação por 8 semanas (5 dias/semana, 60 min/dia, sem sobrecarga), apresentaram menor conteúdo de lipídeos no coração e, conseqüentemente, menor área cardíaca, sem alteração da espessura do VE.

Adaptações geradas pelo exercício físico sobre o fígado e coração após o consumo de dietas hiperlipídicas são apresentadas na Figura 8.

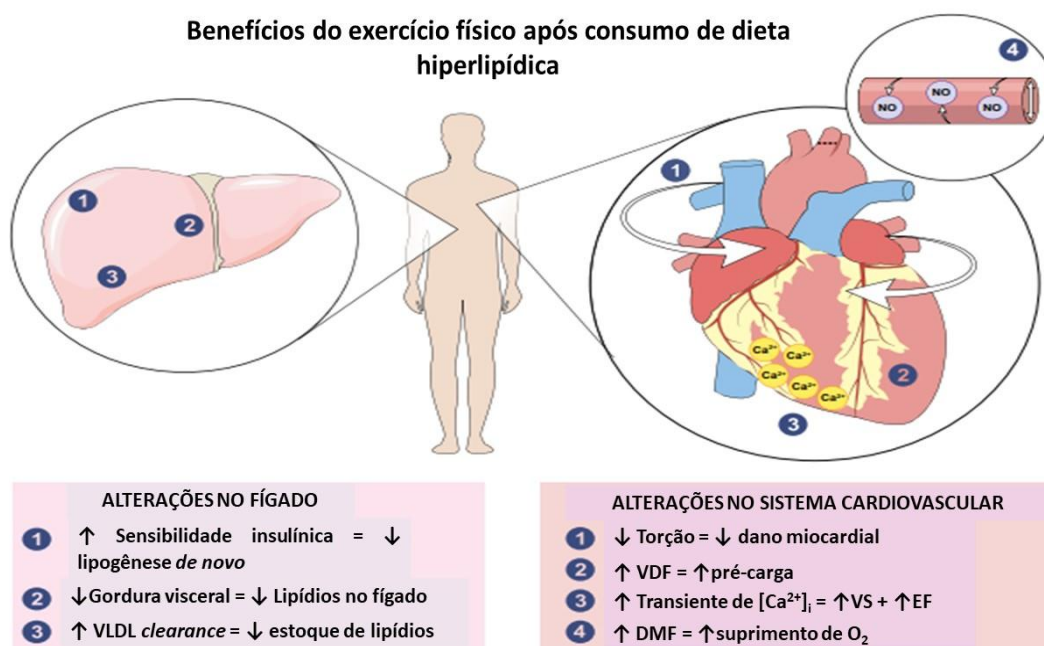


Figura 8. Benefícios do exercício físico após o consumo de dietas hiperlipídicas. DMF, dilatação modulada pelo fluxo. EF, fração de ejeção. VDF, volume diastólico final. VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade. VS, volume sistólico. Fonte: Adaptado de ROMERO-GÓMEZ; ZELBER-SAGI; TRENELL (2017).

Sabe-se que a obesidade causada pela dieta hiperlipídica leva ao acúmulo de lipídeos no coração, que é associado com o aumento do estresse oxidativo nos cardiomiócitos (GHOSH et al., 2011). Do total de  $O_2$  consumido pela mitocôndria, aproximadamente 1-2% é convertido em superóxido  $O_2^-$  que leva à formação de outras EROs como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ). O exercício físico



aeróbico pode ativar mecanismos adaptativos, reduzindo o estresse oxidativo e o vazamento de radicais pela cadeia transportadora de elétrons. Entretanto, os mecanismos pelos quais o exercício físico aeróbico exerce os efeitos sobre o metabolismo energético mitocondrial e a geração de EROs ainda não são bem esclarecidos (FARHAT et al., 2015). Riahi et al. (2015) verificaram que ratos treinados em natação por 8 semanas (5 dias/semana, 60 min/dia, sem sobrecarga) e alimentados com dieta hiperlipídica reduziram os níveis de malondialdeído no tecido cardíaco. Corroborando com esse estudo, Ghorbanzadeh et al. (2016) mostraram que animais treinados voluntariamente por 8 semanas e alimentados com dieta rica em gorduras, obtiveram menores níveis de malondialdeído com aumento da atividade das enzimas antioxidantes GPx, SOD e catalase no tecido cardíaco. Por outro lado, Fernandes et al. (2017) mostraram que o exercício de natação não foi capaz de diminuir o percentual de nitrotirosina no coração de animais alimentados com dieta hiperlipídica.

Pesquisas têm sugerido que EROs podem levar à oxidação de RyR por peroxinitrito e superóxido, causando aumento no vazamento de  $Ca^{2+}$  do retículo sarcoplasmático, bem como oxidação de SERCA por superóxido, reduzindo a recaptação de  $Ca^{2+}$  (HARE; STAMLER, 2005; ZIMMET; HARE, 2006). Assim sendo, a dieta hiperlipídica pode aumentar a oxidação de proteínas responsáveis pela homeostase do  $Ca^{2+}$  no cardiomiócito, acarretando na disfunção contrátil. O exercício físico aeróbico, por seu potencial antioxidante, poderia diminuir a oxidação dessas proteínas e, conseqüentemente, melhorar a contratilidade cardíaca. Paulino et al. (2010) observaram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica por 25 semanas e posteriormente exercitados (5 dias/semana, 60 min/dia, 60% do consumo máximo de  $O_2$ ) e com restrição alimentar por 10 semanas, aumentaram a expressão de fosfolambam fosforilada na treonina 17 ( $pFLB_{T17}$ ) e a relação glutatona reduzida por glutatona oxidada (GSH/GSSG) no tecido cardíaco, mostrando que a contratilidade pode ser modulada, pelo menos em parte, pela melhora do estresse oxidativo.

Outros estudos verificaram os efeitos do exercício físico associado à obesidade sobre a contratilidade celular. O estudo de Silva et al. (2017) aplicou uma dieta hiperlipídica por 20 semanas, realizando o exercício físico de corrida posteriormente por 12 semanas (5 vezes/semana, 60 min/dia, 55 a 70% da capacidade máxima de corrida) em ratos. Os autores não encontraram aumento na expressão dos Canais de  $Ca^{2+}$  tipo L no tecido cardíaco. Em contraste ao estudo anterior, Silveira et al. (2017) mostraram que ratos Zucker obesos treinados por 10 semanas aumentaram a expressão de RyR2 no VE.

Além disso, foi verificada redução do microRNA-1 e aumento da expressão proteica de NCX. O microRNA-1 tem como alvo de degradação o mRNA do NCX.

Apesar dos efeitos benéficos do exercício físico aeróbio regular e da suplementação com açaí sobre a estrutura e função do coração, não é de nosso conhecimento estudos que investigaram o efeito sinérgico desses tratamentos sobre parâmetros hepáticos e cardíacos de ratos com dieta hiperlipídica. Dessa forma, a hipótese é que a associação dos dois tratamentos pode potencializar os efeitos destes sobre o fígado e coração acometidos por danos gerados pela dieta hiperlipídica.

A crescente incidência de doenças crônicas e suas complicações, devido ao consumo de dietas hiperlipídicas e à obesidade gerada por essas, é um constante problema de saúde pública. Diante disso e do exposto anteriormente, o estudo justifica-se por ser o primeiro a investigar os efeitos associados do treinamento físico e da suplementação com açaí sobre adaptações hepáticas e cardíacas de ratos submetidos a uma dieta hiperlipídica, fornecendo possíveis indícios de terapias não farmacológicas para os danos estabelecidos pela dieta.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do TFA e da suplementação com açaí sobre a funcionalidade e estrutura cardíaca, em nível molecular, celular e tecidual, em conjunto com o desenvolvimento da DHGNA em um modelo animal submetido à dieta hiperlipídica.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Investigar os efeitos dos tratamentos com açaí e TFA em ratos alimentados com dieta hiperlipídica sobre:

- ➔ A concentração de metabólitos séricos;
- ➔ O grau de esteatose macrovesicular e microvesicular no fígado;
- ➔ O perfil de ácidos graxos do fígado e fezes;
- ➔ A morfologia cardíaca;
- ➔ A funcionalidade e a estrutura do coração;
- ➔ Parâmetros mecânicos de contratilidade celular e transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  em cardiomiócitos isolados;
- ➔ A expressão de mRNA de proteínas envolvidas no transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , estresse oxidativo e inflamação no coração;
- ➔ Concentração de marcadores oxidativos e atividade de enzimas antioxidantes no coração.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Animais

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Fisher com 60 dias de vida. Os animais foram obtidos do Biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Ouro Preto.

Os animais foram alojados em gaiolas individuais e receberam água e ração *ad libitum*, sendo mantidos em uma sala com temperatura média de 22°C e regime de luminosidade de 12/12hs claro/escuro. Os animais foram pesados todas as semanas durante o período experimental utilizando uma balança eletrônica digital (Mettler PC 4000, Gemini B.V., Holanda).

Os ratos foram aleatoriamente divididos em cinco grupos experimentais:

**C)** Grupo Controle → dieta padrão AIN-93M (n = 10);

**H)** Grupo Hiperlipídico → dieta hiperlipídica (n = 10);

**HA)** Grupo Hiperlipídico Açai → dieta hiperlipídica + suplementação com açai (n = 10);

**HT)** Grupo Hiperlipídico Treinado → dieta hiperlipídica + TFA (n = 10);

**HAT)** Grupo Hiperlipídico Açai Treinado → dieta hiperlipídica + suplementação com açai + TFA (n = 10).

Os animais foram adaptados à dieta e à esteira de corrida por duas semanas antes do período de TFA.

Ao final da intervenção, foi registrado o ganho de massa corporal através subtração da massa corporal final pela inicial. Foi verificado o consumo alimentar dos animais, sendo esse calculado diariamente. A eficiência alimentar foi calculada pela razão entre o ganho de massa corporal e o consumo alimentar multiplicado por 100.

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados e a massa do fígado, coração, gordura abdominal, gordura epididimal, gordura inguinal e gordura mesentérica foram registradas.

O índice de adiposidade foi obtido pelo somatório dos pesos das gorduras abdominal, epididimal e mesentérica, dividido pelo peso corporal e multiplicado por 100, sendo expresso como percentual de adiposidade (TAYLOR; PHILLIPS, 1996).

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (parecer nº 22/2016) (ANEXO 1).

### 3.2. Tratamento dietético

O tratamento consistiu de dieta AIN-93M padrão (C) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), composta de 21,8 % de banha e 1% de colesterol (H e HT) ou composta de 21,8 % de banha e 1% de colesterol suplementada com 1% de açaí liofilizado (HA e HAT), como pode ser observado na Tabela 1. As informações sobre a capacidade nutricional e fitoquímica do açaí liofilizado estão contidas no ANEXO 2.

**Tabela 1** - Composição das dietas experimentais (g/Kg de dieta)

	C	H/HT	HA/HAT
Caseína (60% proteínas)	198,3	198,3	198,3
Amido de milho	563,3	335,3	325,3
Óleo de soja	40,0	40,0	40,0
Banha	-	218,0	218,0
Colesterol	-	10,0	10,0
Cloridrato de Colina	2,5	2,5	2,5
Mistura mineral	35,0	35,0	35,0
Mistura vitamínica	10,0	10,0	10,0
Celulose	50,0	50,0	50,0
Sacarose	100,0	100,0	100,0
L-metionina	0,9	0,9	0,9
Açaí liofilizado	-	-	10,0
Total	1000,0	1000,0	1000,0

### 3.3. Protocolo de treinamento físico aeróbio

#### 3.3.1. Teste de tolerância à fadiga

Foi realizado o teste de tolerância à fadiga na esteira rolante para determinação da velocidade máxima de corrida (VMC) e do tempo total até à fadiga (TTF), começando a 5 m/min, com incrementos de 3 m/min a cada 3 min até a fadiga de cada animal de todos os grupos experimentais. O momento da fadiga foi definido e o teste interrompido quando os animais não mantiveram a corrida de acordo com a velocidade da esteira (LACERDA et al., 2006).

### **3.3.2. Treinamento aeróbio de corrida em esteira rolante**

O programa de treinamento físico com corrida foi realizado em uma esteira rolante (Insight Instrumentos – Ribeirão Preto, SP, Brasil), 5 dias por semana, 1 hora por dia, a 60~70 % da VMC, durante 8 semanas (CARNEIRO-JUNIOR et al., 2013; LAVORATO et al., 2016).

Antes do início do treinamento, os animais foram adaptados à esteira rolante durante 10 dias, 10 min/dia, 0° de inclinação, na velocidade de 5 m/min. Após 48 horas, o teste de tolerância ao esforço em esteira rolante foi realizado para determinar a VMC e o TTF. Esse teste foi repetido após 4 semanas de treinamento para o reajuste da VMC e após as 8 semanas de treinamento, depois de 48h da última sessão de treino.

### **3.4. Análises de metabólitos e enzimas séricas**

O soro do sangue dos animais foi utilizado para a realização das seguintes dosagens: glicose, triglicérides, HDL, colesterol, amilase, creatinina, fosfatase alcalina, AST, ALT, ureia, lipase, proteínas totais e albumina. As globulinas foram calculadas através da subtração das proteínas totais e albumina. Foram usados kits comerciais da marca Bioclin® para as dosagens bioquímicas, seguindo as instruções do fabricante.

### **3.5. Extração lipídica animal**

A análise da quantidade total de lipídios presentes no organismo dos animais foi realizada por meio do método de Extração de Soxhlet (NIELSEN, 2010). Após a eutanásia, as carcaças dos animais passaram por processo de secagem em estufa com circulação de ar contínua, por um período de 24 horas e temperatura constante (105°C). Logo após, as carcaças secas foram trituradas utilizando pistilo e graal, sendo,

posteriormente, armazenadas em um cartucho feito com papel-filtro específico. Em seguida, os cartuchos foram inseridos em um extrator de Soxhlet, onde a gordura foi extraída de forma contínua por meio de um solvente orgânico (éter etílico), que foi aquecido e volatizado e, em seguida, condensado acima da amostra. Durante o processo de condensação, o éter foi gotejado sobre a amostra, promovendo a extração lipídica. Todo o processo aconteceu em ciclos de 15 a 20 minutos, repetidos durante oito horas seguidas. Após a extração de todo conteúdo lipídico, foi realizado o cálculo da diferença entre o peso do cartucho pré-extração e pós-extração, para descoberta da porcentagem de gordura corporal da amostra.

### **3.6. Perfil de ácidos graxos do fígado e fezes**

Os lipídeos do fígado e fezes foram extraídos utilizando-se o método de Folch; Lees; Stanley (1957) e saponificados e esterificados pelo métodos de Hartman; Lago (1973). A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa (Shimadzu, modelo CG 17 / Class, Japão), equipado com detector de ionização e coluna cromatográfica capilar de sílica fundida (biscianopropil polysiloxane SP-2560) de 100 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro e detector de ionização em chama. A análise iniciou-se com temperatura de 120°C, isotérmica por 10 minutos e posterior aquecimento de 4°C por minuto até 240°C, permanecendo nessa temperatura durante 50 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 240°C e do detector de gás de 260°C. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio em 24 cm/seg., a 175°C. A razão *split* da amostra do injetor foi de 1/10 e o volume de injeção foi de 1µL.

Para identificação dos ácidos graxos presentes nas amostras foi realizada a comparação do tempo de retenção das amostras com o padrão de mistura de ácidos graxos (FAME – Supelco™ de C 14:0 a C 22:2, Sigma-Aldrich, EUA), sendo os resultados expressos em percentuais.

### **3.7. Análise histológica do fígado**

Foram coletados fragmentos dos fígados de cada animal e estes foram fixados em formalina de Carlsson (10%) para armazenamento. Os órgãos foram cortados transversalmente, processados em série crescente de álcoois e, posteriormente, embebidos em parafina. Logo após, as secções parafinadas foram seccionadas com espessura

aproximada de quatro micrômetros através de micrótomo semiautomático, fixadas em lâminas de vidro previamente limpas e desengorduradas. A técnica de coloração utilizada para o presente estudo foi Hematoxilina & Eosina (H&E).

Para capturar as fotomicrografias foi utilizado um microscópio de luz com recurso de fluorescência (AX 70, Olympus) acoplado a uma câmera digital do Laboratório de Anatomia Vegetal e Morfogênese in vitro do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, sendo fotografadas 12 imagens de cada uma das lâminas. As análises semiquantitativas das esteatoses micro e macrovesiculares, além do grau de inflamação verificado pelas células de Kupffer, foram realizados com a contagem dos quadrantes em que houve presença desses tipos de esteatoses e posterior classificação pela escala de Brunt, utilizando o software Image-Pro-Plus (BRUNT et al., 1999). As análises das quantificações foram realizadas de acordo com os critérios estabelecidos por Brunt et al. (1999) onde a ausência de danos corresponde ao grau 0; até 33% de danos: grau 1, de 34 a 66%: grau 2 e acima de 66% de prevalência de danos: grau 3.

### **3.8. Análise histológica do coração**

Fragmentos dos tecidos cardíacos foram fixados em por 48 horas em formalina de Carlsson (10%). Posteriormente, os fragmentos foram desidratados em álcool etílico 80%, 90%, 95% e absoluto por 30 minutos em cada, e mantidas por 24 horas na resina. Após 24 horas, as amostras foram incluídas em resina com endurecedor e armazenadas na estufa a 60°C, por 48 horas. As amostras foram então seccionadas a 5µm de espessura utilizando um micrótomo rotativo (Spencer, modelo 19459, USA) e coradas por hematoxilina e eosina. Para evitar análises repetidas da mesma área histológica, as seções foram avaliadas em semi-séries, usando uma de cada 10 seções. As lâminas foram visualizadas e as imagens capturadas usando um microscópio de luz (Olympus BX-50, Tóquio, Japão) conectado a uma câmera digital (Olympus Q Color-3, Tóquio, Japão). Posteriormente, foram realizadas as análises de percentual de cardiomiócitos (H&E), matriz extracelular (H&E) e colágeno (*Picrosirius red*). Para quantificação, foram utilizadas dez imagens aleatórias para cada animal. Foi sobreposta uma grade com 130 intersecções em cada imagem. Foram contabilizadas as intersecções em cardiomiócitos, matriz extracelular e colágeno, e então calculado a porcentagem. Todas estas medidas foram realizadas utilizando-se o software Image-pro Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver



Spring, MD, USA). As pranchas foram montadas com auxílio do programa GraphPad Prism 6.0<sup>®</sup>.

### **3.9. Análise ecocardiográfica**

Para a realização do ecocardiograma, os animais foram imobilizados através de anestesia com isoflurano. O agente anestésico foi administrado através de um vaporizador e a indução feita pela administração de isoflurano 3% e O<sub>2</sub> 100% em fluxo constante de um litro por minuto, por um período aproximado de 3 minutos. Para a manutenção da anestesia o isoflurano foi mantido a 1,5% através de cone nasal pequeno (adaptado para ratos) durante um período de 10 a 12 minutos para a realização da ecocardiografia. O exame ecocardiográfico transtorácico foi realizado por um veterinário. O exame incluiu estudos bidimensionais (2D) com taxa de amostragem rápida (*frame rate*) de 120 fps e modo-M, usando o sistema de ultrassom (MyLabTM30 – Esaote, Genoa, Itália) com transdutor (phased array) de 11,0 MHz de frequência nominal. As imagens foram obtidas enquanto os animais permaneciam em decúbito lateral, sob efeito de anestesia. Os ecocardiogramas transtorácicos bidimensionais (2D) e modo-M foram obtidos com *sweep speed* de 200 mm/s e ajustada de acordo com a frequência cardíaca. As imagens foram coletadas de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia e armazenadas para análise posterior. Cada parâmetro foi mensurado em três ciclos cardíacos distintos e a média das medidas foi utilizada para as análises estatísticas. A espessura da parede posterior do VE ao final da diástole (EPPVEd) e ao final da sístole (EPPVEs), a espessura diastólica (ESIVd) e sistólica (ESIVs) do septo interventricular, além das dimensões diastólica do ventrículo direito (DVDd) e sistólica (DVEs) e diastólica (DVEd) do VE foram mensuradas usando um método modificado preconizado pela Sociedade Americana de Ecocardiografia durante três ciclos cardíacos consecutivos (SAHN et al., 1978). Os registros em modo-M foram analisados usando um sistema de análise off-line disponível no mercado (no próprio aparelho) por um observador cego a resultados anteriores. A partir das análises anteriores, a fração de ejeção (EF) e a fração de encurtamento (FS) foram calculadas

### **3.10. Isolamento dos cardiomiócitos**

O isolamento dos cardiomiócitos foi realizado de acordo como descrito por Natali et al. (2001). Após eutanásia, o coração foi removido por toracotomia, e lavado em solução contendo 750 µL de CaCl<sub>2</sub>, para retirar o excesso de sangue, imediatamente antes da perfusão das soluções de isolamento. A seguir, a aorta ascendente foi fixada com um fio de sutura em uma agulha de aço inoxidável modificada (cânula), e o coração isolado foi colocado em um sistema de perfusão (*Langendorff* adaptado) e perfundido com solução de isolamento contendo 750 µL de CaCl<sub>2</sub>, em um fluxo constante até que os vasos coronários estivessem limpos. Em seguida, trocou-se a perfusão para solução livre de Ca<sup>2+</sup> contendo 0,1 mM de ácido tetracético etilenoglicol (EGTA), durante 6 minutos, para o rompimento dos discos intercalares entre os miócitos e quelação de Ca<sup>2+</sup>. Por fim, o coração foi perfundido com solução contendo 2 mg.ml<sup>-1</sup> de colagenase tipo 2 (Worthington, EUA), 0,2 mg.ml<sup>-1</sup> de protease (Sigma-Aldrich, EUA) e 100 µM de CaCl<sub>2</sub> durante 7-10 minutos para digestão das fibras colágenas extracelulares. Todas as soluções utilizadas no isolamento foram oxigenadas (O<sub>2</sub> 100% - White Martins, Brasil) e mantidas a temperatura de 35-37°C.

Após perfusão, os ventrículos (direito e esquerdo) foram separados dos átrios e pesados em balança de precisão (Gehaka – Brasil, modelo AG200). O VD foi removido e o VE foi aberto na região do septo interventricular. Os músculos papilares e o tecido conjuntivo foram removidos manualmente. Os índices de hipertrofia ventricular foram calculados pela razão peso do ventrículo direito e esquerdo, respectivamente, pelo peso corporal de cada animal.

Em seguida, fragmentos do VE foram colocadas em frascos contendo 5 ml da solução enzimática (colagenase e protease). Os frascos foram agitados moderadamente durante 5 minutos em “banho-maria” à temperatura de 37°C, sendo o tecido cardíaco oxigenado. A seguir, o conteúdo dos frascos foi filtrado e centrifugado (3000 rpm) por 30 segundos. O sobrenadante foi removido e os cardiomiócitos foram suspensos na solução de 750 µM de CaCl<sub>2</sub>. Os cardiomiócitos foram armazenados em placas de Petri em refrigerador (5°C) até serem utilizados.

### **3.11. Soluções de isolamento**

As soluções de isolamento foram feitas usando-se uma solução básica com água ultrapura (Milli-Q) e a seguinte composição (em mM): NaCl (130) – 7,6 g/L; MgCl<sub>2</sub> (1,43) – 0,28 g/L; KCl (5,4) – 0,4 g/L; ácido etanosulfônico – hidroxietil piperazina

(HEPES) (5) – 0,062 g/L, taurina (20) – 2,38 g/L; creatina (10) – 1,3 g/L; glicose (10) – 1,8 g/L; pH = 7,3; temperatura ambiente.

#### Solução A:

Para se fazer a solução de isolamento contendo  $\text{Ca}^{2+}$ , foram adicionados 375  $\mu\text{M}$  de  $\text{CaCl}_2$  (1 M) em 500 ml de solução básica.

#### Solução B:

Para a solução de isolamento livre de  $\text{Ca}^{2+}$ , foram adicionados 250  $\mu\text{M}$  de EGTA (100 mM) em 250 ml de solução básica.

#### Solução C:

Para a solução enzimática de isolamento, foram adicionados 20 mg de colagenase, 2 mg de protease e 15  $\mu\text{L}$  de  $\text{CaCl}_2$  (100 mM) em 20 ml de solução básica.

### **3.11.1. Solução de perfusão Tampão HEPES**

Durante as análises de contratilidade celular e transiente de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , os cardiomiócitos isolados do VE ou direito foram banhados com uma solução fisiológica contendo (mM): solução estoque: NaCl (130) – 65,99 g/L; HEPES (5) – 11,9 g/L;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (1) – 1,42 g/L;  $\text{MgSO}_4$  (1) – 2,46 g/L; KCl (5) – 3,72 g/L; solução sopa: Na acetato (20) – 1,64 g/100 mL; glicose (10) – 18,1 g/100 mL; insulina (5 u/L) – 0,5 g/100 mL. Para fazer um litro de solução de perfusão tampão HEPES, foram adicionados 100 mL da solução estoque, 10 mL da solução sopa 1 mL de  $\text{CaCl}_2$  (1) em água deionizada ultrapura (Milli-Q). Esta solução foi equilibrada para um pH = 7,4 e mantida em temperatura ambiente.

### **3.12. Contratilidade Celular**

A contratilidade dos cardiomiócitos isolados foi medida através da técnica de alteração do comprimento celular usando-se o sistema de detecção de bordas (Ionoptix, EUA) montado num microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA), conforme descrito por Roman-Campos et al. (2009). Os cardiomiócitos isolados foram acomodados em uma câmara experimental giratória com a base de vidro montada no microscópio, e banhados pela solução de perfusão tampão HEPES em temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ). Foram

visualizados em um monitor através de uma câmera (Myocam, Ionoptix, EUA) acoplada ao microscópio invertido, utilizando-se um programa de detecção de imagens (Ionwizard, Ionoptix, EUA) com uma frequência de 240 Hz.

Os cardiomiócitos foram estimulados externamente à frequência de 1 Hz (40 V, duração de 5 ms) utilizando-se um par de eletrodos de aço, acoplado nos dois lados internos da câmara, através de um estimulador elétrico (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA). As bordas dos cardiomiócitos foram identificadas com duas janelas (direita e esquerda) e definidas através do ajuste de contraste (preto e branco) gerado pela qualidade da imagem projetada dos cardiomiócitos após a estimulação elétrica foram capturadas pelo sistema de detecção de bordas (Ionwizard, Ionoptix, EUA) e armazenadas para análise posterior (Figura 9).

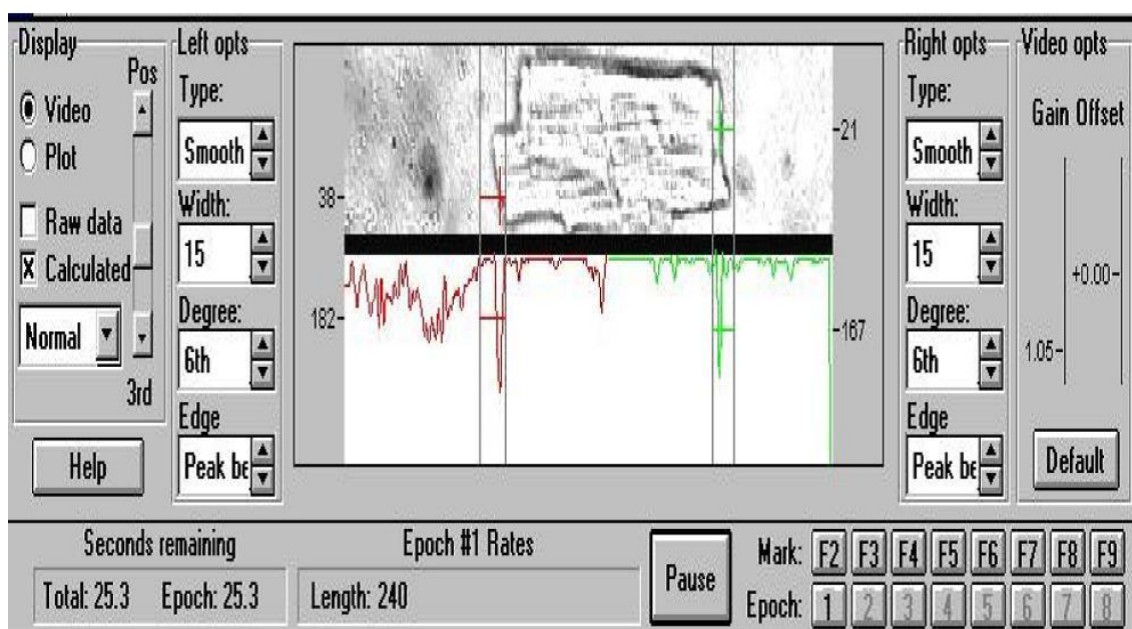


Figura 9. Representação do programa utilizado para aquisição das imagens e dos registros das contrações dos cardiomiócitos isolados. A definição das bordas direita e esquerda é projetada através dos picos verde e vermelho, respectivamente (CARNEIRO-JUNIOR, 2013).

Somente foram utilizados para os experimentos, os cardiomiócitos que estavam em boas condições, com as bordas (direita e esquerda) e as estriações sarcoméricas bem definidas, relaxados em repouso, sem apresentar contrações involuntárias. Os registros foram feitos sempre até quatro horas após o isolamento dos cardiomiócitos e na temperatura ambiente (~ 25°C).

A partir das séries temporais de contração celular, obtidas usando o programa de registro (Ionoptix, EUA), os picos de contração foram detectados através de varredura

dos pontos da série e comparação com um limiar. Esse limiar foi três vezes o desvio-padrão da série i.e., qualquer ponto maior que esse limiar foi considerado um ponto de máxima contração. Em torno dos pontos de máximo, os picos foram recortados, alinhados e promediados, sendo que o número mínimo de picos para promediação foi cinco. Em seguida, o início (ponto de deflexão da curva descendente do pico de contração) e o fim (ponto correspondente ao retorno da curva ascendente a condição basal) do pico de contração médio foram determinados através de inspeção visual. A partir da determinação dos pontos inicial e final o programa calculava automaticamente os valores das variáveis de contração celular, como amplitude de contração (variação do comprimento celular de repouso), tempo para o pico de contração (tempo compreendido desde a estimulação elétrica até o ponto de máxima contração, ms) e tempo para 50% do relaxamento (tempo compreendido desde a amplitude máxima de contração até 50% do relaxamento, ms).

Os parâmetros avaliados são demonstrados na Figura 10. Durante cada dia de experimento de contratilidade celular, foram analisados cardiomiócitos isolados de animais de um determinado grupo experimental e do seu respectivo grupo controle.

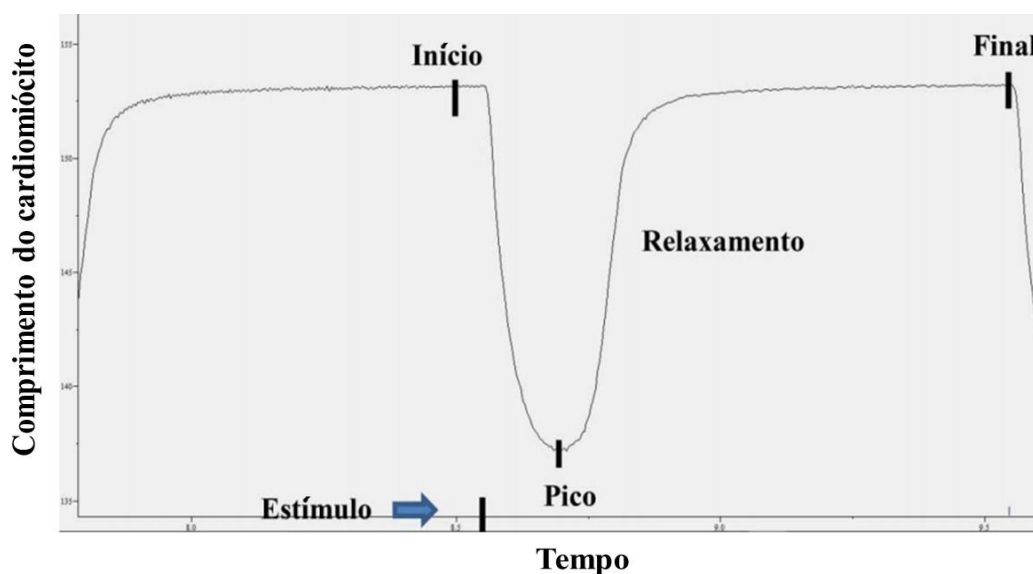


Figura 10. Traçado representativo de uma contração celular estimulada na frequência de 1 Hz.

### 3.13. Medidas do transiente de $[Ca^{2+}]_i$

As medidas do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  do VE foram realizadas conforme descrita por Kondo et al. (2006). Essas medidas foram feitas utilizando um microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA). Os cardiomiócitos foram incubados com o indicador

fluorescente de  $\text{Ca}^{2+}$ , permeável à membrana plasmática, Fura-2 ácido aminopolicarboxílico (Fura-2AM, ThermoFisher, Waltham, EUA).

Fura-2 AM (5  $\mu\text{M}$ ) foi preparado em uma solução de estoque a base de dimetilsulfóxido – DMSO (50  $\mu\text{l}$  de DMSO em 50 $\mu\text{g}$  de Fura-2 AM). Adicionou-se 10 $\mu\text{l}$  dessa solução de Fura-2 AM/DMSO em 4 ml de meio celular contidos em tubo falcon envolvido com folha fina de alumínio. A solução foi agitada em superfície plana por 10 min (velocidade  $\pm 120\text{x/mim}$ ). Em seguida o tubo foi centrifugado (3.000 rpm), removeu-se o sobrenadante e adicionou-se aproximadamente 4ml de EGTA. Após esse procedimento, os cardiomiócitos foram levados para um refrigerador por 30 min (todo procedimento foi realizado sem contato da luz com a solução).

Utilizou-se um sistema de excitação dupla que detecta a fluorescência excitada por luz UV com 340 e 380nm (Ionoptix - EUA). Foi colocada uma pequena quantidade da solução em uma câmara de superfusão que recebeu solução tampão. O cardiomiócito foi posicionado dentro de uma janela (ajustável) com bordas aparentes, e foram estimulados eletricamente (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA) por um par de eletrodos de platina acoplado nos dois lados internos da câmara, com um pulso supra-limiar de 0,2 ms e 20V (*voltage square pulse*), na frequência de 1 Hz para produzir condições estacionárias. A emissão de fluorescência foi detectada entre 340 e 380 nm, por um tubo fotomultiplicador.

Somente foram utilizados cardiomiócitos que possuíam bordas e estrias regulares definidas, relaxados em repouso, sem apresentar contrações espontâneas. Os registros foram feitos respeitando até quatro horas após o isolamento dos cardiomiócitos e na temperatura ambiente ( $\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$ ). Foram registradas as medidas de amplitude do transiente de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , tempo para o pico do transiente de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  e tempo para 50% do decaimento de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ .

Os parâmetros avaliados são demonstrados na Figura 11.

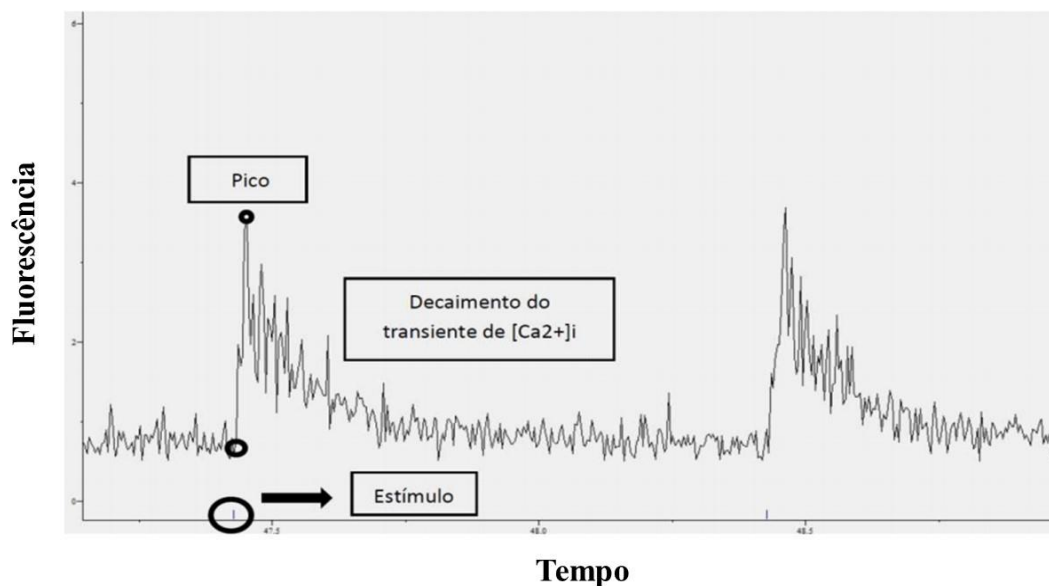


Figura 11. Traçado representativo dos parâmetros avaliados através do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ .

### 3.14. Análise do estresse oxidativo cardíaco

O estresse oxidativo foi avaliado por meio da determinação e quantificação dos produtos da oxidação: malondialdeído (MDA) e proteína carbonilada; e da avaliação da atividade das enzimas: catalase, superóxido dismutase (SOD) e glutationa-S-transferase (GST). Os resultados foram normalizados segundo o teor de proteínas totais presentes em cada amostra. Para isso, 150 mg do tecido do VE foram homogeneizados em 1,5 mL de tampão fosfato contendo EDTA e centrifugados a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi aliquotado para as análises de MDA, catalase, SOD, GST e proteínas totais e o pellet formado, para quantificação de proteína carbonilada.

O MDA foi determinado de acordo com método de Wallin et al. (1993). Este é considerado um dos metabólitos reativos ao ácido tiobarbitúrico, comumente utilizado como marcador de peroxidação lipídica que, quando aquecido em meio ácido, forma um produto de coloração rósea que pode ser mensurado por espectrofotometria a 535 nm.

A atividade da catalase, segundo Aebi (1984), é um método baseado na taxa de decaimento, durante 60 segundos, do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), determinada por espectrofotometria a 240nm. Já a atividade da SOD foi determinada a partir da sua habilidade em eliminar o radical livre superóxido e, conseqüentemente, diminuir a razão de auto-oxidação do pirogalol (DIETERICH et al., 2000).

A determinação da GST foi realizada segundo Habig; Jakoby (1981) e baseia-se na habilidade de metabolizar o 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno, conjugado com a glutationa

reduzida (GSH). A leitura da absorbância foi verificada em diferentes momentos até serem completados 90 segundos de reação, em espectrofotômetro a 340 nm. A quantificação das proteínas totais baseia-se na hidrólise alcalina das proteínas da amostra e na formação de um complexo de cor azul, a partir da reação com Folin-Ciocalteu, sendo a intensidade da coloração proporcional à concentração de proteína da amostra (LOWRY et al., 1951). A curva padrão de proteínas foi preparada com solução de albumina de soro bovino (Sigma Aldrich® , Inc.). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Thermo Scientific® , Multiskan GO) a 700 nm.

### **3.15. Análise da expressão de RNA mensageiro do coração**

Amostras de VE (50 mg) foram homogeneizadas para isolar o RNA utilizando trizol (Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil). A pureza do RNA (260/280nm) e as concentrações (ng/mL) foram determinadas na espectrofotometria (NanoDrop 2000, *Thermo Scientific*, Rockford, IL, EUA) e a integridade foi avaliada eletroforéticamente por gel de agarose (1%) (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil). Utilizou-se a técnica de reação em cadeia de polimerase em tempo real (qRT-PCR) para a quantificação dos níveis de RNA mensageiro (mRNA) dos genes beta-actina ( $\beta$ -actina), RyR2, SERCA2a, NCX, FLB, NADPH oxidase 4 (Nox-4), proteína desacopladora 2 (UCP-2) e interleucinas 6 e 10 (IL-6 e IL-10). A transcrição reversa (cDNA) foi realizada com 2 $\mu$ g de RNA total adicionado aos seguintes reagentes: oligo dT (0.5  $\mu$ g), RiboLock™ RNase inhibitor (20U), 1mM de dNTP Mix, RevertAid™ Reverse Transcriptase (200U), totalizando uma solução com volume final de 20  $\mu$ L (Fermentas, Glen Burnie, MD, EUA). Em seguida, foi incubada por 60 minutos à 42°C mais 10 minutos à 70°C, finalizando a transcrição reversa. A expressão gênica foi analisada por qRT-PCR, utilizando-se primers (*Thermo Fisher Scientific*, EUA) desenhados (Tabela 2) e Power SYBR Green PCR (*Thermo Fisher Scientific*, EUA). A quantificação da fluorescência e análise da amplificação das bandas foram feitas pelo sistema de detecção de sequências ABI Prism 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).



Tabela 2. Sequência dos primers para PCR em tempo real.

	<i>Forward</i>	<i>Reverse</i>
<b><math>\beta</math>-actina</b>	AGCCATGTACGTAGCCAT	CTCTCAGCTGTGGTGGTGAA
<b>RyR2</b>	TGGCAAAGAGTTGTCACGATG	CTTTTCCTTGCTGCGTTGGG
<b>SERCA2a</b>	TGTTTCGCGTGGACCTCAAAT	CCCAGTATGCCCGCTATCTC
<b>NCX</b>	GTGGCCCTCACCATTATTCG	ACACCAGTAAATTCAGCGCC
<b>FLB</b>	AGGCATTCTACCAACACAGCA	CGAATCAGCATGCCTTCAGC
<b>Nox-4</b>	TTCTGGACCTTTGTGCCTATAC	CCATGACATCTGAGGGATGATT
<b>UCP-2</b>	ATGTGGTAAAGGTCCGCTTC	CATTTTCGGGCAACATTGGG
<b>IL-6</b>	TCCTACCCCAACTTCCAATGCTC	TTGGATGGTCTTGGTCCTTAGCC
<b>IL-10</b>	TTGAACCACCCGGCATCTAC	CCAAGGAGTTGCTCCCGTTA

Os resultados foram expressos usando-se o método de limiar comparativo de ciclos (Ct) como descrito pelo produtor do sistema. Os valores de delta Ct ( $\Delta$ Ct) foram calculados para cada amostra e gene de interesse, utilizando  $\beta$ -actina como normalizador. O cálculo das mudanças relativas no nível de expressão do gene de interesse ( $\Delta\Delta$ Ct) foi realizado por subtração da média do  $\Delta$ Ct do grupo controle para o correspondente  $\Delta$ Ct de cada amostra dos demais grupos, seguindo de  $2^{(-\Delta\Delta$ Ct)}. Para fins representativos, os valores do grupo controle foram arbitrariamente definidos como 1.

### 3.16. Análise estatística

Inicialmente foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk. Quando a distribuição dos dados foi considerada normal, realizou-se ANOVA de uma via, com o *post-hoc* de Tukey para localizar a diferença entre os grupos. Quando a distribuição foi considerada não normal, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis, com *post-hoc* de Dunn's. Para avaliar se houve diferença entre a massa corporal inicial e final e entre o TTF inicial e final dentro de um mesmo grupo, foi utilizado o teste *T* de Student pareado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio-padrão da média para dados normais e mediana  $\pm$  intervalo interquartil para dados não normais, ou ainda através de porcentagem. O nível de significância adotado foi de 5%. Todas as análises foram realizadas através do software GraphPad Prism 6.0®.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Características gerais e análises hepáticas**

Os resultados referentes à composição corporal, ingestão e eficiência alimentar são apresentados na Tabela 3. Observa-se que todos os grupos obtiveram maior massa corporal do início para o final dos tratamentos. O grupo HA apresentou maior massa corporal final, quando comparado ao grupo C. Os grupos H e HA obtiveram maior ganho de massa em comparação aos demais grupos. Em relação à eficiência alimentar, os grupos C e HAT apresentaram menor porcentagem em relação ao grupo H. Não foram observadas diferenças na ingestão alimentar dos animais. Os grupos treinados apresentaram menor conteúdo de gordura retroperitoneal e epididimal, quando comparados ao grupo H. O conteúdo de gordura mesentérica foi reduzido no grupo HT em relação aos grupos C e H. O índice de adiposidade foi maior nos grupos treinados em relação ao grupo H. No que diz respeito à porcentagem de gordura corporal, os grupos C, HT e HAT apresentaram menor percentual quando comparados ao grupo H.

Tabela 3. Composição corporal, ingestão e eficiência alimentar em ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>HA</b>	<b>HT</b>	<b>HAT</b>	<b>p</b>
<b>Massa Corporal Inicial (g)</b>	187,2 ± 19,25	180,5 ± 17,27	187,0 ± 16,15	192,2 ± 18,25	188,0 ± 14,40	0,6659
<b>Massa Corporal Final (g)</b>	317,6 ± 35,58 <sup>Φ</sup>	333,2 ± 29,22 <sup>Φ</sup>	354,3 ± 24,87 <sup>Φ#</sup>	324,3 ± 20,58 <sup>Φ</sup>	313,5 ± 18,60 <sup>Φ</sup>	0,0104
<b>Ganho de massa corporal (g)</b>	130,4 ± 23,25 <sup>*</sup>	152,7 ± 24,09	167,3 ± 27,73	132,1 ± 13,53 <sup>*</sup>	125,5 ± 17,71 <sup>*</sup>	0,0003
<b>Ingestão Alimentar (g/dia)</b>	16,11 ± 0,89	14,07 ± 3,45	15,55 ± 2,61	16,84 ± 4,64	18,96 ± 3,45	0,0650
<b>Eficiência alimentar (%)</b>	7,91 ± 1,58 <sup>*</sup>	11,37 ± 2,41	11,13 ± 2,43	8,75 ± 3,95	7,05 ± 2,39 <sup>*</sup>	0,0072
<b>G. Retroperitoneal (g)</b>	4,92 ± 1,04 <sup>*</sup>	6,76 ± 0,54	5,94 ± 1,55	4,68 ± 1,73 <sup>*</sup>	4,63 ± 1,19 <sup>*</sup>	0,0070
<b>G. Epididimal (g)</b>	4,07 ± 1,04 <sup>*</sup>	5,58 ± 0,50	5,26 ± 0,68	4,10 ± 1,09 <sup>*</sup>	3,40 ± 1,03 <sup>*</sup>	0,0006
<b>G. Mesentérica (g)</b>	4,829 ± 1,15	4,795 ± 0,96	4,268 ± 1,10	2,909 ± 1,04 <sup>#*</sup>	3,470 ± 0,79	0,0062
<b>Índice de adiposidade (%)</b>	4,296 ± 0,96	5,235 ± 0,50	4,370 ± 0,84	3,444 ± 0,45 <sup>*</sup>	3,651 ± 0,58 <sup>*</sup>	0,0011
<b>Gordura corporal (%)</b>	26,38 ± 2,61 <sup>*</sup>	34,71 ± 6,97	29,25 ± 6,95	26,38 ± 0,89 <sup>*</sup>	24,37 ± 1,15 <sup>*</sup>	0,0097

Dados expressos em média ± desvio padrão de 8 a 10 animais por grupo experimental. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. G. Retroperitoneal, Gordura Retroperitoneal. G. Epididimal, Gordura Epididimal. G. Mesentérica, Gordura Mesentérica. <sup>Φ</sup>, diferença para o mesmo grupo ao início do estudo. <sup>\*</sup>, diferença para o grupo H. <sup>#</sup>, diferença para o grupo C.

A Figura 12 apresenta os resultados do TTF. Ao início do estudo os animais apresentaram desempenho semelhante (C:  $20,19 \pm 5,32$  min; H:  $20,03 \pm 5,45$  min; HA:  $19,87 \pm 5,52$  min; HT:  $20,19 \pm 4,42$  min; HAT:  $20,22 \pm 4,17$  min –  $p = 0,999$ ). Ao final do período de intervenção os animais dos grupos treinados apresentaram maior TTF em relação aos demais grupos (C:  $17,72 \pm 4,32$  min; H:  $17,97 \pm 4,40$  min; HA:  $16,84 \pm 3,64$  min; HT:  $31,71 \pm 4,94$  min; HAT:  $32,27 \pm 4,97$  min –  $p < 0,0001$ ).

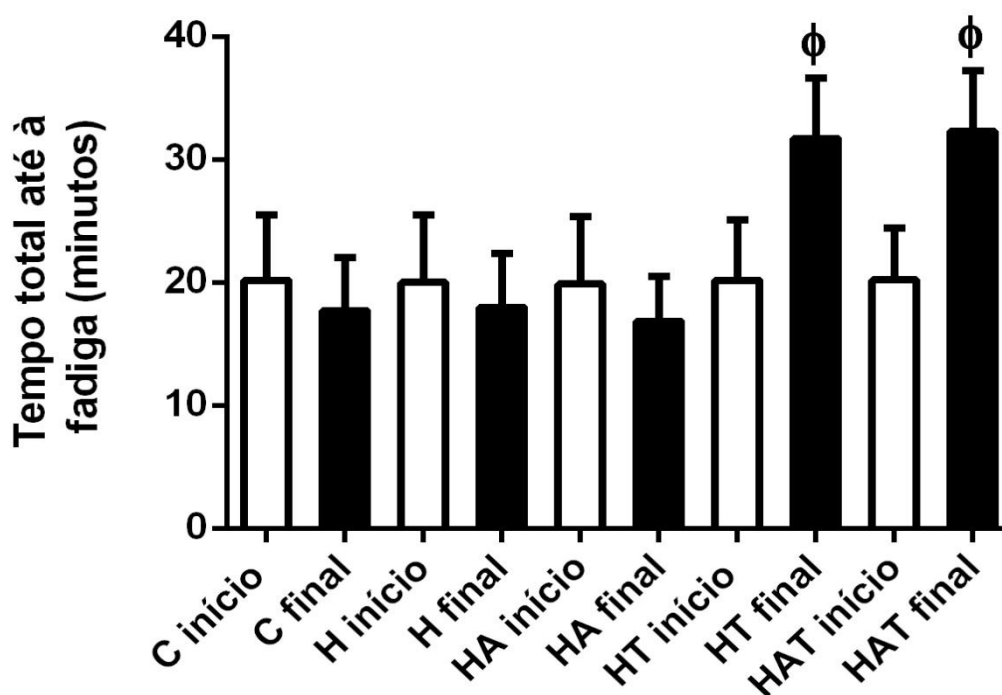


Figura 12. Tempo total até à fadiga em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açai e treinamento físico aeróbio. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico.  $\phi$ , diferença para o mesmo grupo ao início do estudo.

A Tabela 4 apresenta a concentração de metabólitos séricos nos animais experimentais. A dieta hiperlipídica promoveu aumento de amilase, creatinina, lipase, proteínas totais e globulinas em relação ao grupo C. Quando houve acréscimo do açai na dieta hiperlipídica, ocorreram aumentos somente na lipase, proteínas totais e globulinas, além de redução no colesterol total, quando comparado ao grupo H. Além disso, as globulinas apresentaram-se elevadas no grupo H quando comparado ao HAT.

Tabela 4. Concentração de metabólitos séricos em ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>HA</b>	<b>HT</b>	<b>HAT</b>	<b>p</b>
<b>Glicose (mg/dL)</b>	141,4 ± 34,88	169,2 ± 22,43	163,9 ± 36,09	175,0 ± 24,26	136,0 ± 40,27	0,1626
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	64,4 ± 19,36	52,38 ± 16,69	50,38 ± 15,07	46,67 ± 18,47	54,44 ± 16,46	0,5101
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	85,0 ± 8,03	97,17 ± 12,27	76,25 ± 10,08*	95,33 ± 11,17	83,89 ± 16,74	0,0185
<b>HDL (mg/dL)</b>	24,86 ± 2,47	21,75 ± 2,05	22,25 ± 2,43	21,33 ± 1,96	20,56 ± 4,74	0,0992
<b>Lipase (U/L)</b>	6,2 ± 3,27*	11,20 ± 1,78	10,57 ± 2,29	9,0 ± 4,24	7,0 ± 2,44	0,0316
<b>Amilase (U/L)</b>	544,5 ± 73,59*	705,6 ± 104,9	672,0 ± 122,3	691,3 ± 104,1	611,1 ± 77,11	0,0156
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0,713 ± 0,05*	0,807 ± 0,09	0,756 ± 0,04	0,720 ± 0,06	0,724 ± 0,28	0,0246
<b>Ureia (mg/dL)</b>	27,63 ± 3,99	31,38 ± 8,46	25,22 ± 4,05	25,83 ± 5,49	28,13 ± 7,90	0,3354
<b>Proteínas totais (g/dL)</b>	5,32 ± 0,26*	5,85 ± 0,16	6,00 ± 0,32	5,61 ± 0,23	5,62 ± 0,31	0,0002
<b>Globulinas (g/dL)</b>	1,98 ± 0,12*	2,50 ± 0,10	2,52 ± 0,23	2,30 ± 0,12	2,17 ± 0,23*	< 0,0001
<b>Albumina (g/dL)</b>	3,33 ± 0,17	3,35 ± 0,15	3,47 ± 0,16	3,31 ± 0,16	3,44 ± 0,15	0,2026
<b>Fosfatase Alcalina(U/L)</b>	120,3 ± 20,37	159,5 ± 44,20	158,5 ± 42,38	199,5 ± 73,45	166,1 ± 61,10	0,2612

Dados expressos em média ± desvio padrão de 8 animais por grupo experimental. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. HDL, Lipoproteína de alta densidade. \*, diferença para o grupo H.

Os cortes histológicos apontaram alterações no fígado dos animais tratados (Figura 13). Foi realizada a quantificação da esteatose micro e macrovesicular. Todos os grupos tratados com dieta hiperlipídica apresentaram esteatose macrovesicular (C:  $0,00 \pm 0,00$ ; H:  $2,20 \pm 0,44$ ; HA:  $2,16 \pm 0,98$ ; HT:  $1,42 \pm 2,78$ ; HAT:  $2,42 \pm 2,78 - p < 0,0001$ ) (Figura 14A), entretanto pode-se observar maior porcentagem de esteatose macrovesicular de grau 1 nos grupos submetidos ao tratamento com açaí e/ou TFA (Figura 14C). Todos os grupos tratados com dieta hiperlipídica apresentaram esteatose microvesicular (C:  $0,00 \pm 0,00$ ; H:  $3,00 \pm 0,00$ ; HA:  $3,00 \pm 0,00$ ; HT:  $3,00 \pm 0,00$ ; HAT:  $3,00 \pm 0,00 - p < 0,0001$ ) (Figura 14B) e foram classificados como sendo de grau 3 (Figura 14D).

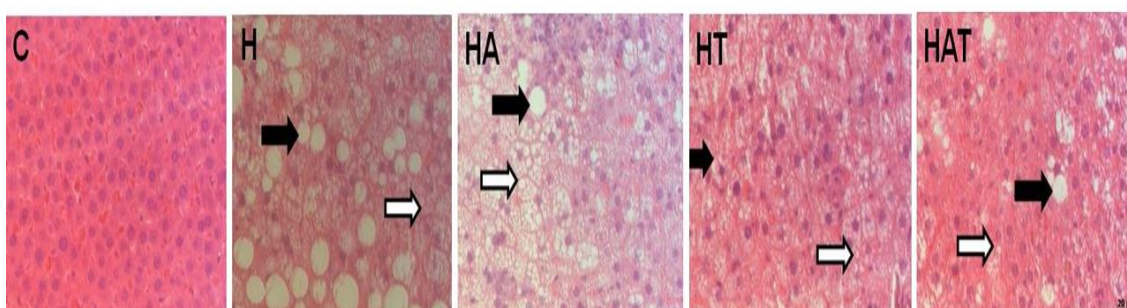


Figura 13. Fotomicrografias representativas de secções de fígado de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. As lâminas foram coradas com H&E. Setas pretas indicam esteatose macrovesicular. Setas brancas indicam esteatose microvesicular. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico.

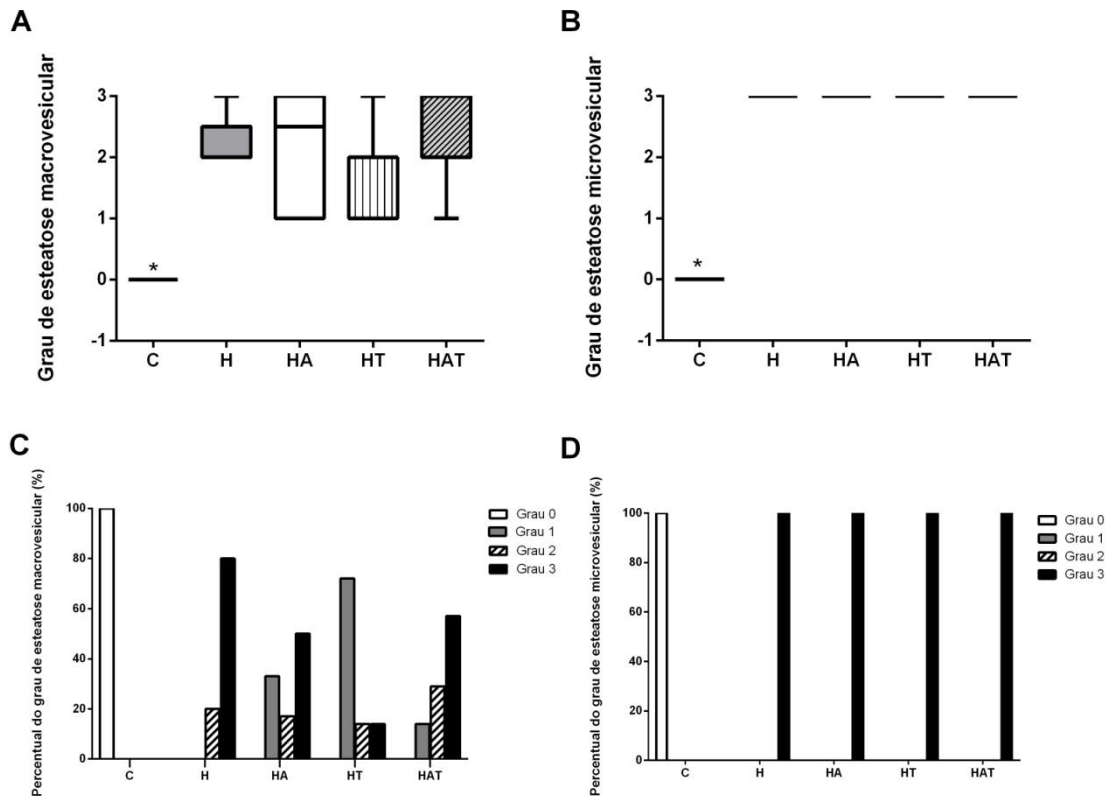


Figura 14. Representação gráfica da esteatose microvesicular e macrovesicular em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açai e treinamento físico aeróbio. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Nos painéis A e B os dados são expressos em mediana  $\pm$  interquartil. Nos painéis C e D os dados são expressos em porcentagem. \*, diferença para o grupo H.

O grau de inflamação quantificado pela presença de infiltrado inflamatório nos hepatócitos foi representado na Figura 15. Foi observado que os grupos H, HA e HAT aumentaram o grau de inflamação, em comparação ao controle (C:  $0,00 \pm 0,00$ ; H:  $2,00 \pm 0,70$ ; HA:  $1,60 \pm 0,89$ ; HT:  $0,83 \pm 0,75$ ; HAT:  $1,33 \pm 0,51$  –  $p = 0,0006$ ) (Figura 15).

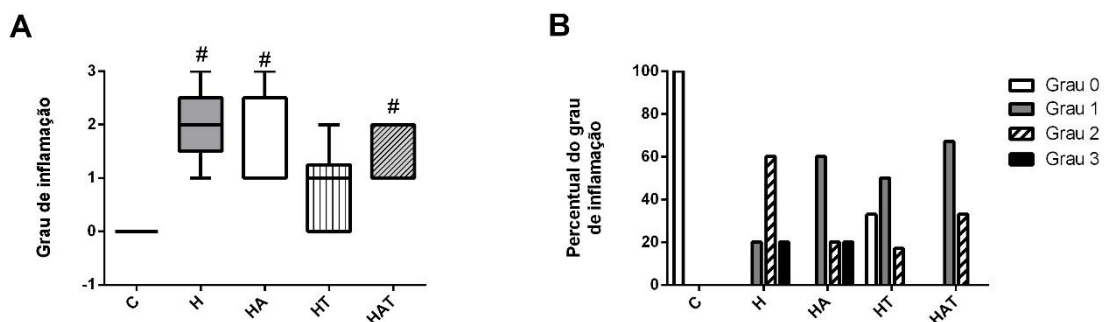


Figura 15. Representação gráfica do grau de inflamação através das células de Kupffer em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açai e treinamento físico aeróbio. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. No painel A os dados são expressos em mediana  $\pm$  interquartil. No painel B os dados são expressos em porcentagem. #, diferença para o grupo C.

A massa do fígado e as concentrações séricas de ALT e AST estão representados na Figura 16. Todos os tratamentos aumentaram a massa do fígado, em relação ao controle (C:  $8,23 \pm 1,91$ g; H:  $13,16 \pm 2,34$ g; HA:  $15,54 \pm 2,13$ g; HT:  $14,06 \pm 2,26$ g; HAT:  $13,08 \pm 2,60$ g –  $p < 0,0001$ ). O grupo H apresentou maiores concentrações de ALT, quando comparado ao controle (C:  $51,29 \pm 7,29$  U/L; H:  $92,83 \pm 25,83$  U/L; HA:  $102,0 \pm 12,49$  U/L; HT:  $82,80 \pm 23,77$  U/L; HAT:  $98,20 \pm 12,99$  U/L –  $p = 0,0003$ ). As concentrações séricas de AST foram maiores no grupo H, quando comparado aos grupos C e HA (C:  $143,8 \pm 4,60$  U/L; H:  $177,7 \pm 17,37$  U/L; HA:  $143,3 \pm 27,27$  U/L; HT:  $148,2 \pm 24,78$  U/L; HAT:  $148,7 \pm 24,79$  U/L –  $p = 0,0241$ ).

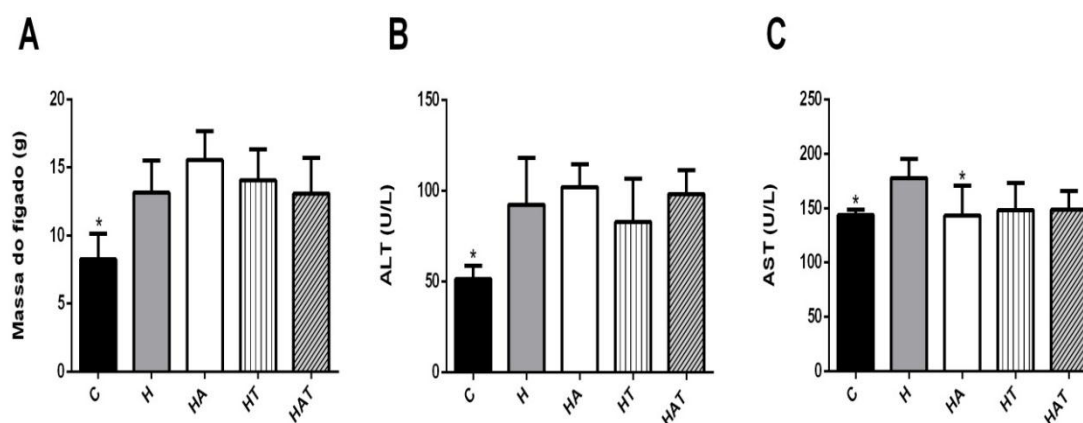


Figura 16. Massa do fígado e níveis séricos de AST e ALT em de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açai e treinamento físico aeróbio. (A) Massa do fígado (g). (B) Alanina aminotransferase (ALT) (U/L). (C) Aspartato aminotransferase (AST) (U/L). C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

Os dados sobre o perfil lipídico do fígado dos animais estão apresentados na Tabela 5. Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação aos ácidos graxos saturados (SFA). Quanto aos ácidos graxos moninsaturados (MUFA), houve maior porcentagem do ácido oleico (C 18:1) em todos os grupos tratados, em comparação com o controle. Da mesma forma, o conteúdo total de MUFA foi maior nos grupos tratados em relação ao grupo controle. No que diz respeito aos ácidos graxos polinsaturados (PUFA), observou-se aumento do ácido linoleico (C 18:2) em todos os ratos tratados, em relação ao controle. Ademais, verificou-se aumento do ácido  $\alpha$ -linolênico (C 18:3n3) no grupo HA e elevação do ácido  $\gamma$ -linolênico (C 18:3n6) no grupo HAT, em relação ao grupo controle.



A Tabela 6 apresenta o perfil lipídico das fezes dos animais. Quanto aos SFA, é possível identificar maior excreção do ácido mirístico (C 14:0) e menor porcentagem de ácido esteárico (C18:0) nos grupos tratados, em comparação ao controle. O total de SFA nas fezes foi maior nos grupos tratados, em relação ao controle. No que diz respeito aos MUFA, houve maior excreção do ácido palmitoléico (C 16:1) no grupo HT comparado ao H. Os tratamentos mostraram maior excreção de C 18:1, em comparação ao controle. Além disso, as fezes dos grupos treinados obtiveram maior porcentagem de C18:1 em relação aos animais somente alimentados com dieta hiperlipídica. O total de MUFA nas fezes foi maior nos grupos tratados, em relação ao controle. Quanto aos PUFA, notou-se menor excreção de C 18:2 e C 18:3n6 nos grupos tratados, em comparação ao controle. O C 18:3n3 apresentou-se elevado somente nas fezes do grupo que recebeu açaí, em relação ao controle. O total de PUFA nas fezes foi menor nos grupos tratados que no grupo controle.

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos do fígado de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>HA</b>	<b>HT</b>	<b>HAT</b>	<b>p</b>
<b>C 14:0</b>	0,272 ± 0,30	0,317 ± 0,17	0,414 ± 0,06	0,453 ± 0,08	0,314 ± 0,26	0,5922
<b>C 16:0</b>	17,39 ± 3,75	16,99 ± 1,77	17,72 ± 2,33	16,75 ± 1,88	16,81 ± 1,61	0,9613
<b>C 18:0</b>	7,27 ± 3,68	9,62 ± 5,19	6,60 ± 2,35	6,40 ± 1,82	6,54 ± 3,12	0,4769
<b>SFA total</b>	<b>26,75 ± 9,07</b>	<b>28,89 ± 6,55</b>	<b>26,12 ± 1,89</b>	<b>25,01 ± 1,93</b>	<b>25,42 ± 2,11</b>	<b>0,7427</b>
<b>C 16:1</b>	1,91 ± 0,91	1,68 ± 0,57	1,68 ± 0,53	2,10 ± 0,49	2,12 ± 0,80	0,6986
<b>C 18:1</b>	27,91 ± 10,10	41,47 ± 3,18 <sup>#</sup>	39,15 ± 1,91 <sup>#</sup>	38,52 ± 2,96 <sup>#</sup>	40,03 ± 3,90 <sup>#</sup>	0,0025
<b>MUFA total</b>	<b>41,66 ± 5,55</b>	<b>50,16 ± 2,15<sup>#</sup></b>	<b>48,00 ± 0,78<sup>#</sup></b>	<b>49,24 ± 1,62<sup>#</sup></b>	<b>49,92 ± 2,05<sup>#</sup></b>	<b>0,0004</b>
<b>C 18:2</b>	14,06 ± 1,69	19,10 ± 1,38 <sup>#</sup>	19,32 ± 1,67 <sup>#</sup>	19,85 ± 1,00 <sup>#</sup>	19,58 ± 1,92 <sup>#</sup>	< 0,0001
<b>C 18:3n3</b>	0,054 ± 0,14	0,176 ± 0,23	0,278 ± 0,16 <sup>#</sup>	0,278 ± 0,43	0,242 ± 0,20	0,0193
<b>C 18:3n6</b>	0,836 ± 0,91	0,119 ± 0,26	0,204 ± 0,18	0,248 ± 0,22	0,008 ± 0,01 <sup>#</sup>	0,0439
<b>PUFA total</b>	<b>22,97 ± 5,30</b>	<b>20,76 ± 1,27</b>	<b>21,55 ± 1,57</b>	<b>21,74 ± 1,08</b>	<b>21,14 ± 1,66</b>	<b>0,7030</b>

Dados expressos em média ± desvio padrão de 6 a 9 animais por grupo experimental. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. C 14:0, ácido mirístico. C 16:0, ácido palmítico. C 18:0, ácido esteárico. C 16:1, ácido palmitoléico. C 18:1, ácido oleico. C 18:2, ácido linoleico. C 18:3n3, ácido  $\alpha$ -linolênico. C 18:3n6, ácido  $\gamma$ -linolênico. SFA, ácidos graxos saturados. MUFA, ácidos graxos monoinsaturados. PUFA, ácidos graxos polinsaturados. \*, diferença para o grupo H. #, diferença para o grupo C.

Tabela 6. Perfil de ácidos graxos das fezes de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>HA</b>	<b>HT</b>	<b>HAT</b>	<b>p</b>
<b>C 14:0</b>	1,01 ± 0,17*	0,42 ± 0,05	0,43 ± 0,05	0,42 ± 0,02	0,41 ± 0,06	< 0,0001
<b>C 16:0</b>	18,32 ± 1,87	16,94 ± 1,62	18,31 ± 1,14	16,63 ± 1,81	18,96 ± 2,11	0,1165
<b>C 18:0</b>	12,63 ± 1,20*	40,60 ± 8,38	33,93 ± 3,09	35,27 ± 4,70	36,88 ± 3,38	< 0,0001
<b>SFA total</b>	<b>42,32 ± 4,50*</b>	<b>63,70 ± 7,98</b>	<b>57,02 ± 4,27</b>	<b>61,62 ± 11,16</b>	<b>59,49 ± 3,47</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>C 16:1</b>	0,28 ± 0,36	0,18 ± 0,20	0,49 ± 0,03	0,59 ± 0,24	0,52 ± 0,13	0,0153
<b>C 18:1</b>	10,51 ± 3,20*	20,61 ± 3,76	31,30 ± 3,05*	23,43 ± 2,76	28,85 ± 2,72*	<0,0001
<b>MUFA total</b>	<b>12,25 ± 2,37*</b>	<b>21,84 ± 3,99</b>	<b>32,66 ± 3,27*</b>	<b>24,75 ± 2,42</b>	<b>30,41 ± 2,99*</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>C 18:2</b>	7,67 ± 1,98	3,52 ± 0,80 <sup>#</sup>	4,20 ± 0,79 <sup>#</sup>	3,95 ± 0,81 <sup>#</sup>	4,06 ± 0,75 <sup>#</sup>	<0,0001
<b>C 18:3n3</b>	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,22	0,42 ± 0,39 <sup>#</sup>	0,32 ± 0,28	0,41 ± 0,08	0,0246
<b>C 18:3n6</b>	1,84 ± 0,38*	0,88 ± 0,12	0,72 ± 0,07	0,85 ± 0,03	0,73 ± 0,08	<0,0001
<b>PUFA total</b>	<b>12,19 ± 1,60*</b>	<b>5,90 ± 1,89</b>	<b>5,71 ± 0,59</b>	<b>5,80 ± 1,59</b>	<b>5,74 ± 0,89</b>	<b>&lt;0,0001</b>

Dados expressos em média ± desvio padrão de 6 a 9 animais por grupo experimental. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. C 14:0, ácido mirístico. C 16:0, ácido palmítico. C 18:0, ácido esteárico. C 16:1, ácido palmitoléico. C 18:1, ácido oleico. C 18:2, ácido linoleico. C 18:3n3, ácido  $\alpha$ -linolênico. C 18:3n6, ácido  $\gamma$ -linolênico. SFA, ácidos graxos saturados. MUFA, ácidos graxos monoinsaturados. PUFA, ácidos graxos polinsaturados. \*, diferença para o grupo H. #, diferença para o grupo C.

## **4.2 Análises cardíacas**

A Tabela 7 apresenta os dados de comprimento dos cardiomiócitos, massa dos ventrículos e coração e massa relativa dos ventrículos e coração. Somente foi identificada maior massa do ventrículo direito (MVD) dos animais do grupo H, em relação ao grupo controle.

Tabela 7. Comprimento dos cardiomiócitos, massa dos ventrículos e coração e massa relativa dos ventrículos e coração de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>HA</b>	<b>HT</b>	<b>HAT</b>	<b>p</b>
<b>Comprimento dos cardiomiócitos (µm)</b>	128,8 ± 19,88	125,6 ± 22,50	122,6 ± 22,65	132,2 ± 21,08	127,3 ± 22,74	0,1190
<b>Massa do Coração (g)</b>	1,20 ± 0,19	1,16 ± 0,19	1,29 ± 0,22	1,28 ± 0,12	1,26 ± 0,16	0,5153
<b>Massa dos Ventrículos (g)</b>	1,14 ± 0,13	1,25 ± 0,07	1,27 ± 0,19	1,27 ± 0,12	1,16 ± 0,24	0,4663
<b>MVE (g)</b>	0,70 ± 0,08	0,77 ± 0,09	0,76 ± 0,10	0,77 ± 0,10	0,74 ± 0,11	0,5545
<b>MVD (g)</b>	0,19 ± 0,04*	0,26 ± 0,05	0,23 ± 0,02	0,25 ± 0,04	0,22 ± 0,01	0,0419
<b>Massa do coração/massa corporal (mg/g)</b>	3,80 ± 0,63	3,58 ± 0,65	3,61 ± 0,65	3,99 ± 0,52	4,15 ± 0,52	0,2629
<b>MVE/massa corporal (mg/g)</b>	2,34 ± 0,18	2,42 ± 0,20	2,11 ± 0,32	2,51 ± 0,49	2,47 ± 0,26	0,2331

Dados de média ± desvio padrão de 6 a 9 animais por grupo experimental. MVE, massa do ventrículo esquerdo. MVD, massa do ventrículo direito. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. \*, diferença para o grupo H.

A Figura 17 apresenta os dados referentes às análises de porcentagem de cardiomiócitos e matriz extracelular no VE do coração dos animais. As fotomicrografias dos cortes histológicos são apresentados na Figura 17A. Não foram identificadas diferenças no percentual de cardiomiócitos (C:  $91,17 \pm 4,54$  %; H:  $89,24 \pm 3,07$  %; HA:  $91,34 \pm 4,19$  %; HT:  $91,87 \pm 4,06$  %; HAT:  $91,65 \pm 4,51$  % –  $p > 0,05$ ) (Figura 17B) e matriz extracelular (C:  $8,82 \pm 4,54$  %; H:  $10,76 \pm 3,07$  %; HA:  $8,66 \pm 4,19$  %; HT:  $8,37 \pm 3,79$  %; HAT:  $8,10 \pm 4,40$  % –  $p > 0,05$ ) entre os grupos (Figura 17C).

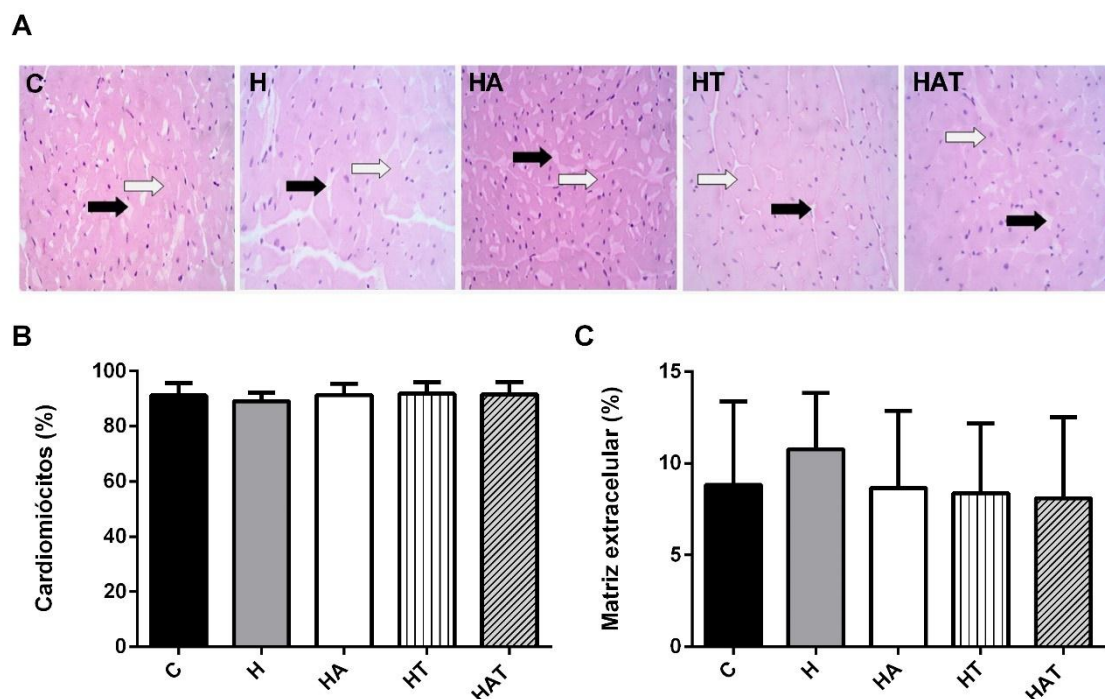


Figura 17. A: Fotomicrografias representativas de secções de ventrículos esquerdos de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açai e treinamento físico aeróbio. B: Percentual de cardiomiócitos. C: Percentual de matriz extracelular. As lâminas foram coradas com H&E. Setas pretas indicam cardiomiócitos. Setas brancas indicam matriz extracelular. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico.

A Figura 18 apresenta os resultados referentes ao percentual de colágeno no VE dos animais. O grupo H apresentou maior percentual, quando comparado aos demais grupos (C:  $2,59 \pm 1,30$  %; H:  $3,62 \pm 1,05$  %; HA:  $2,64 \pm 1,05$  %; HT:  $2,66 \pm 1,10$  %; HAT:  $2,72 \pm 1,19$  % –  $p = 0,0002$ ).

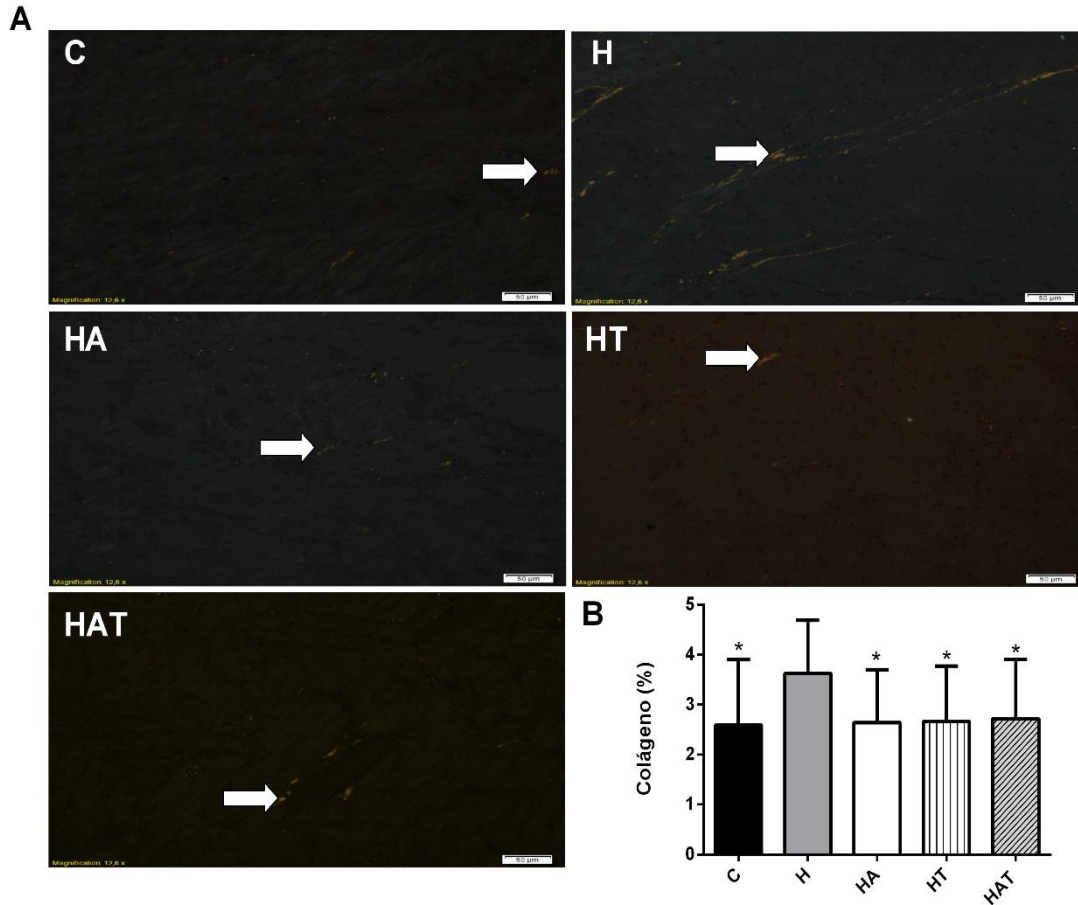


Figura 18. A: Fotomicrografias representativas de seções de ventrículos esquerdos de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio. B: Percentual de colágeno. C: Percentual de matriz extracelular. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. As lâminas foram coradas com *Picrosirius Red*. Setas brancas indicam presença de colágeno. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. \*, diferença para o grupo H.

Os resultados da avaliação ecocardiográfica são apresentados na Tabela 8. O grupo HA mostrou maiores valores de DVE<sub>d</sub> em relação aos grupos C e H. A EPPVEs foi aumentada no grupo HT, quando comparado ao controle. A EF e FS apresentaram aumento no grupo HT, em relação aos grupos C e H.

Tabela 8. Avaliação ecocardiográfica de ratos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ao tratamento com açaí e treinamento físico aeróbio.

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>HA</b>	<b>HT</b>	<b>HAT</b>	<b>p</b>
<b>DVDd (mm)</b>	1,54 ± 0,29	1,63 ± 0,43	1,25 ± 0,31	1,70 ± 0,44	1,52 ± 0,43	0,1384
<b>ESIVd (mm)</b>	1,75 ± 0,25	1,57 ± 0,30	1,44 ± 1,31	1,61 ± 0,23	1,72 ± 0,27	0,1232
<b>DVEd (mm)</b>	6,74 ± 0,56	6,82 ± 0,54	7,45 ± 0,28 <sup>#</sup>	7,13 ± 0,61	7,35 ± 0,55	0,0193
<b>EPPVEd (mm)</b>	1,55 ± 0,21	1,75 ± 0,41	1,62 ± 0,43	1,63 ± 0,30	1,75 ± 0,22	0,6577
<b>ESIVs (mm)</b>	2,12 ± 0,26	2,28 ± 0,22	2,08 ± 0,46	2,12 ± 0,37	2,00 ± 0,35	0,7235
<b>DVEs (mm)</b>	4,28 ± 0,46	4,30 ± 0,57	4,47 ± 0,38	4,15 ± 0,20	4,57 ± 0,30	0,2307
<b>EPPVEs (mm)</b>	3,24 ± 0,59	3,50 ± 0,40	3,51 ± 0,38	3,93 ± 0,38 <sup>#</sup>	3,68 ± 0,41	0,0273
<b>EF (%)</b>	71,90 ± 4,55	72,13 ± 6,91	76,10 ± 4,84	78,00 ± 3,16 <sup>#</sup>	73,50 ± 3,33	0,0350
<b>FS (%)</b>	36,50 ± 4,00	37,00 ± 5,45	40,20 ± 4,13	41,78 ± 2,94 <sup>#</sup>	37,63 ± 2,56	0,0283

Dados expressos em média ± desvio padrão de 9 a 10 animais por grupo experimental. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. DVDd, diâmetro diastólico do ventrículo direito. DVEd, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo. DVEs, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo. EPPVEd, espessura parede posterior do ventrículo esquerdo ao final da diástole. EPPVEs, espessura parede posterior do ventrículo esquerdo ao final da sístole. ESIVd, espessura diastólica do septo interventricular. ESIVs, espessura sistólica do septo interventricular. EF, fração de ejeção. FS, fração de encurtamento. <sup>#</sup>: diferença em relação ao grupo C. <sup>\*</sup>: diferença em relação ao grupo H.



Os dados referentes à contratilidade celular estão representados na Figura 19. Em relação à amplitude de contração celular, o grupo H reduziu esse parâmetro quando comparado ao grupo controle. Os tratamentos isolados e em conjunto utilizando açai e TFA conseguiram reverter os danos gerados pela dieta hiperlipídica (C:  $5,43 \pm 2,46$  %; H:  $3,71 \pm 2,31$  %; HA:  $5,32 \pm 3,49$  %; HT:  $6,25 \pm 3,42$  %; HAT:  $6,01 \pm 2,92$  % -  $p = 0,0015$ ) (Figura 19A). O tempo para o pico de contração celular apresentou-se maior no grupo H. O treinamento físico isolado ou associado à suplementação com açai conseguiu atenuar essa alteração (C:  $140,8 \pm 29,97$  ms; H:  $179,9 \pm 48,47$  ms; HA:  $172,3 \pm 34,70$  ms; HT:  $159,8 \pm 35,36$  ms; HAT:  $159,5 \pm 32,91$  ms -  $p < 0,0001$ ) (Figura 19B). No que diz respeito ao tempo para 50% do relaxamento celular, houve aumento no grupo H, em relação ao grupo controle. Tanto o treinamento físico isolado quanto em conjunto com a suplementação com açai, conseguiu reverter o aumento do tempo para 50% do relaxamento celular observado após consumo da dieta hiperlipídica (C:  $221,2 \pm 54,42$  ms; H:  $301,4 \pm 96,46$  ms; HA:  $287,0 \pm 81,42$  ms; HT:  $250,6 \pm 61,60$  ms; HAT:  $250,9 \pm 60,70$  ms -  $p < 0,0001$ ) (Figura 19C).

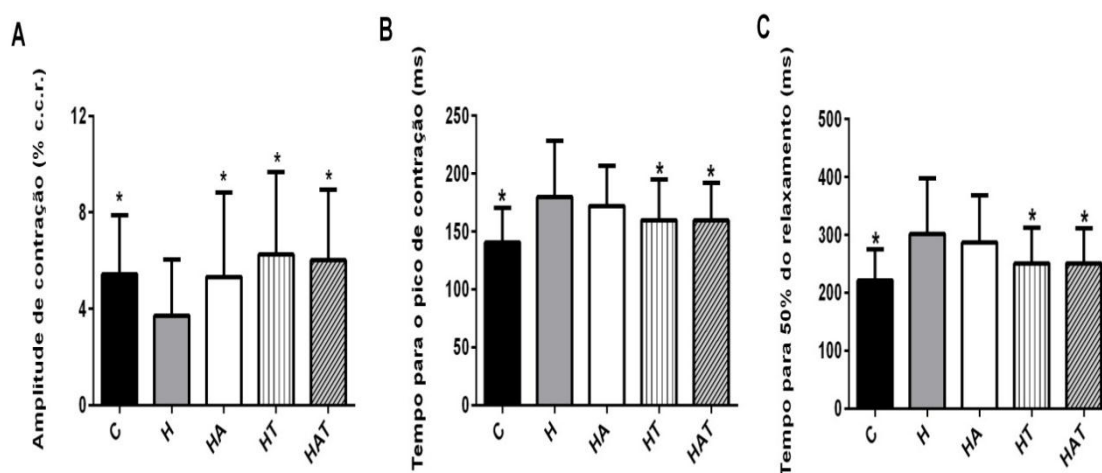


Figura 19. Contratibilidade dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C.c.r., comprimento celular de repouso. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

Os dados referentes ao transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  estão representados na Figura 20. Quanto à amplitude do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , a dieta hiperlipídica, a suplementação com açai ou o treinamento físico, não foram capazes de alterar esse parâmetro (C:  $0,57 \pm 0,29$ ; H:  $0,53 \pm 0,29$ ; HA:  $0,48 \pm 0,27$ ; HT:  $0,56 \pm 0,29$ ; HAT:  $0,43 \pm 0,28$  -  $p > 0,05$ ) (Figura 20A). O tempo para o pico do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  foi aumentado no grupo H, em relação

ao grupo controle. Os tratamentos isolados e em conjunto utilizando açai e TFA conseguiram reverter a alteração gerada pela dieta hiperlipídica (C:  $79,37 \pm 22,06$  ms; H:  $95,24 \pm 16,83$  ms; HA:  $76,31 \pm 16,42$  ms; HT:  $71,86 \pm 13,92$  ms; HAT:  $71,03 \pm 16,27$  –  $p < 0,0001$ ) (Figura 20B). Em relação ao tempo para 50% do decaimento de  $[Ca^{2+}]_i$ , o grupo HT reduziu esse parâmetro quando comparado ao grupo H (C:  $254,6 \pm 59,56$  ms; H:  $286,7 \pm 57,64$  ms; HA:  $282,1 \pm 59,39$  ms; HT:  $241,1 \pm 56,51$  ms; HAT:  $267,7 \pm 53,07$  –  $p = 0,0003$ ) (Figura 20C).

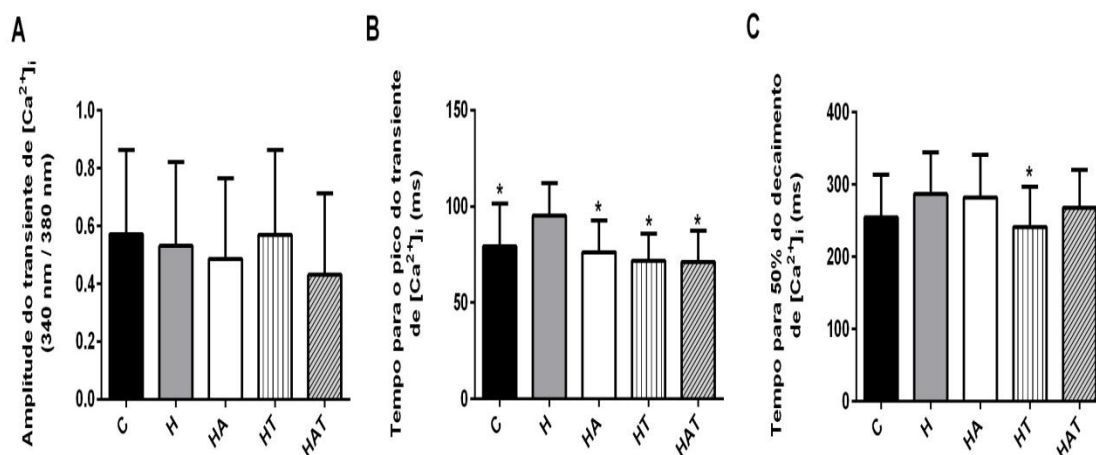


Figura 20. Transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

A Figura 21 apresenta os resultados referentes aos níveis de mRNA de proteínas responsáveis pela homeostase do  $Ca^{2+}$  no cardiomiócito do VE. Em relação ao RyR2, somente o grupo HT apresentou maior expressão em relação ao grupo H (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $0,80 \pm 0,32$ ; HA:  $1,31 \pm 1,13$ ; HT:  $2,47 \pm 0,80$ ; HAT:  $1,60 \pm 1,27$  –  $p = 0,0233$ ) (Figura 21A). As expressões de SERCA2a (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $1,19 \pm 0,44$ ; HA:  $0,85 \pm 0,33$ ; HT:  $1,19 \pm 0,71$ ; HAT:  $0,78 \pm 0,47$  –  $p = 0,4153$ ) e FLB (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $1,09 \pm 0,62$ ; HA:  $0,86 \pm 0,83$ ; HT:  $1,08 \pm 0,90$ ; HAT:  $0,66 \pm 0,50$  –  $p = 0,7296$ ) não foram alteradas entre os grupos (Figura 21B e 21C, respectivamente). A expressão de NCX foi menor no grupo H, em comparação aos demais grupos (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $0,24 \pm 0,10$ ; HA:  $2,33 \pm 1,31$ ; HT:  $3,41 \pm 0,95$ ; HAT:  $2,13 \pm 1,42$  –  $p = 0,0002$ ) (Figura 21D).

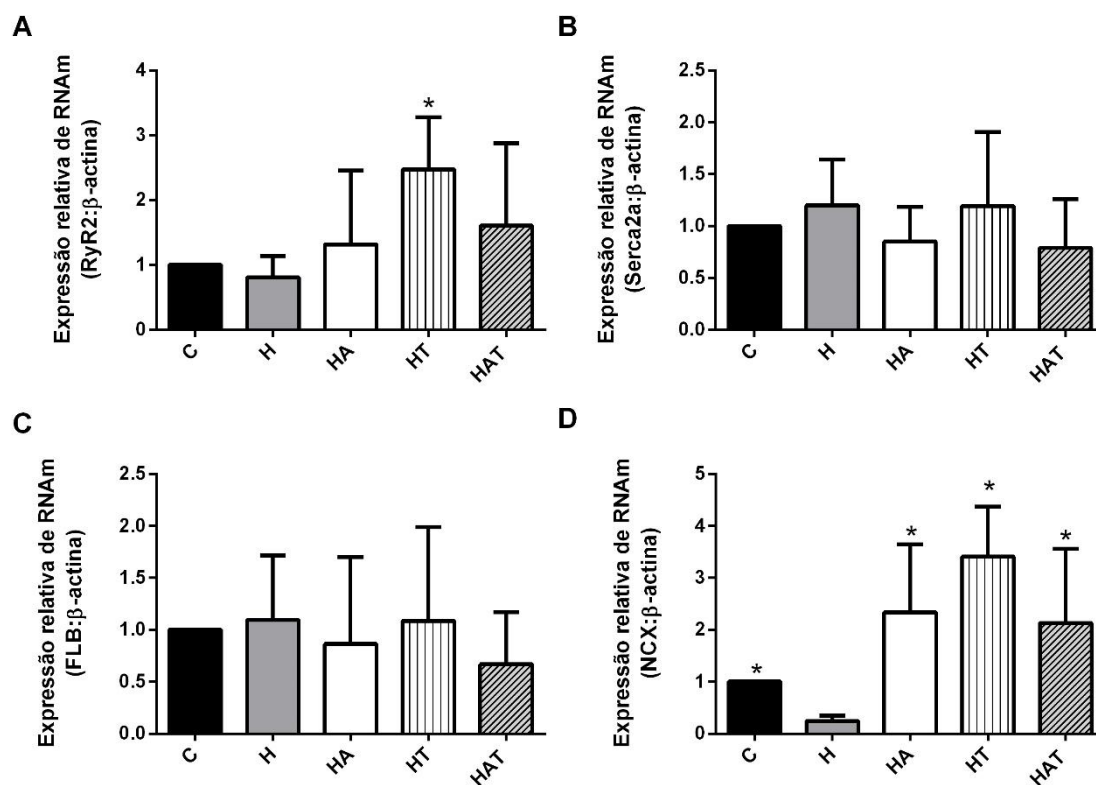


Figura 21. Expressão de genes responsáveis pela homeostase de  $\text{Ca}^{2+}$  em cardiomiócitos do ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

O estresse oxidativo foi avaliado através de marcadores oxidativos e atividade de antioxidantes, conforme indicado na Figura 22. Os níveis de Nox-4 foram aumentados no grupo H, em relação aos demais grupos (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $1,61 \pm 0,49$ ; HA:  $0,73 \pm 0,30$ ; HT:  $0,81 \pm 0,56$ ; HAT:  $0,49 \pm 0,15$  –  $p = 0,0003$ ) (Figura 22A). O conteúdo de MDA foi aumentado no grupo H, quando comparado aos demais grupos (C:  $11,35 \pm 3,57$  nM/mg; H:  $18,02 \pm 4,46$  nM/mg; HA:  $13,09 \pm 2,68$  nM/mg; HT:  $12,67 \pm 2,94$  nM/mg; HAT:  $11,12 \pm 13,18$  nM/mg –  $p = 0,0040$ ) (Figura 22B). Em relação à proteína carbonilada, não foram encontradas diferenças entre os grupos (C:  $0,35 \pm 0,07$  nmol/mg; H:  $0,56 \pm 0,16$  nmol/mg; HA:  $0,44 \pm 0,11$  nmol/mg; HT:  $0,40 \pm 0,19$  nmol/mg; HAT:  $0,45 \pm 0,20$  nmol/mg –  $p = 0,1866$ ) (Figura 22C). A atividade da enzima SOD não foi alterada entre os grupos avaliados (C:  $274,2 \pm 62,70$  U/mg; H:  $230,6 \pm 20,84$  U/mg; HA:  $245,3 \pm 62,03$  U/mg; HT:  $234,2 \pm 25,91$  U/mg; HAT:  $234,9 \pm 34,11$  U/mg –  $p = 0,4076$ ) (Figura 22D). A atividade da catalase foi diminuída no grupo H em relação ao grupo controle. Todos os grupos tratados com açai e/ou TFA elevaram a atividade da enzima, em relação ao grupo H (C:  $22,16 \pm 5,74$  U/mg; H:  $16,16 \pm 1,70$  U/mg; HA:  $21,09 \pm 3,36$  U/mg; HT:  $21,14 \pm$

2,76 U/mg; HAT:  $23,82 \pm 2,43$  U/mg –  $p = 0,0096$ ) (Figura 22E). A atividade de GST foi reduzida no grupo H, quando comparado aos demais grupos (C:  $2,67 \pm 0,62$   $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ; H:  $1,63 \pm 0,62$   $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ; HA:  $2,69 \pm 0,40$   $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ; HT:  $2,69 \pm 0,60$   $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ; HAT:  $2,74 \pm 0,64$   $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$  –  $p = 0,0040$ ) (Figura 22F).

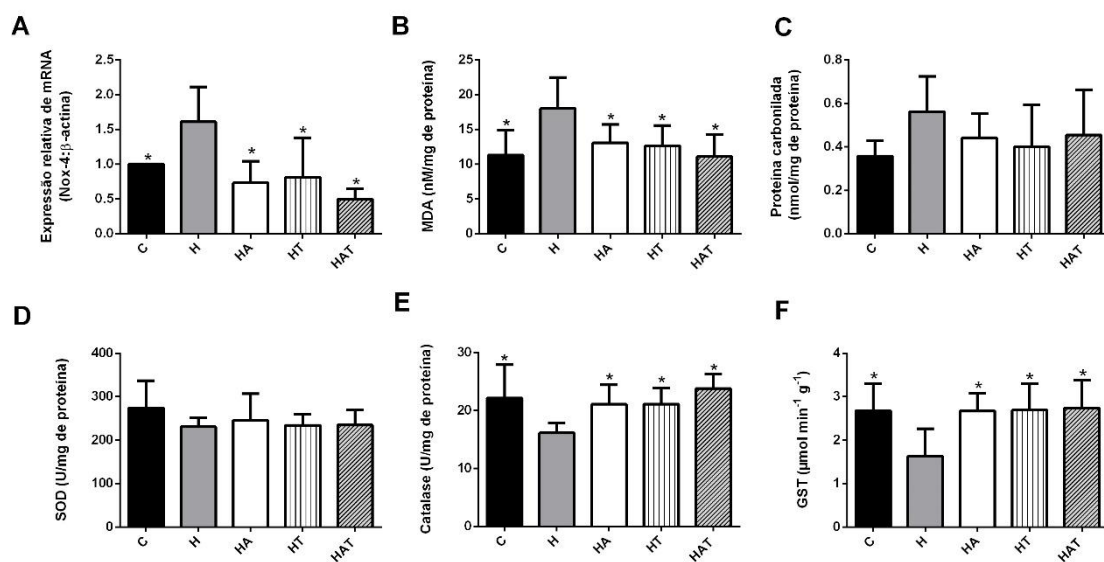


Figura 22. Marcadores oxidativos e atividade de enzimas antioxidantes no ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açaí. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açaí + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

A Figura 23 apresenta os dados referentes aos níveis de mRNA de UCP-2. O grupo H apresentou maior expressão de UCP-2 em relação ao controle. Todos os grupos tratados com açaí e/ou TFA reduziram essa expressão, em comparação ao grupo H (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $2,78 \pm 0,85$ ; HA:  $0,67 \pm 0,66$ ; HT:  $0,94 \pm 0,69$ ; HAT:  $0,37 \pm 0,44$  –  $p < 0,0001$ ) (Figura 23).

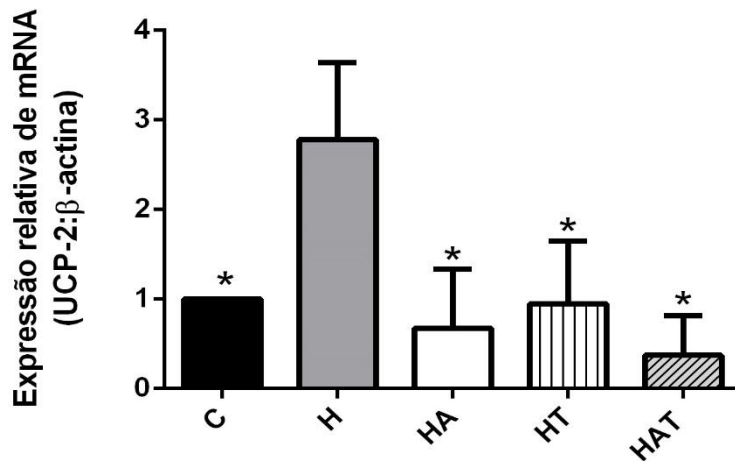


Figura 23. Expressão de mRNA de UCP-2 no ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

A inflamação do VE foi avaliada mensurando a expressão gênica de IL-6 e IL-10 (Figura 24). Em relação à IL-6, não houve diferença entre os grupos avaliados (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $1,69 \pm 0,43$ ; HA:  $1,75 \pm 1,25$ ; HT:  $2,03 \pm 1,18$ ; HAT:  $2,00 \pm 1,16$  –  $p = 0,2397$ ) (Figura 24A). A IL-10 somente apresentou-se elevada no grupo HT, quando comparada ao grupo H (C:  $1,00 \pm 0,00$ ; H:  $0,91 \pm 0,16$ ; HA:  $1,83 \pm 1,19$ ; HT:  $3,11 \pm 2,15$ ; HAT:  $1,80 \pm 0,65$  –  $p = 0,0221$ ) (Figura 24B).

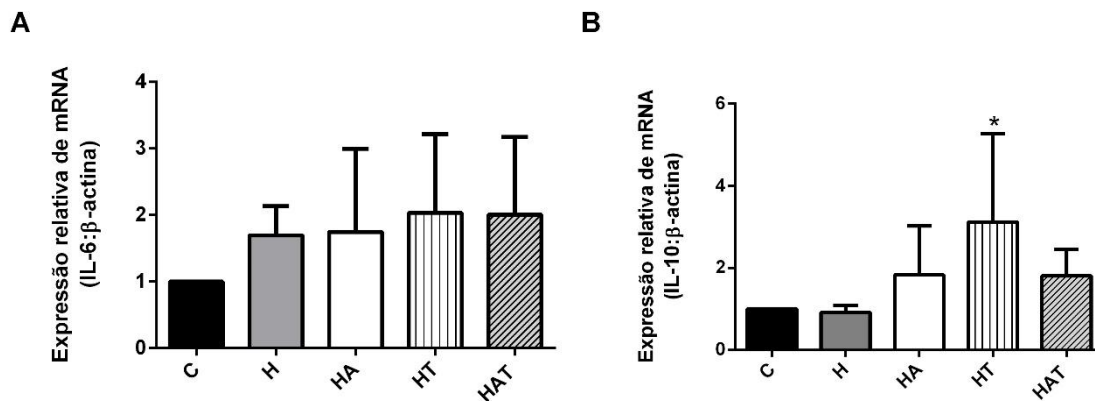


Figura 24. Expressão de mRNA de IL-6 e IL-10 no ventrículo esquerdo dos animais experimentais. C, Controle. H, Dieta hiperlipídica. HA, Dieta hiperlipídica + Açai. HT, Dieta hiperlipídica + Treinamento físico. HAT, Dieta hiperlipídica + Açai + Treinamento físico. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*, diferença para o grupo H.

## **5. DISCUSSÃO**

O presente estudo investigou o efeito da suplementação com açaí e do TFA sobre a funcionalidade e estrutura cardíaca, em conjunto com o desenvolvimento da DHGNA em um modelo animal submetido à dieta hiperlipídica. Os principais achados mostram que a dieta hiperlipídica promoveu o desenvolvimento da DHGNA, prejudicou a estrutura e a contratilidade dos cardiomiócitos, além de aumentar o estresse oxidativo cardíaco. Os tratamentos isolados ou em conjunto com açaí e TFA atenuaram ou reverteram parte desses danos.

### **5.1. Características gerais e adaptações hepáticas**

O ganho de massa corporal está associado ao maior consumo de dietas energéticas e à redução do gasto calórico. É bem estabelecido que ratos podem desenvolver obesidade quando são alimentados com uma dieta hiperlipídica, sugerindo que a elevação da quantidade de lipídios ingeridos aumenta o consumo energético (AKIYAMA et al., 1996). Este estudo mostrou que animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maior ganho de massa corporal, eficiência alimentar, percentual de gordura corporal e conteúdo de gorduras retroperitoneal e epididimal, quando comparado ao grupo controle. Pesquisas mostram que o aumento do consumo de gordura pode não ser acompanhado pela elevação de sua oxidação, favorecendo a deposição de tecido adiposo nos animais do grupo hiperlipídico (SHIOU et al., 2018; INSERTE et al., 2019). Por outro lado, os tratamentos com TFA ou a associação desse com o açaí conseguiram reduzir o ganho de massa corporal, índice de adiposidade, além do percentual de gordura corporal e conteúdo de gorduras retroperitoneal e epididimal. Exercícios aeróbios contínuos, com duração superior a alguns minutos, aumentam o gasto calórico e promovem elevação da degradação de carboidratos intra e extra musculares e substratos lipídicos, com pequena contribuição de aminoácidos, fazendo com que ocorra a redução da deposição de lipídios (BURKE et al., 2017).

Os ratos que realizaram o TFA apresentaram maior capacidade aeróbica avaliada pelo TTF, sendo que este aumento pode estar associado a adaptações cardiovasculares, que são efeitos bem estabelecidos do TFA (MOORE; KORZICK, 1995; KEMI et al., 2008). Outros estudos que utilizaram o mesmo protocolo de TFA também observaram

maior capacidade de exercício nos animais treinados (CARNEIRO-JUNIOR et al., 2013; LAVORATO et al., 2016).

A fim de estimar a função renal, foi verificado que o grupo hiperlipídico aumentou os níveis séricos de creatinina em relação ao controle. Em contrapartida, os níveis de ureia não foram significativamente alterados entre os grupos. Dessa forma, os resultados não fornecem evidências de qualquer efeito biológico negativo sobre a função renal, visto que para indicar disfunção, tanto creatinina quanto ureia deveriam se apresentar elevados (AL-OKBI et al., 2014).

Foi verificado que o grupo alimentado com dieta hiperlipídica apresentou maiores níveis séricos de proteínas totais, evidenciando aumento das concentrações de globulinas, sem alterar albumina. O modelo animal de DHGNA normalmente apresenta síntese de albumina prejudicada, o que não foi observado no estudo (NETO; CARVALHO, 2009). Por outro lado, concentrações elevadas de globulinas podem estar associadas com processos inflamatórios crônicos e lesões hepáticas, causados pela dieta hiperlipídica (NETO; CARVALHO, 2009).

Os animais tratados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores valores de amilase e lipase séricas, quando comparados ao grupo controle. Resultado similar foi encontrado em um estudo do nosso grupo de pesquisa utilizando modelo de dieta hiperlipídica (PAULINO, 2015). O aumento desses dois parâmetros reflete uma possível lesão pancreática (ISMAIL; BHAYANA, 2017). Durante o desenvolvimento da DHGNA ocorre aumento do estresse oxidativo e do processo inflamatório, o que poderia interferir na fisiologia de outros tecidos corporais, além do próprio fígado. Assim sendo, essa possível alteração da função pancreática pode estar relacionada com esses processos. No entanto, nenhum dos tratamentos foi capaz de atenuar o aumento da amilase ou da lipase.

Os níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos não foram elevados no grupo tratado com a dieta hiperlipídica, quando comparado ao controle. A ausência do aumento desses parâmetros pode ser devido ao grande percentual de lipídeos utilizados na dieta, uma vez que os ácidos graxos insaturados (maior percentual de ácidos graxos encontrado na banha) têm, dentre outras características, a inibição de importantes enzimas envolvidas com o metabolismo de lipoproteínas, diminuindo a concentração plasmática de triglicerídeos (CONNOR; DEFRANCESCO; CONNOR, 1993). Também foi encontrado que o grupo hiperlipídico aumentou a atividade da enzima lipase, fazendo com que possa ter ocorrido maior hidrólise de triglicerídeos, não elevando os níveis dessa macromolécula. Além disso, o grupo alimentado com dieta hiperlipídica e suplementado

com açaí apresentou menores níveis séricos de colesterol total em comparação com o grupo somente alimentado pela dieta hiperlipídica. Sabe-se que os polifenóis presentes no açaí estão relacionados com a redução das concentrações séricas de colesterol total e colesterol LDL, aumentando sua degradação e excreção (PARK et al., 2014).

No presente estudo, a dieta hiperlipídica utilizada como modelo de indução de DHGNA em ratos, apresentou aumento da concentração de lipídios nos hepatócitos e dano hepático, uma vez que houve hepatomegalia, elevação do conteúdo de gordura no fígado, aumento das macro e microvesículas de lipídios e do grau de inflamação no fígado, além de maior atividade das enzimas ALT e AST no soro sanguíneo. Esses dados corroboram com estudos anteriores que utilizaram a dieta hiperlipídica como modelo de indução da DHGNA (DE SOUZA et al., 2010; DE SOUZA et al., 2012, GUERRA et al., 2015; PAULINO, et al., 2019).

Embora o tratamento com açaí não tenha reduzido o grau de esteatose macrovesicular nos ratos tratados com dieta hiperlipídica, notou-se redução do percentual de esteatose macrovesicular de grau 3 com elevação de grau 1. Além disso, o tratamento com açaí foi capaz de atenuar os danos na enzima AST. As aminotransferases são enzimas encontradas nos hepatócitos, onde sabe-se que AST é localizada principalmente na mitocôndria e ALT no citoplasma dessas células. Quando ocorre lesões nos hepatócitos os níveis plasmáticos das aminotransferases aumentam. Assim como o presente estudo, outros estudos identificaram o papel hepatoprotetor de frutos ricos em compostos fenólicos (GUERRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2016; WU et al., 2017; LOPES et al., 2018). Essa proteção exercida pelos polifenóis a partir do consumo de dietas hiperlipídicas pode ser mediada pela modulação de mecanismos moleculares que levam ao acúmulo de lipídios, como a lipogênese e oxidação lipídica, além do estresse oxidativo e inflamação (LOPES et al., 2018).

Da mesma forma que o açaí, o TFA não conseguiu diminuir o grau de esteatose macrovesicular, porém foi possível observar redução do percentual de esteatose macrovesicular de grau 3 com elevação de grau 1. Ademais, o TFA foi capaz de diminuir o grau de inflamação nos animais tratados com dieta hiperlipídica. O processo inflamatório é causado, dentre outros fatores, pelo acúmulo de gordura no hepatócito, nesse sentido, Ebrahimi et al. (2017) avaliaram ratos alimentados com dieta hiperlipídica (56% de lipídios) e treinados aerobicamente, encontrando no tecido hepático diminuição da expressão gênica de SREBP-1c, um fator de transcrição responsável pela sinalização de lipogênese. Além disso, já foi relatado que animais alimentados com dieta rica em



gordura (22% de lipídios e 2% de colesterol) e treinados aerobicamente apresentaram aumento dos níveis hepáticos de IL-10 (interleucina anti inflamatória) e redução de TNF- $\alpha$  (citocina pró inflamatória), reforçando nossos achados (HAJIGHASEM; FARZANEGI; MAZAHERI, 2019).

Sabendo que a dieta hiperlipídica aumenta o conteúdo de lipídios no fígado dos animais, avaliou-se o perfil de ácidos graxos nesse órgão, para melhor compreensão do metabolismo lipídico. Foi possível observar que não houve diferença sobre os níveis de SFA e PUFA, com aumento de MUFA. Estudos vêm descobrindo uma ligação patogênica entre o metabolismo lipídico e lesão hepática, onde durante o desenvolvimento da DHGNA, o direcionamento de ácidos graxos livres para o fígado está associado ao aumento da expressão e atividade de esteroil-CoA desaturase-1 (SCD-1), enzima responsável pela adição de insaturação, principalmente em C16:1 e C18:1. Essas modificações resultam na maior formação de MUFA, armazenamento de triglicerídeos, adaptação do fígado e desenvolvimento da esteatose hepática isolada, o que foi visto no presente trabalho (LI, et al., 2009). O papel específico dos MUFA hepáticos na regulação das funções do fígado não foi completamente esclarecido, no entanto já foi visto que o maior conteúdo de MUFA atenua a inflamação e o estresse do retículo endoplasmático, não atingindo o estágio de EHNA (LIU, et al., 2016).

Pode-se observar aumento da deposição de C 18:1 no fígado dos animais tratados com dieta hiperlipídica. Esse ácido graxo apresenta-se aumentado em dietas com grande conteúdo de banha (ALMEIDA et al., 2006). Além disso, sabe-se que a dieta hiperlipídica também é rica em C 16:0 e evidências mostram que essa dieta pode modular a atividade de elongases e desaturases, como SCD-1, sintetizando mais C 18:1 no fígado (ALMEIDA et al., 2006; XIE et al., 2010; WANG et al., 2016).

Foi identificado que houve maior excreção de SFA e MUFA pelos animais hiperlipídicos, com destaque para C 18:0 e C 18:1. O consumo excessivo de gorduras, em especial ricas em SFA e MUFA, pode fazer com que parte dos lipídios não seja absorvida e permaneça no intestino grosso, fazendo com que aumente a excreção dos mesmos (LOPES, 2014).

Os tratamentos com açaí e/ou TFA não causaram grandes alterações no perfil de ácidos graxos do fígado e fezes dos animais, quando comparados aos animais hiperlipídicos. No entanto, o conteúdo de C 18:1 nas fezes dos animais que consumiram açaí ou que realizaram o TFA em conjunto com a suplementação de açaí, foi maior. Isso pode ter ocorrido pelo fato de ser o ácido graxo de maior conteúdo tanto na banha quanto

no açaí liofilizado (61% do total), o que também foi observado em outros estudos (GUERRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2016). Somado a isso, o açaí possui alto percentual de fibras, o que poderia aumentar a excreção desse ácido graxo (PEREIRA et al., 2016). Em concordância com nossos achados, estudos mostraram que as fezes de animais tratados com dieta hiperlipídica e polifenóis presentes no chá preto ou no chá verde, apresentaram maior conteúdo de C 18:1 quando comparado ao animal somente tratado com dieta hiperlipídica (ZHANG et al., WU et al., 2016). Os tratamentos utilizados no presente estudo poderiam inibir a absorção de lipídios no intestino, reduzir o acúmulo de lipídios no organismo e, em última instância, alcançar o controle de peso corporal.

O tratamento com açaí aumentou o conteúdo de C 18:3n3 no fígado e fezes dos animais. Tem sido sugerido que a presença de PUFA  $\omega$ 3 podem reduzir o conteúdo de lipídios no fígado e melhorar a atividade de enzimas como ALT e AST em pacientes com DHGNA (YAN et al., 2018). De fato, nosso estudo mostrou redução da atividade de AST no grupo suplementado com açaí.

## **5.2. Adaptações cardíacas**

É bem estabelecido que dietas hiperlipídicas levam ao acúmulo de lipídios no coração, que é associado com o aumento do estresse oxidativo nos cardiomiócitos (GHOSH et al., 2011). O consumo de dietas hiperlipídicas aumenta a oxidação de ácidos graxos, elevando a produção de EROs. Parte dessas é gerada pelas NADPH oxidases, através da produção de superóxido. O coração expressa duas isoformas de NADPH oxidases, Nox-2 e Nox-4. A primeira requer o recrutamento de subunidades citosólicas para sua ativação, já a última é constitutivamente ativa e regulada a nível transcricional da proteína (LASSEGUE; SAN MARTIN; GRIENGLING, 2012). No presente estudo, os animais alimentados com dieta hiperlipídica aumentaram a expressão gênica de Nox-4. Essa isoforma reside principalmente nas membranas internas da célula. O coração responde ao estresse metabólico imposto pela dieta, sofrendo alterações cíclicas de volume e pressão, assim suas membranas estão em contínuo estresse mecânico variável, o que poderia causar possíveis alterações na expressão de Nox-4 (SANCHEZ et al., 2018). Ainda, animais que receberam dietas energéticas durante 8 semanas apresentaram aumento da expressão gênica de Nox-4, sendo que após o bloqueio do sistema renina-

angiotensina-aldosterona essa expressão foi reduzida, sugerindo uma ligação entre esses processos (NYBY et al., 2007).

O acúmulo de EROs nos cardiomiócitos pode gerar danos a estruturas celulares, como lipídios, proteínas e DNA, aumentando o quadro de estresse oxidativo. Nesse sentido, observou-se aumento da concentração de MDA, sem alteração nas proteínas carboniladas do VE dos animais tratados com dieta hiperlipídica. Estudos anteriores nos quais os animais foram alimentados com dietas ricas em banha, apresentaram maiores concentrações de MDA no tecido cardíaco, associado ao aumento da expressão de NADPH oxidases (JIANG et al., 2011; LI et al., 2014; MAI; LI, 2014).

O aumento da oxidação de estruturas celulares também está relacionado à falha dos sistemas de defesa antioxidantes. No presente estudo, a dieta hiperlipídica foi capaz de diminuir a atividade de catalase e GST, sem alterar SOD no VE dos animais. Em concordância com nossos achados, Bhandari et al. (2011) mostraram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica durante 4 semanas, obtiveram aumento das concentrações de MDA e redução da atividade de catalase. Mukthamba; Srinivasan (2016), observaram que animais que receberam dieta hiperlipídica durante 8 semanas, diminuíram a atividade de catalase e GST, sem alterar SOD.

Os resultados indicam que os tratamentos com açaí e TFA diminuíram a expressão de Nox-4, reduziram as concentrações de MDA e aumentaram a atividade de catalase e GST.

Sabe-se que os polifenóis, presentes em grande quantidade no açaí, apresentam ação antioxidante (RICE-EVANS; MILLER; PARANGA, 1996). Uma das vias é através da inibição da atividade de NADPH oxidases e xantina oxidase, corroborando com os resultados encontrados em Nox-4 nos grupos HA e HAT (QIN et al., 2018; YAHFOUFI et al., 2018). Outro efeito conhecido dos polifenóis é a capacidade de neutralizar EROs (KONG et al., 2001). Somado à menor produção de superóxido pela Nox-4, essas ações dos polifenóis explicam a redução nas concentrações de MDA no VE dos animais suplementados com açaí. Ainda, os polifenóis ativam sistemas de defesa antioxidantes, sugerindo que esse mecanismo poderia levar ao aumento da atividade de catalase e GST (YAHFOUFI et al., 2018).

Estudos têm reportado que exercícios submáximos e máximos agudos aumentam a peroxidação lipídica. Por outro lado, o TFA regular leva ao aumento da ativação dos sistemas antioxidantes e redução da peroxidação lipídica, como observado no presente trabalho (ASLAN et al., 1998; ROSHAN et al., 2011; NARASIMHAN;

RAJASEKARAN, 2016). O exercício físico aeróbio é capaz de aumentar a translocação do fator de transcrição derivado de eritróide 2 (Nrf-2) do citoplasma para o núcleo. Esse, uma vez no citoplasma, apresenta-se inativo, porém quando chega ao núcleo participa da transcrição de genes responsáveis pela resposta antioxidante, dentre eles catalase e GST (NARASIMHAN; RAJASEKARAN, 2016).

A UCP-2 desempenha um papel de proteção contra o aumento do estresse oxidativo, visto que a elevação de sua atividade promove a recaptação de H<sup>+</sup> do espaço intermembranar da mitocôndria, o qual participa da neutralização de EROs (TIAN et al., 2018). Foi observado que a dieta hiperlipídica promoveu aumento da expressão gênica de UCP-2 no VE dos animais. Outros trabalhos utilizando dieta hiperlipídica ou modelo de diabetes mellitus tipo II (dieta hiperlipídica + baixa dose de estreptozotocina) apresentaram o mesmo comportamento (COLE et al., 2011; DIAO et al., 2019). Esse resultado reflete um mecanismo de compensação contra a elevada geração de EROs. Além disso, esse achado pode explicar a inalteração dos níveis de IL-6, uma vez que a inibição das EROs desencadeia a redução da atividade de NF-κB, responsável pela transcrição dessa interleucina (TIAN et al., 2018).

Os tratamentos com açai e TFA reduziram a expressão de mRNA de UCP-2 no VE dos animais. Sugere-se que houve menor produção de EROs no tecido cardíaco dos grupos que receberam as intervenções, fazendo com que fosse necessário menor recrutamento de UCP-2.

Os animais tratados com a dieta hiperlipídica apresentaram maior conteúdo de colágeno no VE, quando comparados ao controle. O percentual de matriz extracelular não acompanhou esse comportamento, apesar de apresentar tendência estatística (p = 0,09). Esse dado é consistente com trabalhos que utilizaram a dieta hiperlipídica durante o mesmo período de intervenção (FERNANDES et al., 2017) ou maior (SILVA et al., 2014; SAHRAOUI et al., 2016). Sabe-se que a ação de mediadores inflamatórios está associada ao processo de fibrose cardíaca induzida pela dieta hiperlipídica. Acredita-se que o início da reação inflamatória se deve ao aumento de morte celular dos cardiomiócitos, causada, dentre outros fatores, pela elevação do estresse oxidativo. O aumento da liberação de quimiocinas e citocinas induz a deposição de colágeno através do recrutamento e ativação de fibroblastos (MELENDEZ et al., 2010). No entanto, o presente estudo não apresentou diferenças na expressão gênica de IL-6 nos ratos tratados com dieta hiperlipídica. O período de intervenção com a dieta hiperlipídica (10 semanas) pode não ter sido suficiente para causar alteração nesse parâmetro. Além disso, o tratamento pode ter ativado outras

citocinas e vias como IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  e p-Smad 3, relacionadas com o processo fibrogênico no coração, resultando no aumento do percentual de colágeno nos animais alimentados com dieta rica em lipídios (WANG et al., 2015).

Estudos têm demonstrado a ação anti inflamatória do açaí em diversos tecidos corporais (GUERRA et al., 2015; DE BEM et al., 2018; MACHADO et al., 2019). Dessa forma, menos fibroblastos são enviados para esses tecidos alvos e menor será a deposição de colágeno. Nossos dados mostram redução do percentual de colágeno no VE dos animais tratados com açaí. Antocianinas, presentes em grande número no açaí, são capazes de reduzir a expressão de colágeno, o que é associado ao aumento da atividade de matriz de metaloproteinase, responsável pela degradação de colágeno (HAO et al., 2016). O açaí quando utilizado em animais infartados, foi associado à redução da atividade de inibidor de matriz de metaloproteinase 1 (TIMP-1), colaborando para o aumento da degradação de colágeno (FIGUEIREDO, 2016).

Durante o exercício físico, o músculo cardíaco libera miocinas que participam do reparo, crescimento tecidual e respostas inflamatórias (BENATTI; PEDERSEN, 2015). Tem sido identificado que o exercício, num primeiro momento, estimula a liberação de IL-6 e de forma crônica a redução de TNF- $\alpha$ , com aumento de IL-10 (BENATTI; PEDERSEN, 2015). No presente estudo, identificou-se aumento da expressão gênica de IL-10 no VE de animais treinados. Kesharwani et al. (2015) mostraram que camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e que realizaram natação durante período de intervenção semelhante ao utilizado neste trabalho, aumentaram a expressão proteica de IL-10, associada à redução do conteúdo de colágeno no coração, em concordância com nossos achados.

O consumo crônico de dietas hiperlipídicas pode levar ao desenvolvimento de remodelação cardíaca (LOPASCHUK; FOLMES; STANLEY, 2007). Lipídios são as principais fontes energéticas do coração, entretanto o acúmulo desses estimula a sobrecarga mitocondrial e ativa mecanismos de remodelamento (MARTINS et al., 2015). Além das EROs geradas pela oxidação de lipídios ocasionarem danos em estruturas celulares, interagem com vias celulares que controlam a hipertrofia e o remodelamento intersticial (MADAMANCHI; RUNGE, 2013). De fato, foi observado o aumento do percentual de colágeno no VE dos animais alimentados com dieta hiperlipídica, sendo que os tratamentos com açaí e/ou TFA conseguiram atenuar essa alteração. No entanto, a dieta hiperlipídica ou os tratamentos utilizados não conseguiram gerar adaptações no percentual de cardiomiócitos e nos índices hipertróficos cardíacos, sendo observado

apenas o aumento da massa do VD. Estudos utilizando 8, 15 e 20 semanas de consumo de dieta hiperlipídica em ratos, observaram aumento da área de secção transversa dos cardiomiócitos, elevação do conteúdo de colágeno e aumento dos índices hipertróficos (LIMA-LEOPOLDO et al., 2014; MARTINS et al., 2015; RIAHI et al., 2015).

As alterações moleculares, celulares e teciduais apresentadas anteriormente, podem contribuir para a deterioração da função contrátil dos cardiomiócitos. Nossos dados mostram que a intervenção com dieta hiperlipídica gerou danos na mecânica e no transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  dos cardiomiócitos. Os resultados sugerem que a dieta hiperlipídica pode ter modulado a expressão e/ou atividade de proteínas relacionadas à liberação de  $Ca^{2+}$  para que ocorra a contração, ou relacionadas com a recaptação e efluxo de  $Ca^{2+}$  para que ocorra o relaxamento. O presente estudo mostrou redução da expressão gênica de NCX. A disfunção diastólica pode ser induzida por aumento do conteúdo de colágeno e por danos em proteínas como SERCA2a e NCX (LIMA-LEOPOLDO et al., 2014). Foi observado que ratos obesos apresentaram aumento dos níveis proteicos de NCX, com redução da expressão de microRNA-1, que tem como alvo o mRNA de NCX, corroborando com os achados deste trabalho (SILVEIRA et al., 2017). Nosso estudo avaliou somente os níveis de mRNA, o que não necessariamente reflete a expressão proteica. Em contrapartida, pesquisas anteriores identificaram que a dieta hiperlipídica foi capaz de reduzir a expressão de PLB fosforilada na serina 16 (PLB<sub>ser16</sub>) (RELLING et al., 2006; LIMA-LEOPOLDO et al., 2014; JEONG et al., 2016) e alterar parâmetros mecânicos e o transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  dos cardiomiócitos (RELLING et al., 2006; JEONG et al., 2016). Ademais, Sanchez et al. (2018) verificaram que os corações de camundongos que receberam dieta hiperlipídica não apresentaram alterações ecocardiográficas, porém os RyR2 dos cardiomiócitos possuíam menos resíduos livres de tiol, sugerindo aumento da oxidação dessa proteína, o que poderia produzir alterações na contratilidade.

A contração de cardiomiócitos em animais alimentados com dieta hiperlipídica também pode ser prejudicada pela redução da sensibilidade dos miofilamentos ao  $Ca^{2+}$ , uma vez que necessitam de maior  $[Ca^{2+}]_i$  para realizar a mesma força de contração que os animais controle (WISLOFF et al., 2002).

O tratamento com açaí liofilizado aumentou a amplitude de contração, reduziu o tempo para o pico do  $[Ca^{2+}]_i$  dos cardiomiócitos e restaurou os níveis de mRNA de NCX do VE dos animais. Como mencionado anteriormente, o açaí possui grande capacidade antioxidante devido aos polifenóis predominantes no fruto, principalmente antocianinas, pró-antocianidinas e outros flavonoides (SCHAUSS et al., 2006; GUERRA et al., 2015).

Já foi verificado que o tratamento com antocianinas e flavonoides aumenta a expressão de proteínas responsáveis pela liberação e recaptação de  $\text{Ca}^{2+}$  no retículo sarcoplasmático de cardiomiócitos de animais alimentados com dieta rica em sacarose (SINGH; NETTICADAN; RAMDATH, 2016), com infarto do miocárdio (ZHAO et al., 2016) e com insuficiência cardíaca (JANA et al., 2017). O açaí poderia reduzir a oxidação das proteínas responsáveis pela homeostase de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  e melhorar contratilidade celular. Entretanto, não houve diferença na análise de proteína carbonilada, o que poderia nos fornecer um indício do efeito antioxidante do açaí sobre essas proteínas. Até o momento não se tem conhecimento de trabalhos que investigaram o tratamento com açaí sobre a contratilidade de cardiomiócitos em animais tratados com dieta hiperlipídica. A análise da expressão ou atividade de PKA, CaMKII e troponina pode ser necessária para melhor interpretar os dados.

No presente estudo, o TFA aumentou a capacidade de exercício dos animais que receberam dieta hiperlipídica. Esse benefício está relacionado com adaptações cardiovasculares e músculo-esqueléticas. Sabe-se que camundongos submetidos à dieta hiperlipídica e TFA, apresentaram aumento do consumo máximo de  $\text{O}_2$  em conjunto com a melhora de parâmetros funcionais avaliados em corações isolados (BOARDMAN et al., 2017). De fato, nosso protocolo de exercício aumentou EPPVEs, EF e FS. Essa melhora da função cardíaca em resposta ao TFA é apoiada por diferentes mecanismos, como redução do conteúdo de colágeno na matriz extracelular e aumento da contratilidade dos cardiomiócitos (SILVEIRA et al., 2017). Como esperado, observamos melhora em todos os parâmetros mecânicos contráteis, bem como redução nos tempos de pico e 50% do decaimento do  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  nos miócitos isolados de ratos com dieta hiperlipídica e submetidos ao TFA. A expressão aumentada de NCX e RyR2 no VE desses animais ajuda a explicar o relaxamento e a contração celular mais rápidos, como demonstrado por outros (PAULINO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2017).

As adaptações moleculares, celulares e teciduais causadas pela dieta hiperlipídica não foram capazes de acarretar modificações na funcionalidade do coração, avaliada pela ecocardiografia. O estudo de SANCHEZ et al. (2018), utilizando do mesmo período de intervenção encontrou resultados similares. O tempo de dieta hiperlipídica pode não ter sido suficiente para refletir as alterações celulares a nível de órgão.

O principal interesse do presente estudo foi investigar o efeito associado dos tratamentos com açaí e TFA. As estratégias terapêuticas combinadas foram capazes de gerar melhora no estresse oxidativo e contratilidade dos cardiomiócitos, além de reduzir

o percentual de colágeno, porém não forneceram efeitos ampliados em relação aos tratamentos isolados. Portanto, nossos resultados não confirmaram os benefícios da combinação dessas estratégias terapêuticas. As razões para a ausência de efeitos aditivos dos dois tratamentos são desconhecidas e justificam novas investigações usando diferentes procedimentos metodológicos. O aumento do período de intervenção e da quantidade de açaí oferecido na dieta podem ser estratégias a serem implementadas.

Embora não tenhamos confirmado nossa hipótese, o presente estudo tem relevância clínica na medida em que demonstrou efeitos benéficos isolados do consumo de açaí e da aplicação do TFA sobre parâmetros cardíacos de ratos submetidos à dieta hiperlipídica. Tais efeitos podem contribuir para uma melhor qualidade de vida, bem como reduzir a morbidade e a mortalidade de indivíduos com insuficiência cardíaca resultante da obesidade gerada pelo consumo de dietas hiperlipídicas.



## 6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitem concluir que:

- O tratamento com açai liofilizado atenua o percentual de esteatose macrovesicular de grau 3 com elevação de grau 1. Além disso, o tratamento com açai atenua as alterações na enzima AST e na concentração plasmática de colesterol total.
- O TFA atenua o percentual de esteatose macrovesicular de grau 3 com elevação de grau 1. O TFA também diminui o grau de inflamação do tecido hepático.
- O tratamento com açai liofilizado atenua o percentual de colágeno no VE, diminui a expressão de Nox-4, UCP-2 e a concentração de MDA, aumenta a atividade de catalase e GST, melhora a amplitude de contração, reduz o tempo para o pico do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  dos cardiomiócitos e aumenta a expressão de NCX.
- O tratamento com TFA atenua o percentual de colágeno no VE, diminui a expressão de Nox-4, UCP-2 e a concentração de MDA, aumenta a atividade de catalase e GST, melhora todos os parâmetros mecânicos dos cardiomiócitos, reduz os tempos para o pico e 50% do decaimento do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , além de aumentar a expressão de NCX e RyR2.
- O tratamento associado entre açai e TFA apresentou benefícios nas análises hepáticas e cardíacas, porém sem efeitos adicionais.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, v. 105, n., p. 121-126, 1984.

AKIYAMA, T., *et al.* High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 31, n. 1-3, p. 27-35, 1996.

AL-OKBI, S. Y., *et al.* Prevention of renal dysfunction by nutraceuticals prepared from oil rich plant foods. **Asian Pac J Trop Biomed**, v. 4, n. 8, p. 618-627, 2014.

ALEGRE, P. H. C. **Influência da suplementação de Açaí (Euterpe oleracea Mart.) no modelo de isquemia-reperfusão em ratos.** 2017. 54 f. - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

ALMEIDA, M. E. F., *et al.* Perfil lipídico tecidual de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 22, n. 1, p. 51-60, 2006.

ALPERT, M. A., *et al.* Obesity and Cardiac Remodeling in Adults: Mechanisms and Clinical Implications. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 18, p. 1-45, 2018.

ANSCHAU, V. **EStresse oxidativo e parâmetros hematológicos como biomarcadores da infecção experimental com Trypanosoma evansi em ratos wistar.** 2011. 94 f. - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2011.

ARAGNO, M., *et al.* SREBP-1c in nonalcoholic fatty liver disease induced by Western-type high-fat diet plus fructose in rats. **Free Radic Biol Med**, v. 47, n. 7, p. 1067-1074, 2009.

ASLAN, R., *et al.* Effect of acute and regular exercise on antioxidative enzymes, tissue damage markers and membran lipid peroxidation of erythrocytes in sedentary students. **Tr. J. of Medical Sciences**, v. 28, n., p. 411-414, 1998.

BALLAL, K., *et al.* Obesogenic high fat western diet induces oxidative stress and apoptosis in rat heart. **Mol Cell Biochem**, v. 344, n. 1-2, p. 221-230, 2010.

BENATTI, F. B.; PEDERSEN, B. K. Exercise as an anti-inflammatory therapy for rheumatic diseases-myokine regulation. **Nat Rev Rheumatol**, v. 11, n. 2, p. 86-97, 2015.

BERS, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, v. 415, n. 6868, p. 198-205, 2002.

BERS, D.M. Cardiac sarcoplasmic reticulum calcium leak: basis and roles in cardiac dysfunction. **Annu Rev Physiol**, v. 76, p. 107-127, 2014.

BHANDARI, U., *et al.* The effect of high-fat diet-induced obesity on cardiovascular toxicity in Wistar albino rats. **Hum Exp Toxicol**, v. 30, n. 9, p. 1313-1321, 2011.

BOARDMAN, N. T., *et al.* Exercise of obese mice induces cardioprotection and oxygen sparing in hearts exposed to high-fat load. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 313, n. 5, p. H1054-H1062, 2017.

BOBBIO, F. O., *et al.* Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 20, n., p. 388-390, 2000.

BONOMO LDE, F., *et al.* Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e89933, 2014.

BRUNT, E. M., *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. **Am J Gastroenterol**, v. 94, n. 9, p. 2467-2474, 1999.

BURKE, L. M., *et al.* Low carbohydrate, high fat diet impairs exercise economy and negates the performance benefit from intensified training in elite race walkers. **J Physiol**, v. 595, n. 9, p. 2785-2807, 2017.

BUZZETTI, E.; PINZANI, M.; TSOCHATZIS, E. A. The multiple-hit pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 65, n. 8, p. 1038-1048, 2016.

CADE, R., *et al.* Effect of aerobic exercise training on patients with systemic arterial hypertension. **Am J Med**, v. 77, n. 5, p. 785-790, 1984.

CARNEIRO-JUNIOR, M. A. **Efeitos do treinamento físico e do destreinamento sobre propriedades moleculares e mecânicas de cardiomiócitos isolados de ratos normotensos e hipertensos.** 2013. 104 f. - Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013.

CARNEIRO-JUNIOR, M. A., *et al.* The benefits of endurance training in cardiomyocyte function in hypertensive rats are reversed within four weeks of detraining. **J Mol Cell Cardiol**, v. 57, n., p. 119-128, 2013.

CARROLL, J. F.; TYAGI, S. C. Extracellular matrix remodeling in the heart of the homocysteinemic obese rabbit. **Am J Hypertens**, v. 18, n. 5 Pt 1, p. 692-698, 2005.

CHENG, Y., *et al.* Changes in myofilament proteins, but not Ca(2)(+) regulation, are associated with a high-fat diet-induced improvement in contractile function in heart failure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 301, n. 4, p. H1438-1446, 2011.

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

COLE, M. A., *et al.* A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. **Basic Res Cardiol**, v. 106, n. 3, p. 447-457, 2011.

CONNOR, W. E.; DEFRANCESCO, C. A.; CONNOR, S. L. N-3 fatty acids from fish oil. Effects on plasma lipoproteins and hypertriglyceridemic patients. **Ann N Y Acad Sci**, v. 683, n., p. 16-34, 1993.

COSTA, N. M. B.; SABARENSE, C. M. S.; PELUZIO, M. C. G. **Lipídeos**. Viçosa: UFV, 2008 ( Nutrição Básica e Metabolismo).

DA SILVA, V. L., *et al.* Moderate exercise training does not prevent the reduction in myocardial L-type Ca(2+) channels protein expression at obese rats. **Physiol Rep**, v. 5, n. 19, p., 2017.

DAY, C. P.; JAMES, O. F. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? **Gastroenterology**, v. 114, n. 4, p. 842-845, 1998.

DE BEM, G. F., *et al.* Antidiabetic effect of Euterpe oleracea Mart. (acai) extract and exercise training on high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats: A positive interaction. **PLoS One**, v. 13, n. 6, p. e0199207, 2018.

DE OLIVEIRA, P. R., *et al.* Euterpe oleracea Mart.-Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0143721, 2015.

DE SOUZA, M. O., *et al.* Diet supplementation with acai (Euterpe oleracea Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 804-810, 2010.

DE SOUZA, M. O., *et al.* The hypocholesterolemic activity of açai (Euterpe oleracea Mart.) is mediated by the enhanced expression of the ATP-binding cassette, subfamily G transporters 5 and 8 and low-density lipoprotein receptor genes in the rat. **Nutrition Research**, v. 32, n. 12, p. 976-984, 2012.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of Acai (Euterpe oleracea Mart.). **J Agric Food Chem**, v. 52, n. 6, p. 1539-1545, 2004.

DEMARCO, V. G., *et al.* Overweight female rats selectively breed for low aerobic capacity exhibit increased myocardial fibrosis and diastolic dysfunction. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 302, n. 8, p. H1667-1682, 2012.

DIAO, J., *et al.* Effects of resveratrol on regulation on UCP2 and cardiac function in diabetic rats. **J Physiol Biochem**, v. 75, n. 1, p. 39-51, 2019.

DIETERICH, S., *et al.* Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**, v. 101, n. 1, p. 33-39, 2000.

DOGRU, T., *et al.* Plasma fetuin-A is associated with endothelial dysfunction and subclinical atherosclerosis in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 78, n. 5, p. 712-717, 2013.

DOWMAN, J. K.; TOMLINSON, J. W.; NEWSOME, P. N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. **QJM**, v. 103, n. 2, p. 71-83, 2010.

EBRAHIMI, M., *et al.* How high-fat diet and high-intensity interval training affect lipid metabolism in the liver and visceral adipose tissue of rats. **Comparative Exercise Physiology**, v. 14, n. 1, p. 55-62, 2017.

FARHAT, F., *et al.* Effect of exercise training on oxidative stress and mitochondrial function in rat heart and gastrocnemius muscle. **Redox Rep**, v. 20, n. 2, p. 60-68, 2015.

FEIO, C. A., *et al.* Euterpe oleracea (acai) modifies sterol metabolism and attenuates experimentally-induced atherosclerosis. **J Atheroscler Thromb**, v. 19, n. 3, p. 237-245, 2012.

FERNANDES, C. R., *et al.* High-Fat and Fat-Enriched Diets Impair the Benefits of Moderate Physical Training in the Aorta and the Heart in Rats. **Front Nutr**, v. 4, n., p. 21, 2017.

FERNANDO, F. S. L. **Influência da suplementação de Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) no modelo de isquemia-reperfusão em ratos.** 2013. 79 f. -, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

FIGUEIREDO, A. M. **Influência da suplementação de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) na ração sobre a remodelação cardíaca em ratos submetidos a infarto agudo do miocárdio.** 2016. 133 f. - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2016.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **J Biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FRANCIS, G. S. Pathophysiology of chronic heart failure. **Am J Med**, v. 110 Suppl 7A, n., p. 37S-46S, 2001.

FRANCQUE, S. M.; VAN DER GRAAFF, D.; KWANTEN, W. J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: Pathophysiological mechanisms and implications. **J Hepatol**, v. 65, n. 2, p. 425-443, 2016.

GAILLARD, D.; PASSILLY-DEGRACE, P.; BESNARD, P. Molecular mechanisms of fat preference and overeating. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1141, n., p. 163-175, 2008.

GALINIER, M., *et al.* [Obesity and cardiac failure]. **Arch Mal Coeur Vaiss**, v. 98, n. 1, p. 39-45, 2005.

GARZÓN, G. A., *et al.* Polyphenolic composition and antioxidant activity of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) from Colombia. **Food Chem**, v. 217, n., p. 364-372, 2017.

GHORBANZADEH, V., *et al.* Protective effect of crocin and voluntary exercise against oxidative stress in the heart of high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. **Physiol Int**, v. 103, n. 4, p. 459-468, 2016.

GHOSH, S., *et al.* Altered glutathione homeostasis in heart augments cardiac lipotoxicity associated with diet-induced obesity in mice. **J Biol Chem**, v. 286, n. 49, p. 42483-42493, 2011.

GILL, R. M., *et al.* Centrizonal arteries and microvessels in nonalcoholic steatohepatitis. **Am J Surg Pathol**, v. 35, n. 9, p. 1400-1404, 2011.

GUERRA, J. F. C., *et al.* Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice. **Journal of Functional Foods**, v. 14, n., p. 192-202, 2015.

HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases (rat and human). **Methods Enzymol**, v. 77, n., p. 218-231, 1981.

HAJIGHASEM, A.; FARZANEHI, P.; MAZAHARI, Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. **Arch Physiol Biochem**, v. 125, n. 2, p. 142-149, 2019.

HAN, T. S.; LEAN, M. E. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **JRSM Cardiovasc Dis**, v. 5, n., p. 2048004016633371, 2016.

HAO, J., *et al.* Anthocyanins protected hearts against ischemic injury by reducing MMP-2 activity via Akt/P38 pathways. **Am J Transl Res**, v. 8, n. 2, p. 1100-1107, 2016.

HARE, J. M.; STAMLER, J. S. NO/redox disequilibrium in the failing heart and cardiovascular system. **J Clin Invest**, v. 115, n. 3, p. 509-517, 2005.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab Pract**, v. 22, n. 6, p. 475-476 passim, 1973.

HASHIMOTO, N. Y., *et al.* Determinantes Moleculares da Hipertrofia Cardíaca Induzida por Diferentes Volumes de Treinamento Aeróbico. **Rev Bras Cardiol**, v. 24, n. 3, p. 9, 2011.

HSU, H. C., *et al.* High-fat diet induces cardiomyocyte apoptosis via the inhibition of autophagy. **Eur J Nutr**, v. 55, n. 7, p. 2245-2254, 2016.

INOUE, M., *et al.* Increased expression of PPARgamma in high fat diet-induced liver steatosis in mice. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 336, n. 1, p. 215-222, 2005.

INSERTE, J., *et al.* High-fat diet improves tolerance to myocardial ischemia by delaying normalization of intracellular PH at reperfusion. **J Mol Cell Cardiol**, v. 133, n., p. 164-173, 2019.

ISMAIL, O. Z.; BHAYANA, V. Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? **Clin Biochem**, v. 50, n. 18, p. 1275-1280, 2017.

JANA, S., *et al.* Anthocyanin rich extract of *Brassica oleracea* L. alleviates experimentally induced myocardial infarction. **PLoS One**, v. 12, n. 8, p. e0182137, 2017.

JARRETE, A. P., *et al.* Influence of aerobic exercise training on cardiovascular and endocrine-inflammatory biomarkers in hypertensive postmenopausal women. **J Clin Transl Endocrinol**, v. 1, n. 3, p. 108-114, 2014.

JECKEL, K. M., *et al.* The role of dietary fatty acids in predicting myocardial structure in fat-fed rats. **Lipids Health Dis**, v. 10, n., p. 92, 2011.

JENSEN, G. S., *et al.* In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 18, p. 8326-8333, 2008.

JEONG, E. M., *et al.* Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Glucose Tolerance, Insulin Resistance, and Cardiac Diastolic Dysfunction. **J Am Heart Assoc**, v. 5, n. 5, p., 2016.

JI, G., *et al.* Comparison of dietary control and atorvastatin on high fat diet induced hepatic steatosis and hyperlipidemia in rats. **Lipids Health Dis**, v. 10, n., p. 23, 2011.

JIANG, F., *et al.* Systemic upregulation of NADPH oxidase in diet-induced obesity in rats. **Redox Rep**, v. 16, n. 6, p. 223-229, 2011.

JOHNSON, N. A., *et al.* Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. **Hepatology**, v. 50, n. 4, p. 1105-1112, 2009.

KANG, K. W., *et al.* Diastolic Dysfunction Induced by a High-Fat Diet Is Associated with Mitochondrial Abnormality and Adenosine Triphosphate Levels in Rats. **Endocrinol Metab (Seoul)**, v. 30, n. 4, p. 557-568, 2015.

KATZEL, L. I., *et al.* Sequential effects of aerobic exercise training and weight loss on risk factors for coronary disease in healthy, obese middle-aged and older men. **Metabolism**, v. 46, n. 12, p. 1441-1447, 1997.

KEMI, O. J., *et al.* Exercise-induced changes in calcium handling in left ventricular cardiomyocytes. **Front Biosci**, v. 13, n., p. 356-368, 2008.

KESHERWANI, V., *et al.* Exercise ameliorates high fat diet induced cardiac dysfunction by increasing interleukin 10. **Front Physiol**, v. 6, n., p. 124, 2015.



KONDO, R. P., *et al.* Comparison of contraction and calcium handling between right and left ventricular myocytes from adult mouse heart: a role for repolarization waveform. **J Physiol**, v. 571, n. Pt 1, p. 131-146, 2006.

KONG, A. N., *et al.* Induction of xenobiotic enzymes by the MAP kinase pathway and the antioxidant or electrophile response element (ARE/EpRE). **Drug Metab Rev**, v. 33, n. 3-4, p. 255-271, 2001.

LACERDA, A. C., *et al.* Central nitric oxide inhibition modifies metabolic adjustments induced by exercise in rats. **Neurosci Lett**, v. 410, n. 2, p. 152-156, 2006.

LASSEGUE, B.; SAN MARTIN, A.; GRIENDLING, K. K. Biochemistry, physiology, and pathophysiology of NADPH oxidases in the cardiovascular system. **Circ Res**, v. 110, n. 10, p. 1364-1390, 2012.

LAVORATO, V. N., *et al.* Mesenchymal stem cell therapy associated with endurance exercise training: Effects on the structural and functional remodeling of infarcted rat hearts. **J Mol Cell Cardiol**, v. 90, n., p. 111-119, 2016.

LEOPOLDO, A. S., *et al.* Involvement of L-type calcium channel and SERCA2a in myocardial dysfunction induced by obesity. **J Cell Physiol**, v. 226, n. 11, p. 2934-2942, 2011.

LEWIS, J. H.; ZIMMERMAN, H. J. Drug-induced liver disease. **Med Clin North Am**, v. 73, n. 4, p. 775-792, 1989.

LI, C. M., *et al.* Ethanolic extract of rhizome of Ligusticum chuanxiong Hort. (chuanxiong) enhances endothelium-dependent vascular reactivity in ovariectomized rats fed with high-fat diet. **Food Funct**, v. 5, n. 10, p. 2475-2485, 2014.

LI, Z. Z., *et al.* Hepatic lipid partitioning and liver damage in nonalcoholic fatty liver disease: role of stearoyl-CoA desaturase. **J Biol Chem**, v. 284, n. 9, p. 5637-5644, 2009.

LIMA-LEOPOLDO, A. P. **Influência do tempo de exposição à obesidade sobre a expressão gênica e protéica do sistema regulador do trânsito de cálcio miocárdico** 2010. 162 f. - Departamento de Clínica Médica, Universidade Estadual Paulista Botucatu, 2010.

LIMA-LEOPOLDO, A. P., *et al.* Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arq Bras Cardiol**, v. 97, n. 3, p. 232-240, 2011.

LIMA-LEOPOLDO, A. P., *et al.* Long-term obesity promotes alterations in diastolic function induced by reduction of phospholamban phosphorylation at serine-16 without affecting calcium handling. **J Appl Physiol** (1985), v. 117, n. 6, p. 669-678, 2014.

LIN, Y. Y., *et al.* Anti-apoptotic and Pro-survival Effects of Food Restriction on High-Fat Diet-Induced Obese Hearts. **Cardiovasc Toxicol**, v. 17, n. 2, p. 163-174, 2017.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J Nutr**, v. 134, n. 12 Suppl, p. 3479S-3485S, 2004.

LIU, X., *et al.* Hepatic oleate regulates liver stress response partially through PGC-1alpha during high-carbohydrate feeding. **J Hepatol**, v. 65, n. 1, p. 103-112, 2016.

LOPASCHUK, G. D.; FOLMES, C. D.; STANLEY, W. C. Cardiac energy metabolism in obesity. **Circ Res**, v. 101, n. 4, p. 335-347, 2007.

LOPES, J. M. M. **Efeito da suplementação com suco de uvaia (Eugenia uvalha Cambess) no perfil lipídico e no estresse oxidativo de ratas hipercolesterolêmicas.** 2014. - Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2014.

LOPES, J. M. M., *et al.* A preliminary exploration of the potential of Eugenia uvalha Cambess juice intake to counter oxidative stress. **Food Res Int**, v. 105, n., p. 563-569, 2018.

LOWRY, O. H., *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

LUDWIG, J., *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. **Mayo Clin Proc**, v. 55, n. 7, p. 434-438, 1980.

MACHADO, A. K., *et al.* Açaí (Euterpe oleracea Mart.) has anti-inflammatory potential through NLRP3-inflammasome modulation. **Journal of Functional Foods**, v. 56, n., p. 364-371, 2019.

MADAMANCHI, N. R.; RUNGE, M. S. Redox signaling in cardiovascular health and disease. **Free Radic Biol Med**, v. 61, n., p. 473-501, 2013.

MAGALHÃES, F. C., *et al.* Hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento físico: eventos moleculares e celulares que modificam o fenótipo. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 7, n. 1, p. 4, 2008.

MAI, A. M.; LI, J. NADPH oxidase activation and oxidative stress in high-fat diet-induced hypertension and metabolic disorders. **Heart**, v. 100, n. 4, p., 2014.

MARTINS, F., *et al.* High-fat Diet Promotes Cardiac Remodeling in an Experimental Model of Obesity. **Arq Bras Cardiol**, v. 105, n. 5, p. 479-486, 2015.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008

MEDEIROS, C., *et al.* Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. **J Cell Physiol**, v. 226, n. 3, p. 666-674, 2011.

MELLENDEZ, G. C., *et al.* Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats. **Hypertension**, v. 56, n. 2, p. 225-231, 2010.

MOORE, R. L.; KORZICK, D. H. Cellular adaptations of the myocardium to chronic exercise. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 37, n. 6, p. 371-396, 1995.

MOURA, R. S., *et al.* Effects of Euterpe oleracea Mart. (ACAI) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse. **Phytomedicine**, v. 19, n. 3-4, p. 262-269, 2012.

MUKTHAMBA, P.; SRINIVASAN, K. Protective effect of dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and garlic (*Allium sativum*) on induced oxidation of low-density lipoprotein in rats. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**, v. 27, n. 1, p. 39-47, 2016.

MUTHULAKSHMI, S.; SARAVANAN, R. Protective effects of azelaic acid against high-fat diet-induced oxidative stress in liver, kidney and heart of C57BL/6J mice. **Mol Cell Biochem**, v. 377, n. 1-2, p. 23-33, 2013.

NARASIMHAN, M.; RAJASEKARAN, N. S. Exercise, Nrf2 and Antioxidant Signaling in Cardiac Aging. **Front Physiol**, v. 7, n., p. 241, 2016.

NASSIS, G. P., *et al.* Aerobic exercise training improves insulin sensitivity without changes in body weight, body fat, adiponectin, and inflammatory markers in overweight and obese girls. **Metabolism**, v. 54, n. 11, p. 1472-1479, 2005.

NATALI, A. J., *et al.* Regional effects of voluntary exercise on cell size and contraction-frequency responses in rat cardiac myocytes. **J Exp Biol**, v. 204, n. Pt 6, p. 1191-1199, 2001.

NETO, N. S. R.; CARVALHO, J. F. O. O Uso de Provas de Atividade Inflamatória em Reumatologia. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 49, n. 4, p. 413-430, 2009.

NIELSEN, S. S. **Food analysis laboratory manual**: Springer, 2010

NIGAM, S.; SCHEWE, T. Phospholipase A(2)s and lipid peroxidation. **Biochim Biophys Acta**, v. 1488, n. 1-2, p. 167-181, 2000.

NYBY, M. D., *et al.* Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. **Hypertens Res**, v. 30, n. 5, p. 451-457, 2007.

OBIKA, M.; NOGUCHI, H. Diagnosis and evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. **Exp Diabetes Res**, v. 2012, n., p. 145754, 2012.

PANCHAL, S. K.; POUDYAL, H.; BROWN, L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. **J Nutr**, v. 142, n. 6, p. 1026-1032, 2012.

PARK, Y., *et al.* Hypocholesterolemic metabolism of dietary red pericarp glutinous rice rich in phenolic compounds in mice fed a high cholesterol diet. **Nutr Res Pract**, v. 8, n. 6, p. 632-637, 2014.

PASSOS, E., *et al.* Role of physical exercise on hepatic insulin, glucocorticoid and inflammatory signaling pathways in an animal model of non-alcoholic steatohepatitis. **Life Sci**, v. 123, n., p. 51-60, 2015.

PAULINO, A. H. S. **Efeito da farinha do fruto araçá (Psidium cattleianum Sabine) sobre o perfil lipídico e o estresse oxidativo na esteatose hepática induzida por dieta hipercolesterolêmica em ratas**. 2015. 106 f. - Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2015.

PAULINO, A. H. S., *et al.* Araçá (Psidium cattleianum Sabine) Ameliorates Liver Damage and Reduces Hepatic Steatosis in Rats Fed with a High-fat Diet. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 7, n. 2, p. 132-140, 2019.

PAULINO, E. C., *et al.* Exercise training and caloric restriction prevent reduction in cardiac Ca<sup>2+</sup>-handling protein profile in obese rats. **Hypertension**, v. 56, n. 4, p. 629-635, 2010.

PEREIRA, R. R., *et al.* Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) Upregulates Paraoxonase 1 Gene Expression and Activity with Concomitant Reduction of Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-Fed Rats. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2016, n., p. 8379105, 2016.

PETTINELLI, P.; VIDELA, L. A. Up-regulation of PPAR-gamma mRNA expression in the liver of obese patients: an additional reinforcing lipogenic mechanism to SREBP-1c induction. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 5, p. 1424-1430, 2011.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, H.; BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do açaí. **International Journal of Nutrology**, v. 5, n. 1, p. 15-20, 2012.

POSTIC, C.; GIRARD, J. The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis. **Diabetes Metab**, v. 34, n. 6 Pt 2, p. 643-648, 2008.

POUDYAL, H., *et al.* Chronic high-carbohydrate, high-fat feeding in rats induces reversible metabolic, cardiovascular, and liver changes. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 302, n. 12, p. E1472-1482, 2012.

QIN, L., *et al.* Amentoflavone improves cardiovascular dysfunction and metabolic abnormalities in high fructose and fat diet-fed rats. **Food Funct**, v. 9, n. 1, p. 243-252, 2018.

RAMLI, N. S., *et al.* Effects of red pitaya juice supplementation on cardiovascular and hepatic changes in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome rats. **BMC Complement Altern Med**, v. 14, n., p. 189, 2014.

RECTOR, R. S., *et al.* Daily exercise vs. caloric restriction for prevention of nonalcoholic fatty liver disease in the OLETF rat model. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 300, n. 5, p. G874-883, 2011.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C., JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

RELLING, D. P., *et al.* High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. **J Hypertens**, v. 24, n. 3, p. 549-561, 2006.

RIAHI, S., *et al.* Chronic effects of aerobic exercise on gene expression of LOX-1 receptor in the heart of rats fed with high fat diet. **Iran J Basic Med Sci**, v. 18, n. 8, p. 805-812, 2015.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic Biol Med**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Dig Liver Dis**, v. 34 Suppl 2, n., p. S105-110, 2002.

ROCHA, A. P., *et al.* Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart. (Acai) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascul Pharmacol**, v. 46, n. 2, p. 97-104, 2007.

ROMAN-CAMPOS, D., *et al.* Changes in cellular contractility and cytokines profile during Trypanosoma cruzi infection in mice. **Basic Res Cardiol**, v. 104, n. 3, p. 238-246, 2009.

ROMERO-GÓMEZ, M.; ZELBER-SAGI, S.; TRENELL, M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. **Journal of Hepatology**, v. 67, p. 829-846, 2017.

ROSHAN, V. D., *et al.* Exercise training and antioxidants: effects on rat heart tissue exposed to lead acetate. **Int J Toxicol**, v. 30, n. 2, p. 190-196, 2011.

SAHN, D. J., *et al.* Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. **Circulation**, v. 58, n. 6, p. 1072-1083, 1978.

SAHRAOUI, A., *et al.* Myocardial Structural and Biological Anomalies Induced by High Fat Diet in Psammomys obesus Gerbils. **PLoS One**, v. 11, n. 2, p. e0148117, 2016.

SANCHEZ, G., *et al.* High-Fat-Diet-Induced Obesity Produces Spontaneous Ventricular Arrhythmias and Increases the Activity of Ryanodine Receptors in Mice. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 2, p., 2018.

SANTOS, C. X., *et al.* Redox signaling in cardiac myocytes. **Free Radic Biol Med**, v. 50, n. 7, p. 777-793, 2011.

SCHAUSS, A. G., *et al.* Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, Euterpe oleracea mart. (acai). **J Agric Food Chem**, v. 54, n. 22, p. 8598-8603, 2006a.

SCHAUSS, A. G., *et al.* Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* mart. (acai). **J Agric Food Chem**, v. 54, n. 22, p. 8604-8610, 2006b.

SCHEUER, J.; TIPTON, C. M. Cardiovascular adaptations to physical training. **Annu Rev Physiol**, v. 39, n., p. 221-251, 1977.

SEO, Y. S., *et al.* PPAR agonists treatment is effective in a nonalcoholic fatty liver disease animal model by modulating fatty-acid metabolic enzymes. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 23, n. 1, p. 102-109, 2008.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, 2005.

SHAO, W., *et al.* Curcumin prevents high fat diet induced insulin resistance and obesity via attenuating lipogenesis in liver and inflammatory pathway in adipocytes. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e28784, 2012.

SHIOU, Y. L., *et al.* High fat diet aggravates atrial and ventricular remodeling of hypertensive heart disease in aging rats. **J Formos Med Assoc**, v. 117, n. 7, p. 621-631, 2018.

SIDDIQUI, M. S., *et al.* Severity of nonalcoholic fatty liver disease and progression to cirrhosis are associated with atherogenic lipoprotein profile. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v. 13, n. 5, p. 1000-1008 e1003, 2015.

SIES, H. **Biochemistry of Oxidative Stress**. Angewandte Chemie International. Edition in English, v. 25, n. 12, p. 1058-1071, 1986.

SILVA, D. C., *et al.* Influence of term of exposure to high-fat diet-induced obesity on myocardial collagen type I and III. **Arq Bras Cardiol**, v. 102, n. 2, p. 157-163, 2014.

SILVEIRA, A. C., *et al.* Exercise Training Restores Cardiac MicroRNA-1 and MicroRNA-29c to Nonpathological Levels in Obese Rats. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2017, n., p. 1549014, 2017.

SINGH, S.; NETTICADAN, T.; RAMDATH, D. D. Expression of cardiac insulin signalling genes and proteins in rats fed a high-sucrose diet: effect of bilberry anthocyanin extract. **Genes Nutr**, v. 11, n., p. 8, 2016.

STONER, L., *et al.* Inflammatory biomarkers for predicting cardiovascular disease. **Clin Biochem**, v. 46, n. 15, p. 1353-1371, 2013.

TARGHER, G., *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease is associated with an increased prevalence of atrial fibrillation in hospitalized patients with type 2 diabetes. **Clin Sci (Lond)**, v. 125, n. 6, p. 301-309, 2013.

TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, p. 389–398, 1996.

TIAN, X. Y., *et al.* Uncoupling Protein 2 in Cardiovascular Health and Disease. **Front Physiol**, v. 9, n., p. 1060, 2018.

VANWAGNER, L. B., *et al.* Association of nonalcoholic fatty liver disease with subclinical myocardial remodeling and dysfunction: A population-based study. **Hepatology**, v. 62, n. 3, p. 773-783, 2015.

VASAN, R. S. Cardiac function and obesity. **Heart**, v. 89, n. 10, p. 1127-1129, 2003.

WALLIN, B., *et al.* Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: its use for evaluation of antioxidants. **Anal Biochem**, v. 208, n. 1, p. 10-15, 1993.

WANG, H. F., *et al.* Effects of lactic acid bacteria on cardiac apoptosis are mediated by activation of the phosphatidylinositol-3 kinase/AKT survival-signalling pathway in rats fed a high-fat diet. **Int J Mol Med**, v. 35, n. 2, p. 460-470, 2015.

WANG, H. T., *et al.* Effect of obesity reduction on preservation of heart function and attenuation of left ventricular remodeling, oxidative stress and inflammation in obese mice. **J Transl Med**, v. 10, n., p. 145, 2012.

WANG, X. H., *et al.* Fatty acid composition in serum correlates with that in the liver and non-alcoholic fatty liver disease activity scores in mice fed a high-fat diet. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 44, n., p. 140-150, 2016.

WANG, Z., *et al.* Chronic high fat diet induces cardiac hypertrophy and fibrosis in mice. **Metabolism**, v. 64, n. 8, p. 917-925, 2015.

WATANABE, S., *et al.* A High-Fat and High-Cholesterol Diet Induces Cardiac Fibrosis, Vascular Endothelial, and Left Ventricular Diastolic Dysfunction in SHRSP5/Dmcr Rats. **J Atheroscler Thromb**, v., n., p., 2017.



WHITE, P. A., *et al.* [Model of high-fat diet-induced obesity associated to insulin resistance and glucose intolerance]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 57, n. 5, p. 339-345, 2013.

WISLOFF, U., *et al.* Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca<sup>2+</sup> sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. **Cardiovasc Res**, v. 54, n. 1, p. 162-174, 2002.

WU, S., *et al.* Polyphenols from *Lonicera caerulea* L. berry attenuate experimental nonalcoholic steatohepatitis by inhibiting proinflammatory cytokines productions and lipid peroxidation. **Mol Nutr Food Res**, v. 61, n. 4, p., 2017.

WU, T., *et al.* Black tea polyphenols and polysaccharides improve body composition, increase fecal fatty acid, and regulate fat metabolism in high-fat diet-induced obese rats. **Food & Function**, v. 7, n. 5, p. 2469-2478, 2016.

XIE, C., *et al.* Acai juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Atherosclerosis**, v. 216, n. 2, p. 327-333, 2011.

XIE, Z., *et al.* Analysis of transcriptome and metabolome profiles alterations in fatty liver induced by high-fat diet in rat. **Metabolism**, v. 59, n. 4, p. 554-560, 2010.

YAHFOUFI, N., *et al.* The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p., 2018.

YAMAGUCHI, K. K., *et al.* Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chem**, v. 179, n., p. 137-151, 2015.

YAN, J. H., *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Medicine**, v. 97, n. 37, p. 1-10, 2018.

ZACARIAS, A. C., *et al.* Swimming training induces liver adaptations to oxidative stress and insulin sensitivity in rats submitted to high-fat diet. **Redox Rep**, v. 22, n. 6, p. 515-523, 2017.

ZAPATA-SUDO, G., *et al.* Oral treatment with *Euterpe oleracea* Mart. (acai) extract improves cardiac dysfunction and exercise intolerance in rats subjected to myocardial infarction. **BMC Complement Altern Med**, v. 14, n., p. 227, 2014.

ZHANG, X. Y., *et al.* The anti-obesity effect of green tea polysaccharide, polyphenols and caffeine in rats fed with high-fat diet. **Food & Function**, v. 6, n. 1, p. 296 - 333, 2015.

ZHANG, Y., *et al.* Insulin-like growth factor 1 alleviates high-fat diet-induced myocardial contractile dysfunction: role of insulin signaling and mitochondrial function. **Hypertension**, v. 59, n. 3, p. 680-693, 2012.

ZHAO, F., *et al.* Cardioprotective effects of baicalein on heart failure via modulation of Ca<sup>2+</sup> handling proteins in vivo and in vitro. **Life Sci**, v. 145, n., p. 213-223, 2016.

ZIMMET, J. M.; HARE, J. M. Nitroso-redox interactions in the cardiovascular system. **Circulation**, v. 114, n. 14, p. 1531-1544, 2006.

## 8. ANEXOS

### 8.1. Anexo 1



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

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



OFÍCIO CEUA Nº. 076/2016, de 11 de maio de 2016

Ilustríssimo(a) Senhor(a)

Professor(a) Doutor(a) Marcelo Eustáquio Silva  
DEALI/ENUT/UFOP

Senhor(a) Pesquisador(a),

Estamos enviando o certificado de aprovação do protocolo nº. 2016/22, intitulado *“Efeito do treinamento físico aeróbio em esteira e da suplementação com açaí liofilizado sobre marcadores do metabolismo de lipídeos e do estresse do retículo endoplasmático em ratos alimentados com dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica”*.

2. Atendendo ao art. 6º, IX, da Resolução Normativa CONCEA nº 1, de 09.07.2010, solicitamos que encaminhe a CEUA/UFOP o relatório final do projeto, após executá-lo, conforme modelo do *site* da CEUA.

Atenciosamente,

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lenice Kappes Becker  
Coordenadora da CEUA/UFOP.



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

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29

35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil

Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370

Email: [ceua@propp.ufop.br](mailto:ceua@propp.ufop.br)



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais nº. 2016/22, intitulado “*Efeito do treinamento físico aeróbio em esteira e da suplementação com açafá liofilizado sobre marcadores do metabolismo de lipídeos e do estresse do retículo endoplasmático em ratos alimentados com dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica*”, que tem como responsável o/a Prof(a). Dr(a). **Marcelo Eustáquio Silva**, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP, de acordo com tabela abaixo:

Dados dos Animais Aprovados				
Espécie/linhagem	N.º de Animais	Idade	Sexo	Procedência
Rattus norvegicus/Fischer	50	60 dias	Machos	Biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da UFOP

Restrição de dieta: ( x ) sim ( ) não

Especificar a dieta:

Dieta padrão (AIN-93M);

Dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica;

Dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica suplementada com açafá.

**Este Certificado expira em: 01/06/2020**

Ouro Preto, 11 de maio de 2016.

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

## 8.2. Anexo 2

### LIOFRUIT 100 - AÇAÍ ORGÂNICO PÓ N



COD.: 120.044.097 - REV.: 07

#### Ficha Técnica

**DESCRIÇÃO** - A palmeira responsável pela produção de Açaí (*Euterpe oleracea*) é uma planta natural da Floresta Amazônica. Seu fruto é pequeno, esférico e de coloração roxa escura. A polpa de Açaí contém muito mais Antocianinas (substâncias antioxidantes) do que o vinho e seu valor de ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) é um dos maiores dentre os frutos comestíveis conhecidos. O Açaí possui altos teores de fibras alimentares, aminoácidos e minerais tais como cálcio.

O açaí liofilizado contém grande quantidade (cerca de 50%) de lipídeos, por isso, para evitar a oxidação do produto, a embalagem deve conter barreira à luz e oxigênio.

Produto obtido a partir de polpa de açaí orgânica pasteurizada submetida ao processo de congelamento e liofilização de acordo com as Boas Práticas de Fabricação. Produto não fermentado, não alcoólico.

**CERTIFICAÇÕES** - Orgânica.

**INGREDIENTES** - Polpa de Açaí (acidificada com suco de limão ou com ácido cítrico).

**APLICAÇÃO** - Chocolates, bebidas, sobremesas, barras energéticas e outros.  
Para o reenvase do Açaí em embalagem de consumo (sachês, potes ou frascos) solicite orientações específicas ao nosso Departamento Técnico.

#### CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS <sup>(1)</sup>

<b>Sabor e Odor</b>	Característicos
<b>Aspecto</b>	Pó de coloração roxa.
<b>Reconstituição</b>	Adicionar 86g de água a 14g de açaí liofilizado para obter açaí grosso natural.
<b>Equivalência</b>	1 kg de açaí liofilizado é equivalente a aproximadamente 7 kg de polpa de açaí grosso.
<b>Umidade (%)</b>	Máximo 2,5
<b>Granulometria (%) <sup>(2)</sup></b>	Partículas maiores que 1,4 mm - 2 (máx.) Partículas menores que 0,6 mm - 50 (mín.)
<b>Matérias Estranhas</b>	Ausente

<sup>(1)</sup> Pode haver pequenas diferenças nas características do produto, devido à variação natural da matéria-prima.

<sup>(2)</sup> Valor de referência.

#### CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS <sup>(1)</sup>

		n	c	m	M
<b>Coliformes 45°C</b>	UFC/g	5	0	<10	-
<b>Salmonella sp</b>	/25 g	5	0	Ausente	-
<b>Bolores e Leveduras</b>	UFC/g	5	0	2x10 <sup>3</sup>	-

<sup>(1)</sup> O plano de amostragem segue os padrões da ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods)

As informações aqui contidas não dispensam o usuário da verificação de eventuais limitações do uso conforme legislação vigente e.

LIOTÉCNICA TECNOLOGIA EM ALIMENTOS LTDA.  
Fábricas 1 e 4: Av. João Paulo I, 900 - Jd. Santa Bárbara - 06818-901 - EMBU DAS ARTES - SP - Brasil.  
Fábrica 3: Av. João Paulo I, 1098 - Morro do Camargo - 06817-000 - EMBU DAS ARTES - SP - Brasil.  
Fax: +55-11-4704-6317 - Tel.: +55-11-4785-2300.

# LIOFRUIT 100 - AÇAÍ ORGÂNICO PÓ N



COD.: 120.044.097 - REV.: 07

## INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS/100g <sup>(1)</sup>

Valor calórico, kcal	541
Carboidrato	5 g, dos quais:
Açúcares	2 g, dos quais:
Frutose	1 g
Glicose	1 g
Lactose	< 0,15 g
Maltose	< 0,15 g
Sacarose	< 0,15 g
Proteínas, g	9,8
Gorduras totais, g	54
Gorduras saturadas, g	15
Gorduras monoinsaturadas, g	33
Ácido Palmitoléico, g	2,7
Ácido Oleico (Ômega 9), g	30,3
Gorduras poliinsaturadas, g	5,1
Ácido Linoleico (Ômega 6), g	5,1
Gorduras <i>trans</i> , g	0,0
Fibra alimentar, g	27
Sódio, mg	64
Cálcio, mg	345
Ferro, mg	3,8
Vitamina A, UI	<100
Vitamina C, mg	<1
Vitamina E, mg	12,7
Potássio, mg	715
Magnésio, mg	174

<sup>(1)</sup> Valores típicos ou de referência. Não constituem especificação do produto.

## REFERÊNCIAS GERAIS <sup>(1)</sup>

	Unidade	Valor de Referência
Antocianinas por HPLC	mg/100g	385
Capacidade Antioxidante (ORAC <sub>FL</sub> )	µmol eq. Trolox/100g	70.000
Polifenóis Totais	mg eq. Ácido Gálico/100g	3.300

<sup>(1)</sup> Valores típicos ou de referência. Não constituem especificação do produto. Os valores representam a média dos resultados da última safra.

**APRESENTAÇÃO** - Caixa de papelão contendo dois sacos metalizados selados a vácuo.  
Peso Líquido: 10 Kg (2 x 5 Kg).

**ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO** - A temperatura ambiente, protegido de poeira, umidade e luz, na embalagem original fechada.

**TRANSPORTE** - A temperatura ambiente, em veículos limpos, protegidos da poeira, umidade e materiais que possam oferecer riscos de contaminação.

**VALIDADE** - 24 meses, se mantido na embalagem original fechada, à temperatura ambiente, protegido do calor, luz e umidade.

As informações aqui contidas não dispensam o usuário da verificação de eventuais limitações do uso conforme legislação vigente.

LIOTÉCNICA TECNOLOGIA EM ALIMENTOS LTDA.  
Fábricas 1 e 4: Av. João Paulo I, 900 - Jd. Santa Bárbara - 06818-901 - EMBU DAS ARTES - SP - Brasil.  
Fábrica 3: Av. João Paulo I, 1098 - Morro do Camargo - 06817-000 - EMBU DAS ARTES - SP - Brasil.  
Fax: +55-11-4704-6317 - Tel.: +55-11-4785-2300.

# LIOFRUIT 100 - AÇAÍ ORGÂNICO PÓ N



COD.: 120.044.097 - REV.: 07

ÚLTIMA REVISÃO	
Revisão n.º	Descrição
07	Atualização de cabeçalho.

As informações aqui contidas não dispensam o usuário da verificação de eventuais limitações do uso conforme legislação vigente.

LIOTÉCNICA TECNOLOGIA EM ALIMENTOS LTDA.  
Fábricas 1 e 4: Av. João Paulo I, 900 - Jd. Santa Bárbara - 06818-901 - EMBU DAS ARTES - SP - Brasil.  
Fábrica 3: Av. João Paulo I, 1098 - Morro do Camargo - 06817-000 - EMBU DAS ARTES - SP - Brasil.  
Fax: +55-11-4704-6317 - Tel.: +55-11-4785-2300.

